

Université de Montréal

**Relation entre une ischémie cardiaque transmurale ou  
partielle (sous-endocardique) et les changements ECG  
chez le porc**

**Implication des substances vasoactives**

par

Marilyn de Chantal

Département de Physiologie, Université de Montréal

Faculté de Médecine

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de doctorat  
en Physiologie

Juin 2006

© Marilyn de Chantal, 2006



W

4

U58

2007

v.002

## AVIS

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

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

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

## NOTICE

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

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

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

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée :

Relation entre une ischémie cardiaque transmurale ou partielle (sous-endocardique) et les  
changements ECG chez le porc  
Implication des substances vasoactives

présentée par :  
Marilyn de Chantal

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Guy Rousseau, président-rapporteur  
Chantal Pharand, directeur de recherche  
Aimé-Robert LeBlanc, co-directeur  
Jean-François Tanguay, membre du jury  
John Gordon Kingma, examinateur externe  
René Cardinal, représentant du doyen de la FES

## Résumé

L'ischémie myocardique est représentée sur l'ECG par un sus-décalage ou un sous-décalage du segment ST. Le sus-décalage du segment ST est causé par la présence d'une ischémie transmurale, tandis que le sous-décalage du segment ST est induit par une ischémie sous-endocardique qui est hypothétiquement attribuée à l'occlusion partielle d'une artère coronaire. Toutefois, aucune observation effectuée à ce jour n'appuie le rôle de la sténose dans le développement du sous-décalage du segment ST. Ainsi, l'effet de la progression d'une sténose coronaire sur l'ECG a été évalué dans un modèle porcin pour déterminer si elle joue un rôle dans l'apparition du sous-décalage du segment ST. L'accroissement de la sténose cause un sus-décalage du segment ST sans sous-décalage du segment ST dans la dérivation postéro-antérieure. La compréhension de ces résultats a été complétée grâce à l'analyse des données angiographiques, de microsphères (débits régionaux myocardiques) et d'échocardiographie de contraste (quantification de la perfusion myocardique).

La présence d'une sténose dans une artère coronaire n'est pas impliquée directement dans le développement du sous-décalage du segment ST dans un modèle animal sans tachycardie. Certaines observations suggèrent que cette manifestation ECG serait induite suite à une vasoconstriction sévère des microvaisseaux sous-endocardiques. La reproduction d'une ischémie sous-endocardique a été tentée à l'aide de l'administration intracoronaire d'agents vasoconstricteurs (l'endothéline, la sérotonine et le neuropeptide Y) qui ont la capacité d'induire une vasoconstriction des microvaisseaux coronaires. Ces expériences effectuées chez le porc ont démontré que ces substances ont la capacité d'induire un sous-décalage du segment ST dans la dérivation postéro-antérieure. La compréhension de ces données a été complétée suite à l'analyse des données de débits régionaux myocardiques (microsphères) et angiographiques.

En conclusion, le sous-décalage du segment ST n'est pas causé directement par la présence d'une sténose coronaire. Le sous-décalage du segment ST semble être causé par une ischémie sous-endocardique induite lors de l'administration de certains agents vasoconstricteurs, mais des résultats complémentaires sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

**Mots-clés :** Angiographie, Débit sanguin régional myocardique, Échocardiographie de contraste, Endothéline-1, Ischémie myocardique, Microcirculation, Neuropeptide Y, Sérotonine, Sous-décalage du segment ST, Sus-décalage du segment ST.

## **Abstract**

ST-segment depression and ST-segment elevation on the ECG are caused by myocardial ischemia. ST-segment elevation is caused by a transmural ischemia whereas ST-segment depression is induced by a subendocardial ischemia, associated with a partial occlusion of a coronary artery. However, ST-segment depression was never reproduced in classic animal models of coronary stenosis. Effect of progressive occlusion of the coronary artery on the ECG was evaluated in an animal model (swine) with normal heart rates. ST-segment depression was not observed in postero-anterior lead prior to the development of ST-segment elevation. Analysis of these results was completed with an evaluation of myocardial perfusion (coloured microspheres and myocardial contrast echocardiography) and angiography.

ST-segment depression is produced by a subendocardial ischemia probably caused by a severe constriction of subendocardial microvessels. We have tried to reproduce subendocardial ischemia with intracoronary injection of vasoactives peptides (endothelin-1, neuropeptide Y and serotonin). These peptides were chosen because they caused vasoconstriction of coronary microvessels. Intracoronary administration of these peptides produced ST-segment depression in postero-anterior lead. Analysis of these results was completed with an evaluation of regional myocardial blood flow (microspheres) and angiography.

In conclusion, ST-segment depression was not the result of the coronary blood flow reduction observed with a partial occlusion of the coronary artery. ST-segment depression seems to be induced by a subendocardial ischemia produced by vasoactives peptides but more results are essential to prove this hypothesis.

**Keywords :** Angiography, Endothelin-1, Microcirculation, Myocardial contrast echocardiography, Myocardial Ischemia, Neuropeptide Y, Regional myocardial blood flow, Serotonin, ST-segment depression, ST-segment elevation.



## Table des matières

Introduction.....	1
Chapitre 1: Propriétés de la circulation coronaire.....	5
1.1 Consommation en O <sub>2</sub> .....	5
1.2 Résistance vasculaire .....	7
Chapitre 2: Ischémie myocardique.....	21
2.1 Caractéristiques d'une sténose coronaire .....	21
2.1.1 Athérosclérose.....	23
2.1.2 Athérosclérose et thrombose.....	27
2.1.3 Athérosclérose et spasme coronaire .....	27
2.2 Manifestations cliniques.....	28
2.3 Diagnostic clinique.....	32
2.3.1 ECG au repos .....	33
2.3.2 Échocardiographie de contraste .....	34
2.3.3 Substances vasoactives.....	36
Chapitre 3: ECG.....	40
3.1 Potentiel d'action .....	40
3.2 Principes de base de l'ECG.....	41
3.3 Relation entre le potentiel d'action et l'ECG.....	43
3.3.1 Changements du potentiel d'action lors d'une ischémie.....	44
3.3.2 Développement d'un sous ou d'un sus-décalage du segment ST durant l'ischémie .....	46
3.4 Interprétation du sous et du sus-décalage du segment ST.....	49
3.4.1 Sus-décalage du segment ST.....	49
3.4.2 Sous-décalage du segment ST.....	51
3.4.3 Débits régionaux myocardiques et changements ECG.....	52
3.4.4 Transition entre le sous-décalage et le sus-décalage.....	53
Chapitre 4: Objectifs, hypothèses et contribution originale.....	56

Chapitre 5: Méthodologie .....	60
Chapitre 6: Absence of clinically significant increase in pulmonary artery pressure after intravenous perflutren injection for myocardial perfusion imaging in pigs.....	71
Chapitre 7: Progressive epicardial coronary blood flow reduction fails to produce ST-segment depression at normal heart rate. ....	89
Chapitre 8: Subendocardial ischemia and ST-segment depression induced by intracoronary administration of endothelin-1 .....	127
Chapitre 9: Effet de la 5-HT sur la perfusion myocardique et l'ECG suite à l'administration de L-NAME. ....	157
Chapitre 10: Induction d'un sous-décalage du segment ST suite à l'administration du NPY .....	166
Chapitre 11: Discussion .....	173
Conclusion .....	188
Bibliographie.....	191
Annexe 1 : Référence du tableau 1 .....	I
Annexe 2: Autorisation des éditeurs et des coauteurs.....	II
Annexe 3 : Discussion sur la technique des microsphères.....	IX

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Réponses vasculaires <i>in-vivo</i> hétérogènes des microvaisseaux suite à l'administration de substances endogènes .....	11
Tableau 2: Effets physiologique de la 5-HT chez l'humain. ....	14
Tableau 3: Localisation des électrodes dans les différentes dérivations de l'ECG.....	42
Tableau 4: Effets hémodynamiques de l'inhibition de la production de NO suite à l'administration intraveineuse de L-NAME (10 mg/kg) sur les paramètres hémodynamiques.....	158

## Liste des figures

Figure 1: Différents facteurs qui influencent la régulation de la résistance coronaire.....	9
Figure 2: Effets vasculaires, neuronaux et immunitaires du NPY.....	12
Figure 3: Effets potentiels de l'ET-1 qui mène au développement de l'hypertension, d'une hypertrophie ventriculaire et de l'athérosclérose. ....	17
Figure 4: Réponses vasculaires de l'ET-1 suite à la liaison du peptide avec l'un de ces récepteurs. ....	18
Figure 5: Effets d'une sténose coronaire de diamètre croissant d'une longueur de 3 ou 9 mm sur la réponse hyperémique. ....	22
Figure 6: Réponse hyperémique observée dans un vaisseau avec une lésion distale croissante avec ou sans sténose proximale. La sténose proximale est de 75% ou 88% du diamètre de l'artère. ....	23
Figure 7 : Évolution schématique de la plaque athérosclérotique.....	25
Figure 8: Différentes manifestations cliniques du SCA selon les changements ECG et les modifications des marqueurs biochimiques.....	30
Figure 9: Ondes et intervalles d'un ECG normal.....	33
Figure 10: Paramètre de la vidéointensité qui permet d'évaluer la perfusion myocardique.....	36
Figure 11: Représentation d'un vrai (A) et d'un apparent (B) sus-décalage du segment ST. ....	47
Figure 12 : Représentation d'un vrai (A) et d'un apparent (B) sous-décalage du segment ST.....	48
Figure 13: Protocole d'injection intrac coronaire de la 5-HT.....	63
Figure 14: Protocole d'injection intrac coronaire du NPY. ....	64
Figure 15: Représentation de la dissection du myocarde (à gauche) et d'une couche myocardique (à droite) utilisée pour l'analyse du débit régional myocardique.....	66
Figure 16: Exemple représentatif d'une image angiographique et des paramètres de l'IVA à la ligne de base chez le cochon. ....	68

Figure 17: Changements hémodynamiques causés par l'administration intracoronaire du salin et de la 5-HT (1, 3 et 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ).....	159
Figure 18: Changement de l'amplitude du segment ST suite à l'administration de la 5-HT intracoronaire dans les trois dérivations, à deux temps différents qui correspondent au maximum d'effet observé dans la dérivation PA et à la fin de l'injection.....	161
Figure 19: Effet représentatif de l'administration intracoronaire de la 5-HT (3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) sur l'ECG et le débit coronaire épicaudique.....	162
Figure 20: Débit régional myocardique mesuré par des microsphères non-radioactives de couleur de la couche #2 (A) et #3 (B) à la ligne de base, après l'administration de L-NAME (10 mg/kg) et après l'injection intracoronaire de 5-HT (3 et 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ). 163	163
Figure 21 : Ratio du débit régional sous-endocardique / sous-épicaudique mesuré par des microsphères non-radioactives de couleur à la couche #2 et #3 à la ligne de base, après l'administration de L-NAME (10 mg/kg) et après l'injection intracoronaire de 5-HT (3 et 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ).....	164
Figure 22: Changement du diamètre de l'IVA proximal et distal du site d'injection de la 5-HT déterminé par angiographie après l'administration de L-NAME (10 mg/kg), de salin et des doses de 5-HT (1, 3 et 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ). .....	165
Figure 23: Changement des paramètres hémodynamiques lors de l'injection intracoronaire de salin et de NPY (1, 10 et 100 pmol/kg/min).....	167
Figure 24 : Changement de l'amplitude du segment ST dans les trois dérivations à deux temps différents qui correspondent au maximum de l'effet dans la dérivation PA et à la fin de l'injection. ....	168
Figure 25 : Effet représentatif de l'administration intracoronaire du NPY (1 pmol/kg/min) sur l'ECG et le débit coronaire épicaudique. ....	169
Figure 26 : Débit régional myocardique mesuré par des microsphères non-radioactives de couleurs de la couche #2 (A) et #3 (B) à la ligne de base et après l'injection intracoronaire du NPY (1, 10 et 100 pmol/kg/min). ....	170

- Figure 27: Ratio du débit régional sous-endocardique / sous-épicaudique mesuré par des microsphères de couleur à la couche #2 et #3 à la ligne de base et après l'injection intracoronaire du NPY (1, 10 et 100 pmol/kg/min)..... 171
- Figure 28: Changement du diamètre de l'IVA proximal et distal du site d'injection du NPY déterminé par angiographie après l'injection intracoronaire de salin et du NPY (1, 10 et 100 pmol/kg/mol)..... 172

## Liste des abréviations

5-HT	Sérotonine
A	Plateau de vidéointensité
ACh	Acétylcholine
ACS	Acute coronary syndrome
Ang II	Angiotensine II
Ao	Aorta
ATP	Adénosine triphosphate
$\beta$	Pente
bpm	Battements / minute ou beats / minute
$\text{Ca}^{2+}$	Calcium
CBF	Coronary blood flow
cm	Centimètre
dB	Décibel
Diag	Diagonal coronary artery
dPAP	Diastolic pulmonary artery pressure
E	Épinéphrine
ECG	Électrocardiogramme
EG	Électrogramme
ET-1	Endothéline-1
F	French
FIO <sub>2</sub>	Fraction de l'O <sub>2</sub> inspiré
g	Gramme
K <sup>+</sup>	Potassium
K <sub>ATP</sub>	canal K <sup>+</sup> dépendant de l'ATP
kg	Kilogramme
IM	Infarctus du myocarde
I <sub>to</sub>	Transient outward current

IVA	Artère interventriculaire antérieure
L-NAME	L-nitro-arginine-methyl-ester
LAD	Left anterior descending
LCx	Artère coronaire circonflexe / Left circumflex coronary artery
LDL	Lipoprotéine de faible densité
LV	Left ventricle
MBF	Myocardial blood flow
MCE	Myocardial contrast echocardiography
mg	Milligramme
min	Minute
mL	Millilitre
mm	Millimètre
mm Hg	Millimètre de mercure
mPAP	Mean pulmonary artery pressure
msec	Milliseconde
mV	Millivolt
Na <sup>+</sup>	Sodium
NE	Norépinéphrine
ng	Nanogramme
N <sub>2</sub> O	Nitrous oxyde
NO	Oxyde nitrique
NPY	Neuropeptide Y
NSTE SCA	Syndrome coronarien aigu sans élévation du segment ST
NSTEMI	Infarctus du myocarde sans élévation du segment ST / Non-ST-segment elevation myocardial infarction
O <sub>2</sub>	Oxygène
OM	Obtuse marginal coronary artery
PA	Postéro-antérieur / Postero-anterior



PAP	Pulmonary artery pressure
PDA	Posterior descending coronary artery
pmol	Picomole
PRM	Potentiel de repos membranaire
QCA	Quantitative coronary angiography
RCA	Right coronary artery
RMBF	Regional myocardial blood flow
sec	Seconde
SCA	Syndrome coronarien aigu
sPAP	Systolic pulmonary artery pressure
STEMI	Infarctus du myocarde avec élévation du segment ST / ST-segment elevation myocardial infarction
Tx	Thromboxane
TxA <sub>2</sub>	Thromboxane A <sub>2</sub>
U	Unité
UA	Unstable angina
µg	Microgramme
µm	Microns
µV	Microvolt
vs	Versus

*À Alexandre qui m'a soutenue durant toutes  
ces années...*

## Remerciements

Tout d'abord, j'aimerais remercier Dre Pharand et Dr LeBlanc pour tout le support accordé au fil des ans qui m'a permis de terminer ce projet. J'aimerais dire merci à Dr Diodati et Dr Amyot, qui ont gentiment accepté de m'aider sur certaines facettes de ce projet. Je vous remercie tous pour votre disponibilité et votre passion pour la recherche qui a été contagieuse.

J'aimerais aussi remercier Pierre Fortier et Caroline Bouchard puisque vous avez grandement facilité mon apprentissage grâce à votre patience et votre calme. Vous avez été de bons compagnons lors de mes expériences et nos discussions ont été très agréables. Un merci spécial à Bruno Dubé qui a facilité ma relation avec mon ordinateur et qui a travaillé très fort pour améliorer le processus d'analyse de mes données. Par la suite, j'aimerais remercier tous les étudiants que j'ai côtoyés durant ces années. Toutefois, j'ai une pensée particulière pour Philippe Comtois, Louis-Philippe Richer et Marie Lordkipanidze. Je suis très heureuse de vous avoir rencontré, vous avez été de très bons collègues et ami(e)s et je vous apprécie beaucoup. Nos discussions professionnelles et personnelles ont souvent été bénéfiques pour moi. Pour finir, j'aimerais remercier tout le personnel enseignant et administratif du centre de recherche de l'hôpital du Sacré-Cœur de Montréal pour l'aide apportée. J'aimerais aussi remercier la Fondation J-A de Sève de l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal et Dre Chantal Pharand pour leur soutien financier.

J'aimerais remercier les membres de la famille Ouellet, De Chantal, Beaulieu et Lachapelle. Toutefois, je remercie particulièrement ma mère pour son support et ces encouragements durant toutes ces années. J'aimerais aussi remercier mes ami(e)s qui m'ont soutenue et aussi endurée pendant toutes ces années. Toutefois, je voudrais

remercier particulièrement Geneviève Gauthier qui m'a aidé de plusieurs façons, mais qui m'a surtout offert son amitié.

Pour finir, j'aimerais remercier une personne très importante, qui depuis le début subit, jour après jour, mes humeurs qui ont parfois été désagréables. Alexandre, je te remercie pour tout ce que tu as fait pour moi durant ces années. Cette thèse est le fruit de mes efforts, mais je n'y serais pas arrivé sans ton appui, ta compréhension et la confiance que tu as eue en moi. Toutes ces attentions envers moi m'ont permis de persévérer dans ce processus parfois difficile. Je tiens à souligner que ton sens de l'humour a été très apprécié. Aujourd'hui, on termine ensemble une autre étape et nous nous tournons maintenant face à notre avenir... Je t'aime.

Merci à tous...

## Introduction

Le traitement adéquat des maladies cardiovasculaires nécessite une bonne compréhension des mécanismes qui déclenchent et maintiennent le développement de la pathologie. Ainsi, la connaissance des principes de base qui sous-tendent le fonctionnement du myocarde est importante, tout comme ceux impliqués dans le déclenchement de l'état pathologique. Les maladies cardiovasculaires ischémiques sont nombreuses et sont souvent représentées par un spectre qui illustre l'aggravation de la pathologie. Ainsi, l'angine instable se situe entre l'angine stable et l'infarctus du myocarde (IM). Étant donné la variation importante des symptômes de ces pathologies chez les patients, il est important d'essayer de comprendre correctement leurs fondements, pour administrer un traitement adapté aux besoins de chaque patient.

La cause première de ces maladies est la présence d'une plaque athérosclérotique qui cause une sténose dans un vaisseau coronaire. En effet, l'obstruction d'un ou de plusieurs vaisseaux coronaires peut provoquer une ischémie myocardique qui est rapidement diagnostiquée à l'aide d'un électrocardiogramme (ECG). La sévérité de la maladie ischémique est étroitement liée à l'importance de la sténose. La sténose découle souvent de la présence d'une plaque athérosclérotique qui se développe sur plusieurs années. Les premiers symptômes associés à cette plaque peuvent survenir des dizaines d'années après le début de la formation de la plaque, mais sa progression peut-être rapide. L'angine stable et instable sont des manifestations cliniques associées à une sténose partielle, tandis que l'IM est induit par l'occlusion complète d'un ou plusieurs vaisseaux coronaires. Ces périodes ischémiques observées chez les patients avec de l'angine stable et instable sont majoritairement représentées par un sous-décalage du segment ST sur l'ECG, alors qu'un sus-décalage du segment ST est représentatif d'un IM. Ces observations ont mené à une interprétation non fondée, c'est-à-dire que la présence d'une sténose partielle accompagnée d'un sous-décalage du segment ST chez les patients avec de l'angine instable est un signe précurseur d'un sus-décalage du segment ST et d'un IM causé par la progression de la sténose. Par contre, aucune investigation appropriée n'appuie cette

interprétation. Ainsi, la relation entre la sévérité de la sténose et le développement d'un sous-décalage du segment ST demeure obscure et sans fondement précis.

La compréhension du mécanisme de sous-décalage du segment ST chez les patients avec de l'angine instable est donc encore inconnue. Toutefois, plusieurs hypothèses suggèrent l'implication des agents vasoconstricteurs relâchés par la plaque athérosclérotique, les plaquettes sanguines ou les cellules endothéliales lors de la rupture de la plaque athérosclérotique. L'érosion ou le bris de la plaque cause la libération de plusieurs agents vasoconstricteurs, puisqu'il a été démontré que la concentration sanguine de plusieurs de ces substances s'élève lors d'un épisode ischémique. Certains de ces agents vasoconstricteurs ont un effet localisé sur une section de la circulation coronaire, c'est-à-dire la microcirculation. L'action de ces peptides associée à la vulnérabilité sous-endocardique peut déclencher une ischémie sous-endocardique. Il est donc possible d'envisager qu'il existe une relation entre le sous-décalage du segment ST observé chez les patients avec angine instable et la présence d'une ischémie sous-endocardique.

La prépondérance du sous-décalage du segment ST chez les patients présentant un épisode cardiaque ischémique est importante et il n'y a aucune explication pour ce phénomène. Ces deux constatations ont été l'élément déclencheur de ce projet de recherche. Pour bien comprendre ce phénomène, il était important de déterminer l'implication de la sténose coronaire dans le développement de cette manifestation ECG. Notre hypothèse était que cette sténose n'était pas impliquée dans l'apparition du sous-décalage du segment ST dans un modèle animal sans tachycardie et que celui-ci résultait plutôt d'une ischémie sous-endocardique. Cette ischémie localisée serait causée par une vasoconstriction exagérée de la microcirculation sous-endocardique suite à la libération d'agents vasoconstricteurs libérés lors de la rupture de la plaque athérosclérotique. Ainsi, l'implication des agents vasoconstricteurs a été déterminée grâce à l'administration

intracoronaire de certains agents vasoconstricteurs. Les agents qui ont été utilisés sont libérés par la plaque ou les plaquettes sanguines, mais le lien entre la plaque, les agents et l'ischémie sous-endocardique n'a pas été effectué dans le cadre de ce travail.

Les différents chapitres d'introduction de cette thèse vont permettre de bien comprendre les fondements et les hypothèses qui sous-tendent ce projet. Tout d'abord, l'implication probable de la microcirculation coronaire dans le développement du sous-décalage du segment ST nécessite une mise à jour sur les propriétés de celle-ci. Les différences entre la microcirculation sous-endocardique et sous-épicaire seront donc soulevées puisqu'elles concèdent à la couche sous-endocardique une vulnérabilité importante lors de la privation d'un apport sanguin adéquat. Il est aussi essentiel de discuter brièvement des mécanismes de régulation de la microcirculation, tout en s'attardant au contrôle neurohumoral. Ce mécanisme de régulation semble occuper une place importante en condition pathologique et il a la capacité d'induire une hétérogénéité de la perfusion myocardique.

Par la suite, l'effet d'une sténose coronaire sera abordé puisqu'elle est présentement soupçonnée d'être la cause du sous-décalage du segment ST. Nous croyons que cette sténose induite par une plaque athérosclérotique n'est pas un facteur qui déclenche l'apparition du sous-décalage du segment ST, mais elle peut tout de même y contribuer. En effet, la rupture de cette plaque peut déclencher la libération d'agents vasoconstricteurs puissants qui peuvent influencer la microcirculation. Ce chapitre sera complété par une introduction sur les différents types d'angine, puisqu'ils découlent directement de cette plaque athérosclérotique. Une attention particulière sera accordée aux changements ECG observés lors des crises angineuses, à l'implication des agents vasoconstricteurs et à l'utilisation de l'échocardiographie de contraste pour le diagnostic des maladies cardiovasculaires.

Un chapitre entier sera réservé à l'ECG puisque cette technique est utilisée dans ce projet pour évaluer la présence d'une ischémie myocardique. Cette section va permettre de comprendre adéquatement les principes qui sous-tendent l'ECG et les changements ECG occasionnés lors d'une ischémie myocardique.

Par la suite, les objectifs et les hypothèses qui sous-tendent ce projet seront clairement exposés au lecteur pour qu'il puisse bien comprendre le cheminement de notre travail. Pour vérifier ces hypothèses, nous avons dû développer un nouveau modèle animal et une section complète de ce travail sera accordée à celui-ci. Ensuite, les résultats obtenus dans nos expérimentations seront exposés dans plusieurs chapitres présentés sous forme d'article ou dans une section « résultats ». Pour finir, une discussion globale de ces résultats sera présentée dans le chapitre 11, qui sera suivie d'une conclusion. La discussion permettra de résumer les résultats et les liens entre les différentes études et de faire une interprétation globale de ceux-ci.

Bonne lecture à tous.



## Chapitre 1: Propriétés de la circulation coronaire

Ce chapitre met en contexte les facteurs qui influencent les besoins myocardiques, ainsi que les différences qui existent entre le sous-endocarde et le sous-épicaire. Cette mise en situation est nécessaire pour souligner la vulnérabilité du sous-endocarde lors d'une réduction de l'apport sanguin. Les mécanismes de régulation de la circulation coronaire seront brièvement abordés puisqu'ils maintiennent l'équilibre entre l'apport et la demande en oxygène. Toutefois, une attention particulière sera accordée à la régulation neurohumorale puisqu'elle pourrait être impliquée dans le développement d'une ischémie sous-endocardique. Cette hypothèse sera explorée dans le cadre de ce projet.

### 1.1 Consommation en O<sub>2</sub>

La circulation coronaire assure l'apport en nutriments du cœur via l'artère coronaire droite et gauche.<sup>1</sup> L'artère coronaire gauche se divise pour former l'artère circonflexe (LCx) et l'artère interventriculaire antérieure (IVA).<sup>2, 3</sup>

Une relation linéaire existe entre la consommation en O<sub>2</sub> déterminée par le métabolisme cardiaque et le débit coronaire.<sup>4, 5</sup> Cette corrélation est donc influencée par les facteurs qui régissent le métabolisme cardiaque, entre autres la fréquence cardiaque, la tension pariétale et la contractilité du myocarde.

L'augmentation de la fréquence cardiaque causée par une stimulation auriculaire ou un exercice physique cause une élévation proportionnelle du débit coronaire chez les humains et les animaux.<sup>6-9</sup> La tension pariétale est la tension exercée sur les parois internes du cœur lors de la systole et elle est proportionnelle à la pression aortique et au volume ventriculaire.<sup>10</sup> Ainsi, l'augmentation du volume ventriculaire cause un accroissement de la consommation en O<sub>2</sub> puisque la force nécessaire pour expulser ce volume sanguin est plus élevée.<sup>11</sup> Pour finir, l'utilisation d'un agent inotrope positif cause une élévation de la force

de contraction myocardique qui augmente le débit coronaire par l'entremise d'une consommation en  $O_2$  plus élevée.<sup>10, 12</sup> L'impact des changements de l'état inotrope et de la fréquence cardiaque est beaucoup plus important sur le débit coronaire que celui de la tension pariétale.<sup>5</sup> Ces paramètres sont modifiés dans certaines situations, par exemple lors d'un exercice physique, lors d'une stimulation auriculaire, lors d'une situation de stress et lors d'émotions intenses.<sup>7, 8</sup> La modification d'un de ces paramètres induit une altération très rapide du débit coronaire puisqu'il est ajusté lors du prochain battement cardiaque.<sup>13</sup>

La fréquence cardiaque et la contractilité du myocarde ont un effet identique dans les deux couches du myocarde, mais ce n'est pas le cas de la tension pariétale. La tension pariétale est supérieure dans la couche sous-endocardique par rapport à la couche sous-épicaudique, ce qui accroît le métabolisme de la couche sous-endocardique et donc sa consommation en  $O_2$ .<sup>14</sup> Ces besoins hétérogènes en  $O_2$  sont associés à un débit régional sous-endocardique supérieur à celui observé dans la couche sous-épicaudique.<sup>15, 16</sup>

La tension pariétale exerce une influence sur le diamètre des vaisseaux sous-endocardiques. En effet, l'augmentation de la tension pariétale lors du remplissage ventriculaire et de la systole affecte principalement le diamètre des artérioles sous-endocardiques.<sup>17-19</sup> La compression des vaisseaux sous-endocardiques est associée à un accroissement des résistances artérielle et veineuse qui sont supérieures à celles présentes dans les vaisseaux sous-épicaudiques correspondants.<sup>20</sup>

Ainsi, la tension pariétale générée lors de la contraction systolique du cœur cause l'arrêt du débit coronaire, puisqu'elle est supérieure à la pression de perfusion.<sup>17, 21, 22</sup> Ainsi, la perfusion myocardique s'effectue majoritairement lors de la diastole.<sup>23</sup> Pour compenser cette compression vasculaire périodique, les vaisseaux sous-endocardiques sont

généralement dilatés, ce qui a pour conséquence de diminuer sans abolir leur réserve coronarienne.<sup>16, 24</sup> L'épicarde a une bonne réserve coronarienne et une capacité dilatatoire importante.<sup>24</sup> La tension pariétale contribue à la vulnérabilité du sous-endocarde lors d'une ischémie ou d'une diminution du débit coronaire.<sup>16, 25, 26</sup>

## 1.2 Résistance vasculaire

L'apport sanguin cardiaque est contrôlé par la résistance vasculaire et la pression sanguine, c'est-à-dire la loi de Poiseuille [1].<sup>23</sup>

$$\text{Débit coronaire} = \frac{\Delta \text{ Pression artérielle coronaire (pression de perfusion)}}{\text{Résistance coronaire}} \quad [1]$$

Cette équation démontre que le débit coronaire est inversement proportionnel à la résistance coronaire, lorsque la pression de perfusion demeure stable. La résistance vasculaire globale est engendrée par les résistances générées par les *artères coronaires épiscopardiques* (larges artères coronaires), les *artères coronaires intramurales* (situées dans la paroi vasculaire) et les *artères coronaires microvasculaires*.

Les vaisseaux coronaires épiscopardiques contribuent à la capacitance et à la résistance du lit coronaire.<sup>3</sup> Les artères coronaires intramurales sont les branches des artères épiscopardiques qui pénètrent dans le myocarde, tandis que les vaisseaux qui apportent le sang aux capillaires sont les microvaisseaux artériels.<sup>27</sup> Dans les prochains paragraphes, une attention particulière sera accordée aux microvaisseaux puisqu'ils contrôlent majoritairement la résistance coronaire.<sup>28-30</sup>

Par définition, un microvaisseau a un diamètre interne inférieur à 300  $\mu\text{m}$ .<sup>27</sup> Toutefois, il n'existe pas de nomenclature universelle pour classifier les microvaisseaux selon leur diamètre par exemple, mais certains ont élaboré leur propre classification. En effet, Komaru et al. ont séparé les microvaisseaux selon leurs propriétés pharmacologiques et physiologiques. Les *petits microvaisseaux artériels* ou *artérioles* ont un diamètre interne inférieur à 100 ou 150  $\mu\text{m}$ , tandis que ceux avec un diamètre interne supérieur à 100 ou 150  $\mu\text{m}$  sont appelés *larges microvaisseaux artériels* ou *petites artères*.<sup>27</sup>

Les microvaisseaux coronaires jouent un rôle prépondérant dans la régulation de la résistance coronaire.<sup>28-30</sup> La distribution de la résistance vasculaire a été étudiée dans le cœur *in-vivo* de chat.<sup>28, 29</sup> Tout d'abord, ils ont séparé les vaisseaux selon trois catégories, c'est-à-dire les artères de résistance (diamètre  $>$  à 170  $\mu\text{m}$ ), les microvaisseaux de résistance (diamètre  $<$  à 170  $\mu\text{m}$ ) et les veines (diamètre  $>$  à 150  $\mu\text{m}$ ).<sup>29</sup> Ils ont observé que  $68 \pm 8\%$  de la résistance vasculaire se situait dans les microvaisseaux,  $25 \pm 8\%$  dans les artères et  $7 \pm 7\%$  dans les veines. Par contre, ces résultats n'étaient pas concluants quant à l'implication exacte des différents microvaisseaux. Une étude plus approfondie a démontré que 25% de la résistance coronaire était causée par les petites artères (175 à 200  $\mu\text{m}$ ), tandis que les artérioles (75 à 130  $\mu\text{m}$ ) contribuent pour 50% de cette résistance.<sup>28</sup> L'implication des vaisseaux coronaires avec un diamètre moyen de 300  $\mu\text{m}$  est limitée à environ 6%.

Il existe donc une hétérogénéité dans la distribution des résistances à travers le lit coronaire, mais aussi entre les différentes couches myocardiques.<sup>20</sup> En effet, il a été observé que les artérioles sous-épicaudales porcines avec un diamètre de  $111 \pm 23 \mu\text{m}$  contribuaient pour 20 à 25% de la résistance vasculaire du myocarde, tandis que la participation des artérioles sous-endocardiales porcines avec un diamètre équivalent ( $96 \pm 13 \mu\text{m}$ ) était supérieure (30 à 45%). La résistance observée dans chaque artère est tributaire

de plusieurs mécanismes de régulation de la résistance vasculaire, c'est-à-dire le contrôle métabolique, l'autorégulation, le contrôle neurohumoral, le contrôle myogénique ou le contrôle par les forces de cisaillement, comme il est illustré sur la figure 1. Ces types de régulations seront brièvement discutés dans les sections subséquentes, mais la régulation neurohumorale sera approfondie puisqu'elle a été investiguée dans le cadre de ce protocole.

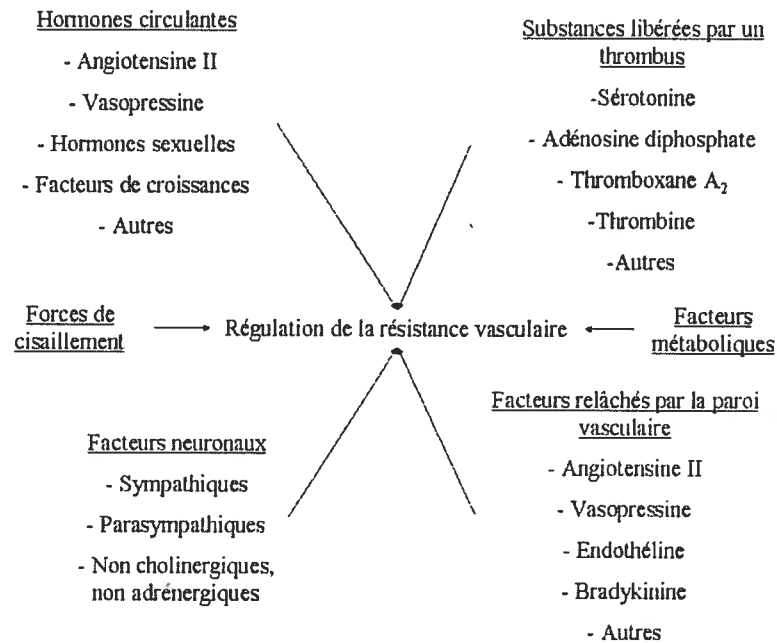


Figure 1: Différents facteurs qui influencent la régulation de la résistance coronaire.

### Contrôle métabolique

Le contrôle métabolique est représenté par une relation linéaire entre la consommation en O<sub>2</sub> et le débit coronaire.<sup>4, 31</sup> Cette régulation régit le mécanisme d'hyperémie active et réactive. L'hyperémie active est observée en tout temps chez l'être humain lors d'une augmentation de l'activité métabolique induite par exemple, lors d'un exercice ou une émotion forte.<sup>27</sup> L'hyperémie réactive quant à elle, est caractérisée par une élévation du débit coronaire qui survient lors du relâchement d'une occlusion coronaire.<sup>27</sup>

<sup>32</sup> L'implication des vaisseaux coronaires dans ce processus de régulation varie selon l'emplacement (sous-endocardique vs. sous-épicardique) et le diamètre des vaisseaux.<sup>33</sup>

### **Contrôle myogénique**

Les artères coronaires s'ajustent à des changements de la pression intraluminale grâce à la régulation myogénique induite par le muscle lisse vasculaire.<sup>34-37</sup> Ce mécanisme assure le maintien de la pression intraluminale et par le fait même, le débit coronaire.<sup>38, 39</sup> L'implication des différents vaisseaux coronaires varie selon leur diamètre et leur situation (sous-endocardique et sous-épicardique).<sup>34, 36, 37</sup>

### **Autorégulation**

Le mécanisme d'autorégulation réfère à la capacité des artères coronaires de conserver un débit coronaire stable malgré des changements de la pression de perfusion.<sup>40</sup> Ce processus de régulation induit une vasodilatation des artères coronaires lors de la diminution de la pression de perfusion et une vasoconstriction lors d'une augmentation de la pression de perfusion.<sup>41</sup>

### **Contrôle neurohumoral**

Les nerfs sympathiques, parasympathiques, non cholinergiques et non adrénergiques innervent largement les artères coronaires et les microvaisseaux.<sup>42</sup> Les neurotransmetteurs classiques relâchés par le système nerveux (la norépinéphrine [NE], l'épinéphrine [E] et l'acétylcholine [ACh]) ne sont pas les seuls médiateurs qui influencent le tonus vasculaire, puisque plusieurs facteurs humoraux sont aussi impliqués dans ce processus de régulation (figure 1).<sup>27</sup> Il existe une classification qui permet de différencier chaque type d'agent, c'est-à-dire les agents neuronaux (la NE, le NPY et l'ACh), les hormones circulantes (la vasopressine et l'angiotensine II [Ang II]), les substances libérées

par un thrombus (la 5-HT et les thromboxanes [Tx]) et les facteurs relâchés par la paroi vasculaire (l'Ang II et l'ET-1). Les facteurs étudiés dans ce travail, c'est-à-dire certains agents neuronaux (NPY), substances libérées par un thrombus (5-HT) et facteurs relâchés par la paroi vasculaire (ET-1), seront davantage développés dans les prochaines sections.

#### *Agents neuronaux –NPY–*

L'effet des agents neuronaux varie selon le diamètre et aussi la pression de perfusion présente dans l'artère comme il est présenté dans le tableau 1.<sup>43-45</sup>

Tableau 1 : Réponses vasculaires *in-vivo* hétérogènes des microvaisseaux suite à l'administration de substances endogènes

Agoniste	Modèles animaux	Petits microvaisseaux artériels	Grandes microvaisseaux artériels	Références
Stimulation $\alpha_1$ (pression de perfusion normale)	Chien	Pas de changement	Contraction	Chilian, 1991
Stimulation $\alpha_1$ (faible pression de perfusion)	Chien	Contraction	Contraction	Chilian, 1991
Stimulation $\alpha_2$ (pression de perfusion normale)	Chien	Pas de changement	Pas de changement	Chilian, 1991
Stimulation $\alpha_2$ (faible pression de perfusion)	Chien	Contraction	Pas de changement	Chilian, 1991
Neuropeptide Y	Chien	Contraction	Contraction	Komaru et al., 1990
ET-1 (application à l'adventice)	Chien	Contraction	Contraction	Lamping et al., 1992
ET-1 (injection intracoronaire)	Chien	Dilatation	Pas de changement	Lamping et al., 1992
Sérotonine	Chat	Dilatation	Contraction	Lamping et al, 1989

Petits microvaisseaux artériels: diamètre < 100 - 150  $\mu\text{m}$

Grandes microvaisseaux artériels: diamètre > 100 - 150  $\mu\text{m}$

Les références de ce tableau sont présentées à l'annexe 1.

Le NPY contient 36 acides aminés et il a d'abord été identifié dans le cerveau porcin, mais il a depuis été isolé dans d'autres espèces animales et aussi chez l'être humain.<sup>46-49</sup> Ce peptide est colocalisé avec la NE dans les neurones sympathiques et ils

sont relâchés lors d'une stimulation sympathique.<sup>46, 50, 51</sup> Toutefois, la NE est davantage libérée lors d'une stimulation électrique (faible fréquence:) des neurones du système nerveux sympathique, tandis que le NPY est sécrété préférentiellement lors d'une stimulation à haute fréquence (>10 Hz).<sup>52</sup> Les neurones du système nerveux sympathique ne sont pas la seule source de NPY, puisqu'il a été isolé dans les plaquettes sanguines et dans la glande surrénale.<sup>53-55</sup> Les fonctions de ce neuropeptide, tel qu'illustré à la figure 2, sont nombreuses. L'implication du NPY dans la régulation du tonus vasculaire par l'entremise de la vasoconstriction est certes la plus importante.

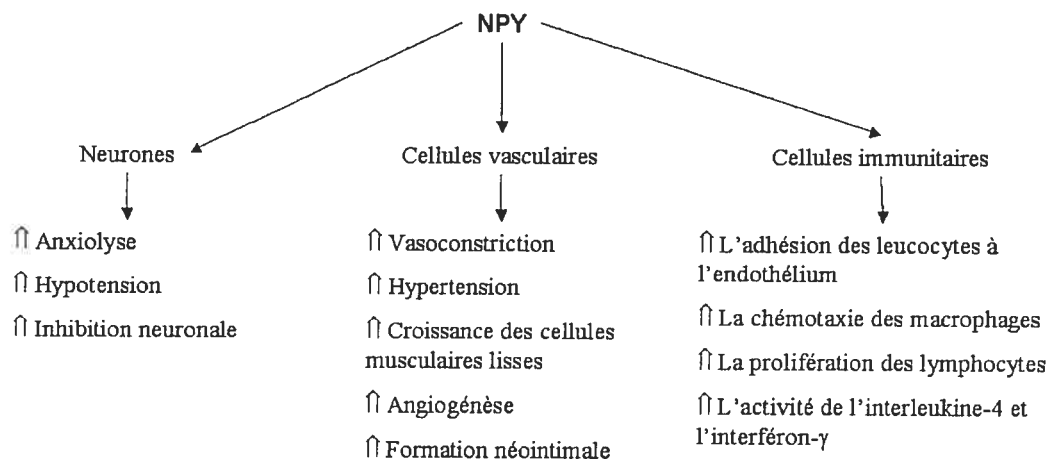


Figure 2: Effets vasculaires, neuronaux et immunitaires du NPY.

Le NPY cause une vasoconstriction des artères et des veines *in-vitro* qui varie selon le vaisseau.<sup>56-60</sup> Toutefois, il augmente davantage la résistance des petits vaisseaux coronaires épocardiques par rapport aux larges vaisseaux épocardiques.<sup>61</sup> Le NPY a aussi la capacité d'induire une vasoconstriction de la microcirculation *in-vivo*. En effet, l'administration intracoronaire du NPY cause une diminution significative du diamètre des microvaisseaux sous-épocardiques (diamètre de 71 à 237  $\mu\text{m}$ ).<sup>62</sup> Cette action peut être médiée par deux mécanismes, c'est-à-dire la potentialisation de la vasoconstriction induite par la NE ou via une action directe sur les récepteurs du NPY.<sup>52, 63-66</sup>



L'effet vasoconstricteur du NPY est médié par la voie de signalisation activée suite à la liaison du NPY sur son récepteur ( $Y_1$  à  $Y_5$ ), mais il n'y a que les récepteurs  $Y_1$  et  $Y_2$  qui sont impliqués dans la vasoconstriction du muscle lisse vasculaire.<sup>60, 65, 67-69</sup> Les voies de signalisation de ce peptide ne sont pas toutes identifiées, mais plusieurs observations suggèrent qu'elles sont toutes couplées à la protéine- $G_i$ .<sup>70-74</sup> Dans le cas des récepteurs  $Y_1$  et  $Y_2$ , l'activation de la protéine- $G_i$  supprime la production d'adénosine monophosphate cyclique grâce à l'inhibition de l'adénylate cyclase.<sup>65, 70, 74</sup> Ces récepteurs vont aussi augmenter la concentration du  $Ca^{2+}$  par la stimulation de protéine- $G_q$  et de la phospholipase C.<sup>69, 75, 76</sup>

#### *Substances libérées par un thrombus*

La formation d'un thrombus mène à la libération de plusieurs agents vasoactifs (par exemple, la 5-HT et la  $TXA_2$ ) par les plaquettes sanguines.<sup>77, 78</sup> La 5-HT est une amine formée à partir du tryptophane de notre alimentation et synthétisée par le tractus gastro-intestinal et le cerveau.<sup>79, 80</sup> Elle est relâchée dans le sang suite à sa synthèse, mais elle est rapidement emmagasinée dans les plaquettes sanguines ou dégradée par l'endothélium pulmonaire. Ainsi, la concentration plasmatique de 5-HT chez un individu sain est faible.<sup>81</sup> Par contre, l'activation des plaquettes sanguines chez un individu permet d'augmenter considérablement la concentration plasmatique de 5-HT.<sup>77, 78, 81</sup> Il est aussi possible d'observer une élévation locale de la concentration de 5-HT dans une artère coronaire avec une dénudation endothéliale et une agrégation plaquettaire.<sup>77, 78</sup> Les effets de la 5-HT sont nombreux et touchent plusieurs systèmes du corps humain, mais elles possèdent plusieurs actions vasculaires, tel que décrit dans le tableau 2.

Tableau 2: Effets physiologique de la 5-HT chez l'humain.

---

Vasoconstriction
Vasodilatation
Potentialisation des médiateurs vasoconstricteurs
Augmentation de l'inotropie
Augmentation de la chronotropie
Augmentation de la motilité du tractus gastro-intestinal
Régulation du sommeil
Augmentation de la viscosité sanguine
Augmentation du volume d'éjection
Augmentation de la pression pulmonaire
Augmentation du débit sanguin

---

L'effet vasculaire de la 5-HT dépend du vaisseau ciblé et l'état de son endothélium. Elle induit une vasodilatation des petites artères coronaires, des microvaisseaux et des veines de plusieurs espèces animales en conditions saines.<sup>82-85</sup> L'action de la 5-HT au niveau des microvaisseaux peut toutefois varier selon le diamètre du vaisseau. En effet, l'administration de 5-HT dans l'oreillette gauche du chat (modèle *in-vivo*) cause une dilatation des microvaisseaux épocardiques avec un diamètre inférieur à 90  $\mu\text{m}$  et une contraction des microvaisseaux épocardiques avec un diamètre supérieur à 90  $\mu\text{m}$ .<sup>85</sup> La présence de différents récepteurs pourrait être la cause de l'effet vasoactif différent observé dans ces deux types de microvaisseaux. Toutefois, ceci n'est qu'une hypothèse puisque cette affirmation n'a pas encore été investiguée. Ces changements sont accompagnés d'une diminution de la résistance coronaire totale. La 5-HT induit aussi une vasodilatation des larges microvaisseaux (diamètre entre 190 et 350  $\mu\text{m}$ ) qui est associée à une augmentation du débit coronaire épocardique.<sup>84</sup>

La vasodilatation induite par cette amine est causée par différents mécanismes. Tout d'abord, cette vasodilatation découle de la synthèse d'oxyde nitrique (NO), qui est probablement produit suite à la stimulation du récepteur 5-HT<sub>1D</sub> et 5HT<sub>2B</sub>.<sup>86-90</sup>

La vasodilatation causée par la 5-HT dans un modèle sain fait place à une vasoconstriction des artères coronaires épocardiques et des collatérales de plusieurs espèces animales et même chez l'humain avec une pathologie cardiovasculaire.<sup>91-97</sup> L'intensité de cette vasoconstriction est inversement proportionnelle au diamètre de l'artère épocardique, mais elle disparaît dans les artères épocardiques canines avec un diamètre de 0,5 à 1,0 mm.<sup>98</sup> L'importance de la vasoconstriction induite par la 5-HT dans un modèle pathologique a été démontrée à l'aide du modèle de Folts. Ce modèle permet de reproduire le processus d'activation plaquettaire suite à un dommage endothélial. L'activation plaquettaire dans ce modèle cause une occlusion progressive de l'artère coronaire. Cette occlusion est toutefois contrée lors de l'utilisation d'un antagoniste des récepteurs à la 5-HT.<sup>77, 99-103</sup>

L'administration de ce peptide dans un modèle animal sain cause une diminution du diamètre des artères épocardiques accompagnée d'une augmentation importante du débit coronaire, ce qui est sûrement causée par la dilatation des microvaisseaux coronaires.<sup>84, 85, 104, 105</sup> La présence de caractéristiques cliniques associées à une pathologie cardiovasculaire (la dénudation d'une artère, l'inhibition de la production de NO ou une alimentation riche en cholestérol) modifient l'effet vasculaire de la 5-HT.<sup>91, 93, 94, 96, 97</sup> Ces situations induisent une potentialisation de l'effet vasoconstricteur de la 5-HT au niveau de l'artère épocardique. Elles modifient aussi l'action sur le débit coronaire puisque l'élévation de celui-ci peut parfois être accentuée ou être remplacée par une réduction dans la majorité des cas.<sup>104-107</sup>

L'effet vasculaire de la 5-HT chez des patients avec une pathologie cardiovasculaire a été déterminé grâce à l'administration intracoronaire de ce peptide lors d'une angioplastie coronarienne ou d'une angiographie. L'amplitude de la vasoconstriction observée chez les patients dépendait de la sévérité de la pathologie. En effet, il a été démontré que la vasoconstriction occasionnée par l'injection de la 5-HT était présente principalement, par ordre d'importance, chez les patients avec de l'angine de Prinzmetal, chez les patients avec de l'angine stable et pour finir chez les patients avec des douleurs atypiques.<sup>108</sup> De plus, la vasoconstriction induite par ce peptide était supérieure au site de l'angioplastie coronarienne par rapport au segment sain.<sup>109</sup>

L'effet vasoconstricteur est induit par l'activation des récepteurs 5-HT<sub>1B</sub> et 5-HT<sub>2A</sub>.<sup>95, 110-113</sup> Il semble que le récepteur 5-HT<sub>1B</sub> induit une vasoconstriction grâce à l'inhibition de l'adénylate cyclase, qui est probablement causée par le couplage du récepteur à la protéine-G<sub>i</sub>.<sup>110</sup> Le récepteur 5-HT<sub>2A</sub> quant à lui, causerait une vasoconstriction par l'entremise de l'inhibition du canal sodium Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase.

#### *Facteurs relâchés par la paroi vasculaire*

L'endothélium relâche plusieurs substances vasoactives et l'une d'entre elles est l'ET-1.<sup>27</sup> Ce peptide est produit par les cellules musculaires lisses, le cœur, les reins, le système nerveux central et certaines cellules situées dans la plaque athérosclérotique.<sup>114, 115</sup> La concentration plasmatique d'ET-1 est très faible chez un adulte sain puisque ce peptide est majoritairement sécrété du côté basal de la cellule endothéliale, c'est-à-dire vers les cellules musculaires lisses.<sup>116</sup> Cependant, il existe plusieurs situations qui stimulent la production d'ET-1, dont l'hypoxie.<sup>117</sup> Les effets de l'ET-1 illustrés à la figure 3 sont majeurs et touchent plusieurs systèmes, mais il n'y a que les effets vasculaires qui seront abordés dans les prochains paragraphes.

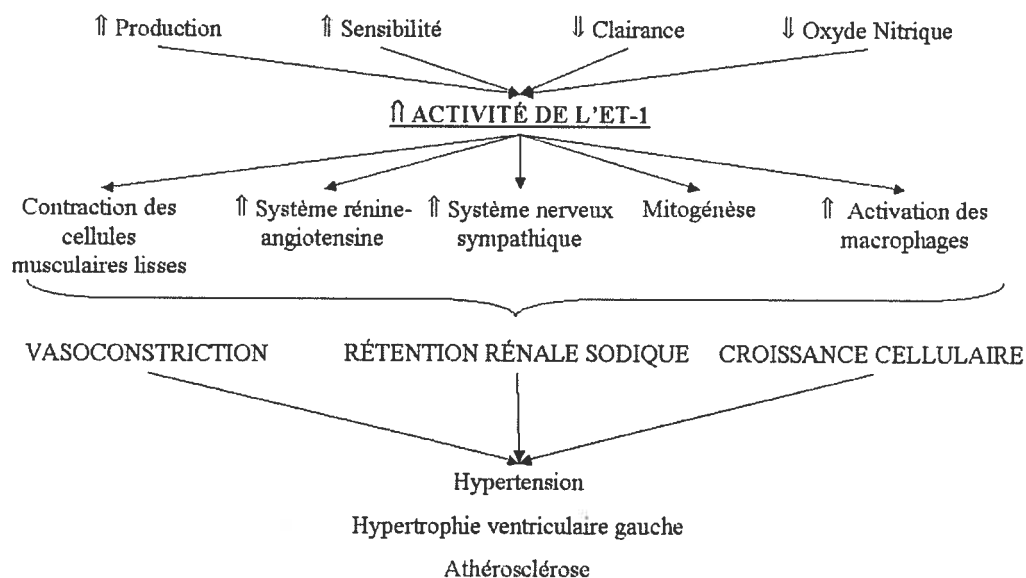


Figure 3: Effets potentiels de l'ET-1 qui mène au développement de l'hypertension, d'une hypertrophie ventriculaire et de l'athérosclérose.

L'ET-1 induit *in-vitro* une vasoconstriction des vaisseaux de plusieurs espèces différentes, qui est représentée par une courbe dose-réponse.<sup>118-122</sup> Au niveau des artères coronaires épiscopiques, la vasoconstriction est inversement proportionnelle à son diamètre.<sup>123-126</sup> La réponse vasoconstrictrice est accentuée suite à la dénudation de l'artère ou l'administration d'un inhibiteur de la synthèse de NO.<sup>127-129</sup>

L'infusion intracoronaire d'ET-1 dans un modèle *in-vivo* (chien ou cochon) anesthésié induit une diminution du débit coronaire accompagnée d'une réduction du diamètre interne de l'artère épiscopique.<sup>130-132</sup> Cette réduction du débit coronaire peut parfois être précédée d'une augmentation du débit coronaire qui est probablement causée par l'accroissement des forces de cisaillement lors de l'administration d'un bolus.<sup>133-136</sup> L'effet vasculaire de l'ET-1 au niveau de la microcirculation varie selon le diamètre du

vaisseau. Les premières études effectuées sur ce sujet suggéraient que l'infusion intracoronaire d'ET-1 causait une vasoconstriction des petits vaisseaux coronaires.<sup>131</sup> Cette hypothèse a été émise grâce à l'observation que l'injection intracoronaire d'ET-1 causait une diminution du débit coronaire sans changement du diamètre de l'artère épicaudique.<sup>131, 137</sup> Cette théorie a été contredite par les résultats de Lamping et al. En effet, ils ont démontré que l'injection intracoronaire de ce peptide provoquait une dilatation des artérioles (diamètre < à 130  $\mu\text{m}$ ) et une légère contraction des larges microvaisseaux (diamètre > à 130  $\mu\text{m}$ ).<sup>138</sup>

La réponse vasculaire de l'ET-1 est induite suite à sa liaison avec l'un de ses récepteurs (ET<sub>A</sub> ou ET<sub>B</sub>) (figure 4).<sup>139</sup>

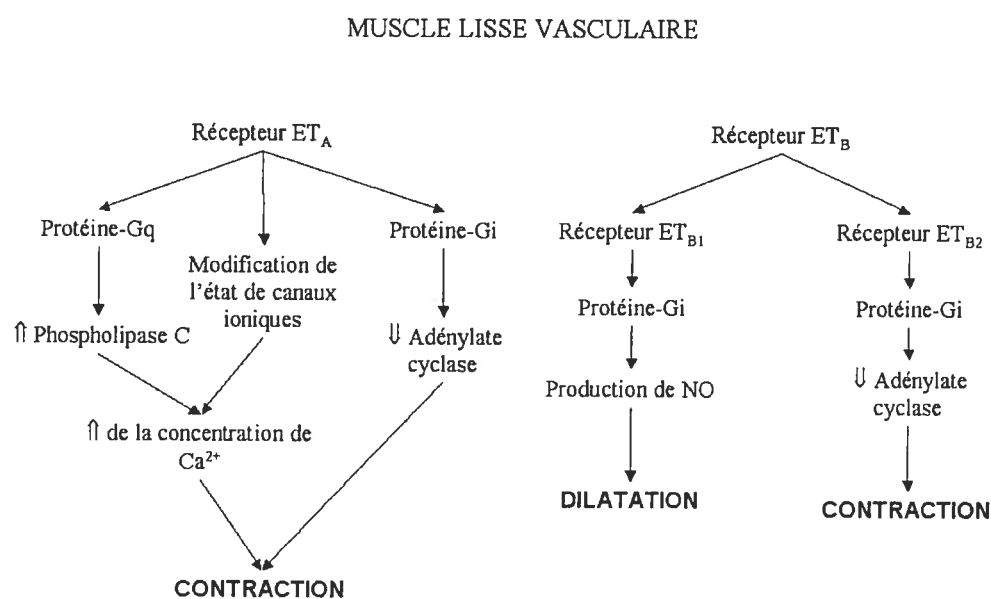


Figure 4: Réponses vasculaires de l'ET-1 suite à la liaison du peptide avec l'un de ces récepteurs.

La voie de signalisation et les médiateurs impliqués dans ce processus dépendent évidemment du récepteur stimulé, mais aussi de l'emplacement de ce récepteur, dans le cas

du récepteur ET<sub>B</sub>.<sup>139, 140</sup> Tout d'abord, le récepteur ET<sub>A</sub> est situé sur le muscle lisse vasculaire et induit une contraction de celui-ci.<sup>141</sup> Les voies de transduction de ce récepteur sont multiples et découlent de l'activation de la protéine-G<sub>q/11</sub>.<sup>140, 142</sup> Cette protéine active entre autres la phospholipase C qui stimule ensuite la production de diacylglycérol et d'inositol triphosphate et certains canaux ou échangeurs.<sup>141, 143-145</sup> Le récepteur ET<sub>B</sub> a la capacité d'induire une vasoconstriction ou une vasodilatation selon son emplacement.<sup>139</sup> Le récepteur ET<sub>B2</sub> situé sur le muscle lisse vasculaire est couplé à une protéine G<sub>i</sub> qui déclenche la contraction du muscle lisse vasculaire grâce à l'inhibition de l'adénylate cyclase.<sup>146, 147</sup> Le récepteur ET<sub>B1</sub> endothélial va, quant à lui, provoquer la vasodilatation du muscle lisse vasculaire.<sup>147</sup> Ce récepteur est lui aussi couplé à une protéine G<sub>i</sub>, mais dans ce cas les sous-unités βγ vont stimuler la production de NO.<sup>148</sup> Toutefois, la prédominance du récepteur ET<sub>A</sub> dans les vaisseaux permet d'observer majoritairement leur vasoconstriction, mais il peut y avoir des variations selon le mode d'injection.<sup>149, 150</sup>

### **Régulation par les forces de cisaillement**

L'augmentation des forces de cisaillement cause la vasodilatation des artères coronaires avec un endothélium sain lors d'une augmentation du débit coronaire sans changement de la pression.<sup>151-153</sup> L'augmentation des forces de cisaillement lors d'une élévation du débit coronaire induit une vasodilatation qui est causée par la relaxation du muscle lisse vasculaire dépendante de l'endothélium (NO).<sup>151, 154</sup> Les cellules endothéliales perçoivent l'augmentation des forces de cisaillement grâce à des mécanorécepteurs. Ces récepteurs vont activer une voie de signalisation qui produit le NO. L'importance de ce mécanisme de régulation varie selon le diamètre des vaisseaux coronaires.<sup>152</sup>

### **Intégration des résistances vasculaires dans la microcirculation coronaire**

Les différents mécanismes de régulation interagissent (positivement ou négativement) pour assurer un contrôle adéquat du débit coronaire, et ce en tout temps.

L'interaction entre les différents mécanismes de régulation varie selon le diamètre des vaisseaux coronaires, ce qui permet d'observer une régulation de la résistance coronaire selon plusieurs microdomaines.<sup>23, 155</sup>

Ce chapitre illustre bien la complexité de l'arbre coronaire artériel. Tout d'abord, la localisation des artères sous-endocardiques diminue la capacité de celles-ci à résister à l'ischémie comparée aux artères sous-épicardiques. Par la suite, les artères coronaires sont contrôlées par différents mécanismes de régulation qui interagissent ensemble. Un bref survol a permis de mettre en contexte chacun de ces mécanismes, mais une emphase a été mise sur le contrôle neurohumoral. Ce mécanisme de régulation peut avoir un impact important lors d'une pathologie puisque la libération des agents n'est plus régulée et ils ont un effet vasculaire souvent prononcé.



## Chapitre 2: Ischémie myocardique

Une ischémie survient lorsqu'il y a un déséquilibre entre l'apport et la consommation en O<sub>2</sub>, qui est en général causé par un apport sanguin insuffisant face à la demande. Il existe deux situations typiques qui induisent une ischémie: 1. une augmentation de la demande en O<sub>2</sub> sans changement de l'apport sanguin; 2. une diminution de l'apport sanguin sans altération du métabolisme cardiaque. Dans ces deux cas, l'apport sanguin inadéquat est causé par une sténose, c'est-à-dire une diminution du diamètre d'une ou plusieurs artères coronaires. La sténose coronaire est causée par la présence d'une plaque athérosclérotique, d'un spasme, d'une agrégation plaquettaire ou d'un thrombus.<sup>5</sup>

Ce chapitre portera sur les causes et l'impact d'une sténose coronaire généralement induite par la présence d'athérosclérose. L'athérosclérose est une pathologie multifactorielle qui implique plusieurs processus qui peuvent avoir un impact important sur l'ischémie myocardique. La sténose induite par la plaque provoque un déséquilibre entre l'apport et la consommation d'O<sub>2</sub>, mais les facteurs libérés suite à la rupture d'une plaque pourraient aussi être en causes. Ces mécanismes ischémiques jouent un rôle dans le développement des pathologies cardiovasculaires qui peuvent être diagnostiquées à l'aide de différents outils.

### 2.1 Caractéristiques d'une sténose coronaire

La présence d'une sténose dans une artère coronaire a un impact sur le débit qui varie selon ses caractéristiques.<sup>5, 156</sup> Tout d'abord, elle ne cause pas une diminution linéaire du débit coronaire au repos.<sup>157, 158</sup> En effet, une sténose locale supérieure à 80% est nécessaire pour provoquer une diminution du débit coronaire de base.<sup>157, 158</sup>

La présence d'une sténose supérieure à 45% cause par contre une diminution de la vasodilatation maximale obtenue suite à l'administration d'un vasodilatateur.<sup>157, 158</sup> Cette relation entre la taille de la sténose et la diminution du débit qu'elle occasionne est applicable seulement lorsque deux conditions sont remplies, c'est-à-dire que la lésion est symétrique et que les segments proximal et distal à la sténose sont sains.<sup>156</sup> Toutefois, ces exigences sont rarement respectées chez l'humain, puisque la géométrie de la lésion varie et que l'état de l'artère en positions distale et proximale à la lésion est rarement évaluable.<sup>159, 160</sup> L'effet de la sténose sur le débit coronaire est aussi tributaire de sa longueur. La présence d'une sténose fixe de moins de 90% du diamètre initial du vaisseau, cause une diminution du débit coronaire qui est proportionnelle à sa longueur (figure 5).<sup>157, 161</sup>

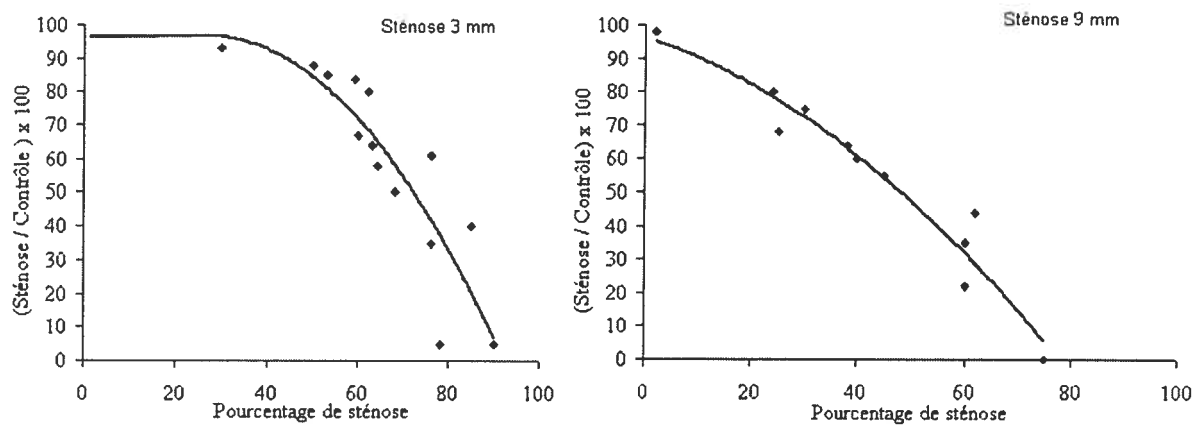


Figure 5: Effets d'une sténose coronaire de diamètre croissant d'une longueur de 3 ou 9 mm sur la réponse hyperémique.

Il est essentiel de souligner que l'effet de plusieurs sténoses coronaires n'est pas égale à la somme de celles-ci, tel qu'illustré à la figure 6.<sup>157, 162</sup> En effet, si on ajoute une sténose proximale (courbe du milieu) à une sténose distale existante (courbe supérieure), il est possible d'observer que le ratio du débit coronaire hyperémique moyen / débit coronaire

moyen au repos diminue plus rapidement qu'en absence d'une sténose proximale. Toutefois, l'effet des deux sténoses n'est pas additif.

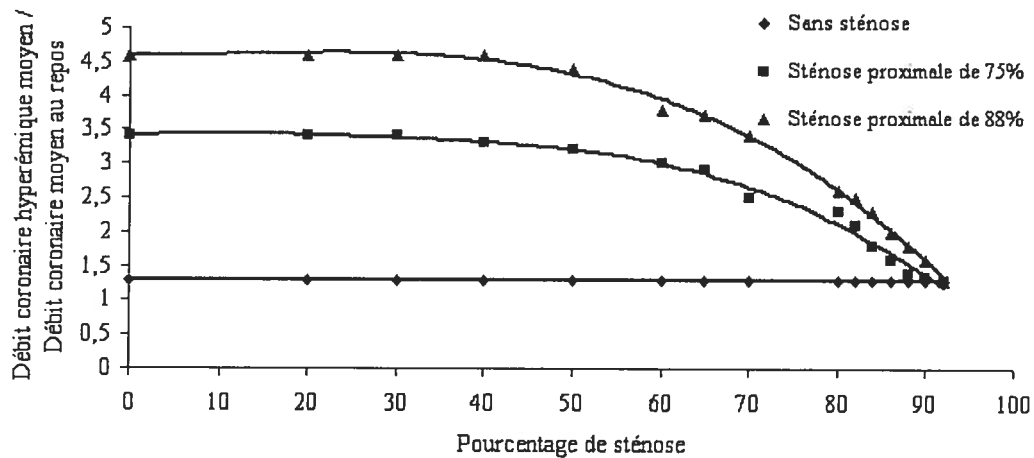


Figure 6: Réponse hyperémique observée dans un vaisseau avec une lésion distale croissante avec ou sans sténose proximale. La sténose proximale est de 75% ou 88% du diamètre de l'artère.

### 2.1.1 Athérosclérose

L'athérosclérose est une maladie dégénérative qui se développe lentement et cause une sténose de l'artère coronaire. Cette pathologie est détectée seulement lorsque la lésion devient importante et qu'elle cause une ischémie au niveau du myocarde, du cerveau ou des membres. Cette maladie serait déclenchée suite à une dysfonction endothéliale, c'est-à-dire une perte de fonctions des cellules endothéliales.<sup>163</sup> Cette dysfonction se manifeste par la diminution des mécanismes compensatoires vasodilatateurs et antithrombotiques observés lors des processus homéostatiques. Les causes possibles de cette dysfonction sont nombreuses, par exemple une concentration élevée des lipoprotéines de faible densité (LDL) oxydées, la présence de radicaux libres induits par la cigarette, l'hypertension, le

diabète, une altération génétique, une concentration élevée d'homocystéine et une infection par un microorganisme (*Chlamydia pneumonia*).

### **Formation de la plaque athérosclérotique**

La dysfonction endothéliale cause d'abord une accumulation des LDL dans l'intima qui est proportionnelle à sa concentration circulante (figure 7; *étape 1*).<sup>164, 165</sup> La rétention des LDL dans la paroi vasculaire nécessite leur interaction avec les lipoprotéines et les protéoglycanes de la matrice, ce qui forme des agrégats dans la paroi vasculaire. Cette liaison favorise l'oxydation des LDL (*étape 2*).<sup>166</sup> La présence de LDL oxydées et la production de molécules pro-inflammatoires, telles que des molécules d'adhésion et des facteurs de croissance stimulent le recrutement de monocytes (macrophages) et de lymphocytes (*étape 3*).<sup>163-165</sup> En condition saine l'endothélium empêche l'entrée des cellules inflammatoires, mais la dysfonction endothéliale observée dans l'athérosclérose permet maintenant l'entrée de ces cellules dans la paroi vasculaire (*étape 4*).<sup>165</sup> Lorsque les macrophages pénètrent dans celle-ci, ils captent une quantité de LDL oxydée supérieure à leur besoin, ce qui leur permet de se transformer en cellules spumeuses (*étape 5*).<sup>163-165</sup>

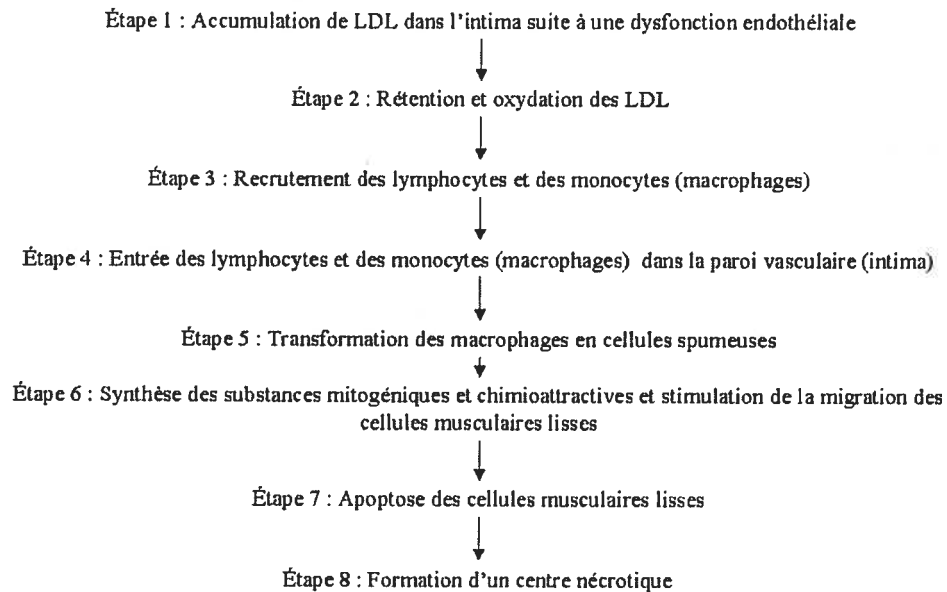


Figure 7 : Évolution schématisée de la plaque athérosclérotique.

La transformation des macrophages induit la synthèse de substances mitogéniques et chimioattractives qui stimulent la migration des cellules musculaires lisses de la média vers l'intima et la réplication des macrophages et des cellules musculaires lisses (*étape 6*).<sup>165, 167</sup> Ainsi, la plaque prend de l'expansion grâce à la formation de la matrice extracellulaire favorisée par la mitose des cellules musculaires lisses. Pour finir, le développement de cette plaque conduit à la création du centre nécrotique qui découle de l'apoptose des macrophages et des cellules musculaires lisses (*étapes 7 et 8*).<sup>165, 168, 169</sup>

### Implication des substances vasoactives

Plusieurs substances endogènes telles que la 5-HT, le NPY et l'ET-1 sont impliquées dans la formation des lésions athéromateuses. Par exemple, ces agents stimulent directement ou indirectement la migration ou la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, ce qui facilite la progression de la lésion.<sup>170-174</sup>

Le rôle de la 5-HT a été investigué par Hayashi et al. chez des lapins avec des lésions athéromateuses développées grâce à une alimentation riche en cholestérol sur une période de 3 mois.<sup>175</sup> L'utilisation d'un inhibiteur des récepteurs 5-HT<sub>2A</sub> a permis de diminuer l'aire de ces lésions. Cet antagoniste a aussi eu la propriété de diminuer la place occupée par les macrophages dans la lésion et de réduire leur activité sécrétrice.<sup>175</sup>

Aucune étude sur l'influence de l'ET-1 lors du développement de l'athérosclérose n'a été effectuée, mais plusieurs données suggèrent son implication. Tout d'abord, les vaisseaux avec une plaque d'athérosclérose ont une concentration d'ET-1 et de son acide ribonucléique messenger proportionnelle à l'état clinique du patient (angine stable < angine instable).<sup>115, 176-178</sup> Ce peptide peut être sécrété dans la plaque grâce aux macrophages ou dans la circulation sanguine suite à l'application d'une force sur la plaque (lors d'une angioplastie coronaire, par exemple).<sup>115, 177, 179-181</sup>

### **Vulnérabilité de la plaque athérosclérotique**

Le développement et la progression ne s'arrêtent pas lorsque la plaque athérosclérotique est formée, mais continue pour modifier la composition et la taille de celle-ci. Plusieurs changements observés à l'intérieur de la plaque diminuent sa stabilité et fait en sorte qu'elle devient vulnérable, ce qui augmente les risques de rupture.<sup>182</sup> La rupture d'une plaque athérosclérotique cause la libération du contenu de celle-ci (l'ET-1, par exemple), ce qui peut influencer la régulation de la circulation coronaire. Les facteurs qui favorisent la rupture de la plaque sont nombreux, par exemple :

- une concentration lipidique élevée<sup>183-187</sup>
- une capsule fibreuse mince<sup>183, 185, 186</sup>
- la présence de tensions sur les parois de la plaque<sup>183, 188</sup>
- réactions inflammatoires dans la plaque et la quantité de macrophages<sup>183, 185</sup>

### 2.1.2 Athérosclérose et thrombose

La présence d'un bris ou d'une érosion dans la capsule protectrice de la plaque induit l'activation plaquettaire et stimule la formation d'un thrombus.<sup>189-191</sup> Cette étape est stimulée par les composantes internes de la plaque qui sont hautement thrombogènes (la concentration lipidique, par exemple) et qui sont maintenant exposées aux cellules sanguines.<sup>186, 191</sup> L'activation des plaquettes sanguines peut influencer l'état contractile des vaisseaux grâce à la libération de plusieurs substances vasoconstrictrices.<sup>192</sup> En effet, la présence d'un bris dans la capsule de la plaque est accompagnée d'une réduction du débit coronaire et une élévation de la résistance distale à la sténose.

Il a été démontré que la présence d'une sténose mécanique au niveau de la LCx ne causait aucune modification des paramètres hémodynamiques enregistrés dans les territoires sain et ischémique.<sup>193</sup> Toutefois, l'induction d'une thrombose dans une artère causait un changement des paramètres hémodynamiques (diminution du débit coronaire et de la pression de perfusion et augmentation de la résistance coronaire) dans les régions saine et ischémique.<sup>193, 194</sup> Cette observation souligne l'importance des substances vasoactives libérées par la plaque.

### 2.1.3 Athérosclérose et spasme coronaire

La sténose coronaire induite par la présence d'une plaque athérosclérotique peut être accentuée par un vasospasme situé au niveau de l'artère coronaire.<sup>195</sup> Le vasospasme est défini comme étant une vasoconstriction intense, focale et réversible d'une artère coronaire épicaudique.<sup>196</sup> Certaines observations suggèrent que la microcirculation et / ou les artères intramurales (spasme microvasculaire) pourraient aussi développer un spasme dans différents types d'ischémies myocardiques (angine de Prinzmetal et angine instable).<sup>197-200</sup>

Le vasospasme est souvent accompagné de symptômes cliniques de l'ischémie myocardique, tels que les douleurs à la poitrine et les changements à l'ECG.<sup>201-203</sup>

Les causes de ce phénomène demeurent inconnues à ce jour, mais certains mécanismes potentiels, tels que la dysfonction endothéliale, la variation du tonus autonome, l'inflammation et l'hypercontractilité du muscle lisse vasculaire ont été suggérés.<sup>196</sup> La dysfonction endothéliale et l'inflammation stimulent l'apparition d'un spasme coronaire accompagné de signes ischémiques, grâce à la potentialisation de certains agents vasoconstricteurs, tels que la 5-HT et l'ACh.<sup>204-207</sup> Ces facteurs semblent donc être à l'origine de l'hyperactivité du muscle lisse vasculaire.<sup>208</sup>

## 2.2 Manifestations cliniques

La première manifestation clinique de l'ischémie myocardique est l'apparition de douleurs à la poitrine.<sup>209-211</sup> Ces douleurs sont en général la cause première de consultation médicale pour les maladies cardiovasculaires et elles sont habituellement décrites comme une pression ou un inconfort localisés près du sternum, au niveau du cou, de l'épaule ou du bras gauche.<sup>209</sup> La fréquence des douleurs à la poitrine des patients angineux est positivement corrélée à la sévérité de la maladie coronaire observée par angiographie.<sup>212</sup> Toutefois, ces douleurs ne sont pas seulement des symptômes de maladies cardiovasculaires.<sup>213, 214</sup> En effet, les douleurs à la poitrine peuvent être présentes dans d'autres états cliniques et il est donc difficile de leur attribuer une origine cardiaque sans effectuer d'autres examens.<sup>213</sup>

L'ischémie myocardique peut être représentée par un spectre qui débute avec l'angine stable, se termine avec l'IM, en passant par l'angine instable. Ce portrait de



l'ischémie myocardique permet de visualiser l'aggravation de la maladie coronaire en relation avec la gravité de la lésion athérosclérotique.<sup>202</sup>

### **Angine stable**

L'angine stable est observée chez les patients avec une sténose coronaire et une élévation du métabolisme cardiaque induite par un exercice physique, une émotion forte ou un stress important.<sup>195, 214</sup> Les patients avec cette pathologie peuvent avoir une maladie coronaire simple ou multiple.<sup>215</sup> La ou les plaques athérosclérotiques présentes dans les artères causent, en général, des sténoses de plus de 70% individuellement.<sup>214</sup> Les plaques athérosclérotiques présentes chez les patients avec de l'angine stable sont généralement plus stables que celles chez les patients avec angine instable, mais elles sont quand même vulnérables et peuvent se rompre.<sup>215, 216</sup>

## Syndrome coronarien aigu (SCA)

Le SCA est associé aux pathologies qui démontrent les signes et les symptômes de l'ischémie myocardique aigu, c'est-à-dire l'angine instable, l'IM sans élévation du segment ST (NSTEMI) et l'IM avec une élévation du segment ST (STEMI).<sup>217, 218</sup> Ces maladies cardiovasculaires sont très différentes au niveau des caractéristiques pathologiques, mais elles découlent d'un bris ou de l'érosion de la plaque athérosclérotique (figure 8).<sup>211, 218-220</sup>

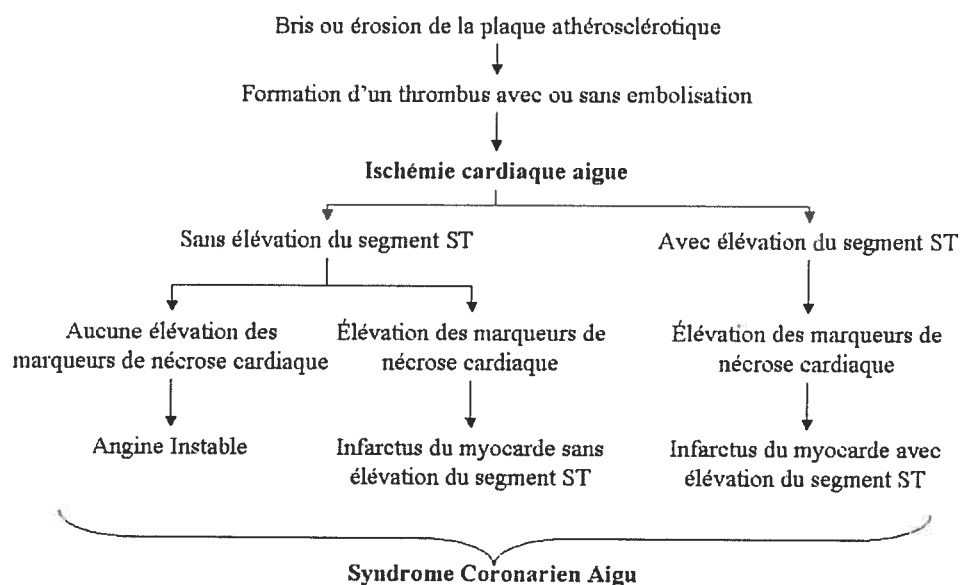


Figure 8: Différentes manifestations cliniques du SCA selon les changements ECG et les modifications des marqueurs biochimiques.

### *Angine instable*

L'apparition de l'angine instable constitue la porte d'entrée vers un état pathologique instable.<sup>219</sup> Les patients qui souffrent de cette maladie présentent des douleurs angineuses qui durent généralement moins de 20 minutes et qui répondent à l'un de ces critères: apparition de douleurs sévères pour la première fois, survenue de ces

douleurs au repos ou lors d'un exercice minimal, douleurs sévères qui surviennent avec une intensité, une durée ou une fréquence augmentées dans le dernier mois.<sup>209</sup>

Les causes de l'angine instable sont multiples, soit la thrombose, l'obstruction mécanique (plaque athérosclérotique), l'obstruction dynamique (spasme coronaire), l'augmentation de la consommation en O<sub>2</sub> (angine secondaire) et l'inflammation.<sup>221</sup> L'obstruction dynamique concerne le vasospasme puisqu'il n'est pas toujours dans l'artère coronaire, tandis que l'occlusion mécanique est continuellement présente et elle produite par une plaque d'athérosclérose.

#### *NSTEMI et STEMI*

Les patients avec un STEMI ou un NSTEMI sont des patients qui ont un IM avec ou sans sus-décalage du segment ST. L'IM n'est pas causé par la formation lente et graduelle d'une plaque athérosclérotique, mais plutôt par la rupture soudaine d'une plaque qui mène à l'occlusion rapide du vaisseau coronaire grâce à la formation d'un thrombus important.<sup>222</sup> L'ischémie prolongée induite par l'occlusion d'une artère coronaire cause la mort cellulaire des myocytes qui est détectée par la présence de marqueurs biochimiques et aussi par des techniques d'imagerie.

#### **Angine de Prinzmetal**

Il existe un quatrième type d'ischémie myocardique, c'est-à-dire l'angine de Prinzmetal ou l'angine vasospastique. Ce type d'ischémie myocardique survient au repos, comme dans le cas du SCA, mais il est causé par un vasospasme épicaordique.<sup>195, 197-200</sup> Tout d'abord, les artères épicaordiques associées à un spasme chez les patients avec de l'angine de Prinzmetal sont généralement des artères coronaires saines ou avec une ou des sténoses inférieures à 50%.<sup>205, 216, 223</sup> La reproduction d'un vasospasme s'effectue par l'administration de substances vasoactives (ACh) qui créent une vasoconstriction coronaire

sévère. Cette méthode permet de recréer le vasospasme dans une artère épigardique de patients avec de l'angine de Prinzmetal.<sup>201, 202, 205, 223</sup> Toutefois, certains patients développent des signes évidents d'ischémie myocardique (ECG, douleurs angineuses et production de lactates) sans changement du diamètre de l'artère épigardique.<sup>199, 200</sup> Ainsi, il est possible que cette ischémie myocardique soit induite par un spasme microvasculaire, mais il n'existe aucun moyen pour vérifier cette hypothèse.<sup>198-200</sup> Ce mécanisme semble plausible puisque l'administration de certains agents vasoconstricteurs (NPY) cause une contraction des microvaisseaux et induit ainsi une ischémie myocardique.

### 2.3 Diagnostic clinique

L'ECG est un outil diagnostique important qui permet d'évaluer l'état du patient.<sup>224</sup> Les patients avec des douleurs ou un inconfort à la poitrine doivent avoir un enregistrement de leur ECG dans les minutes qui suivent leur admission à l'hôpital pour améliorer l'accessibilité au traitement. Les patients identifiés comme étant à risque moyen ou élevé de souffrir du SCA vont aussi subir des examens pour la détection de marqueurs biochimiques, tels que la troponine T, la troponine I et la créatine kinase isoenzyme MB. La présence de ces biomarqueurs est un indicateur important de la présence du SCA. Les patients avec un faible risque de diagnostic de SCA et un ECG normal au repos, vont subir une investigation supplémentaire, c'est-à-dire un examen à l'effort avec l'enregistrement d'un ECG. Des tests complémentaires (échocardiographie, scintigraphie et angiographie) peuvent être réalisés chez les patients avec de l'ischémie myocardique pour identifier la présence d'une anomalie dans la contraction de la paroi du ventricule ou l'étendue d'une maladie coronaire.<sup>224</sup> Une attention particulière sera accordée à l'ECG et l'échocardiographie de contraste puisque ces deux techniques sont utilisées dans le cadre de ce projet de recherche.

### 2.3.1 ECG au repos

L'ECG est représenté, chez un humain sain, par une onde P, un complexe QRS, un segment ST isoélectrique et une onde T (figure 9). L'ischémie myocardique est rapidement reflétée par un changement du segment ST par rapport à la ligne de base isoélectrique, c'est-à-dire un abaissement (sous-décalage) ou une élévation (sus-décalage) du segment ST.<sup>225</sup> Une évaluation rapide de l'ECG des patients avec des douleurs à la poitrine et un SCA est essentielle pour le diagnostic et le traitement de ces patients.<sup>224</sup> L'association des changements ECG et des facteurs de risque pour les maladies cardiaques permet d'estimer le risque des patients de subir des événements cardiovasculaires.<sup>226</sup>

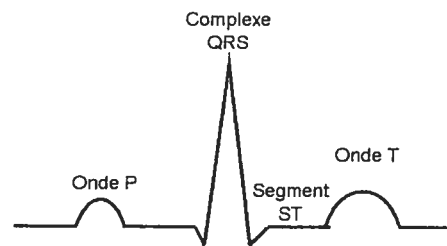


Figure 9: Ondes et intervalles d'un ECG normal.

L'ECG au repos des patients avec de l'angine stable démontre qu'environ 50 à 60% ou même 90% des patients ont un ECG normal.<sup>227-229</sup> Les changements ECG associés à l'ischémie sont divers, c'est-à-dire une inversion de l'onde T, un changement du complexe QRS et un changement du segment ST.<sup>228, 229</sup> Toutefois, le sous-décalage du segment ST est la manifestation principale ou secondaire la plus observée chez les patients avec de l'angine stable.<sup>228, 229</sup> Les patients avec de l'angine instable sont victimes des mêmes changements ECG que ceux observés lors de l'angine stable, mais en général la proportion de patient avec un ECG sain est beaucoup plus faible.<sup>230</sup> L'enregistrement continu de l'ECG des patients avec de l'angine instable a démontré que 56% des patients avaient un changement de l'ECG associé à une ischémie myocardique, 64% d'entre eux avaient un

sous-décalage du segment ST, 23% avaient un sus-décalage du segment ST et les autres patients (13%) avaient les deux manifestations ECG. La durée moyenne de ces changements ECG était de 91 minutes.<sup>231</sup>

Une étude a observé les changements ECG chez des patients souffrant du syndrome coronarien sans élévation du segment ST (NSTE SCA) accompagné d'un épisode ischémique durant les dernières 24 heures.<sup>230</sup> Ils ont divisé leur patients en 5 groupes, c'est-à-dire ceux avec un sus-décalage du segment ST (17%), ceux avec un sous-décalage du segment ST (12%), ceux avec une inversion de l'onde T (34%), ceux qui n'ont pas eu de changement à l'ECG (28%) et ceux qui avaient un ECG impossible à évaluer (10%). D'autres études ont démontré que le sous-décalage du segment ST était la manifestation ECG la plus fréquemment recensée chez ces patients.<sup>232-240</sup>

Pour finir, il est possible d'observer un sous ou un sus-décalage du segment ST lors d'un test de provocation d'un vasospasme chez les patients avec de l'angine de Prinzmetal. Le sus-décalage du segment ST est induit lorsqu'un vasospasme épicaordique est créé.<sup>205, 223</sup> Lorsque le test de provocation d'un vasospasme n'induit pas de changement du diamètre de l'artère coronaire épicaordique il peut être accompagné d'angine et d'un sous-décalage du segment ST.<sup>198-200</sup> Comme il a été discuté précédemment, l'hypothèse acceptée pour expliquer cette ischémie est la présence d'un spasme au niveau de la microcirculation ou d'une vasodilatation insuffisante.

### 2.3.2 Échocardiographie de contraste

L'échocardiographie de contraste est une méthode non-invasive qui est utilisée pour déterminer la perfusion myocardique.<sup>241</sup> L'évaluation quantitative de la perfusion myocardique s'effectue par l'entremise de l'administration intraveineuse d'un agent de

contraste qui est composé de microbulles. Lorsque les microbulles sont exposées à de faibles longueurs d'onde (ultrasons), leur diamètre varie de façon constante et oscillatoire.<sup>241, 242</sup> Cette vibration des microbulles leur permet d'entrer en résonance et de produire un signal dispersé et riche en ultrasons de seconde harmonique par rapport au signal incident. Ce signal est analysé et permet de visualiser le myocarde grâce au contraste ou la vidéointensité qu'il génère. Au moment où la vidéointensité du myocarde est saturée par une concentration élevée de l'agent de contraste, les microbulles sont détruites à l'aide d'une puissance d'ultrason très élevée.<sup>243</sup> Lorsque ces microbulles sont complètement détruites, la microcirculation se remplit de nouveau de ces molécules proportionnellement au débit, ce qui permet d'évaluer la perfusion myocardique.

### **Évaluation de la perfusion myocardique**

L'évaluation de la perfusion myocardique a lieu au moment où les microbulles remplissent progressivement la microcirculation en proportion du débit sanguin tissulaire suite à leur destruction. La vidéointensité lors du remplissage du myocarde est décrite par une fonction asymptotique, c'est-à-dire que la pente ( $\beta$ ) diminue graduellement jusqu'à l'atteinte du plateau ( $A$ ) de vidéointensité produit par les microbulles (figure 10). La vidéointensité maximale ( $A$ ) atteinte est influencée par l'intervalle de stimulation (qui cause la destruction des microbulles), par le débit coronaire et aussi par la concentration de microbulles utilisée. La pente ( $\beta$ ) représente la vitesse ou la pente qui détermine le taux d'augmentation de la vidéointensité dans le cœur. Ce paramètre n'est pas influencé par la concentration des microbulles, mais il est modifié par le débit myocardique. La vidéointensité de l'endocarde sain, par exemple, est la moyenne de la vidéointensité de tous les pixels présents dans la région représentative de l'endocarde dans la région saine.

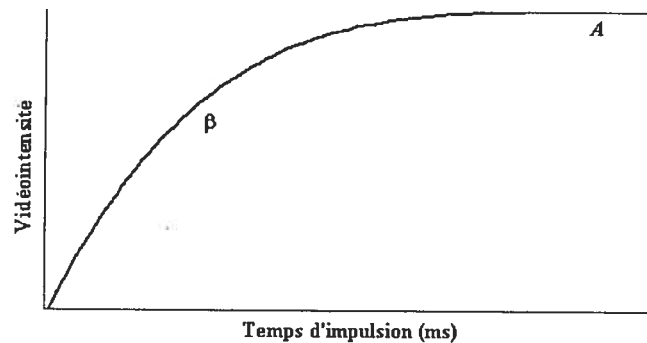


Figure 10: Paramètre de la vidéointensité qui permet d'évaluer la perfusion myocardique.

La détermination de la perfusion myocardique dépend de ces deux paramètres.<sup>242, 243</sup> Plusieurs études ont tenté d'évaluer l'importance de chacun de ces paramètres lors de l'évaluation de la perfusion, mais les résultats ne sont pas unanimes. Il a été démontré que  $\beta$  et le produit de  $A$  et  $\beta$  démontraient une meilleure corrélation avec le débit myocardique évalué à l'aide de microsphères que le facteur  $A$ .<sup>244-247</sup> Ainsi, il n'a pas été démontré clairement quel facteur ou association de facteurs qui permettait la meilleure évaluation de la perfusion myocardique.

### 2.3.3 Substances vasoactives

Les substances vasoactives (la 5-HT, l'ET-1 et le NPY) endogènes sont impliquées dans plusieurs étapes de la formation de la plaque athérosclérotique, mais elles jouent aussi un rôle dans le développement, le maintien et l'aggravation de la pathologie cardiovasculaire. Cette hypothèse découle de l'observation que la concentration de ces peptides est augmentée dans le cadre d'une pathologie cardiovasculaire.



## 5-HT

Il y a une augmentation significative de la concentration plasmatique et plaquettaire de 5-HT chez les patients avec une maladie coronaire comparée à des patients sains.<sup>248, 249</sup> Cette élévation est supérieure chez les patients avec une lésion athérosclérotique complexe, par rapport à ceux qui ont une lésion simple.<sup>248-250</sup> De plus, il y a aussi une augmentation de la concentration de 5-HT au site d'une sténose coronaire suite au déclenchement de l'activation plaquettaire, comme il est observée lors d'une angioplastie coronarienne.<sup>77, 78, 251, 252</sup>

L'augmentation transitoire ou permanente de la concentration de 5-HT a un impact important sur le tonus des artères coronaires de patients avec une maladie coronaire. En effet, il a été démontré que le plasma riche en plaquettes (PRP) des patients avec une maladie coronaire cause la vasoconstriction d'une artère coronaire épicaudique par l'entremise de la 5-HT.<sup>253</sup> En plus, l'élévation temporaire de la concentration de ce peptide lors de l'activation plaquettaire cause une vasoconstriction qui peut mener à l'occlusion complète du vaisseau coronaire.<sup>77, 252, 254</sup>

## NPY

La concentration sanguine du NPY est augmentée chez des individus sains avec une hypoxie ou lors d'une ischémie chez les patients avec une maladie coronaire.<sup>255-259</sup> L'augmentation de la concentration de ce peptide a aussi été observée lors d'un d'exercice physique chez les patients avec de l'angine stable ou lors d'une angioplastie coronarienne.<sup>257-259</sup> Lors de la période d'exercice et de récupération, l'élévation de la concentration de NPY est corrélée à un sous-décalage du segment ST.<sup>257</sup>

Ce peptide est donc détecté dans certaines pathologies cardiovasculaires. En effet, la concentration du NPY est supérieure chez les patients lors de douleurs angineuses ou d'un IM aigu et elle diminue quelques heures après l'événement.<sup>260</sup> Les patients avec de l'insuffisance cardiaque ont aussi une élévation importante de la concentration de ce peptide par rapport aux individus sains.<sup>261, 262</sup>

### **ET-1**

Les patients avec de l'angine instable ont une concentration supérieure d'ET-1 comparée aux individus sains.<sup>263</sup> Cette concentration d'ET-1 varie en présence de certains stimuli. En effet, lorsque la plaque athérosclérotique est soumise à des forces externes, par exemple lors d'une angioplastie coronarienne, elle va sécréter des concentrations importantes d'ET-1.<sup>177, 180, 181, 264, 265</sup> Par ailleurs, la présence d'ischémie ou d'une reperfusion dans un modèle animal est aussi un facteur qui contribue à l'élévation transitoire de la concentration d'ET-1.<sup>134, 266, 267</sup>

L'élévation de la concentration d'ET-1 chez les patients avec une maladie cardiovasculaire peut avoir un impact important sur le tonus des vaisseaux. En effet, les artères avec des plaques athérosclérotiques développent une contraction plus importante suite à l'administration d'ET-1 par rapport à des artères coronaires normales.<sup>130</sup> Cet effet vasoconstricteur est aussi augmenté pendant une période d'ischémie myocardique et l'amplitude de l'effet semble être proportionnel à la durée de l'ischémie.<sup>268</sup>

Ce chapitre a permis d'éclaircir plusieurs aspects de l'ischémie myocardique, tel que les causes et l'impact d'une sténose coronaire, les caractéristiques de l'athérosclérose, les maladies cardiovasculaires et les outils diagnostics. Tout d'abord, la sténose coronaire est majoritairement induite par l'athérosclérose et elle est l'élément déclencheur de

plusieurs pathologies cardiovasculaires. Toutefois, son impact sur les pathologies cardiovasculaires ne se limite pas à son effet sur le débit coronaire, puisqu'elle a la capacité de stimuler la libération de plusieurs agents vasoactifs. L'ischémie induite par l'athérosclérose est détectée grâce à des outils, tels que l'ECG et l'échocardiographie de contraste. Ainsi, les outils requis pour le diagnostic des maladies cardiaques ont été discutés pour bien comprendre la dichotomie du comportement ECG (sous ou sus-décalage du segment ST) puisqu'ils sont largement utilisés pour déterminer le diagnostic du patient. Le prochain chapitre sera entièrement dédié à l'ECG et au développement du sous et du sus-décalage du segment ST puisque la détection de l'ischémie s'effectue à l'aide de cette méthode dans notre projet de recherche. Un bref survol sur les principes de bases permettra de mettre en contexte l'ECG.

## Chapitre 3: ECG

Le premier enregistrement de l'activité électrique du cœur a été effectué en 1857 grâce aux travaux de Koelliker et Mueller.<sup>269</sup> Ces chercheurs ont enregistré les potentiels bioélectriques provenant d'un cœur de grenouille. Les recherches dans ce domaine ont été continuées par plusieurs chercheurs, mais ce fut Willem Einthoven qui développa le premier appareil qui permit l'enregistrement de l'activité électrique cardiaque. À ce moment, il identifia les ondes P, Q, R, S et T sur ce qu'il appela un ECG (figure 9). Ces découvertes ont permis de développer un appareil qui enregistre l'activité électrique du cœur et qui est utilisé aujourd'hui comme outil diagnostique de première ligne pour les patients avec des douleurs à la poitrine.<sup>224</sup>

### 3.1 Potentiel d'action

L'ECG enregistre le mouvement du front d'activation qui est caractérisé par le déplacement du potentiel d'action dans le myocarde.<sup>270, 271</sup> Le potentiel d'action cardiaque est représenté par 5 phases (0 à 4) qui sont provoquées par les mouvements ioniques à l'intérieur des cellules cardiaques.<sup>272</sup> L'allure générale du potentiel d'action diffère selon la structure myocardique, mais il est généralement décrit et représenté selon celui qui est observé dans les ventricules.<sup>271, 272</sup>

La *phase 0* représente la dépolarisation de la cellule ventriculaire qui est due à l'ouverture des canaux  $\text{Na}^+$  suite à l'atteinte du seuil d'activation (-70 à -60 mV).<sup>272</sup> L'augmentation de la conduction  $\text{Na}^+$  est brève puisque ces canaux s'inactivent rapidement, mais elle est suffisante pour causer l'inversion du potentiel membranaire. La *phase 1* est la période de repolarisation rapide des cellules qui est représentée par une encoche sur le potentiel d'action. Cette repolarisation est induite par l'entrée de  $\text{K}^+$  dans la cellule grâce à l'ouverture transitoire du canal  $\text{K}_{10}$  (transient outward current), lorsque le potentiel atteint environ -30 mV. La *phase 2* du potentiel d'action est un plateau qui est caractérisé par un

équilibre transitoire entre les courants  $K^+$  et  $Ca^{2+}$ . La conductance  $Ca^{2+}$  provient de l'ouverture du canal  $Ca^{2+}$  de type L, tandis que la conductance  $K^+$  dépend de l'ouverture de différents canaux  $K^+$  ( $I_{Ks}$ ,  $I_{Kr}$  et  $I_{Kl}$ ).<sup>272</sup> La repolarisation complète des cellules myocardiques survient durant la *phase 3*.<sup>272</sup> Cette phase débute lorsque l'équilibre entre les courants  $K^+$  et  $Ca^{2+}$  est brisé par la diminution de la conductance du  $Ca^{2+}$  et l'augmentation de celle du  $K^+$ . Les canaux  $K^+$  impliqués dans cette phase du potentiel d'action sont les mêmes que ceux utilisés dans la *phase 2*, mais leur importance peut être différente.

La *phase 4* du potentiel d'action représente le potentiel de repos membranaire (PRM) de la cellule myocardique qui est d'environ -85 mV.<sup>272</sup> Le PRM est l'état d'équilibre entre les différents ions ( $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  et  $Na^+$ ) situés de part et d'autre de la membrane plasmique. La perméabilité membranaire diffère selon les ions, ce qui cause une distribution inégale des ions de chaque côté de la membrane.

### 3.2 Principes de base de l'ECG

L'ECG est obtenu par l'enregistrement sur la surface corporelle de la vague de dépolarisation (front d'activation) créée par le déplacement des potentiels d'action dans le système de conduction spécialisé et dans le tissu cardiaque contractile.<sup>270</sup> Ce front d'activation produit, dans chaque fibre cardiaque, un dipôle qui est orienté dans la direction de la dépolarisation et la sommation de tous ces dipôles est représentée par vecteur de dépolarisation (dipôle). Le passage de ce front dans l'axe d'une électrode cause des modifications du potentiel qui seront perçues et reproduites sur le tracé de l'ECG. Le rapprochement d'une onde de dépolarisation d'une électrode cause une déflexion positive, tandis que son éloignement induit une déflexion négative. Il est important de souligner que les électrodes perçoivent de la même façon les ondes de repolarisation. Les électrodes sont disposées pour former des dérivations unipolaires ou bipolaires.

### Dérivations unipolaires

Les dérivations unipolaires, représentées par les dérivations précordiales et les dérivations des membres, mesurent le potentiel électrique à l'endroit où est situé l'électrode qui est comparé à un point de référence appelé le « centre de Wilson » égal à zéro (tableau 3).<sup>270</sup> Le point de référence est situé le plus loin possible de l'électrode unipolaire, puisqu'il n'est pas nécessairement calculé à partir d'une seule électrode, mais il peut être ajusté à partir de plusieurs électrodes. Par exemple, les dérivations précordiales ( $V_1$  à  $V_6$ ) utilisent un point de référence qui est égal à la somme des potentiels membranaires du bras gauche, du bras droit et de la jambe gauche. Les dérivations unipolaires des membres comparent le potentiel membranaire de l'un des membres au centre de Wilson qui est composé des deux autres membres. L'utilisation des dérivations unipolaires permet d'enregistrer les changements du potentiel dans le plan sagittal ou transversal par rapport à l'électrode.

Tableau 3: Localisation des électrodes dans les différentes dérivations de l'ECG.

Pour les dérivations précordiales il faut spécifier que l'angle  $0^\circ$  est situé sur la hanche gauche et l'angle  $90^\circ$  situé à l'avant du corps.

Dérivation	Borne positive	Borne négative
$V_1$	$95^\circ$	Centre de Wilson
$V_2$	$85^\circ$	Centre de Wilson
$V_3$	$75^\circ$	Centre de Wilson
$V_4$	$60^\circ$	Centre de Wilson
$V_5$	$30^\circ$	Centre de Wilson
$V_6$	$0^\circ$	Centre de Wilson
Dérivation I	Bras gauche	Bras droit
Dérivation II	Jambe gauche	Bras droit
Dérivation III	Jambe gauche	Bras gauche
Dérivation augmentée du bras droit	Bras droit	Bras et jambe gauche
Dérivation augmentée du bras gauche	Bras gauche	Bras droit et jambe gauche
Dérivation augmentée de la jambe gauche	Jambe gauche	Bras droit et bras gauche

### Dérivations bipolaires

Les dérivations bipolaires comparent le potentiel membranaire entre deux électrodes rapprochées.<sup>270</sup> Le triangle d'Einthoven est la représentation classique de ce type de dérivation et il est formé de trois dérivations bipolaires. L'enregistrement de l'ECG à partir de ces trois dérivations (I, II et III) requiert des électrodes d'enregistrement sur le bras gauche, le bras droit et la jambe gauche et une électrode sur la jambe droite qui sert de retour à la terre. Chaque électrode peut servir d'électrode positive ou négative selon la dérivation, et la différence de potentiel membranaire entre deux électrodes dans un plan frontal permettra d'obtenir un tracé ECG.

### 3.3 Relation entre le potentiel d'action et l'ECG

La propagation du potentiel d'action dans un myocarde sain est représentée par un ECG typique (figure 9).<sup>270</sup> Chaque onde de l'ECG est étroitement liée au passage du front d'activation qui représente la dépolarisation ou la repolarisation des cellules myocardiques. Des segments isoélectriques sont présents lorsque les ventricules ou les oreillettes sont à un potentiel membranaire stable.

Le premier potentiel d'action provient des cellules cardionectrices du nœud sinusal.<sup>271</sup> Ce potentiel d'action se propage de façon radiale vers les deux oreillettes et vers le nœud auriculo-ventriculaire grâce aux fibres de conduction internodale: il est représenté par l'onde P sur l'ECG.<sup>270</sup> Le nœud auriculo-ventriculaire contrôle la transmission de l'influx aux ventricules et il ralentit la conduction du potentiel d'action pour assurer la relaxation complète des ventricules avant le début de la contraction des oreillettes.<sup>271</sup> Ce délai est représenté par le segment PR.<sup>270</sup> Pour atteindre les ventricules, le potentiel d'action voyage dans le faisceau de His, les fibres de Purkinje et finalement dans le tissu ventriculaire. La dépolarisation des ventricules produit le complexe QRS.<sup>270, 271</sup> Les

cellules des ventricules qui transportent l'impulsion électrique sont adaptées pour permettre une conduction rapide de la dépolarisation, ce qui assure une contraction simultanée des ventricules, malgré l'activation séquentielle des ventricules. Par la suite, les ventricules entrent dans une phase de contraction isovolumétrique qui est caractérisée par la dépolarisation complète des ventricules.<sup>270</sup> Cette étape est représentée par la ligne isoélectrique sur l'ECG, c'est-à-dire le segment ST. Pour finir, la relaxation et la repolarisation ventriculaire qui débutent à l'endocarde et se propage à l'épicarde sont illustrées par l'onde T sur l'ECG.

### 3.3.1 Changements du potentiel d'action lors d'une ischémie

L'ischémie myocardique induit des changements importants au niveau du potentiel d'action qui ont des répercussions importantes sur le tracé de l'ECG.<sup>273-275</sup> En effet, l'altération des courants ioniques causée par l'ischémie modifie l'allure générale du potentiel d'action<sup>273-278</sup>:

- diminution de la durée du potentiel d'action
- réduction de la pente de la phase 0
- diminution du maximum atteint lors du plateau de la phase 2
- changement du PRM (devient plus positif).

En général, les changements débutent avec une modification du PRM, qui est suivie par une diminution de la pente de la phase 0 (vitesse d'activation) et pour finir, l'ischémie cause une réduction de l'amplitude maximale du plateau (phase 2).<sup>279</sup>



Tout d'abord, la présence d'une ischémie dans un modèle animal induit une modification du PRM puisqu'il s'approche d'une valeur positive.<sup>276, 279-283</sup> Ce changement du PRM est provoqué par une augmentation de la concentration extracellulaire de  $K^+$ .<sup>276, 282, 284</sup> Les canaux impliqués dans ce phénomène sont le canal  $K^+$  dépendant de l'ATP ( $K_{ATP}$ ) et la pompe  $Na^+/K^+$  ATPase et leurs rôles pourraient varier en fonction du temps.<sup>282, 284</sup> Tout d'abord, le canal  $K_{ATP}$  s'ouvre lors d'une diminution de la concentration d'ATP observée lors d'une période ischémique et provoque l'augmentation de la concentration extracellulaire de cet ion.<sup>276, 284</sup> Par la suite, la réduction de la concentration d'ATP va aussi causer l'arrêt de la pompe  $Na^+/K^+$  ATPase, favorisant ainsi l'élévation de la concentration extracellulaire de  $K^+$  et une surcharge de  $Na^+$  intracellulaire.

La modification du PRM a un impact direct sur l'amplitude des phases 0 et 2 du potentiel d'action. En effet, la présence d'une valeur plus positive du PRM induit l'inactivation des canaux  $Na^+$  responsables de la dépolarisation cellulaire.<sup>285</sup> L'inactivation d'une proportion des canaux  $Na^+$  diminue le courant  $Na^+$  entrant lors de la phase 0, ce qui diminue le maximum atteint et la pente de cette phase.<sup>276, 285</sup> L'amplitude de la phase 2 est aussi réduite lors d'une période ischémique puisqu'il y a une réduction du courant  $Ca^{2+}$  engendrée par une diminution de l'activité des canaux  $Ca^{2+}$  de type L et une diminution de l'échangeur  $Na^+/Ca^{2+}$ .<sup>279, 281, 286</sup>

Pour finir, le changement de la phase de repolarisation cellulaire (phase 3) a un impact important sur la durée du potentiel d'action. L'altération de la repolarisation cellulaire est causée par une modification des courants potassiques ( $I_{Ks}$ ,  $I_{Kr}$ ,  $I_{Kl}$  et  $I_{to}$ ).<sup>272</sup> La phase de repolarisation rapide des cellules myocardiques disparaît dû à l'inhibition du courant  $I_{to}$ .<sup>285</sup> La phase de repolarisation finale de la cellule est raccourcie grâce à l'activation des canaux  $K_{ATP}$  et ce, malgré la diminution des courants  $I_{Ks}$ ,  $I_{Kr}$  et  $I_{Kl}$ .<sup>276, 279, 281, 286, 287</sup>

### 3.3.2 Développement d'un sous ou d'un sus-décalage du segment ST durant l'ischémie

Dans un myocarde sain, le segment ST est isoélectrique puisqu'il représente la dépolarisation complète des ventricules, c'est-à-dire l'absence de différence de potentiel membranaire dans le cœur.<sup>270</sup> La présence d'une ischémie myocardique modifie le potentiel d'action dans une ou plusieurs régions du myocarde et dans une ou plusieurs couches myocardiques ce qui entraîne une modification de l'amplitude du segment ST (sous ou sus-décalage du segment ST).<sup>288, 289</sup> Selon les phases du potentiel d'action atteintes par l'ischémie myocardique, il est possible d'observer un « vrai » changement du segment ST et un changement « apparent » du segment ST.

Tout d'abord, le vrai sus-décalage du segment ST est dû à une modification du plateau du potentiel d'action, c'est-à-dire lors de la phase 2 (figure 11A).<sup>289</sup> Pour expliquer ce changement, l'exemple suggère une ischémie sous-épicardique, mais il est utilisé seulement pour expliquer le principe puisque l'existence d'une ischémie sous-épicardique est contredite. Dans ce cas, il y a une diminution du plateau du potentiel d'action à l'épicarde. Étant donné que le plateau du potentiel d'action est plus faible à l'épicarde qu'à l'endocarde, l'électrode située au-dessus de cette région myocardique va percevoir un courant qui s'approche de l'électrode, ce qui est représenté par un sus-décalage du segment ST.

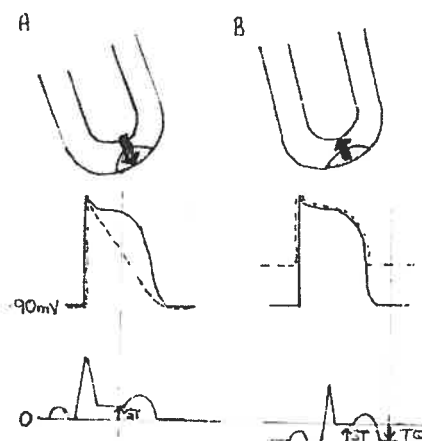


Figure 11: Représentation d'un vrai (A) et d'un apparent (B) sus-décalage du segment ST.

La ligne pointillée représente le potentiel d'action de l'épicarde et la ligne continue représente le potentiel d'action de l'endocarde.

D'autre part, il y a le changement apparent du segment ST qui est induit par un changement du PRM (phase 4), sans aucune modification de la phase 2 (figure 11B).<sup>289</sup> L'abaissement ou l'élévation de la ligne isoélectrique (segment TQ) causé par un déplacement du PRM induit un sous ou un sus-décalage du segment ST lorsque ce segment est replacé au niveau isoélectrique. Dans l'exemple de la figure 11B, l'ischémie induit une modification du PRM à l'épicarde, et fait en sorte que le PRM est plus positif à l'épicarde qu'à l'endocarde. Ainsi, l'électrode située au-dessus de cette région myocardique perçoit un courant qui s'éloigne, ce qui est illustré sur l'ECG par un abaissement du segment TQ. Toutefois, lorsque le segment TQ est rapporté comme étant la ligne isoélectrique du myocarde, il est possible d'observer un sus-décalage du segment ST.

Avec un raisonnement similaire il est possible d'expliquer le sous-décalage du segment ST (figure 12). Cette modification ECG est induite par une ischémie sous-endocardique. La réduction du plateau du potentiel d'action (vrai changement du segment

ST) dans le sous-endocarde va causer un courant ischémique qui part de l'épicarde vers l'endocarde. Cette modification sera représentée par un sous-décalage du segment ST. Par la suite, le changement du PRM (changement apparent) induit une élévation du segment TQ, qui amplifie le vrai sous-décalage du segment ST.

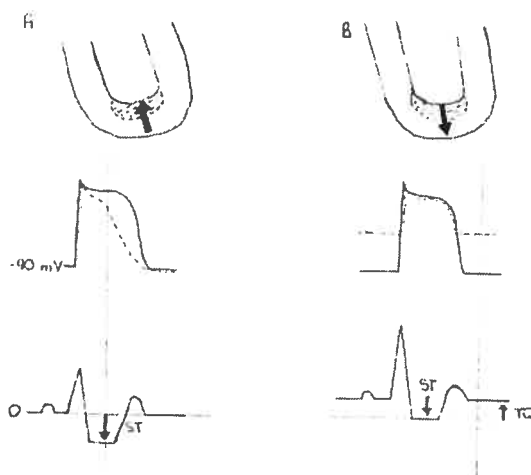


Figure 12 : Représentation d'un vrai (A) et d'un apparent (B) sous-décalage du segment ST.

La ligne pointillée représente le potentiel d'action de l'endocarde et la ligne continue représente le potentiel d'action de l'épicarde.

Le théorème de l'angle solide permet grâce à l'évaluation de certaines valeurs de déterminer plusieurs paramètres de la zone ischémique.<sup>290</sup> Il faut déterminer certains facteurs (angles et potentiel membranaire) de la zone ischémique pour déterminer le type (transmurale, endocardique ou épicaudique) et la forme de la zone ischémique (endocardique ou épicaudique). Il peut être utilisé au niveau des électrodes précordiales ou épicaudiques.

### 3.4 Interprétation du sous et du sus-décalage du segment ST

La compréhension des mécanismes qui sous-tendent le développement du sous et du sus-décalage du segment ST provient majoritairement d'études fondamentales. Ces études assurent un meilleur contrôle des paramètres, ce qui améliore l'interprétation des changements ECG. L'utilisation d'animaux a aussi permis d'étudier les signaux électrocardiographiques directement sur le cœur à l'aide d'un électrogramme (EG) épicardique ou endocardique, pour expliquer les modifications du segment ST dans la zone ischémique et en bordure de cette région. Par contre, il existe aussi quelques études cliniques qui tentent de démystifier les changements ECG suite à une ischémie induite par une angioplastie coronarienne ou une épreuve à l'effort.

#### 3.4.1 Sus-décalage du segment ST

Le sus-décalage du segment ST est détecté sur un EG épicardique au centre d'une région ischémique induite par la sténose sévère d'une artère coronaire.<sup>277, 278, 280, 288, 291-299</sup> L'ischémie transmurale causée par cette sténose sévère est aussi représentée par un sus-décalage du segment ST sur un EG endocardique.<sup>293, 300, 301</sup> Toutefois, la zone marquée d'un sus-décalage du segment ST est plus étendue à l'endocarde qu'à l'épicarde, tandis que son amplitude est moindre à l'endocarde qu'à l'épicarde.<sup>293, 301</sup> La présence d'un EG similaire à l'endocarde et à l'épicarde peut être causé par l'enregistrement des courants dépolarisants provenant des tissus non-ischémiques autour de la zone ischémique transmurale. Ces courants dépolarisants seraient perçus de la même façon et ce peu importe l'emplacement de l'électrode. L'apparition du sus-décalage du segment ST sur l'EG épicardique et endocardique est simultanée, elle débute au centre de la zone ischémique et se propage ensuite vers la zone non-ischémique.<sup>288, 301</sup> Ce sus-décalage du segment ST survient rapidement suite à l'occlusion totale du vaisseau coronaire et atteint

une amplitude maximale après 5 à 10 min.<sup>288, 293, 301, 302</sup> Par contre, le sus-décalage du segment ST s'atténue si l'occlusion est maintenue et il revient à un niveau de base après 5 heures d'occlusion.<sup>301</sup>

L'enregistrement d'un sus-décalage sur un EG épicardique chez l'humain a été effectué grâce à l'utilisation d'une électrode intégrée à un cathéter pour une angioplastie coronarienne.<sup>303</sup> Ils ont démontré que l'occlusion sévère d'une artère coronaire lors de cette procédure causait un sus-décalage du segment ST sur un EG épicardique ou un ECG.<sup>303-307</sup> Il a aussi été observé que l'occlusion sévère d'une artère coronaire dans un modèle animal était représentée par un sus-décalage sur un ECG.<sup>296, 307, 308</sup>

L'occlusion sévère d'une artère coronaire accompagnée de changements ECG ne découle pas nécessairement d'une manipulation mécanique de l'artère, mais elle peut être secondaire à l'administration de puissants agents vasoconstricteurs.<sup>107, 208, 309</sup> Tout d'abord, la vasoconstriction induite par la 5-HT lors d'une diminution des processus vasodilatateurs dans un modèle animal est suffisante pour provoquer un sus-décalage du segment ST.<sup>107, 208, 309, 310</sup> Par la suite, l'administration intracoronaire de ce peptide chez des patients avec de l'angine stable cause une sténose de 22,8% qui est associée à un sus-décalage du segment ST (50% des cas) ou un sous-décalage du segment ST (50% des cas).<sup>108</sup> Par contre, chez les patients avec de l'angine de Prinzmetal, l'administration de 5-HT cause une sténose sévère de l'artère coronaire qui est accompagnée d'un sus-décalage du segment ST (8/18 patients) ou d'un sous-décalage du segment ST (10/18 patients).<sup>108, 109</sup>

L'administration intracoronaire du NPY a aussi la capacité d'induire un sus-décalage du segment ST chez des patients avec de l'angine stable (2/3).<sup>311</sup> Toutefois, l'absence d'information sur l'état du patient (données angiographiques et

hémodynamiques) dans cette étude ne permet pas d'identifier le mécanisme produisant le développement de ce sus-décalage du segment ST par rapport à la présence d'un sous-décalage du segment ST chez le troisième patient.

Pour finir, la diminution significative du débit coronaire (32% dans certains cas) associée à l'administration intracoronaire ou intraveineuse d'ET-1 est accompagnée d'un sus-décalage du segment ST sur un ECG ou un EG épicardique.<sup>132, 312, 313</sup>

### 3.4.2 Sous-décalage du segment ST

Le sous-décalage du segment ST est observé sur un EG épicardique en périphérie de la zone ischémique centrale ou dans la section opposée à la zone ischémique (paroi antérieure versus postérieure) suite à l'occlusion totale d'une artère coronaire.<sup>280, 288, 292, 294, 296, 299</sup> Le sous-décalage du segment ST observé en périphérie de la zone centrale apparaît 15 à 20 min après l'occlusion totale de l'artère coronaire.<sup>280, 288</sup> Ce changement ECG n'est pas associé à l'altération de la créatine phosphokinase, un marqueur du dommage cellulaire, contrairement au sus-décalage du segment ST observé dans le centre de l'ischémie.<sup>299</sup>

Le sous-décalage du segment ST n'est pas toujours associé à un sus-décalage du segment ST chez les patients avec de l'angine. Cet état pathologique est reproduit dans certaines conditions. Tout d'abord, le sous-décalage du segment ST sur un EG épicardique est observé sur presque la majorité du myocarde lorsqu'une hypotension (pression systolique à 40 mm Hg) est produite chez un animal suite à un saignement continu.<sup>314</sup> Toutefois, la méthode la plus utilisée pour reproduire ce phénomène est d'augmenter la fréquence cardiaque chez un animal ou un individu avec une sténose coronaire.<sup>315-317</sup> Dans cette situation, la détection d'un sous-décalage du segment ST sur un EG épicardique permet d'observer son image miroir (sus-décalage du segment ST) sur un EG

endocardique.<sup>315, 317</sup> Ces deux changements surviennent simultanément, mais le sus-décalage du segment ST a une amplitude plus importante que le sous-décalage du segment ST.<sup>317</sup>

### 3.4.3 Débits régionaux myocardiques et changements ECG

Il est clair que le sus-décalage du segment ST est associé à une diminution transmurale du débit régional myocardique dans la zone centrale de l'ischémie, tandis que le sous-décalage du segment ST est induit par une ischémie sous-endocardique.<sup>315, 317</sup> En effet, il a été démontré que le sous-décalage du segment ST induit par l'augmentation de la fréquence cardiaque dans un animal avec une sténose coronaire était associé à une ischémie sous-endocardique (diminution du débit régional d'environ 65% dans le sous-endocarde et d'environ 20% dans le sous-épicarde).<sup>315</sup> Par contre, l'amplitude du sous-décalage du segment ST n'était pas corrélée avec l'ampleur de la réduction du débit régional sous-endocardique. Dans cette condition, le sous-décalage du segment ST était causé par une augmentation des besoins métaboliques du myocarde dans la région sous-endocardique, ce qui n'explique pas la présence d'un sous-décalage du segment ST chez les patients avec de l'angine instable. Pour expliquer cette modification ECG chez les patients avec de l'angine instable, il a été suggéré que l'hétérogénéité de la perfusion myocardique était causée par une augmentation de la résistance microvasculaire qui pourrait être influencée par la compression extravasculaire des microvaisseaux et aussi par les réactions vasomotrices.

Le mécanisme qui permet la formation d'un sous-décalage du segment ST a aussi été investigué à l'aide de simulations à partir d'un modèle bidomaine.<sup>318</sup> Le modèle bidomaine est utilisé pour modéliser l'activité cardiaque en présence de certains facteurs essentiels (la conductivité des milieux et la propagation du potentiel d'action). Ainsi, cette modélisation permet de visualiser la propagation de l'influx et aussi de reproduire des



problèmes de conduction. L'utilisation d'un modèle bidomaine démontre que la présence d'une ischémie sous-endocardique cause un sous-décalage du segment ST dans l'EG épicaudique situé au-dessus de la zone ischémique et que le sous-décalage du segment ST est présent dans la zone qui entoure la région d'une ischémie sévère causée par l'occlusion complète d'une artère coronaire.<sup>318-320</sup>

#### **3.4.4 Transition entre le sous-décalage et le sus-décalage**

Le sus-décalage du segment ST est détecté au centre d'une zone ischémique occasionnée par l'occlusion complète d'une artère coronaire. Le sous-décalage du segment ST est observé en périphérie d'une région ischémique transmurale ou au centre d'un site ischémique causé par une augmentation de la demande métabolique. Toutefois, les résultats expérimentaux acquis à ce jour n'identifient pas le mécanisme exact du sous-décalage du segment ST chez les patients avec un épisode d'angine instable.

Tout d'abord, plusieurs suggèrent que le sous-décalage du segment ST est un signe précurseur d'une ischémie transmurale lorsqu'il apparaît au repos. Cette hypothèse repose sur l'idée que le sous-décalage du segment ST observé suite à une légère ischémie est reproduit par la présence d'une sténose partielle dans une artère coronaire, tandis que le sus-décalage du segment ST est causé par l'occlusion totale d'une artère coronaire.<sup>315, 317</sup> Ainsi, certains ont fait un lien entre ces deux manifestations ECG et ont conclu qu'il y avait un changement du sous-décalage du segment ST vers le sus-décalage du segment ST lors de la progression de la sténose d'une artère coronaire vers une occlusion complète.<sup>294</sup> Toutefois, aucune étude n'a démontré cette hypothèse.<sup>321</sup> En effet, MacLeod et al. ont démontré qu'une réduction progressive du débit coronaire causait un sus-décalage du segment ST sans sous-décalage. Toutefois, cette étude a procédé à une réduction assez rapide du débit coronaire ce qui a pu influencer le développement du sous-décalage du

segment ST. Il est possible que le sous-décalage du segment ST soit un phénomène transitoire qui est observé à une réduction précise du débit coronaire, ce qui ne peut être remarqué lors d'une diminution rapide du débit coronaire.

Cette hypothèse qui suggère la transition entre le sous-décalage et le sus-décalage du segment ST est appuyée sur une étude qui a des résultats plus ou moins fiables. En effet, les auteurs ont démontré que l'occlusion partielle de la LCx ou de l'IVA d'une artère coronaire canine causait un sous-décalage du segment ST sur un EG épicardique.<sup>294</sup> Toutefois, il n'y avait aucune indication qui permettait de quantifier l'importance de la diminution du débit coronaire ou du débit régional myocardique. Par la suite, ils ont mesuré le pourcentage de réduction du diamètre de l'artère coronaire, mais l'exactitude de ces données était inconnue puisque la méthode utilisée pour recueillir ces valeurs n'était pas mentionnée. Pour finir, ils n'ont pas mentionné la fréquence cardiaque de ces animaux lors de la sténose. La mention de cette variable était primordiale puisque l'augmentation de la fréquence cardiaque chez un animal avec une occlusion partielle d'une artère coronaire cause un sous-décalage du segment ST.<sup>315, 317</sup>

Les résultats de l'étude de Miller et al. obtenus suite à la production d'une sténose de l'IVA chez le chien avec une fréquence cardiaque normale contredisent cette théorie.<sup>302</sup> En effet, la présence d'une sténose qui réduit le débit coronaire de 27% ne cause aucun changement significatif de l'amplitude du segment ST ( $0,1 \pm 0,1$  mV), tandis qu'une sténose qui diminue le débit coronaire de 50% cause un sus-décalage du segment ST. Cette étude n'a pas investigué l'effet d'une sténose progressive sur l'amplitude du segment ST, mais ces données sont tout de même un point de départ dans l'interprétation du rôle attribué à une sténose dans le développement d'un sous-décalage du segment ST.<sup>302</sup>

Comme il a été mentionné précédemment, plusieurs observations démontrent que le sous-décalage du segment ST est causé par une ischémie sous-endocardique.<sup>317, 319, 322, 323</sup> L'origine exact de ce sous-décalage du segment ST est toujours inconnue, mais il existe plusieurs possibilités telle que l'implication de la sténose proximale ou des agents vasoconstricteurs relâchés lors de la rupture de la plaque athérosclérotique. Ainsi, il est primordial de tenter de découvrir par quel mécanisme une ischémie sous-endocardique peut être induite et contribuer au développement du sous-décalage du segment ST.

## Chapitre 4: Objectifs, hypothèses et contribution originale

Cette section sert d'introduction aux chapitres qui présentent les résultats de ce travail. Les prochains paragraphes décrivent le cheminement de notre travail et introduisent les articles ou les résultats qui en découlent. Ainsi, lors de la lecture de ces chapitres, vous trouverez entre parenthèses le chapitre où vous pourrez trouver les résultats.

La revue de littérature démontre l'importance des changements du segment ST dans les pathologies cardiovasculaires, mais aussi l'absence de compréhension de leur mécanisme. Ainsi, il était essentiel de déterminer l'influence d'une occlusion progressive de l'IVA et de l'injection d'agents vasoconstricteurs dans un modèle animal sain (cochon) *in-vivo* anesthésié, sans tachycardie, dans le développement d'un sous-décalage du segment ST. Dans le cadre de ces protocoles, plusieurs techniques pour évaluer la perfusion myocardique pour tenter d'identifier l'ischémie qui est en cause dans le développement du sous-décalage du segment ST (transmurale / endocardique).

L'évaluation de la perfusion myocardique est effectuée par l'entremise de plusieurs techniques, dont les microsphères radioactives ou non radioactives. Toutefois, ces techniques peuvent comporter certains désavantages (le coût, la présence de substances radioactives, la charge de travail, la nécessité de sacrifier l'animal et le délai pour l'obtention des données) qui favorisent le développement de nouveaux procédés, tels que l'échocardiographie de contraste. Par contre, l'utilisation de certains agents de contraste peut causer des effets secondaires importants.<sup>324-326</sup> En effet, il a été démontré que le perflutren causait une hypertension pulmonaire dans certains modèles animaux, tel que le cochon.<sup>326</sup> Cet effet a été observé chez le cochon suite à l'administration de concentrations

importante de perflutren. Étant donné que ces concentrations semblaient supérieures à celles nécessaires pour obtenir des images adéquates du myocarde (pour l'évaluation du débit coronaire), il était important de déterminer la dose minimale à utiliser dans notre modèle animal (*chapitre 6*). Il était aussi primordial d'évaluer l'effet de cette dose sur la pression pulmonaire chez le cochon. Cette vérification était importante pour assurer l'absence d'effet secondaire du perflutren qui pourrait éventuellement avoir un impact sur les données recueillies lors des expériences. En effet, il a été démontré que l'augmentation de la pression pulmonaire peut causer une élévation de la production d'ET-1 par les poumons ou de 5-HT par les plaquettes, ce qui peut causer un changement des paramètres hémodynamiques.<sup>327, 328</sup>

Lorsque nous avons démontré que l'utilisation du perflutren comme agent de contraste était sécuritaire chez le cochon, nous avons dirigé nos efforts pour tenter de déterminer les causes du sous-décalge du segment ST. Comme il a été mentionné dans le *chapitre 3*, le sous-décalage du segment ST est reproduit à l'aide d'une réduction de l'apport sanguin myocardique et une augmentation du travail myocardique.<sup>315-317</sup> Cette méthode a démontré que le sous-décalage du segment ST était induit par l'apparition d'une ischémie sous-endocardique.<sup>315</sup> Cette observation a mené à l'hypothèse de Kato et al. que le sous-décalage du segment ST peut être provoqué par une légère ischémie myocardique induite par la présence d'une sténose partielle dans une artère coronaire.<sup>294</sup> Cette hypothèse suggère que la progression de la sténose permettrait d'accroître l'ampleur de l'ischémie, ce qui transformerait le sous-décalage en sus-décalage du segment ST.<sup>294</sup>

L'influence de l'occlusion partielle devait être principalement investiguée. Cet aspect a été vérifié à l'aide d'une occlusion progressive et très lente d'une artère coronaire (IVA) dans un modèle porcin sans augmentation de la fréquence cardiaque (*chapitre 7*).

Les altérations du débit régional myocardique ont été étudiées à l'aide de microsphères non-radioactives et de l'échocardiographie de contraste.

Étant donné que nous avons démontré que la progression d'une sténose coronaire ne causait pas de sous-décalage du segment ST, il était nécessaire d'investiguer les autres mécanismes envisagés pour déterminer la ou les causes de ce changement ECG (*chapitre 8, 9 et 10*). Le sous-décalage du segment ST était causé par une ischémie sous-endocardique. Toutefois, puisqu'il était impossible de diminuer mécaniquement l'apport sanguin sous-endocardique, il était nécessaire d'envisager une autre méthode. Ainsi, l'induction d'une vasoconstriction des vaisseaux sous-endocardiques grâce à l'administration intracoronaire de substances vasoactives était une option. Cette technique permettait de faire un lien avec la plaque puisque les substances choisies (l'ET-1, la 5-HT et le NPY) sont libérées lors d'une rupture de la plaque athérosclérotique par la plaque elle-même ou les plaquettes sanguines.<sup>177, 180, 181, 264</sup> Ainsi, les effets de l'ET-1, de la 5-HT et du NPY ont été évalués sur la perfusion myocardique et les changements ECG, dans le modèle animal porcin.

Les hypothèses étudiées étaient donc:

**Hypothèse #1-** L'administration intraveineuse d'une faible dose de perflutren pendant l'échocardiographie de contraste dans un modèle animal porcin anesthésié est sécuritaire pour l'animal et permet l'acquisition d'images de qualité (*chapitre 6*).

**Hypothèse #2-** La présence d'une occlusion partielle et progressive d'une artère coronaire n'est pas impliquée dans le développement du sous-décalage du segment ST dans un modèle animal *in-vivo* anesthésié avec une fréquence cardiaque stable (*chapitre 7*).

**Hypothèse #3-** L'induction d'une ischémie sous-endocardique produite par l'action d'agents vasoconstricteurs spécifiques pour la microcirculation produit un sous-décalage du segment ST (*chapitre 8, 9 et 10*).

Les prochains chapitres de cette thèse présenteront le modèle animal utilisé pour nous permettre de répondre adéquatement aux objectifs énumérés lors de la rédaction des différents protocoles. Par la suite, les résultats seront décrits dans un article ou sous forme de section de données. La discussion des résultats comportera une section d'analyse des résultats des chapitre 9 et 10 et une discussion globale de l'ensemble du travail présenté dans cette thèse.

## Chapitre 5: Méthodologie

### Préparation de l'animal

Les expérimentations ont été effectuées sur des porcs Landrace en accord avec le guide élaboré par le Conseil Canadien de Protection des Animaux. Lors des trois jours précédant l'expérimentation, chaque animal a reçu 325 mg d'acide acétylsalicylique (Apotex, Toronto, Ontario, Canada). Les animaux ont été anesthésiés avec de la kétamine/xylazine intramusculaire (20 mg/kg; 2 mg/kg ; Wyeth Pharmaceuticals, Montréal, Québec, Canada) et ils ont ensuite été ventilés à l'aide d'un ventilateur à pression positive (ventilateur à anesthésie Ohmeda 7800, DRE Medical, Louisville, KY) avec une  $FiO_2$  maintenue constante entre 20 et 30%. Par la suite, l'anesthésie a été maintenue avec 1,5% d'isoflurane (Abbott Laboratory, Montréal, Québec, Canada) mélangé avec du  $O_2:N_2O$  (2:1). La veine jugulaire externe gauche a été canulée avec un cathéter 9F pour permettre l'administration d'un soluté intraveineux (salin), du L-nitro-arginine-méthyl-ester (L-NAME; seulement pour le protocole avec la 5-HT) et de l'agent de contraste utilisé pour l'échocardiographie. Les prélèvements sanguins et le monitoring de la pression sanguine (polygraphe à 8 canaux, Nihon Kohden America Inc., Foothill Ranch, CA) ont été effectués dans l'artère carotidienne droite grâce au positionnement d'un cathéter 8F. Un cathéter 8F a aussi été inséré dans l'artère carotidienne gauche pour permettre l'insertion d'un cathéter 7F dans l'artère coronaire gauche. Ce cathéter a permis de positionner un cathéter Berman 4F dans l'IVA qui permet d'injecter les agents vasoactifs (ET-1, 5-HT et NPY) et aussi l'agent de contraste utilisé pour l'angiographie. L'artère jugulaire gauche a été canulée avec un cathéter 7F pour permettre le prélèvement des échantillons sanguins lors de l'administration des microsphères de couleurs.

La relaxation musculaire pour la thoracotomie gauche a été obtenue grâce à l'administration intraveineuse de bromure de rocuronium (0,1 mg/kg; Organon, Toronto,



Ontario, Canada). La thoracotomie gauche a été effectuée dans le cinquième espace intercostal afin de positionner un ballon constricteur périvasculaire (seulement pour le protocole avec l'occlusion de l'artère proximale (OC2 2 mm, In Vivo Metric, Healdsburg, USA) et une bague de débit périvasculaire de type Doppler (système Transonic T106/T206, Ithaca, NY), distale au ballon constricteur. Un gel pour échocardiographie combiné à une poudre adsorbate (Nalco 1181, Transonic, Ithaca, NY) a été ajouté sur la bague de débit afin de conserver le milieu de transmission lors de l'expérience. Par la suite, un cathéter 5F a été inséré dans l'oreillette gauche pour permettre l'administration des microsphères de couleurs.

Un bolus d'héparine sodique (200 U/kg; Leo Pharma, Thornhill, Ontario, Canada) a été administré, bolus qui a été répété à chaque heure afin d'atteindre une anticoagulation systémique reflétée par un temps d'activation plaquettaire supérieure à 200 secondes. Ce paramètre (ACT > 200 sec) est associé à une inhibition significative de la thrombose.<sup>329</sup>

## **Protocole**

### Échocardiographie de contraste et hypertension pulmonaire

Voir les spécifications dans la section « methods » de l'article: Absence of clinically significant increase in pulmonary artery pressure after intravenous perflutren injection for myocardial perfusion imaging in pigs (*chapitre 6*).

### Occlusion progressive de l'IVA

Voir les spécifications dans la section « methods » de l'article: Progressive epicardial coronary blood flow reduction fails to produce ST-segment depression at normal heart rate (*chapitre 7*).

### Administration de l'ET-1

Voir les spécifications dans la section « methods » de l'article: Subendocardial ischemia and ST-segment depression induced by intracoronary administration of Endothelin-1 (*chapitre 8*).

### Administration de la 5-HT

La 5-HT (Sigma-Aldrich, Oakville, Ontario, Canada) a été dissoute dans le salin et entreposée à une température de -20°C. Cette solution a été de nouveau dissoute dans le salin le jour de l'expérience. Après une période de stabilisation de 30 minutes, le L-NAME (10 mg/kg, Sigma-Aldrich, Oakville, Ontario, Canada) a préalablement été dissous dans 34,5 mL et il a été administré par voie intraveineuse pendant 30 minutes à une vitesse de 1,15 mL/min. Il a été démontré que l'utilisation de cette dose de L-NAME permettait d'inhiber la production de NO chez le cochon pour une période de 90 minutes.<sup>309</sup> Immédiatement après cette intervention, le véhicule et trois doses de 5-HT (1, 3 et 10 µg/kg/min) ont été injectés dans l'IVA à une vitesse de 1 mL/min pour une durée de cinq minutes (figure 13). Une période de 20 minutes de récupération a été allouée à l'animal après chaque administration de 5-HT. Le débit régional myocardique a été évalué au point de référence (ligne de base), après l'administration du L-NAME et après l'injection intracoronaire de 5-HT (3 et 10 µg/kg/min). De plus, après chaque étape du protocole (à la ligne de base, après l'administration de L-NAME et après l'injection intracoronaire de 5-HT) le diamètre de l'IVA a été déterminé à l'aide d'une angiographie.

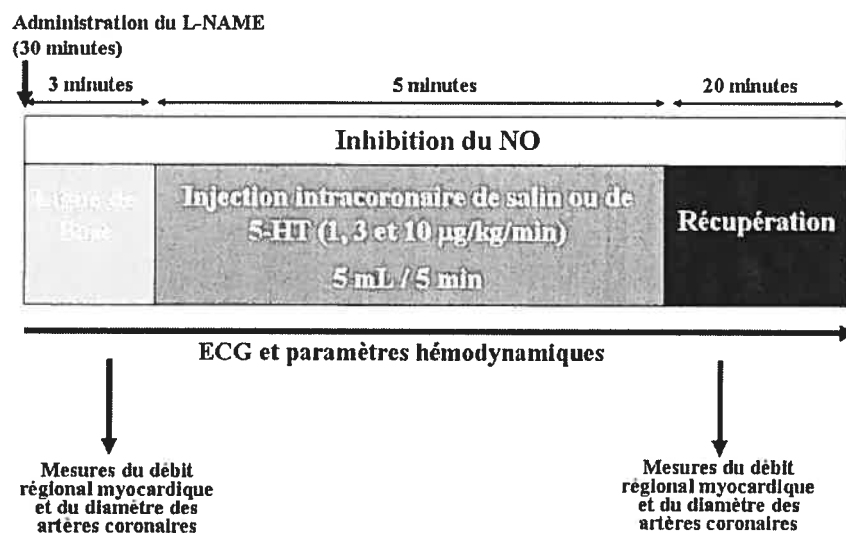


Figure 13: Protocole d'injection intracoronaire de la 5-HT

#### Administration du NPY

Le NPY (Sigma-Aldrich, Oakville, Ontario, Canada et Phoenix Pharmaceuticals, Belmont, CA) a été dissout dans le salin et entreposé à une température de  $-20^{\circ}\text{C}$ . Cette solution a été de nouveau dissoute dans le salin le jour de l'expérience. Après une période de stabilisation de 30 minutes, le véhicule et trois doses de NPY (1, 10 et 100 pmol/kg/min) ont été injectées dans l'IVA à une vitesse de 1 mL/min pour une durée de cinq minutes (figure 14). Une période de 20 minutes de récupération a été allouée à l'animal après chaque administration de NPY. Le débit régional myocardique a été évalué au point de référence (ligne de base) et après l'injection intracoronaire de chaque dose de NPY. De plus, après chaque étape du protocole (à la ligne de base et après l'injection intracoronaire de NPY) le diamètre de l'IVA a été déterminé à l'aide d'une angiographie.

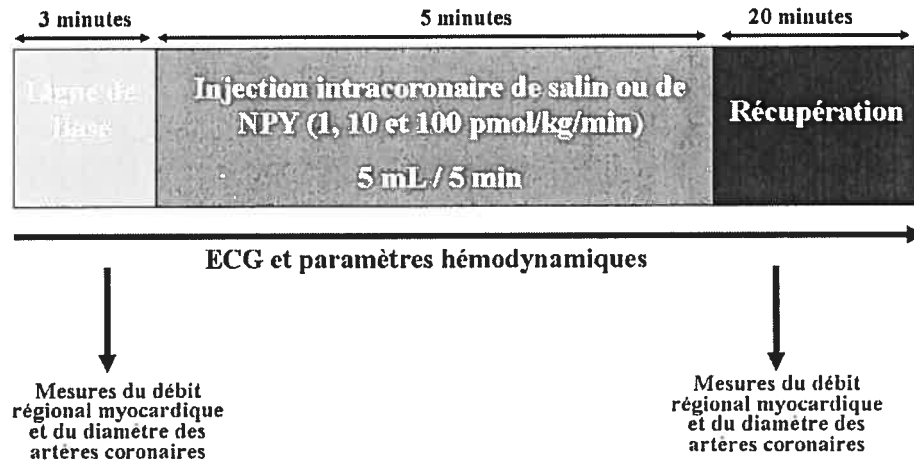


Figure 14: Protocole d'injection intracoronaire du NPY.

### Monitoring des paramètres hémodynamiques et ECG

Sept électrodes ont été positionnées sur la poitrine et le dos de l'animal pour permettre l'enregistrement continu de trois dérivations pseudo-orthogonales: les dérivations Cm5, III et postéro-antérieure (PA). Ces dérivations ont été choisies pour permettre la détection d'une ischémie transmurale ou sous-endocardique.<sup>330</sup>

Les signaux provenant des trois dérivations ECG ont été amplifiés et acquis à une fréquence de 500 échantillons/seconde sur un ordinateur personnel (Z Pro Pentium IV, IBM, New York, NY). Ces signaux, ainsi que les signaux hémodynamiques (pression artérielle sanguine et débit coronaire épicaudique), ont été continuellement enregistrés sur le disque dur de l'ordinateur. L'analyse de ces données a été effectuée à l'aide du logiciel VCGMI version 3.0 (centre de Recherche de l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal et l'Institut de génie biomédical, Montréal, Québec, Canada, 2000). Ce logiciel permet de visualiser l'ECG et les paramètres hémodynamiques lors de l'expérimentation et assure le calcul du complexe QRS-T moyen. Les données ECG sont recueillies et moyennées sur 10

secondes et la valeur du segment ST est évaluée au point J+60 msec dans chaque dérivation.

### **Détermination du débit régional myocardique à l'aide de microsphères de couleur**

La détermination du débit régional myocardique a nécessité l'administration de  $1 \times 10^6$  microsphères (diamètre de 15  $\mu\text{m}$ ) contenues dans une solution de Tween 80 à 0.01% (E-Z Trac Colored Ultraspheres, Triton Technologies Inc., San Diego, CA.). Cette injection a été effectuée sur une période de 15 sec. dans l'oreillette gauche. Les microsphères ont été préalablement mélangées à l'aide d'un vortex et diluées dans 6,7 mL de salin. L'échantillon de référence a été prélevé dans la veine jugulaire gauche 15 sec. avant le début de l'injection des microsphères et sur une durée de 2 minutes. La quantité de microsphères injectées durant ces expériences est inférieure à la quantité qui est administrée dans le cadre de d'autres expériences. Toutefois, la technique utilisée dans le cadre de ces expériences a été modifiée pour diminuer la perte de microsphères. La quantité injectée (1 million) a permis, dans ce modèle, de toujours obtenir 400 microsphères par échantillon, soit la quantité nécessaire pour évaluer le débit coronaire avec une bonne fiabilité.<sup>331</sup> De plus, l'administration d'une quantité supérieure de microsphères n'a démontrée aucune amélioration sur les données en générale.

À la fin de l'expérience, alors que le cœur se contractait toujours, une ligature de l'IVA a été produite au site de la bague de débit périvasculaire. Par la suite, 30 mL de thioflavine S (60 mg/kg; Sigma-Aldrich, Oakville, Ontario, Canada) a été injecté dans l'oreillette gauche pour déterminer la zone à risque.<sup>332, 333</sup> Les animaux ont ensuite été sacrifiés et le cœur a été prélevé. Le ventricule gauche est la seule partie du myocarde qui a été utilisé pour l'analyse du débit régional myocardique. Il a été disséqué en quatre couches qui ont une épaisseur semblable (Figure 15; couche #1: base, #2: site d'injection des agents vasoactifs, #3: couches en dessous du site d'injection et #4: apex).<sup>334, 335</sup>

Toutefois, il n'y a que l'analyse de la couche #2 et #3 qui a été effectuée puisque la couche #1 ne contient pas de zone ischémique et il est difficile de distinguer la zone ischémique et non-ischémique dans la couche #4. La séparation de la zone ischémique et non-ischémique a été effectuée grâce à la présence d'une lumière ultraviolette distinguant la région fluorescente (non-ischémique) et non fluorescente (ischémique). Pour finir, chaque couche de myocarde a été séparée en deux pour permettre l'évaluation du débit régional myocardique sous-endocardique et sous-épicaudique.

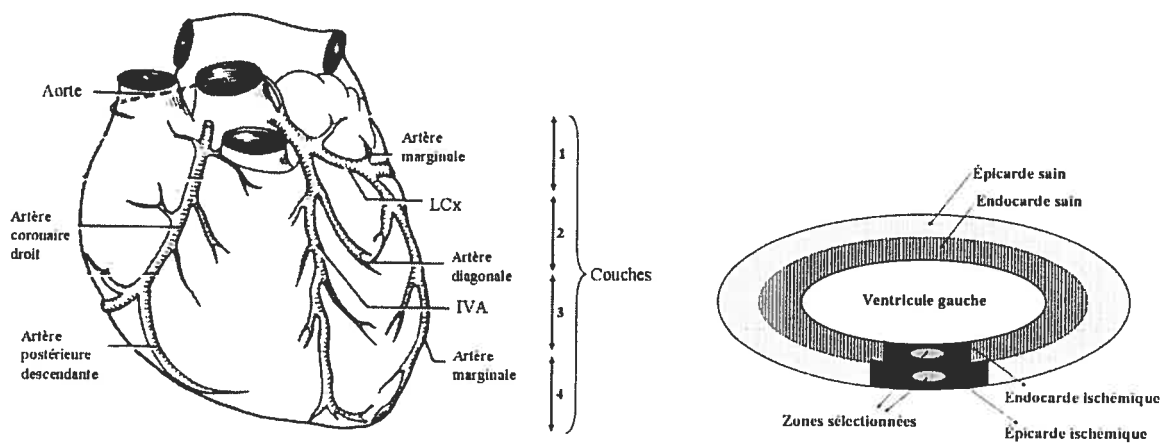


Figure 15: Représentation de la dissection du myocarde (à gauche) et d'une couche myocardique (à droite) utilisée pour l'analyse du débit régional myocardique.

L'échantillon de référence ainsi que les morceaux de myocarde ont été traités selon les directives de la compagnie. Ainsi, suite à la préparation du tissu myocardique et de l'échantillon de référence, il a été possible de compter les microsphères de couleurs à l'aide d'un hémacytomètre Neubauer (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ). Le débit régional myocardique a été calculé à partir de l'équation suivante:

$$Q_m = (C_m \times Q_r) / C_r \quad [2]$$

$Q_m$ : débit régional myocardique (mL/min/g de tissu)

$C_m$ : nombre de microsphère par gramme de tissu myocardique

$Q_r$ : vitesse de prélèvement de l'échantillon de référence

$C_r$ : nombre de microsphère dans l'échantillon de référence

### **Évaluation du diamètre des artères coronaires**

Le diamètre de l'IVA a été évalué à partir d'une angiographie numérique (Integris Allura 9, Phillips Medical Systems, Markham, Ontario, Canada) effectuée à l'aide de l'iopamidol (Isovue®, Bracco Diagnostics, Mississauga, Ontario, Canada) comme agent de contraste. Cet agent de contraste a été injecté dans l'IVA. Le diamètre minimum de l'artère coronaire a été calculé à partir du logiciel Inturis Suite Viewer (figure 16; Phillips Medical Systems, Markham, Ontario, Canada). Le diamètre a été calculé à la ligne de base, à l'occlusion partielle et critique dans le protocole avec la sténose progressive de l'artère coronaire. Dans le cadre des protocoles suivants (agents vasoactifs), le diamètre de l'IVA a été évalué à la ligne de base et après l'injection de chaque agent.

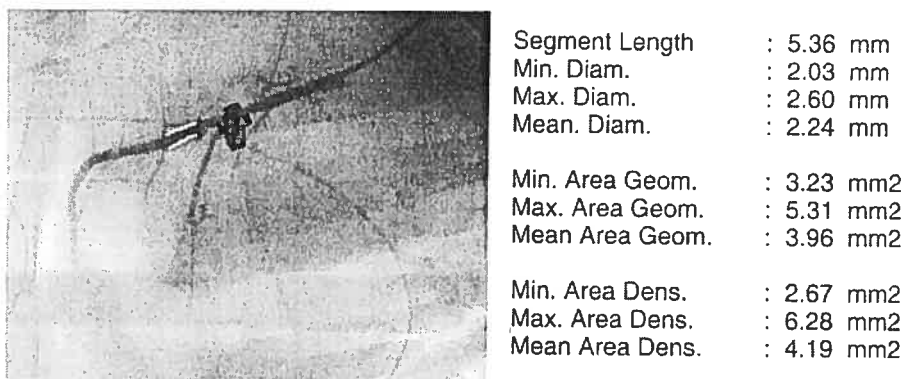


Figure 16: Exemple représentatif d'une image angiographique et des paramètres de l'IVA à la ligne de base chez le cochon.

## Statistiques

### 5-HT

Les valeurs sont toutes rapportées sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type. Une analyse de variance sur mesures répétées avec l'utilisation de contrastes appropriés a été effectuée pour les données hémodynamiques et ECG recueillies lors de l'administration de L-NAME. Un test de T-pairé a été effectué pour évaluer l'effet de l'injection du L-NAME sur le débit régional myocardique et le diamètre minimum de l'IVA. Par la suite, une analyse de variance sur mesures répétées avec l'utilisation de contrastes appropriés (salin et/ou doses vs. L-NAME; doses vs. salin) a été utilisée pour analyser les données hémodynamiques, ECG, angiographiques et du débit myocardique régional. Un  $P < 0,05$  est considéré comme étant statistiquement significatif. Les statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

### NPY

Les valeurs sont toutes rapportées sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type. Une analyse de variance sur mesures répétées avec l'utilisation de contrastes appropriés a été effectuée pour les données hémodynamiques et ECG recueillies lors de l'injection de salin. Un test



de T-pairé a été effectué pour évaluer l'effet de l'administration du salin sur le diamètre minimum de l'IVA. Par la suite, une analyse de variance sur mesures répétées avec l'utilisation de contrastes appropriés (doses vs. salin ou ligne de base) a été utilisée pour analyser les données hémodynamiques, ECG, angiographiques et du débit myocardique régional. Un  $P < 0,05$  est considéré comme étant statistiquement significatif. Les statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

### **Modèle expérimental et les techniques utilisées**

L'utilisation du porc pour ces expériences a été basée sur les caractéristiques du myocarde de cet animal. Tout d'abord, l'anatomie des vaisseaux coronaires porcins ressemble beaucoup à celle observée chez l'humain.<sup>3</sup> Par la suite, ce modèle animal possède un myocarde sans vaisseau collatéral.<sup>336</sup> Ainsi, cet aspect du myocarde porcine est important puisque la présence de vaisseaux collatéraux aurait pu interférer et même empêcher le développement d'une ischémie sous-endocardique. Toutefois, il est important de souligner que ces expériences devront éventuellement être refaites dans un modèle pathologique (athérosclérotique), dans lequel cas, le porc est aussi considéré comme un bon modèle lorsqu'une dénudation endothéliale est aussi induite.<sup>337</sup>

L'utilisation de microsphères non-radioactives de couleur pour l'évaluation du débit régional myocardique a nécessité certains ajustements pour nous permettre d'obtenir une technique fiable et reproductible. Le bon fonctionnement de cette technique était primordial dans l'interprétation de nos résultats. Toutefois, la marche à suivre déterminée par le fabricant des microsphères non-radioactives a menée à des résultats non reproductibles qui nous ont amené à nous poser des questions sur leurs fiabilités. Ainsi, nous avons réévalué la technique pour tenter d'augmenter la reproductibilité de cette méthode. Nous avons amélioré la reproductibilité de nos résultats grâce à l'utilisation d'un échantillon tissulaire avec un poids d'environ 1,0 g et aussi grâce à l'augmentation du

nombre de compte tissulaire.<sup>338</sup> Ainsi, nous avons pu minimiser la manipulation des échantillons, ce qui a permis d'améliorer la reproductibilité et aussi la fiabilité de nos résultats.

L'utilisation des agents vasoactifs comportait certaines particularités puisque plusieurs facteurs ont modifié l'effet de ceux-ci. Tout d'abord, la dilution de ces substances vasoactives a nécessité un solvant qui assure une conservation de leurs propriétés. Par exemple, la dilution de l'ET-1 dans le salin était inefficace puisqu'elle causait une perte de fonction de cet agent. Ainsi, nous avons dilué cet agent vasoactif dans l'albumine bovine sérique pour empêcher la diminution de l'effet vasoconstricteur de cet agent. La diminution de l'effet de l'ET-1 pouvait être causée par l'adhérence de la substance active aux parois avec lesquelles elle était en contact lors de l'expérience (une seringue, un bécher et autres). Cette modification a permis d'améliorer la reproductibilité des données obtenues avec cet agent vasoactif. Pour finir, l'injection du contrôle ou du véhicule était une étape importante pour évaluer adéquatement l'effet de chaque agent sur les paramètres enregistrés. Nous avons démontré qu'il était important de minimiser le volume injecté dans l'artère coronaire puisqu'il pouvait occasionner des changements hémodynamiques et ECG. Ainsi, nous avons choisi d'injecter un volume de 1 mL/min dans toutes nos expériences pour réduire l'effet du véhicule.

## **Chapitre 6: Absence of clinically significant increase in pulmonary artery pressure after intravenous perflutren injection for myocardial perfusion imaging in pigs.**

De Chantal M., Amyot R., Diodati J.G., LeBlanc A-R., Pharand C.

Publié dans *Journal of the American Society of Echocardiography*  
2005; 18; 1299-1303

Absence of clinically significant increase in pulmonary artery pressure after intravenous perflutren injection for myocardial perfusion imaging in pigs

Marilyn de Chantal est la principale auteur de cet article (contribution : élaboration du projet, réalisation des expériences, analyse des résultats et écriture du manuscrit)

Reproduit : *Journal of the American Society of Echocardiography*, 18 (12): De Chantal M., Amyot R., Diodati J.G., LeBlanc A-R., Pharand C., Absence of clinically significant increase in pulmonary artery pressure after intravenous perflutren injection for myocardial perfusion imaging in pigs, 1299-1303, 2005, avec la permission de The American Society of Echocardiography.

## Summary

*Objective:* We sought to evaluate the impact of a continuous intravenous infusion of perflutren on systemic pulmonary artery pressures at clinically relevant doses for myocardial perfusion imaging in pigs.

*Methods:* Five anaesthetized, ventilated, open-chest pigs were administered perflutren intravenously at a rate of 0,0364 mL/kg/min over approximately 5 minutes.

*Results:* Optimal, sustained myocardial opacification was achieved in all animals. Perflutren produced transient, reversible increases in pulmonary artery pressures versus baseline: 10.6% ( $3,0 \pm 1,4$  mmHg; 95% confidence interval 1,7–4,2;  $P < ,01$ ) for systolic, 15.2% ( $2,5 \pm 1,4$  mmHg; 95% confidence interval 1,3–3,7;  $P < ,05$ ) for diastolic and 11.6% ( $2,6 \pm 1,1$  mmHg, 95% confidence interval 1,68–3,65;  $P < ,01$ ) for mean pressures. Heart rate and systemic arterial pressures displayed nonsignificant increases during perflutren infusion compared with baseline.

*Conclusion:* A continuous intravenous infusion of perflutren at a rate achieving optimal, sustained myocardial perfusion imaging in pigs induces a mild, transient, not clinically significant increase in pulmonary artery pressures without affecting heart rate or systemic arterial pressures. (J Am Soc Echocardiogr 2005; 18: 1299-1303.)

Myocardial contrast echocardiography (MCE) has been validated for the assessment of myocardial perfusion in various experimental and clinical settings. This noninvasive technique provides good spatial and temporal resolutions, using ultrasounds rather than ionizing radiation. Therefore, MCE constitutes a useful alternative to nuclear medicine imaging for myocardial perfusion assessment in the clinical arena.<sup>1</sup> MCE has been shown to provide accurate information for the diagnosis, treatment and prognosis of patients with coronary artery disease in acute and chronic conditions.<sup>2,3</sup>

One of the latest advances in the field has been the development of second-generation echographic contrast agents. These agents consist of microbubbles filled with high molecular-weight gases (such as fluorocarbons) that are less diffusible and less soluble than air in blood.<sup>1,4-6</sup> These structural changes increase the stability and half-life of the echographic contrast agents. Moreover, the reduced size of the microbubbles of the most recent agents permits transpulmonary passage, allowing myocardial perfusion imaging using intravenous injections instead of intracoronary administration.<sup>1,4</sup>

However, transpulmonary passage of particles and contrast echographic microspheres has been associated with acute increases in pulmonary artery (PA) pressures in pigs.<sup>7</sup> This pulmonary hypertension has been attributed to an inflammatory reaction following phagocytosis of microspheres and may be severe enough to cause death in experimental animals.<sup>7-9</sup> Therefore, some authors have suggested using indomethacin to prevent pulmonary hypertension reaction.<sup>9</sup>

The objective of the present study was to assess the hemodynamic effects of an intravenous infusion of perflutren, a second-generation echographic contrast agent, in pigs, a model of pulmonary circulation hypersensitive to injected particles.

## Methods

### Animal Preparation

Experiments were conducted on 5 male domestic swines ( $33,6 \pm 0,7$  kg) in compliance with the guidelines of the Canadian Council for Animal Care. The animals were part of a protocol using MCE to evaluate myocardial microcirculation during epicardial coronary flow manipulation. The article reports the hemodynamic effects associated with intravenous infusions of perflutren measured at steady state, before any experimental intervention on coronary flow was performed.

All animals received 325 mg/day of acetylsalicylic acid (Apotex, Toronto, Ontario, Canada) during the 3 days preceding the experimentation. They were anesthetized with intramuscular ketamine/xylazine (20 mg/kg; 2 mg/kg; Wyeth Pharmaceuticals, Montréal, Québec, Canada), intubated and ventilated with a positive pressure ventilator (Ohmeda 7800 anesthesia ventilator, DRE Medical, Louisville, KY). Anesthesia was maintained with isoflurane (Abbott Laboratory, Montréal, Québec, Canada) 1,5% in O<sub>2</sub>:N<sub>2</sub>O (2:1). The right external jugular vein was cannulated with a 9F vascular sheath for intravenous fluid administration. A 7F Swan-Ganz catheter (Edwards Life Sciences, Mississauga, Ontario, Canada) was inserted into the left external jugular vein by a 9F vascular sheath and positioned into the PA for pulmonary pressure monitoring (8-Channel Polygraph, Nihon Kohden America, Foothill Ranch, Calif). The left carotid artery was cannulated with an 8F vascular sheath for blood pressure monitoring and blood sampling.

Muscular relaxation was obtained before thoracotomy with vecuronium (0,1 mg/kg intravenously) (Organon, Toronto, Ontario, Canada). Finally, a left thoracotomy was performed at the fifth intercostal space to allow insertion of a perivascular flowmeter (T106/206, Transonic, Ithaca, NY). Systemic anticoagulation was achieved with sodium heparin (Leo Pharma, Thornill, Ontario, Canada), with an initial intravenous bolus of 200

U/kg, followed by additional boluses of 200 U/kg every hour as needed to maintain activated coagulation time more than 250 seconds.

### **MCE Experimental Protocol**

After instrumentation, a stabilization period of at least 45 minutes was allowed before starting the experimental protocol. Perflutren (Definity, BMS Medical Imaging Inc, North Billerica, Mass) was prepared with an activation device (Vialmix, BMS Medical Imaging Inc) within minutes of its administration. Each pig received a single intravenous perflutren infusion at a rate of 0,0364 mL/min (administered as a diluted solution of 1,3 mL in 125 mL of normal saline at 3,5 mL/min) over approximately 5 minutes. This dose provided optimal, sustained myocardial opacification in our open-chest animal model. In previous experiments using the same protocol and setup, higher infusion rates of perflutren produced shadowing of the posterior wall of the left ventricle. A waiting period of at least 2 minutes from the start of infusion to image acquisition was used to obtain steady-state concentrations of the contrast agent. A latex bag filled with normal saline was positioned between the heart epicardium and the transducer to serve as an acoustic interface.

### **Experimental Measurements**

Hemodynamic parameters (heart rate, systemic arterial pressure and PA pressure) were recorded continuously before, during and after contrast infusion on an 8-channel polygraph and on a computer (Z Pro Pentium IV, IBM, White Plains, NY). For analysis purposes, measurements reported for the period during the infusion were recorded at the end of the infusion. Hemodynamic recordings were analyzed with a signal processing software (VCGMI, version 3.0, Centre de Recherche, Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal and Institut de Génie Biomédical, Université de Montréal, Québec, Canada, 2000).

Echocardiographic images were acquired with a broadband 4 to 2 MHz transducer using a commercially available ultrasound system (HDI 5000; Advanced Technology Laboratories,

Inc., Seattle, Wash). The left ventricle was scanned in short axis at the papillary muscle level. Images were digitized for later analysis.

### **Statistical Analysis**

Results are reported as means  $\pm$  SD. Analysis of variance for repeated measures as reported by Winer was performed.<sup>10</sup> An increase in mean PA pressure of 10 mmHg or more was considered clinically significant because it is associated with a sharp reduction in the stroke volume in the acute setting.<sup>11</sup> All differences were considered statistically significant when  $P < .05$ .

### **Results**

The infusion of activated perflutren (0,0364 mL/min) resulted in adequate myocardial opacification in all our open-chest animals (Figure 1). This concentration of perflutren is lower than the concentration recommended by the manufacturer for left ventricular opacification in humans beings (1,3 mL activated perflutren in 50 mL saline at the rate of 4 mL/min or 0,104 mL/min of activated perflutren).

### **Hemodynamic Effects**

Baseline values and the hemodynamic response to perflutren administration are displayed in Table. Heart rate and systemic arterial pressures displayed nonsignificant increases during perflutren infusion versus baseline: 6,1% ( $5,9 \pm 9,1$  beats/min; 95% confidence interval [CI] -2,1 – 13,8;  $P = .7$ ) for heart rate, 2,5% ( $2,3 \pm 2,9$  mm Hg; 95% CI -0,2 – 4,8;  $P = .1$ ) for systemic systolic arterial pressure and 1,9% ( $1,1 \pm 1,6$  mm Hg; 95% CI -0,3 – 2,5;  $P = .1$ ) for systemic diastolic arterial pressure. Infusion of perflutren produced transient, reversible increases in PA pressures versus baseline: 10,6% ( $3,0 \pm 1,4$  mm Hg; 95% CI 1,7 – 4,2;  $P < .01$  vs. baseline) for systolic, 15,2% ( $2,5 \pm 1,4$  mm Hg; 95% CI 1,3 – 3,7;  $P < .05$  vs. baseline) for diastolic and 11,6% ( $2,6 \pm 1,1$  mm Hg, 95% CI 1,7 – 3,7;  $P < .01$  vs.



baseline) for mean PA pressures (Figure 2). These pressures returned to baseline levels within 60 seconds of contrast infusion cessation (Figure 3).

### **Discussion**

This is the first study to evaluate the hemodynamic impact of a continuous infusion of perflutren for MCE in pigs. We focused on a rate of administration achieving optimal, sustained myocardial perfusion imaging in open-chest animals. Perflutren induced a statistically significant increase in systolic and diastolic PA pressures. However, these changes were transient and not clinically significant because increases of less 10 mmHg in mean PA pressure do not notably influence stroke volume in the acute setting.<sup>11</sup> PA pressures returned to their baseline values at the end of the infusion. Of note, no significant variations were observed on heart rate and systemic arterial pressures during perflutren administration.

Recent developments in MCE give this technique a real advantage over other modalities to evaluate myocardial perfusion in the clinical arena.<sup>4;12</sup> Multiple animal studies have validated MCE to quantify myocardial blood flow, risk area and infarct size during coronary artery occlusion and reperfusion.<sup>12;13</sup> Early studies in humans beings have demonstrated a good correlation between coronary blood flow reserve obtained with a Doppler flow wire and the ratio of hyperemic to resting myocardial blood flow velocities measured with MCE.<sup>13</sup>

Various injected particles have been reported to cause pulmonary hypertension in pigs and dogs, including echographic contrast agents (Albunex, Optison).<sup>9;14</sup> To prevent pulmonary hypertension, some authors have suggested using indomethacin concomitantly with echographic contrast agents in pigs.<sup>9</sup> However, our results do not support this practice when perflutren is used as the echographic contrast agent. In humans beings, no increase in PA

pressure has been observed with recommended perflutren doses.<sup>13;15</sup> However, the product monograph warrants caution in patients with clinically significant pulmonary disease.

Use of intravenous perflutren for MCE in pigs has been reported in only a single study. Grauer et al.<sup>7</sup> evaluated bolus injections and achieved transient (20-105 seconds) myocardial opacification. In that study, the intravenous bolus injections of 0,0005, 0,001 and 0,002 mL/kg of perflutren had no significant effect on systolic and mean PA pressures. However, intravenous bolus administration of higher doses of perflutren caused a significant increase in systolic and mean PA pressures (13 and 16 mm Hg in mean PA pressure after 0,005 and 0,01 mL/kg, respectively) in pigs.

The rate of administration and the injected amount of perflutren can explain the difference between our results and those of Grauer's and al.<sup>7</sup> Whereas Grauer et al.<sup>7</sup> injected a rapid intravenous bolus of perflutren (0,005 or 0,01 ml/kg, equivalent to  $6,0 \times 10^7$  and  $1,2 \times 10^8$  microbubbles/kg, respectively), we infused a solution of perflutren over approximately 5 minutes (equivalent to  $1,32 \times 10^7$  microbubbles/kg/min). Thus, pulmonary hypertension during MCE in pigs may be related to the microbubble concentration (lipid concentration) and the action may be determined by a dose-response curve.<sup>7</sup> In addition, our data extend the observation reported by Grauer et al.<sup>7</sup>, suggesting that perflutren does not significantly influence heart rate and systemic arterial pressures, whether administered as a bolus injection or a continuous infusion.

Pulmonary hypertension induced by intravenous administration of particles in pigs is caused by the lipid bilayer, microbubble shell, composed of albumin, lipids or phospholipids.<sup>4-6;8</sup> Liposomes are known to cause pulmonary hypertension and the increase in mean PA pressure (45-50 mm Hg increase) is directly related to their concentration in lipids.<sup>8</sup> Liposomes composed of dimyristoyl phosphatidylglycerol, 71 mol% cholesterol, distearoyl phosphatidylcholine and hemoglobin are all associated with important increases

in PA pressures, whereas dimyristoyl phosphatidylcholine has displayed less effect.<sup>339</sup> Thus, the hemodynamic consequences of echographic contrast agents on PA pressures depend on microbubble shell composition. It has also been demonstrated that the administration method (infusion instead of bolus injection) is correlated with the effects of liposomes on PA pressures.<sup>8</sup> These factors may explain the difference between our results and those of Grauer et al.<sup>7</sup> Whereas we used a total amount of approximately 0.005 ml/kg over 5 minutes and demonstrated no clinically significant increase in PA pressure, Grauer et al.<sup>7</sup> observed significant increases in PA pressure with a similar total dose but given as a bolus injection.

### **Limitations**

Isoflurane induces a dose-related decrease in mean PA pressure in ventilated, open-chest dogs and may have affected the pulmonary vascular response to perflutren.<sup>16</sup> In the absence of data on the hemodynamic interaction between anesthetic agent and perflutren in the literature, our results should be extended to other conditions with caution. We also used a lower concentration than is usually recommended for clinical use. However, this concentration was chosen because it provided optimal, sustained opacification of the myocardium whereas higher doses generated shadowing in the far field. Finally, we can not rule out the possibility that our use of an open-chest model might have favored adequate myocardial opacification with lower doses of perflutren than would have been required with the transthoracic approach. However, some data suggest that optimal myocardial opacification can be achieved using the same contrast agent concentration in open- or closed-chest animal.<sup>17</sup>

### **Conclusion**

A continuous infusion of intravenous perflutren at a rate achieving optimal, sustained myocardial perfusion imaging in pigs induces a mild, transient and not clinically significant increase in PA pressures. Hence, although pigs are hypersensitive to injected particles, they

provide a suitable experimental model for perfusion imaging using MCE in conjunction with perflutren without requiring concurrent indomethacin administration.

**Acknowledgements**

We wish to thank Mr. Pierre Fortier and Bruno Dubé from the Research Center, Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal, for their technical help.

## REFERENCES

1. Amyot R, Morales MA, Rovai D. Contrast echocardiography for myocardial perfusion imaging using intravenous agents: progress and promises. *Eur J Echocardiogr* 2000;1:233-43.
2. Hagendorff A, Goeckritz A, Pfeiffer D, Becher H. Myocardial contrast echocardiography demonstrates myocardial hypoperfusion in the LAD territory in patients with acute chest pain at rest--a prospective study using power Doppler harmonic imaging with intravenous bolus application. *Eur J Echocardiogr* 2004;5:132-41.
3. Monakier D, Woo A, Vannan MA, Rakowski H. Myocardial contrast echocardiography in chronic ischemic and nonischemic cardiomyopathies. *Cardiol Clin* 2004;22:269-82.
4. Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, Linka A, Skyba DM, Kaul S. Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion. *Circulation* 1998;97:473-83.
5. Lafitte S, Perron JM, Roudaut R: Échocardiographie de contraste : de la validation expérimentale à la pratique. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2003;96:51-7.
6. Dijkmans PA, Juffermans LJ, Musters RJ, van Wamel A, ten Cate FJ, van Gilst W, et al. Microbubbles and ultrasound: from diagnosis to therapy. *Eur J Echocardiogr* 2004;5:245-56.

7. Grauer SE, Pantely GA, Xu J, Ge S, Giraud GD, Shiota T, et al. Myocardial imaging with a new transpulmonary lipid-fluorocarbon echo contrast agent: experimental studies in pigs. *Am Heart J* 1996;132:938-45.
8. Szebeni J, Baranyi L, Savay S, Bodo M, Morse DS, Basta M, et al. Liposome-induced pulmonary hypertension: properties and mechanism of a complement-mediated pseudoallergic reaction. *Am J Physiol* 2000;279:1319-28.
9. Ostensen J, Hede R, Myreng Y, Ege T, Holtz E. Intravenous injection of Albunex microspheres causes thromboxane mediated pulmonary hypertension in pigs, but not in monkeys or rabbits. *Acta Physiol Scand* 1992;144:307-15.
10. Winer BJ, Brown DR, Michels KM. Multifactor experiments having repeated measures on the same elements. In: Winer BJ, Brown DR, Michels KM, editors. *Statistical principles in experimental design*, 3rd ed. United States of America; McGraw & Hill; 1991, p. 497-582
11. Abel FL, Waldhausen JA. Effects of alterations in pulmonary vascular resistance on right ventricular function. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1967;54:886-94.
12. Lafitte S, Higashiyama A, Masugata H, Peters B, Strachan M, Kwan OL, et al. Contrast echocardiography can assess risk area and infarct size during coronary occlusion and reperfusion: experimental validation. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1546-54.
13. Wei K, Ragosta M, Thorpe J, Coggins M, Moos S, Kaul S. Noninvasive quantification of coronary blood flow reserve in humans using myocardial contrast echocardiography. *Circulation* 2001;103:2560-5.

14. Yamaya Y, Niizeki K, Kim J, Entin PL, Wagner H, Wagner PD. Effects of Optison on pulmonary gas exchange and hemodynamics. *Ultrasound Med Biol* 2002;28:1005-13.
15. Weissman NJ, Cohen MC, Hack TC, Gillam LD, Cohen JL, Kitzman DW. Infusion versus bolus contrast echocardiography: a multicenter, open-label, crossover trial. *Am Heart J* 2000;139:399-404.
16. Kerbaul F, Rondelet B, Motte S, Fesler P, Hubloue I, Ewalenko P, et al. Isoflurane and desflurane impair right ventricular-pulmonary arterial coupling in dogs. *Anesthesiology* 2004;101:1357-62.
17. Masugata H, Peters B, Lafitte S, Yao B, Strachan M, Ling Kwan O, et al. Comparison of open- and closed-chest canine model for quantification of coronary stenosis severity by myocardial contrast echocardiography. *Invest Radiol* 2003;38:44-50.

### Legends

Figure 1 Representative serial short-axis images of the left ventricle at the papillary muscle level from start of infusion of echographic contrast agent (perflutren) to steady state. The last image displays optimal, sustained myocardial opacification.

Figure 2 Pulmonary artery pressure (PAP) at baseline, during and after echographic contrast infusion (perflutren). Values are expressed as means  $\pm$  SD. dPAP, Diastolic PAP; mPAP, mean PAP; sPAP, systolic PAP. \* $P < .01$  versus baseline and versus after infusion; † $P < .05$  versus baseline and versus after infusion.

Figure 3 Representative example of hemodynamic effects of intravenous perflutren infusion in one study animal. dPAP: Diastolic pulmonary artery pressure (PAP); dSAP: diastolic systemic arterial pressure (SAP); sPAP: systolic PAP; sSAP: systolic SAP.



**Table 1.** Hemodynamic effects before, during and after administration of perflutren in pigs

	<b>Heart Rate</b> (bpm)	<b>sSAP</b> (mm Hg)	<b>dSAP</b> (mm Hg)	<b>sPAP</b> (mm Hg)	<b>dPAP</b> (mm Hg)	<b>mPAP</b> (mmHg)
Baseline	97,5 ± 20,8	90,2 ± 43,5	56,7 ± 33,5	28,3 ± 3,3	16,5 ± 7,3	20,4 ± 5,6
During Infusion	103,4 ± 28,2	92,5 ± 42,2	57,8 ± 32,5	31,3 ± 4,5*	19,0 ± 8,3 <sup>†</sup>	23,1 ± 6,5*
After Infusion	103,4 ± 30,5	87,6 ± 39,6	54,4 ± 30,7	29,3 ± 3,4	17,1 ± 7,6	21,2 ± 5,7

Values are expressed as means ± SD; n = 5.

dPAP: diastolic pulmonary artery pressure; dSAP: diastolic systemic arterial pressure; mPAP: mean pulmonary artery pressure; sPAP: systolic pulmonary artery pressure; sSAP: systolic systemic arterial pressure.

\*Significant changes versus baseline and versus after infusion,  $P < 0,01$ .

<sup>†</sup>Significant changes versus baseline and versus after infusion,  $P < 0,05$ .

Figure 1

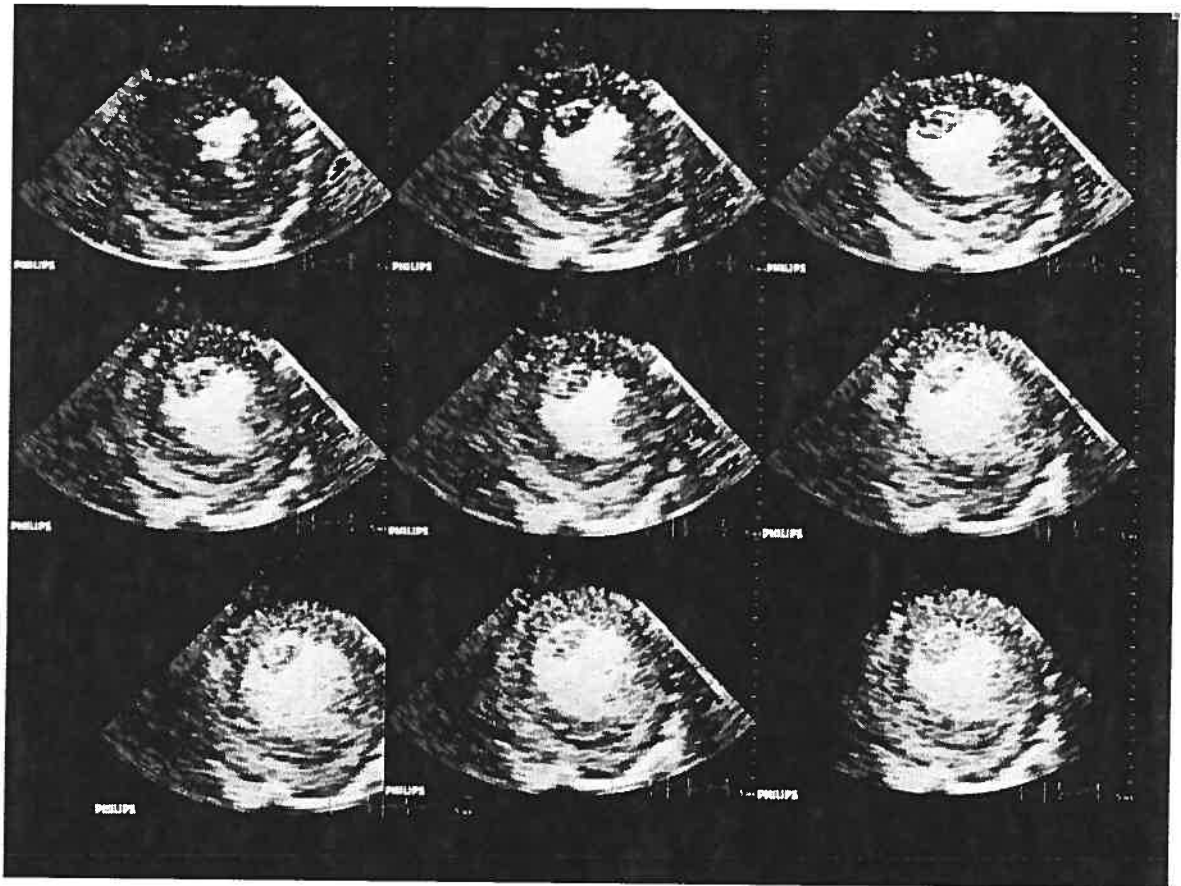


Figure 2

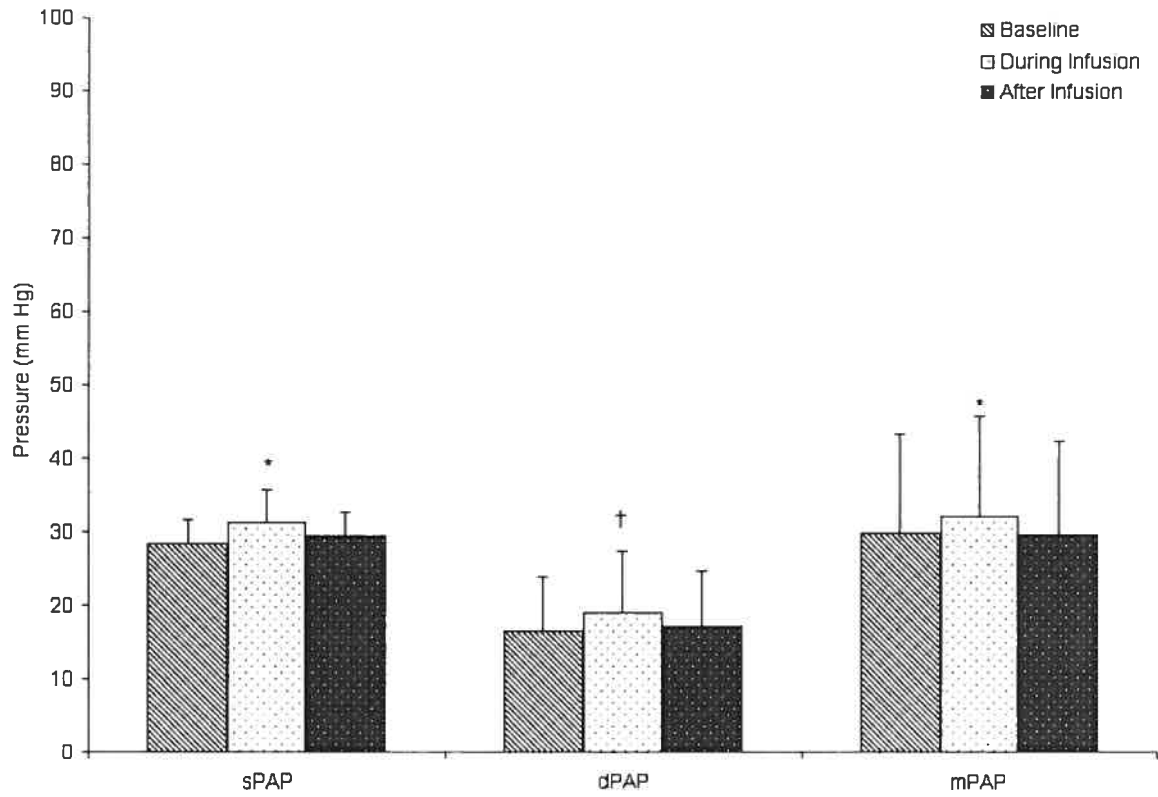
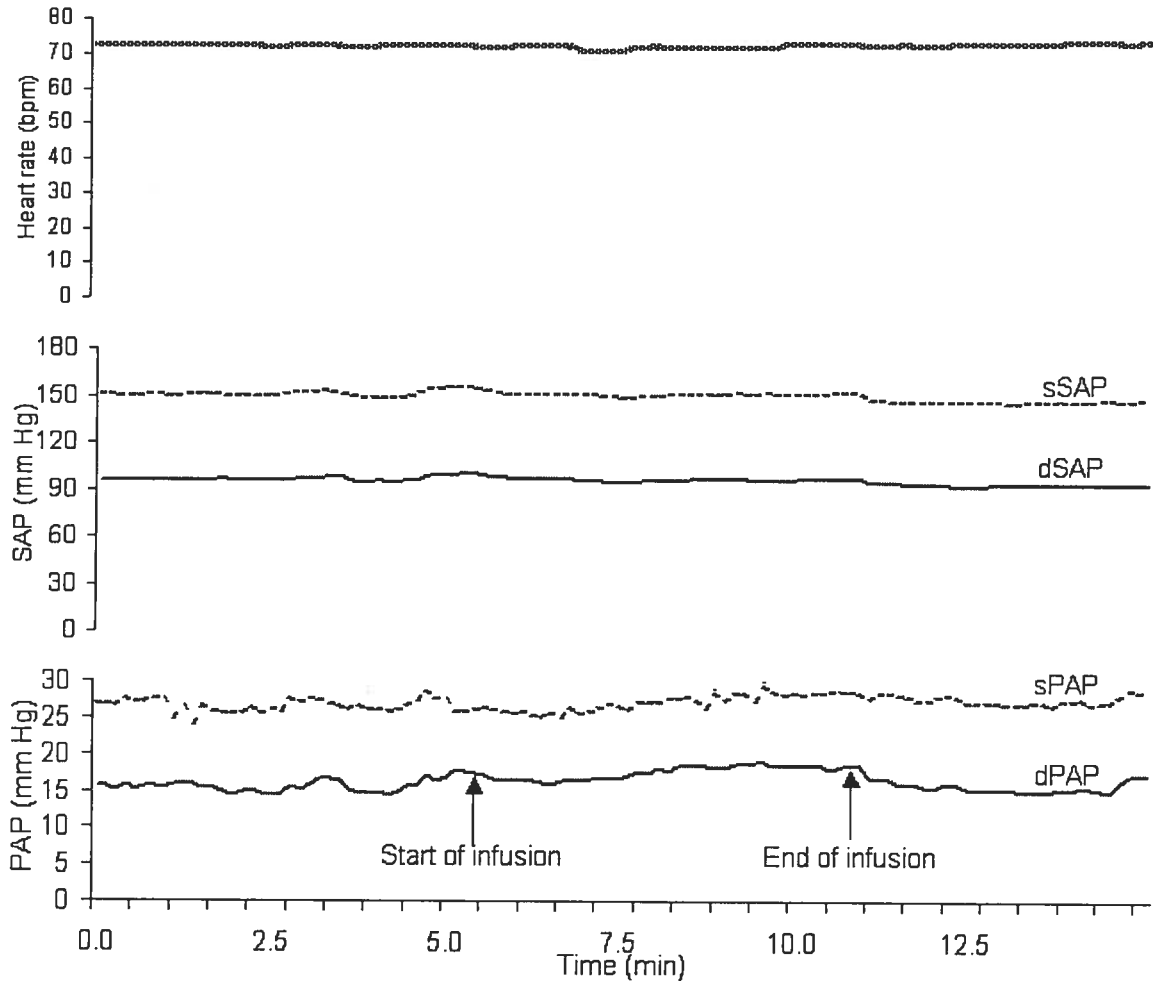


Figure 3



## **Chapitre 7: Progressive epicardial coronary blood flow reduction fails to produce ST-segment depression at normal heart rate.**

de Chantal M., Diodati J.G., Nasmith J.B., Amyot R., LeBlanc A-R., Schampaert E.,  
Pharand C.

Publié dans *American Journal of Physiology*, 2006; 291 (6); H2889-96

Progressive epicardial coronary blood flow reduction fails to produce ST-segment  
depression at normal heart rate.

Marilyn de Chantal est la principale auteur de cet article (contribution : élaboration du  
projet, réalisation des expériences, analyse des résultats et écriture du manuscrit)

Reproduit : *American Journal of Physiology*: de Chantal M., Diodati J.G., Nasmith J.B.,  
Amyot R., LeBlanc A-R., Schampaert E., Pharand C., Progressive epicardial coronary  
blood flow reduction fails to produce ST-segment depression at normal heart rate,  
*American Journal of Physiology*, 2006; 291 (6); H2889-96, avec la permission de American  
Journal of Physiology.



**Abstract**

ST-segment depression is commonly seen in patients with acute coronary syndromes. Most authors have attributed it to transient reductions in coronary blood flow due to nonocclusive thrombus formation on a disrupted atherosclerotic plaque and dynamic focal vasospasm at the site of coronary artery stenosis. However, ST-segment depression was never reproduced in classic animal models of coronary stenosis without the presence of tachycardia. We hypothesized that ST-segment depression occurring during acute coronary syndromes is not entirely explained by changes in epicardial coronary artery resistance and thus, evaluated the effect of a slow, progressive epicardial coronary artery occlusion on the ECG and regional myocardial blood flow in anesthetized pigs. Slow, progressive occlusion over  $72 \pm 27$  min of the left anterior descending coronary artery in 20 anesthetized pigs led to a 90% decrease in coronary blood flow and the development of ST-segment elevation associated with homogeneous and transmural myocardial blood flow reductions, confirmed by microspheres and myocardial contrast echocardiography. ST-segment depression was not observed in any ECG lead prior to the development of ST-segment elevation. At normal heart rates, progressive epicardial stenosis of a coronary artery results in myocardial ischemia associated with homogeneous, transmural reduction in regional myocardial blood flow and ST-segment elevation, without preceding ST-segment depression. Thus, in coronary syndromes with ST-segment depression and predominant subendocardial ischemia, factors other than mere increase in epicardial coronary resistance must be invoked to explain the heterogeneous parietal distribution of flow and associated ECG changes.

**Keywords:** ST-segment elevation, epicardial resistance, ST-segment depression, myocardial perfusion.

## Introduction

Acute coronary syndromes (ACS) are broadly divided in two clinical entities based on the ECG: on one hand, ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) and on the other hand, unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction (UA/NSTEMI). This classification defines two ACS subgroups with different epidemiologic profiles, pathophysiologic characteristics, and probability of future ischemic events. This ECG-based dichotomy carries significant therapeutic implications as well (1; 8; 9; 32; 42). The presence of persistent ST-segment elevation, as observed in STEMI, is an indication for immediate reperfusion by mechanical or pharmacological means (1; 15; 20; 31; 47). In contrast, patients with UA/NSTEMI, who commonly present ST-segment depression episodes, will benefit most from antithrombotic treatments, followed by early revascularization in higher risk suitable patients (3; 10; 15).

These ECG changes have commonly been attributed to the extent of coronary blood flow (CBF) reduction, with on one hand, a narrowed yet patent vessel (ST-segment depression), and on the other hand, an occluded artery (ST-segment elevation) (14; 30; 45). Even though a well-known continuous relation is hypothesized between progressive proximal stenosis and falling perfusion pressure, to implicate the severity of epicardial coronary obstruction as the only determinant of ST-segment expression may be simplistic and unsupported by clinical observations (19; 22). In stable angina patients and in classic animal models, moderately severe coronary lesions produce ST-segment depression only in the presence of tachycardia, which shortens the diastolic filling time and reduces perfusion more severely in the subendocardium than in the subepicardium (22; 35; 36). On the contrary, in UA/NSTEMI patients, plaque rupture and activation of the coagulation and inflammatory cascades commonly generate ST-segment depression at normal heart rate in the presence of coronary stenoses of severity comparable to that of stable angina patients (2; 13; 29; 38). Finally, a smooth spectrum of ST-segment behavior typical of a single



mechanism operating along a spectrum of values cannot be found when the evolution of ST-segment changes during ACS is carefully examined. For example, progressive fibrinolysis and recanalization of a coronary occlusion in STEMI does not register as ST-segment depression on the way to complete resolution after ST-segment elevation.

Whereas theoretical studies predict that ST-segment depression might occur in precordial leads during subendocardial ischemia (26), to our knowledge, clinical and experimental studies have never demonstrated the transition from ST-segment depression to ST-segment elevation with progressive CBF reduction. Moreover, coronary lesions manifest themselves distinctly on the ECG under different conditions. Hence, there is need to revisit the paradigm that assumes all ST segment shifts can be accounted for by epicardial coronary resistance alone. We postulated that ST-segment depression occurring at normal heart rates, as in UA/NSTEMI, might not be entirely explained by increases in epicardial coronary artery resistance alone (14; 22; 30; 35; 45).

Hence, the purpose of this study was to evaluate the contribution of epicardial coronary vascular resistance to ST-segment depression observed in patients with UA/NSTEMI, by confirming the absence of any ST-segment depression prior to the appearance of ST-segment elevation during acute epicardial occlusion without tachycardia. In order to achieve this goal, we sought to determine the effect of slow, progressive coronary flow reduction on the development, distribution, and ECG expression of myocardial ischemia in healthy pigs with normal heart rates. A porcine model was chosen to explore this hypothesis for its numerous and well documented similarities with humans, both at the anatomical and physiological levels (5; 43; 46). The epicardial coronary constriction was designed to mimic the presence of thrombus partially but dynamically occluding the artery, as thought to occur in UA/NSTEMI patients.

## Methods

### Animal preparation

Experiments were conducted on 25 male domestic Landrace swines ( $34.9 \pm 1.8$  kg) in compliance with the Canadian Council for Animal Care guidelines. Five animals were excluded from analysis: 3 for tachycardia, one for hypotension (fall in systolic blood pressure  $> 25$  mmHg) and one for faulty CBF signal acquisition. We therefore report results on 20 animals.

All animals received 325 mg daily of acetylsalicylic acid (Apotex, Toronto, Canada) for three days before the experimentation to prevent increased platelet aggregation during surgical preparation of the animals. They were anesthetized with intramuscular ketamine/xylazine (20 mg/kg; 2 mg/kg; Wyeth Pharmaceuticals, Montréal, Canada), intubated and ventilated with a positive pressure ventilator (Ohmeda 7800 anaesthesia ventilator, DRE Medical, Louisville, USA) with  $FiO_2$  maintained constant at 20 to 30%. Anaesthesia was maintained with isoflurane (Abbott Laboratory, Montréal, Canada) 1.5% in  $O_2:N_2O$  (2:1). The left external jugular vein was cannulated with a 9F vascular sheath as an access for intravenous fluid and echographic contrast agent administration. The right carotid artery was cannulated with an 8F vascular sheath for blood sampling and systemic artery pressure monitoring (8-Channel polygraph, Nihon Kohden America Inc., Foothill Ranch, USA). An 8F vascular sheath was also positioned in the left carotid artery, through which a 7F guiding catheter was advanced into the left coronary artery. Through this guiding catheter, a 4F Berman catheter was positioned into the proximal left anterior descending coronary artery (LAD) for coronary angiography. The left femoral artery was cannulated with a 7F vascular sheath to allow withdrawal of reference blood samples for assessment of regional myocardial blood flow (MBF) by colored microspheres.

Muscular paralysis was obtained with vecuronium (0.1 mg/kg i.v.; Organon, Toronto, Canada). A left thoracotomy was performed at the fifth intercostal space to allow placement of a proximal perivascular balloon constrictor (OC2 2 mm, In Vivo Metric, Healdsburg, USA) around the proximal LAD and a perivascular flowmeter (Transonic T106/T206 systems, Transonic Systems Inc., Ithaca, USA) distal to the constrictor. A 5F polyvinyl chloride catheter was placed directly in the left atrium for microsphere injections. A median epigastric incision was made substernally along the inferior costal edge to allow positioning of the echocardiographic transducer in an infra-diaphragmatic location. Systemic anticoagulation was achieved with sodium heparin (Leo Pharma, Thornhill, Ontario, Canada) with an initial intravenous 200 U/kg bolus, followed by additional 200 U/kg boluses hourly, to maintain an activated clotting time > 200 sec.

Seven electrodes were positioned on the chest and back of the animals for continuous recording of 3 pseudo-orthogonal bipolar ECG leads: Cm5, III and postero-anterior (PA). These leads were chosen to ensure that any anterior wall transmural or subendocardial ischemia could be detected. As we previously described, the PA lead detects any ST-segment elevation arising from the anterior wall, whereas Cm5 records any subendocardial ischemia (39). Our ability to detect ST-segment elevation and depression in our open-chest model with this lead system was demonstrated in preliminary experiments (data not shown). Moreover, we were able to detect ST-segment depression in the 3 animals that were rejected from analysis because of tachycardia (between 126 and 588  $\mu$ V). After instrumentation, a stabilization period of at least 45 minutes was allowed before initiating the experimentation.

### **Coronary blood flow reduction**

While hemodynamic and ECG parameters were continuously recorded, all animals underwent slow, progressive LAD occlusion using the perivascular constrictor connected to

a Harvard pump (Harvard Apparatus Inc., Holliston, USA), until persistent ST-segment elevation occurred. The balloon was inflated at a rate of 0.0068 ml/min. This rate was validated in preliminary experiments to achieve complete occlusion of the LAD in approximately 60 min and be able to detect all transient ECG changes without provoking tachycardia. Regional MBF was determined by injection of colored microspheres (n=5) at baseline, at partial occlusion (when 50% reduction of baseline CBF was achieved) and at critical occlusion (when persistent ST-segment elevation appeared) or by myocardial contrast echocardiography (MCE; n=7) at baseline and at critical occlusion. Our intent was to use the two techniques to validate our findings. Both have different limitations and obtaining similar results with both modalities confirms that our results were robust. None of the animals had their MBF measured by both methods due to technical reasons. Quantitative coronary angiography (QCA) was performed in 4 pigs at baseline, at partial and at critical occlusions. These pigs also underwent microsphere injection to evaluate regional MBF. Upon completion of data gathering during critical occlusion, the perivascular balloon was deflated.

### **Hemodynamic and ECG monitoring**

ECG and hemodynamic signals (systemic arterial pressures and CBF) were amplified, digitally converted at 500 samples/second and continuously recorded on a personal computer (Z Pro Pentium IV, IBM, New York, USA). To obtain a better time resolution of QRS and ST-segment dynamics, an averaged QRS-T complex was calculated off-line for each 10-s interval (VCGMI version 3.0, Centre de Recherche, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, et Institut de génie biomédical, Montréal, Canada, 2000). ST-segment amplitude was measured at J+60 ms. The software also calculated systolic and diastolic pressures as well as averaged CBF.

## **Assessment of regional myocardial blood flow by nonradioactive colored microspheres**

To assess regional MBF, colored microspheres were injected at three time points: baseline, partial occlusion, critical occlusion. Different colors were used at each of these time points. For each microsphere injection, a total of  $1 \times 10^6$  15- $\mu\text{m}$  nonradioactive colored microspheres was dispersed by vortex agitation in 0.01% Tween 80 (E-Z Trac Colored Ultraspheres, Interactive Medical Technologies, LTD, Irvine, USA), and added to 9 ml of normal saline. Microspheres were injected in the left atrium over 15 seconds. As to calculate regional MBF appropriately, a reference blood sample was withdrawn, at each microsphere injection, from the femoral artery over 2 minutes, starting 15 seconds before microsphere administration (23).

At the end of the experiment, while the heart was still beating, methylene blue was selectively injected into the LAD using the Berman catheter to define the area at risk. The animals were then sacrificed and the hearts were removed. The right heart and left atrium were dissected to keep only the left ventricle (LV), which was sliced into four layers. From top to bottom, they were: 1) base, 2) perivascular constrictor layer, 3) layer below the balloon constrictor, 4) apex (23; 33). For the purpose of the current experiment, only layer 3 was analyzed. This layer was dissected at the blue demarcations to obtain two pieces, blue (LAD region) and nonblue (control region). Finally, each piece was further cut up to separate subepicardial from subendocardial tissue.

All pieces were weighed and processed according to the manufacturer's instructions. The microspheres from the reference blood samples and from the myocardial tissue of each region were recovered by digestion and directly counted with the Improved Neubauer Hemocytometer (Thomas Scientific, Swedesboro, USA). CBF was calculated

using the following equation:  $Q_m = (C_m \times Q_r) / C_r$ , where  $Q_m$  is the MBF per gram of tissue (ml/min/g),  $C_m$  is the microsphere count per gram of tissue,  $Q_r$  is the withdrawal rate of the reference blood sample (ml/min) and  $C_r$  is the microsphere count in the reference blood sample.

### **Assessment of myocardial blood flow by myocardial contrast echocardiography**

Animals received a single intravenous perflutren (Definity™, BMS Medical Imaging Inc., North Billerica, USA) infusion at a rate of 0.0364 ml/min (administered as a diluted solution of 1.3 ml in 125 ml of normal saline at 3.5 ml/min) over approximately 5 minutes. The contrast agent was prepared with an activation device (Vialmix®, BMS Medical Imaging Inc., North Billerica, USA) within minutes of its administration at baseline and critical occlusion. This dose provided optimal, sustained myocardial opacification in our open-chest model as determined by previous experiments using the same protocol, where it was found that higher infusion rates of perflutren produced a shadowing of the LV posterior wall. A latex bag filled with normal saline was positioned intra-abdominally between the diaphragm and the transducer to serve as an acoustic interface. A waiting period of at least two minutes from the start of infusion to image acquisition was allowed to obtain steady state concentrations of the contrast agent, and also allowed a sufficiently long time period to gather ECG data that would not be affected by the operator's manipulations.

Echocardiographic images were acquired with a broadband 4-2 MHz transducer using a commercially available ultrasound system (HDI 5000, Advanced Technology Laboratories, Inc., Seattle, USA). The LV was scanned in short-axis at the papillary muscle level. Color-coded harmonic power pulse inversion imaging was performed with

ultrasound transmitted at 2 MHz and received at 4 MHz using low output power (mechanical index = 0.12) real-time imaging at 11 to 13 frames/second. A low dynamic range was used and the pulse repetition frequency was fixed at 2 500 Hz. Instrument settings were held constant for each experiment. A burst of high output “flash” frames (mechanical index = 0.8) resulted in periodic microbubble disruption yielding unopacified myocardium. Resuming low-energy real-time imaging between flashes allowed microbubble replenishment of the myocardial microvasculature.

Digitally captured images were analyzed off-line. Myocardial videointensity was quantified using QLAB 3.0 software (Philips Medical Systems, Markham, Canada) in four regions of interest, namely in the subepicardium and subendocardium of both the LAD and control territories. Care was taken to avoid visually attenuated segments or high intensity echoes from epicardial and endocardial structures. Myocardial videointensity in selected regions of interest was plotted as a function of time after flash (for every end-systolic frame), and an exponential function derived:  $y=A(1-e^{-\beta t})+C$ , where  $y$  is videointensity at time  $t$ ,  $A$  is the peak videointensity value during a low mechanical index imaging sequence that reflects microvascular cross-sectional area,  $\beta$  is the rate constant of the exponential recovery of videointensity after bubble destruction (reflecting myocardial microbubble velocity),  $t$  is time after flash, and  $C$  is offset of intensity. The product of  $A$  and  $\beta$  provides a measure in  $\text{dB}\cdot\text{s}^{-1}$  that is proportional to the value of MBF (48).

### **Assessment of coronary artery diameter**

The LAD diameter was assessed by QCA (Integrus Allura 9, Philips Medical Systems, Markham, Canada) using iopamidol (Isovue®, Bracco Diagnostics, Mississauga, Canada) as the contrast agent. Measurements (Inturis Suite Viewer 2.2 software, Philips Medical Systems, Markham, Canada) were performed at baseline, and at partial and critical occlusions. We reported the luminal diameter and area (by densitometry). All measures

were taken at two different sites: within the segment of the perivascular balloon constrictor, and in a segment 1 cm distal to the constriction.

### **Statistical analysis**

Results are reported as mean  $\pm$  SD. ANOVA for repeated measures with appropriate contrast (partial occlusion vs. baseline and critical occlusion vs. baseline) was performed for hemodynamic, ECG, angiographic and MBF data. A paired *t* test was used to analyze the MCE data (critical occlusion vs. baseline). A  $P < 0.05$  was considered statistically significant. All statistics was performed with SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, USA).

## **Results**

### **Hemodynamic and ECG data**

Slow progressive inflation of the perivascular balloon constrictor led to partial LAD occlusion (CBF reduction of 49.3%,  $11.1 \pm 6.3$  ml/min, 95% confidence interval [CI] 8.1 to 14.0 ml/min,  $P < 0.0001$ ) in  $51.0 \pm 30.3$  min and critical occlusion (CBF reduction of 89.9%,  $19.7 \pm 12.1$  ml/min, 95%CI 14.1 to 25.3 ml/min,  $P < 0.0001$ ) in  $72.0 \pm 27.4$  min from start of balloon inflation (Figure 1). At partial occlusion, arterial pressure decreased by 5.9% systolic ( $-4.6 \pm 5.3$  mmHg, 95%CI 1.8 to 7.5 mmHg,  $P = 0.003$ ) and by 5.6% diastolic ( $-2.7 \pm 4.2$  mmHg, 95%CI 0.5 to 5.0 mmHg,  $P = 0.02$ ) compared to baseline values. Further decreases in arterial pressures were observed at critical occlusion, with a 17.2% decline in systolic ( $-11.9 \pm 11.4$  mmHg, 95%CI -17.9 to -5.8 mmHg,  $P = 0.001$ ) and a 17.5% decline in diastolic ( $-8.5 \pm 7.1$  mmHg, 95%CI -12.3 to -4.7 mm Hg,  $P < 0.0001$ ) pressures compared to baseline values. The heart rate slightly increased at partial coronary occlusion (2.7%,  $2.1 \pm 7.9$  bpm, 95%CI -1.6 to 5.8 bpm,  $P = 0.2$ ) and at critical occlusion (12.2%,  $9.5 \pm 13.2$



bpm, 95%CI 3.3 to 15.7 bpm,  $P=0.004$ ). However, it remained below tachycardic levels at all times for all swines (24).

ST-segment changes were not observed in any lead from baseline to partial occlusion (Figures 2 and 3). From partial to critical occlusion, only minor ( $<100 \mu\text{V}$ ) and concomitant ST-segment elevations in the PA lead and depressions in lead III were observed in all but one animal, which presented ST-segment depression of  $114 \mu\text{V}$  in the PA lead at partial occlusion. By the time critical occlusion was reached, ST-segment elevation appeared in the PA lead of all the animals.

### **Regional myocardial blood flow**

Microspheres demonstrated similar reductions in regional MBF in the subendocardium and subepicardium of the LAD territory, both at partial and critical occlusions. In the latter case, the reductions were of greater magnitude (Figure 4). Decreases in regional MBF were also noted in the control territory at critical occlusion, but these were of much lesser magnitude than what was observed in the LAD territory. As a result, flow distribution in the LAD territory, expressed as the ratio of subendocardium to subepicardium regional MBF, did not display any significant heterogeneity at partial and critical occlusion (Figure 5).

These results were corroborated by MCE, which showed significant decreases in MBF in the LAD territory at critical occlusion, both in the subendocardium and subepicardium (Figure 6). As with microspheres, the control subendocardium and subepicardium also demonstrated a significant, but milder decrease in signal intensity.

## Angiographic data

As expected, the LAD luminal area progressively decreased at partial (-85.1%,  $-3.67 \pm 3.07 \text{ mm}^2$ ; 95%CI -8.55 to 1.22  $\text{mm}^2$ ;  $P=0.1$ ) and critical (-99.3%,  $-4.28 \pm 3.39 \text{ mm}^2$ ; 95%CI -9.68 to 1.13  $\text{mm}^2$ ;  $P=0.09$ ) occlusion at the constriction site compared to baseline values (Figure 7). Congruent changes were seen in luminal diameter as well. One centimeter distal to the constrictor, luminal area and diameter were only slightly decreased, both at partial and critical occlusions. This confirms that vasospasm was not a major confounding variable.

## Discussion

This study demonstrates in a model of healthy pigs without tachycardia, monitored to detect ST-segment depression and elevation, that slow, progressive obstruction of an epicardial coronary artery such as the LAD does not induce ischemic, non-reciprocal ST-segment depression. Rather, it leads to the development of myocardial ischemia in the affected territory that is solely expressed as ST-segment elevation on the ECG, a key finding never reported previously. We recognize that, during subendocardial ischemia, depression of the ST-segment potential is recorded from precordial leads in humans as well as pigs (and other species), in agreement with theoretical predictions from healthy heart models (26). The point of this paper is to question the occurrence of such electrocardiographic signs of purely subendocardial ischemia with gradual reduction of proximal coronary artery patency in an otherwise healthy heart, in the absence of tachycardia.

Several authors have postulated that plaque rupture leading to ST-segment depression in the setting of UA/NSTEMI, normally not associated with any tachycardia, resulted from supply ischemia generated by transient reductions in CBF caused by

intermittent thrombus occlusion and dynamic vasoconstriction occurring at the site of a disrupted atherosclerotic plaque (6; 7; 44; 49). However, supply ischemia is classically induced by severe epicardial coronary stenosis or thrombosis, which increases proximal resistance, causes transmural ischemia, and registers on the ECG as ST-segment elevation (e.g. patients presenting with STEMI and total coronary occlusion) (14; 18; 30; 36; 45).

We found only one article in which experimental data were reported in support of the concept that ST-segment depression could be induced by increased epicardial coronary resistance. Kato et al. observed that partial constriction (15% stenosis) of a coronary artery in dogs induced ST-segment depression on epicardial electrogram while slightly more severe constriction (25% stenosis) displayed ST-segment elevation (30). As previously discussed, such a dual ECG manifestation elicited by modulation of the epicardial coronary resistance was not observed in our experimental model and neither was it corroborated by other groups. The discordance between the results of Kato and ours may be related to the experimental protocol used, but several methodologic issues need to be underlined as well. Firstly, Kato and al used dogs, which are somewhat protected against transmural ischemia by good collateral flow (12). Secondly, neither the method used to assess coronary artery diameter nor the heart rate achieved during the experiment (a major determinant of myocardial oxygen consumption) were described. Finally, the observed ECG changes occurred at levels of stenosis severity not believed to be flow-limiting, thus leaving doubts on the comparability and/or validity of the results.

Previous reports of stepwise flow reduction models demonstrated that ST-segment depression was never generated over the ischemic zone, whatever the degree of epicardial stenosis, unless tachycardia was simultaneously present (22; 35; 36). In the absence of tachycardia initial ECG manifestations during total or near total coronary constriction are ST-segment elevation over the affected territory; ST-segment depression occurs solely over

other parts of the heart (14; 30; 36; 45). One major limitation of these studies was the rapidity with which total occlusion was achieved.

From computer simulations, Hopenfeld et al and Li et al (27; 28; 35) demonstrated that when ST-segment depression occurs, it does so over a boundary between ischemic and healthy tissue and never over the affected territory. This occurs with or without ST-segment elevation directly over the ischemic zone.

Thus, our findings are consistent with classic articles and expand our understanding of the mechanism of typical supply ischemia, which does not produce ST-segment depression, even when generated from slow, progressive, and continuous, as opposed to rapid, stepwise CBF reductions (22; 35). Hence, the common belief that ST-segment depression occurs secondarily to moderately increased epicardial resistance is, in fact, an unsubstantiated extrapolation from a demand ischemia model, in which exercise- or pacing-induced tachycardia is required to produce ischemia, in presence of a moderate fixed proximal stenosis that does not cause any CBF reduction at rest.

Our model was chosen to study the sole influence of epicardial coronary artery resistance in the development of myocardial ischemia, and to minimize the contribution of endothelial dysfunction, microcirculation pathology, or activation of the coagulation and inflammatory cascades. In this model, ST-segment elevations occurred late, when critical (90%) reductions in CBF were achieved. ST-segment depression was not observed in any ECG lead prior to the development of ST-segment elevation. Minor ST-segment depression occurring simultaneously with ST-segment elevation was observed in the reciprocal nonischemic territory. As would be expected during transmural, ST-segment elevation ischemia, MBF, both at partial and critical occlusions, was homogeneously decreased in the LAD territory, demonstrated by preserved subendocardial to subepicardial

ratios (34). The lack of a preferential reduction in subendocardial blood flow suggests that selective subendocardial ischemia was not produced in the LAD territory and that the minor ST-segment depression observed in lead III most likely represents reciprocal ST-segment changes in the remote lead over nonischemic territory (22; 35; 37). We postulate that the lesser reduction in MBF observed in the control region during critical occlusion was secondary to ischemia in the LAD territory causing a fall in blood pressure.

Many factors may contribute to ST-segment depression. The relative contribution of each of them needs to be addressed separately. We targeted coronary epicardial vascular resistance in isolation because it is often assumed to be the principal culprit. The advancement of this article over previous studies is that we ruled out proximal stenosis as a contributor to ST-segment depression in the absence of tachycardia.

Hence, our results give mechanistic insights to everyday clinical observations. UA/NSTEMI patients commonly present with normal or even slow heart rates due to beta-blocker administration (2; 13; 29; 38). Furthermore, a significant proportion of these patients (23 to 42%) demonstrate less than 70% coronary diameter stenosis in the culprit vessel (50). Therefore, increased epicardial coronary resistance or increased myocardial oxygen consumption cannot entirely explain the ECG manifestation observed in these patients. A third mechanism must be involved. One hypothesis that could integrate all these information is that, in UA/NSTEMI patients, ST-segment depression results from an increase in microvascular resistance more prominent in the subendocardium. The presence of endothelial dysfunction and/or unstable coronary lesions with release of vasoactive substances from ruptured plaques, could preferentially reduce microvascular blood flow at the subendocardial level, which would translate into subendocardial ischemia manifested as ST-segment depression.

The present study has some limitations. Although a pig model was chosen for its numerous similarities with humans, it does also present differences (such as autonomic innervation) that may render our results more difficult to extrapolate to humans (11). Our data were intentionally derived from observations in healthy animals that presumably presented a normal distal vascular response to increasing proximal obstruction and as such, should not possess defective, endothelium-dependent vasomotion as is known to exist in atherosclerotic patients. The reason for this choice was to isolate the role of epicardial resistance in modulating the ECG response. In addition, because of the time required to collect data with the techniques used, assessment of MBF was performed only at three time points, baseline, partial (50% reduction in baseline CBF) and critical occlusion (emergence of persistent ST-segment changes). It would have been informative to collect MBF data between partial and critical occlusions. Moreover, our model may have introduced discrepancies in our results in two ways. First, isoflurane was used to anesthetize the animal; it is known to alter autonomic regulation and to affect cardiac ion channels, as well as to mimic ischemic preconditioning and attenuate the degree of ST-segment changes during ischemia (17; 40). Myocardial ischemia and ST-segment changes of greater amplitude may have occurred if a non-volatile anesthetic agent had been administered but many disadvantages restrain its use (4; 25; 41). In addition, the use of an open-chest model, which increases the insulation of the heart, results in higher-amplitude epicardial electrograms, without affecting the distribution patterns. The effect of such an open-chest model on the surface electrocardiograms is not as clearly defined (21; 22). Finally, even though we did demonstrate that a slow, progressive coronary occlusion did not result in ST-segment depression, our study did not allow us to determine whether vasoconstriction of the microcirculation was a determinant factor for the development of ST-segment depression ischemia.

In conclusion, we confirmed that progressive epicardial stenosis of a coronary artery induces, at normal heart rate, homogeneous, transmural reduction in regional MBF and ST-segment elevation without an intervening ST-segment depression phase. The clinical implications of these results may be of importance since current treatment strategies used for the management of UA/NSTEMI mostly target the epicardial stenosis, therapies that are most likely suboptimal if one considers that increased epicardial resistance may not be the sole factor responsible for the development of ST-segment depression observed in this disease. Alternatively, heterogeneous vasoconstriction of the microcirculation might be playing a significant role. Further experiments are needed to confirm this hypothesis.

## **Acknowledgements**

We wish to thank Mr. Pierre Fortier, Mr. Bruno Dubé, Ms. Caroline Bouchard, and Ms. Maryse Simard from the Research Center, Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal, for their technical assistance.



**Reference**

1. **Antman EM, Anbe DT, Armstrong PW, Bates ER, Green LA, Hand M, Hochman JS, Krumholz HM, Kushner FG, Lamas GA, Mullany CJ, Ornato JP, Pearle DL, Sloan MA, Smith SC, Jr., Alpert JS, Anderson JL, Faxon DP, Fuster V, Gibbons RJ, Gregoratos G, Halperin JL, Hiratzka LF, Hunt SA and Jacobs AK.** ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction--executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of Patients With Acute Myocardial Infarction). *Circulation* 110: 588-636, 2004.
2. **Armstrong PW, Fu Y, Chang WC, Topol EJ, Granger CB, Betriu A, Van de Werf F, Lee KL and Califf RM.** Acute coronary syndromes in the GUSTO-IIb trial: prognostic insights and impact of recurrent ischemia. The GUSTO-IIb Investigators. *Circulation* 98: 1860-8, 1998.
3. **Bavry AA, Kumbhani DJ, Quiroz R, Ramchandani SR, Kenchaiah S and Antman EM.** Invasive therapy along with glycoprotein IIb/IIIa inhibitors and intracoronary stents improves survival in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: a meta-analysis and review of the literature. *Am J Cardiol* 93: 830-835, 2004.
4. **Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M and Menasche P.** Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 100: II340-II344, 1999.

5. **Bloor CM, White CF and Roth DM.** The pig as a model of myocardial ischemia and gradual coronary artery occlusion. In: Swine as models in biomedical research, edited by Swindle MM. Iowa: Iowa State University Press, 1992, p. 163-175.
6. **Braunwald E.** Unstable angina: an etiologic approach to management. *Circulation* 98: 2219-2222, 1998.
7. **Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, Jones RH, Kereiakes D, Kupersmith J, Levin TN, Pepine CJ, Schaeffer JW, Smith EE, III, Steward DE, Theroux P, Alpert JS, Eagle KA, Faxon DP, Fuster V, Gardner TJ, Gregoratos G, Russell RO and Smith SC, Jr.** ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol* 36: 970-1062, 2000.
8. **Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, Jones RH, Kereiakes D, Kupersmith J, Levin TN, Pepine CJ, Schaeffer JW, Smith EE, III, Steward DE, Theroux P, Gibbons RJ, Alpert JS, Eagle KA, Faxon DP, Fuster V, Gardner TJ, Gregoratos G, Russell RO and Smith SC, Jr.** ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: executive summary and recommendations. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (committee on the management of patients with unstable angina). *Circulation* 102: 1193-1209, 2000.

9. **Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, Jones RH, Kereiakes D, Kupersmith J, Levin TN, Pepine CJ, Schaeffer JW, Smith EE, III, Steward DE, Theroux P, Gibbons RJ, Alpert JS, Faxon DP, Fuster V, Gregoratos G, Hiratzka LF, Jacobs AK and Smith SC, Jr.** ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction--summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol* 40: 1366-1374, 2002.
10. **Cannon CP, Weintraub WS, Demopoulos LA, Vicari R, Frey MJ, Lakkis N, Neumann FJ, Robertson DH, DeLucca PT, DiBattiste PM, Gibson CM and Braunwald E.** Comparison of early invasive and conservative strategies in patients with unstable coronary syndromes treated with the glycoprotein IIb/IIIa inhibitor tirofiban. *N Engl J Med* 344: 1879-1887, 2001.
11. **Crick SJ, Anderson RH, Ho SY and Sheppard MN.** Localisation and quantitation of autonomic innervation in the porcine heart II: endocardium, myocardium and epicardium. *J Anat* 195 ( Pt 3): 359-373, 1999.
12. **Del Rio CL, McConnell PI, Clymer BD, Dzwonczyk R, Michler RE, Billman GE and Howie MB.** Early time course of myocardial electrical impedance during acute coronary artery occlusion in pigs, dogs and man. *J Appl Physiol* 2005.
13. **Diderholm E, Andren B, Frostfeldt G, Genberg M, Jernberg T, Lagerqvist B, Lindahl B and Wallentin L.** ST depression in ECG at entry indicates severe coronary lesions and large benefits of an early invasive treatment strategy in unstable coronary artery disease; the FRISC II ECG substudy. The Fast

- Revascularisation during InStability in Coronary artery disease. *Eur Heart J* 23: 41-49, 2002.
14. **Ekmekci A, Toyoshima H, Kwoczynski JK, Nagaya T and Prinzmetal M. IV.** Clinical and experimental difference between ischemia with S-T elevation and ischemia with S-T depression. *Am J Cardiol* 7: 412-26, 1961.
  15. **Fibrinolytic Therapy Trialists' (FTT) Collaborative Group.** Indications for fibrinolytic therapy in suspected acute myocardial infarction: collaborative overview of early mortality and major morbidity results from all randomised trials of more than 1000 patients. *Lancet* 343: 311-322, 1994.
  16. **FRagmin and Fast Revascularisation during InStability in Coronary artery disease. Investigators.** Long-term low-molecular-mass heparin in unstable coronary-artery disease: FRISC II prospective randomised multicentre study. *Lancet* 354: 701-707, 1999.
  17. **Fujimoto K, Bosnjak ZJ and Kwok WM.** Isoflurane-induced facilitation of the cardiac sarcolemmal K(ATP) channel. *Anesthesiology* 97: 57-65, 2002.
  18. **Ganz P and Ganz W.** Coronary blood flow and myocardial ischemia. In: *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*, edited by Braunwald E., Zipes DP and Libby P. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001, p.1087-1113.
  19. **Gould KL and Lipscomb K.** Effects of coronary stenoses on coronary flow reserve and resistance. *Am J Cardiol* 34: 48-55, 1974.

20. **Grech ED and Ramsdale DR.** Acute coronary syndrome: ST segment elevation myocardial infarction. *BMJ* 326: 1379-1381, 2003.
21. **Green LS, Taccardi B, Ershler PR and Lux RL.** Epicardial potential mapping. Effects of conducting media on isopotential and isochrone distributions. *Circulation* 84: 2513-2521, 1991.
22. **Guyton RA, McClenathan JH, Newman GE and Michaelis LL.** Significance of subendocardial S-T segment elevation caused by coronary stenosis in the dog. Epicardial S-T segment depression, local ischemia and subsequent necrosis. *Am J Cardiol* 40: 373-80, 1977.
23. **Hale SL, Alker KJ and Kloner RA.** Evaluation of nonradioactive, colored microspheres for measurement of regional myocardial blood flow in dogs. *Circulation* 78: 428-34, 1988.
24. **Hannon JP, Bossone CA and Wade CE.** Normal physiological values for conscious pigs used in biomedical research. *Lab Anim Sci* 40: 293-298, 1990.
25. **Haroun-Bizri S, Khoury SS, Chehab IR, Kassas CM and Baraka A.** Does isoflurane optimize myocardial protection during cardiopulmonary bypass? *J Cardiothorac Vasc Anesth* 15: 418-421, 2001.
26. **Holland RP and Brooks H.** Precordial and epicardial surface potentials during Myocardial ischemia in the pig. A theoretical and experimental analysis of the TQ and ST segments. *Circulation Research* 37: 471-80, 1975.

27. **Hopenfeld B, Stinstra JG and Macleod RS.** Mechanism for ST depression associated with contiguous subendocardial ischemia. *J Cardiovasc Electrophysiol* 15: 1200-1206, 2004.
28. **Hopenfeld B, Stinstra JG and Macleod RS.** The effect of conductivity on ST-segment epicardial potentials arising from subendocardial ischemia. *Ann Biomed Eng* 33: 751-763, 2005.
29. **Kansal S, Roitman D and Sheffield LT.** Stress testing with ST-segment depression at rest. An angiographic correlation. *Circulation* 54: 636-639, 1976.
30. **Kato K, Fukuda H and Koyama S.** Depression of the S-T segment in epicardial electrocardiogram associated with experimental major coronary artery constriction. *J Electrocardiol* 1: 167-74, 1968.
31. **Keeley EC, Boura JA and Grines CL.** Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. *Lancet* 361: 13-20, 2003.
32. **Klootwijk P and Hamm C.** Acute coronary syndromes: diagnosis. *Lancet* 353 Suppl 2: SII10-SII15, 1999.
33. **Kowallik P, Schulz R, Guth BD, Schade A, Paffhausen W, Gross R and Heusch G.** Measurement of regional myocardial blood flow with multiple colored microspheres. *Circulation* 83: 974-82, 1991.
34. **Li D, Li CY, Yong AC, Johnston PR and Kilpatrick D.** Epicardial ST depression in acute myocardial infarction. *Circ Res* 85: 959-964, 1999.

35. **Li D, Li CY, Yong AC and Kilpatrick D.** Source of electrocardiographic ST changes in subendocardial ischemia. *Circ Res* 82: 957-70, 1998.
36. **Macleod RS, Punske B, Yilmaz B, Shome S and Taccardi B.** The role of heart rate in myocardial ischemia from restricted coronary perfusion. *J Electrocardiol* 34 Suppl: 43-51, 2001.
37. **Mirvis DM, Ramanathan KB and Wilson JL.** Regional blood flow correlates of ST segment depression in tachycardia-induced myocardial ischemia. *Circulation* 73: 365-373, 1986.
38. **Nakamura T, Hayashi Y, Kagawa K, Yoshiya I, Hirata N and Matsuda H.** Treatment of acute right coronary artery occlusion during anesthesia. *Can J Anaesth* 47: 65-68, 2000.
39. **Nasmith JB, Pharand C, Dubc B, Matteau S, LeBlanc A and Nadeau R.** Localization of maximal ST segment displacement in various ischemic settings by orthogonal ECG: Implications for lead selection and the mechanism of ST shift. *Can J Cardiol* 17: 57-62, 2001.
40. **Pichot V, Buffiere S, Gaspoz JM, Costes F, Molliex S, Duverney D, Roche F and Barthelemy JC.** Wavelet transform of heart rate variability to assess autonomic nervous system activity does not predict arousal from general anesthesia. *Can J Anaesth* 48: 859-863, 2001.
41. **Piriou V and Chiari P.** Con: Ischemic preconditioning is not necessary because volatile agents accomplish it. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 18: 803-805, 2004.

42. **Simoons ML, Boersma E, van Der ZC and Deckers JW.** The challenge of acute coronary syndromes. *Lancet* 353 Suppl 2: SIII-SIII4, 1999.
43. **Swindle MM.** Swine as replacements for dogs in the surgical teaching and research laboratory. *Lab Anim Sci* 34: 383-385, 1984.
44. **Theroux P and Fuster V.** Acute coronary syndromes: unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction. *Circulation* 97: 1195-206, 1998.
45. **Timogiannakis G, Amende I, Martinez E and Thomas M.** ST segment deviation and regional myocardial blood flow during experimental partial coronary artery occlusion. *Cardiovas Res* 8: 469-477, 1974.
46. **Verdouw PD, van den Doel MA, de ZS and Duncker DJ.** Animal models in the study of myocardial ischaemia and ischaemic syndromes. *Cardiovasc Res* 39: 121-135, 1998.
47. **Waters RE, Mahaffey KW, Granger CB and Roe MT.** Current perspectives on reperfusion therapy for acute ST-segment elevation myocardial infarction: integrating pharmacologic and mechanical reperfusion strategies. *Am Heart J* 146: 958-68, 2003.
48. **Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, Linka A, Skyba DM and Kaul S.** Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion. *Circulation* 97: 473-483, 1998.



49. **Willerson JT, Golino P, Eidt J, Campbell WB and Buja LM.** Specific platelet mediators and unstable coronary artery lesions. Experimental evidence and potential clinical implications. *Circulation* 80: 198-205, 1989.
  
50. **Zhao XQ, Theroux P, Snapinn SM and Sax FL.** Intracoronary thrombus and platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor blockade with tirofiban in unstable angina or non-Q-wave myocardial infarction. Angiographic results from the PRISM-PLUS trial (Platelet receptor inhibition for ischemic syndrome management in patients limited by unstable signs and symptoms). PRISM-PLUS Investigators. *Circulation* 100: 1609-1615, 1999.

## 7. Figure legends

Figure 1. Absolute values of hemodynamic parameters at baseline, partial and critical LAD occlusion. All values are expressed as means  $\pm$  SD;  $n=20$ ; for SAP and DAP  $n=16$ . DAP: diastolic arterial pressure; HR: heart rate; SAP: systolic arterial pressure; \* $P<0.05$  vs. baseline,  $^{\dagger}P<0.01$  vs. baseline,  $^{\ddagger}P<0.0001$  vs. baseline.

Figure 2. Changes in ST-segment deviations in Cm5, III and PA leads at partial and critical LAD occlusion compared to baseline values in 20 pigs. All values are expressed as means  $\pm$  SD; \* $P<0.005$  vs. baseline.

Figure 3. Changes in ST-segment deviations in Cm5, III and PA leads during progressive CBF reduction. All values are expressed as means  $\pm$  SD;  $n=20$  at baseline, partial and critical occlusion,  $n$  varies between 10 and 20 at the other time points.

Figure 4. Regional MBF in layer 3 (below the constriction) determined by colored microspheres at baseline, partial and critical LAD occlusion. All values are expressed as means  $\pm$  SD;  $n=5$  \* $P<0.05$  vs. baseline.

Figure 5. Subendocardial/subepicardial ratio of regional MBF assessed by colored microspheres at baseline, partial and critical LAD occlusion. All values are expressed as means  $\pm$  SD;  $n=5$ .

Figure 6. MBF quantification (product of maximum videointensity  $A$  and rate constant of rise of videointensity  $\beta$ ) calculated after curve fitting of myocardial signal intensity data over time, determined by MCE at baseline and critical LAD occlusion. Values are expressed as means  $\pm$  SD;  $n=7$ . \* $P<0.01$  vs. baseline.  $^{\dagger}P<0.001$  vs. baseline.

Figure 7. Luminal diameter and area of LAD at the constriction site and 1 cm distally at baseline, partial and critical occlusion, determined by QCA. Values are expressed as means  $\pm$  SD;  $n=4$ . \* $P<0.05$  vs. baseline.

Figure 1

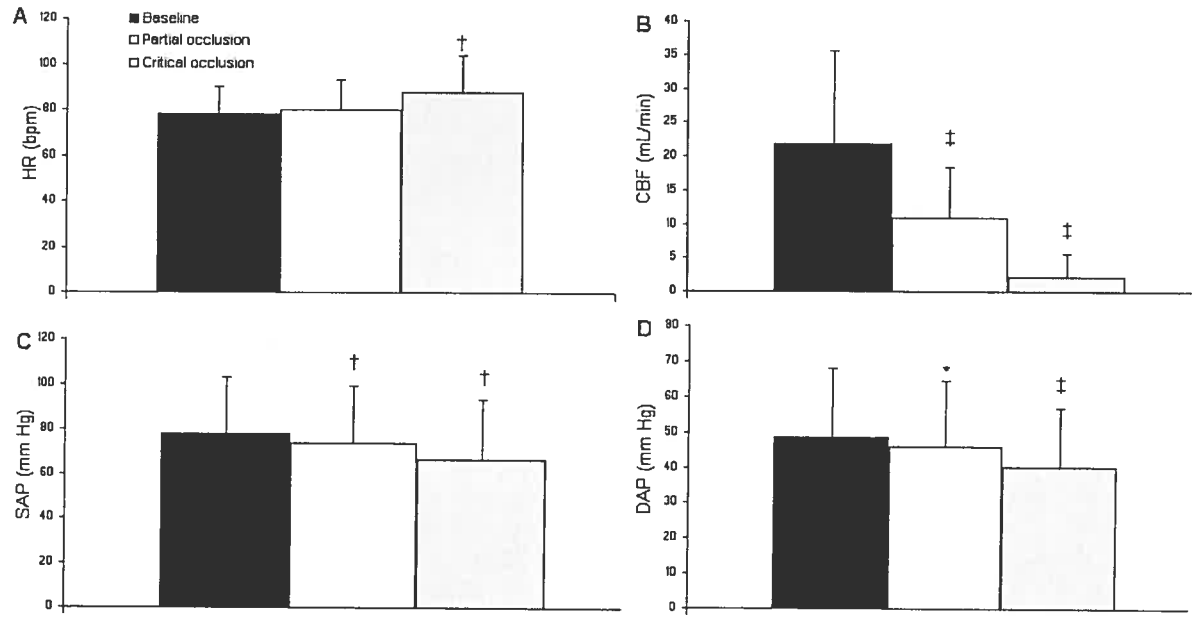


Figure 2

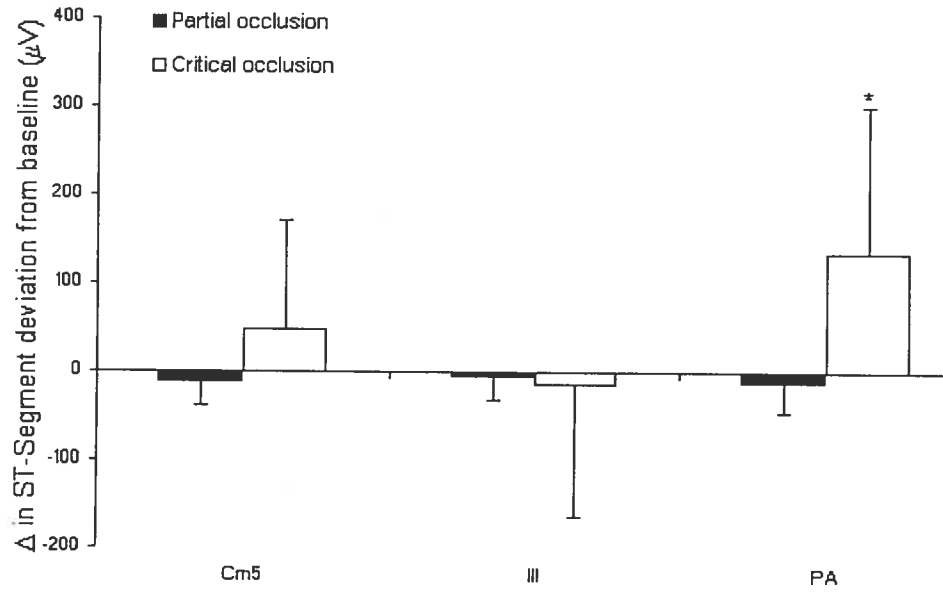


Figure 3

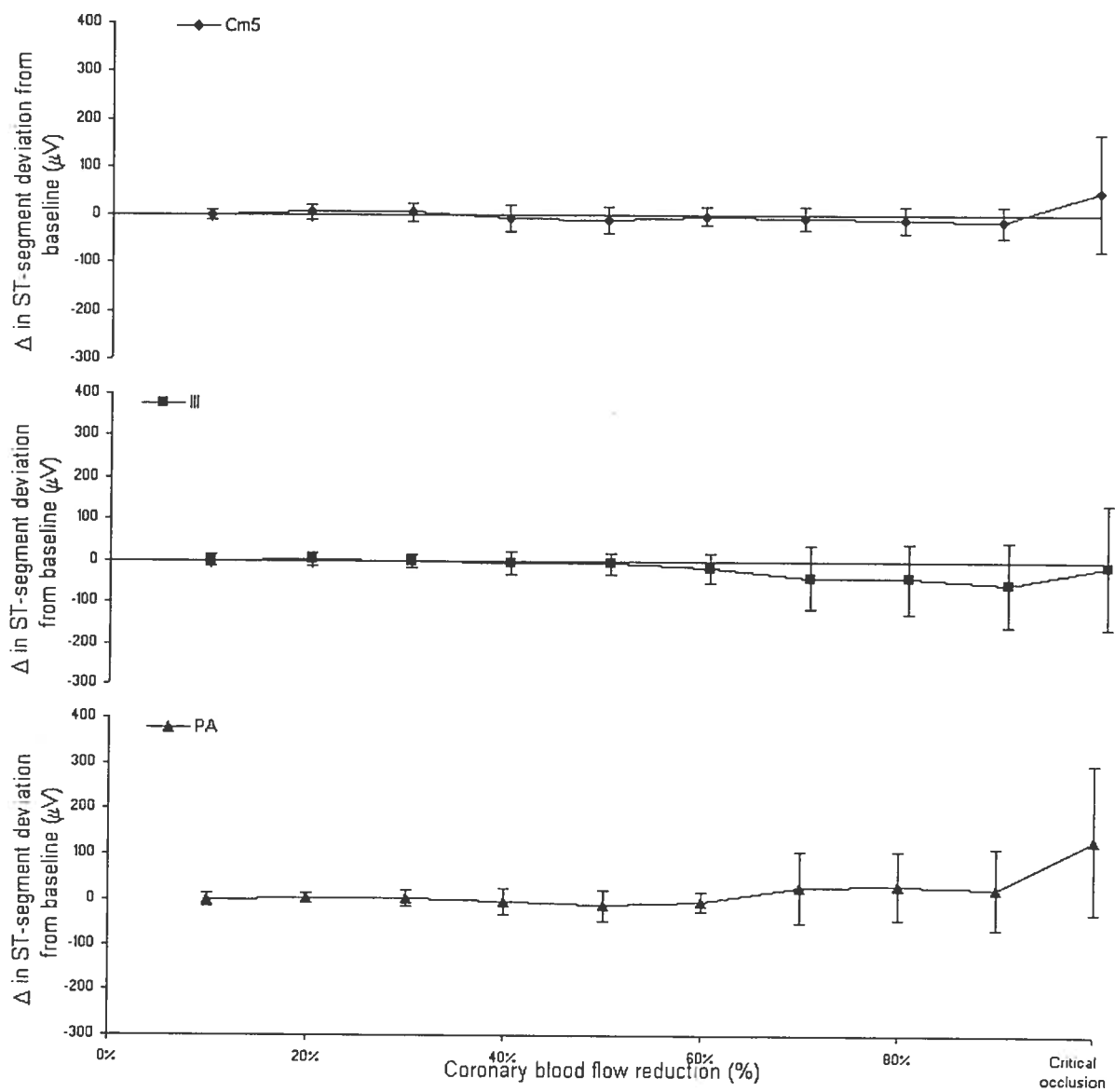


Figure 4

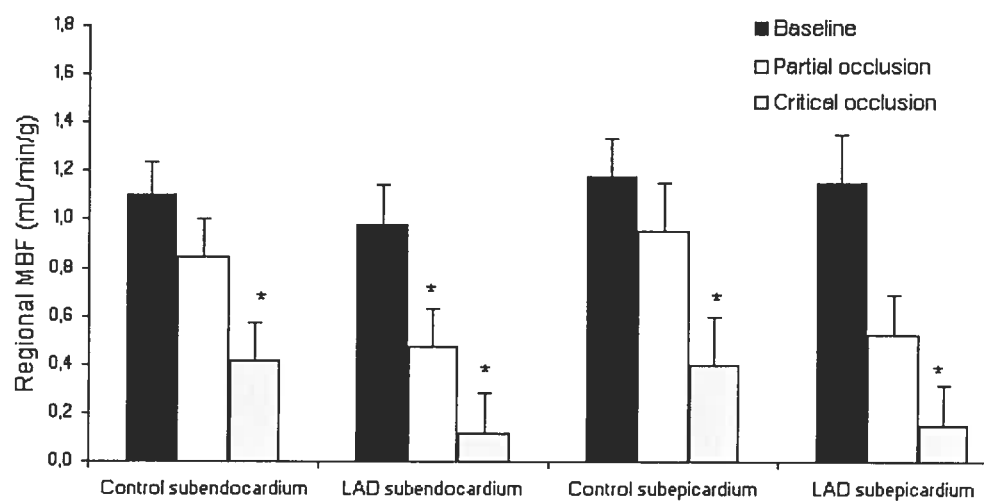


Figure 5

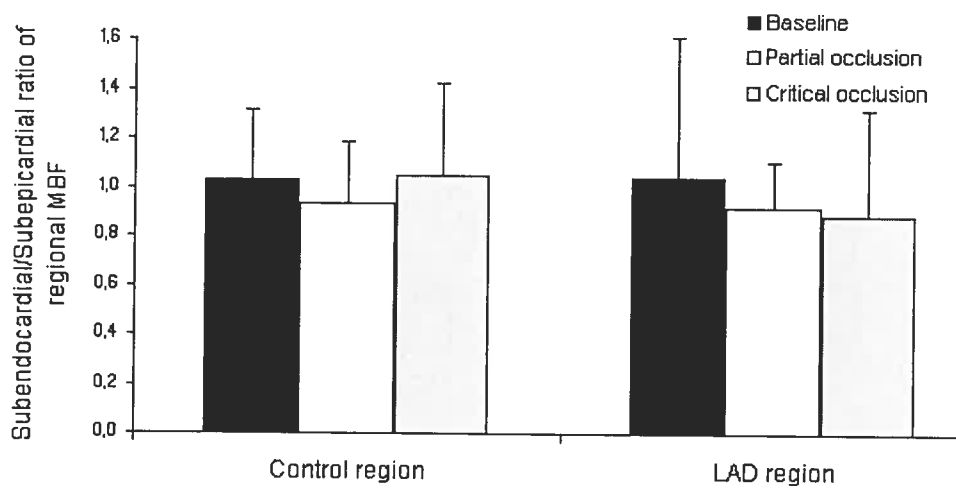




Figure 6

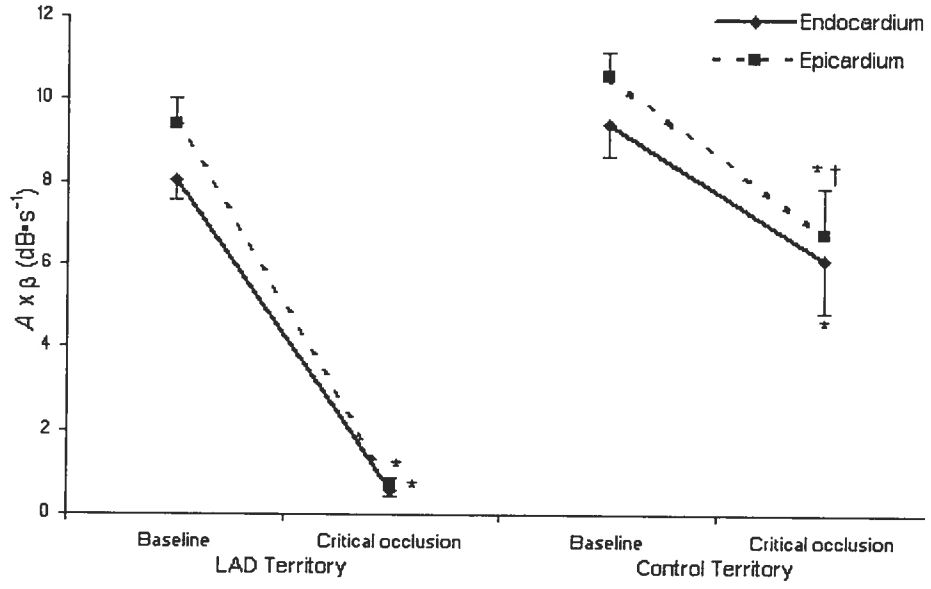
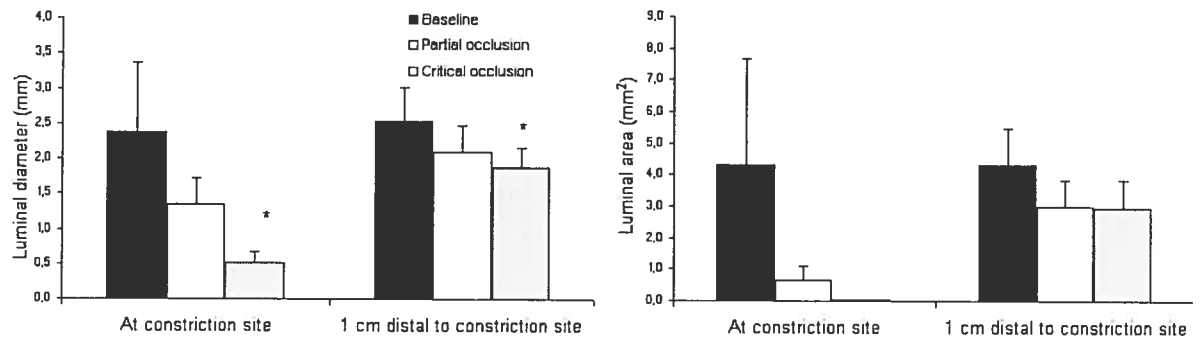


Figure 7



## **Chapitre 8: Subendocardial ischemia and ST-segment depression induced by intracoronary administration of endothelin-1**

de Chantal M., Diodati J.G., Amyot R., LeBlanc A-R., Schampaert E., Pharand C.

Article en préparation

2006

Subendocardial ischemia and ST-segment depression induced by intracoronary administration of endothelin-1

Marilyn de Chantal est la principale auteur de cet article (contribution : élaboration du projet, réalisation des expériences, analyse des résultats et écriture du manuscrit)

## TITLE PAGE

**A) Manuscript Title:** Subendocardial ischemia and ST-segment depression induced by intracoronary administration of endothelin-1.

**B) Authors:** Marilyn de Chantal,<sup>1,4</sup> Jean G Diodati,<sup>1,2,4</sup> Robert Amyot,<sup>1,2,4</sup> A-Robert LeBlanc,<sup>1,4</sup> Erick Schampaert,<sup>1,2,4</sup> Chantal Pharand<sup>1,3,5</sup>.

**Affiliation:** <sup>1</sup>Research Center, <sup>2</sup>Division of Cardiology and <sup>3</sup>Pharmacy Department, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, Montréal, Québec, Canada. Faculties of <sup>4</sup>Medicine and <sup>5</sup>Pharmacy, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

**C and D) Correspondence and reprint address:** Chantal Pharand, PharmD., Research Center, Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal, 5400, Gouin Blvd West, Montréal, Québec, Canada, H4J 1C5, Tel: (514) 338-2222 ext. 2506, Fax: (514) 338-2694, Email:  
[REDACTED]

**SUMMARY:** Endothelin-1 (ET-1) is the most potent endogenous vasoconstrictor peptide and many observations suggest an important implication of this peptide in cardiovascular pathologies. This study tries to determine the implication of ET-1 in myocardial ischemia associated with a ST-segment depression in healthy pigs.

**METHODS:** Twelve pigs ( $34.9 \pm 1.0$  kg) were anesthetized using ketamine/xylazine followed by isoflurane. A left thoracotomy enabled placement of a perivascular flowmeter around the left anterior descending coronary artery (LAD). An infusion catheter was placed into the LAD to allow the intracoronary administration of vehicle and endothelin-1 (ET-1; 1, 5, 10 and 15  $\eta\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ). Seven thoracic electrodes were positioned for continuous ECG recording of pseudoorthogonal bipolar leads (Cm5, III and postero-anterior [PA]). Hemodynamic parameters were continuously monitored.

**RESULTS:** LAD coronary administration of ET-1 induced a dose-related decrease of epicardial coronary blood flow and minimal lumen diameter without changing others hemodynamic parameters (heart rate and systemic arterial pressures). Epicardial blood flow reduction was associated with a biphasic change of ST segment. Lower doses of ET-1 (1 and 5  $\eta\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) created a ST-segment depression and the higher doses (10 and 15  $\eta\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) induced a ST-segment depression followed by a ST-segment elevation. ST-segment depression was associated with a decrease of subendocardial / subepicardial ratio of region myocardial blood flow (MBF).

**CONCLUSION:** These results suggested that the ET-1 is implicated, at low doses, in the development of a subendocardial ischemia associated with a ST-segment depression and, at higher doses, ET-1 provoked a transmural ischemia associated with a ST-segment elevation.

## INTRODUCTION

Coronary atherosclerosis is by far the most frequent cause of ischemic heart disease.(5) On the ECG, myocardial ischemia displays two broad patterns: a) ST-segment depression, caused by injury current flowing from the underlying ischemic subendocardium; and b) ST-segment elevation, resulting from transmural ischemia.(17; 27) Based on these potential ECG findings, acute coronary syndromes (ACS) are divided into two clinical entities: 1) ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI), and 2) unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction (UA/NSTEMI), which are most commonly associated with ST-segment depression.(28) This ECG-defined dichotomy has commonly been attributed to the extent of epicardial coronary blood flow reduction, with on the one hand, a narrowed yet patent epicardial vessel (ST-segment depression), and on the other hand, an occluded epicardial coronary artery (ST-segment elevation).(10; 15; 17; 22; 39)

We previously confirmed that ST-segment depression occurring at normal heart rates, as in UA/NSTEMI, was not entirely explained by increases in epicardial coronary artery resistance alone.(8; 29) It is our contention that the ST-segment depression and elevation phenomena should not be considered as two ends of an ischemic spectrum extending from partial epicardial flow limitation to complete epicardial artery occlusion. We rather propose that in ACS, ST-segment depression is caused by flow limitation in the distal coronary vascular bed due to vasoactive and/or prothrombotic mediators released from active atherosclerotic lesions.

Upon rupture, the thrombotic epicardial plaque secretes many vasoconstrictive and prothrombotic mediators, including ET-1, a potent vasoactive peptide secreted by endothelial cells.(12; 20; 42) It is found in high concentration in the atherosclerotic plaque and it is rapidly synthesized within endothelial cells in response to stimuli such as

ischemia.(43; 44; 46-48) We believe that the release of ET-1 during UA/NSTEMI could be at least in part responsible for the subendocardial ischemia observed in these patients.

Hence, the purpose of this study was to gain a better understanding of the underlying mechanism of ST-segment depression observed in patients with UA/NSTEMI and determine, in a swine model, whether ET-1 could contribute to the development of subendocardial ischemia. In order to achieve this goal, we sought to determine the effect of intracoronary ET-1 infusion on the coronary circulation and the development, distribution, and ECG expression of myocardial ischemia in healthy pigs with normal heart rates. A porcine model was chosen to explore this hypothesis for its numerous and well documented similarities with humans, both at the anatomical and physiological levels.(4; 38; 41)

## **METHODS**

### **Animal Preparation**

Experiments were conducted on 12 male domestic swines ( $34.9 \pm 1.0$  kg) in compliance with the guidelines of the Canadian Council for Animal Care. All animals received 325 mg per day of acetylsalicylic acid (Apotex, Toronto, Ontario, Canada) during the three days preceding the experimentation. They were anaesthetized with intramuscular ketamine/xylazine (20 mg/kg; 2 mg/kg; Wyeth Pharmaceuticals, Montréal, Québec, Canada), intubated and ventilated with a positive pressure ventilator (Ohmeda 7800 anesthesia ventilator, DRE Medical, Louisville, KY) with  $FiO_2$  maintained constant at 20 to 30%. Anesthesia was maintained with isoflurane (Abbott Laboratory, Montréal, Québec, Canada) 1.5% in  $O_2:N_2O$  (2:1). The left external jugular vein was cannulated with a 9F vascular sheath for intravenous fluid administration. The right carotid artery was cannulated with an 8F vascular sheath for blood sampling and systemic artery pressure monitoring (8-Channel polygraph, Nihon Kohden America Inc., Foothill Ranch, CA). An 8F vascular sheath was also positioned in the left carotid artery, through which a 7F

guiding catheter was advanced into the left coronary artery. Through this guiding catheter, a 4F Berman catheter was positioned into the left anterior descending (LAD) coronary artery for coronary angiography and ET-1 injection. The left femoral artery was cannulated with a 7F vascular sheath to allow withdrawal of reference blood samples for assessment of regional myocardial blood flow (MBF) by colored microspheres.

Muscular relaxation was obtained prior to thoracotomy with rocuronium bromide (0.1 mg/kg IV; Organon, Toronto, Ontario, Canada). A left thoracotomy was performed at the fifth intercostal space to allow placement of a perivascular flowmeter (Transonic T106/T206 systems, Ithaca, NY). A 5F polyvinyl chloride catheter was introduced in the left atrium for microsphere injection.

Systemic anticoagulation was achieved with sodium heparin (Leo Pharma, Thornhill, Ontario, Canada) with an initial intravenous bolus of 200 U/kg, followed by additional 200 U/kg boluses every hour to maintain activated coagulation time > 200 seconds. After instrumentation, a stabilization period of at least 45 minutes was allowed before initiation of the experimentation.

#### **Administration of ET-1**

ET-1 (Sigma-Aldrich, Oakville, Ontario, Canada) was dissolved in bovine serum albumin 1% (Sigma-Aldrich, Oakville, Ontario, Canada) and diluted in normal saline on the day of the experiment. After a stabilization period, the vehicle (normal saline with 1% bovine serum albumin) and four doses of ET-1 (1, 5, 10, 15 ng/kg/min) were injected into the LAD at a rate of 1 mL/min for three minutes. A 20-minute recovery period was allowed between each ET-1 injection. Regional MBF was determined by injections of microspheres at baseline and after each ET-1 injections.



### **ECG and Hemodynamic Monitoring**

Seven electrodes were positioned on the chest and back of the animals for continuous monitoring and recording of three pseudoorthogonal ECG leads: Cm5, III and postero-anterior (PA). These leads were chosen to ensure that any anterior wall transmural or subendocardial ischemia could be detected as we previously described.(33)

Signals from the three ECG leads were amplified and acquired at 500 samples/second with a personal computer (Z Pro Pentium IV, IBM, New York, NY) and continuously stored on hard disk, simultaneously with the hemodynamic signals. The software program (VCGMI version 3.0, Centre de Recherche, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal et Institut de génie biomédical, Montréal, Québec, Canada, 2000) allows on-line ECG processing with subsequent off-line calculations of averaged QRS-T complexes. ECG complexes were averaged every 10 seconds to obtain a better time resolution of QRS and ST-segment dynamics. ST-segment amplitude was measured at J+60 ms in each lead. Hemodynamic signals from arterial blood pressure and epicardial coronary blood flow (CBF) were also sampled at a rate of 500 Hz and recorded continuously during the study.

### **Assessment of Regional Myocardial Blood Flow by Colored Microspheres**

To measure regional myocardial blood flow, a reference blood sample was withdrawn over 2 minutes from the femoral artery, starting 15 seconds before microsphere administration.(18) A total of  $1 \times 10^6$  15- $\mu\text{m}$  nonradioactive colored microspheres in 0.01% Tween 80 (E-Z Trac Colored Ultraspheres, Interactive Medical Technologies, LTD., Irvine, CA) were dispersed by vortex agitation, added to 9 mL of normal saline, and injected into the left atrium over 15 seconds. Different colors of microspheres were used to assess the various ET-1 doses.

At the end of the experiment, while the heart was still beating, a ligature was placed around the LAD at the site of the perivascular flowmeter, and 30 mL of thioflavine S (60 mg/kg, Sigma-Aldrich, Oakville, Ontario, Canada) was injected into the left atrium to define the area at risk.(13; 30) The animals were then sacrificed and their heart removed. The right heart and left atrium were dissected out to keep only the left ventricle, which was sliced into four layers of approximately equal thickness. From top to bottom, they were: 1) base, 2) layer of the ET-1 injection site, 3) layer below the injection site, 4) apex (figure 1).(18; 23) For the purpose of the current experiment, only layer 3 was analyzed. The other three regions were not analyzed because of the presence of a significant amount of myocardium upstream of the injection site (layers 1 and 2), or of a watershed area often fed by several arteries (layer 4). Each slice was placed under an ultraviolet lamp and was cut at the fluorescent demarcations to obtain two pieces, non fluorescent (ischemic) and fluorescent (non-ischemic). Finally, each piece was cut to separate the subepicardium from the subendocardium.

All pieces were weighed and processed according to the manufacturer's instructions. The microspheres from a given region were recovered by tissue digestion and directly counted with the Improved Neubauer Hemocytometer (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ). CBF was calculated using the following equation:  $Q_m = (C_m \times Q_r) / C_r$ , where  $Q_m$  is the myocardial blood flow per gram of tissue (mL/min/g),  $C_m$  is the microsphere count per gram of tissue,  $Q_r$  is the withdrawal rate of the reference blood sample (mL/min), and  $C_r$  is the microsphere count in the reference blood sample.

### **Assessment of Coronary Artery Diameter**

Coronary arteriography was performed using digital angiography (Integris Allura 9, Philips Medical Systems, Markham, Ontario, Canada) with iopamidol (Isovue®, Bracco Diagnostics, Mississauga, Ontario, Canada) as the contrast agent. Minimal lumen diameter

was measured at baseline, after vehicle injection, and after ET-1 administration using the Inturis Suite Viewer 2.2 software (Philips Medical Systems, Markham, Ontario, Canada).

### **Statistical Analysis**

Results are reported as mean  $\pm$  SD. Analysis of variance for repeated measures with appropriate contrast (baseline vs vehicle and ET-1 doses) was performed for hemodynamic and ECG data. On an experimental group the effect of vehicle administration on minimal lumen diameter was observed with a paired T-test (baseline vs vehicle). Analysis of variance for repeated measures with appropriate contrast (baseline vs ET-1 doses) was performed for ET-1 effect on minimal lumen diameter. A correction was made for unequal number of animals between each group (reduction of minimal coronary artery diameter extrapolation). Three minimal lumen diameters were missing and were approximated using this equation: mean minimal lumen diameter at the previous lowest dose + mean difference at the current dose. Analysis of variance for repeated measures with appropriate contrast was performed between the slopes of regional MBF change in each territory. A Bonferroni test was made to compare subendocardial / subepicardial ratio of regional MBF. A  $P < 0.05$  was considered statistically significant. Statistics were performed with SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

## **RESULTS**

### **Hemodynamic and Electrocardiographic Data**

Hemodynamic parameters remained clinically stable throughout the experiment with intracoronary infusion of ET-1, although statistically significant decreases in heart rate (0.8%,  $0.5 \pm 0.5$  bpm, 95% confidence interval [CI] 0.1 to 0.9;  $P=0.03$ ) and systolic blood pressure (6.4%,  $5.8 \pm 5.0$  mmHg, 95% CI 1.6 to 10.0;  $P=0.01$ ) were observed with the highest dose (Figure 2). Compared to baseline, ET-1 induced a dose-dependent decrease in

CBF, the maximum reduction being observed with 15 ng/kg/min (62%,  $9.4 \pm 3.4$  mL/min; 95% CI 6.6 to 12.3;  $P < 0.001$ ).

ET-1 infusion in the LAD caused dose-dependent ECG changes that were most important in the PA lead (Figure 3). Accordingly, timing of all ET-1 ECG effects was based on this lead. The two lowest doses of ET-1 (1 and 5 ng/kg/min) produced ST-segment depression in the PA lead that were maximal at  $2.3 \pm 1.5$  minutes after the start of the infusion and remained constant thereafter. On the other hand, administration of the highest ET-1 doses (10 and 15 ng/kg/min) resulted in a biphasic ST-segment response over time; maximum ST-segment depression occurred  $1.3 \pm 0.8$  minutes after the administration of ET-1 10 and 15 ng/kg/min, while maximum ST-segment elevation was observed after  $4.4 \pm 1.4$  minutes. In the other leads, ST-segment deviations presented similar but mostly non-significant trends.

#### **LAD Coronary Artery Diameter**

As expected, the LAD minimal lumen diameter was not affected by the administration of the vehicle, but a dose-dependently decreased was observed with intracoronary administration of ET-1 (Figure 4).

#### **Regional MBF**

Microspheres demonstrated similar reductions in regional MBF in the subendocardium and subepicardium of the LAD territory with all four ET-1 doses, the largest decrease being observed with the 10 ng/kg/min dose. Intracoronary administration of ET-1 non significantly decreased the regional MBF in the ischemic subendocardial and subepicardial regions, especially with doses greater than 5 ng/kg/min (Figure 5). ET-1 had no significant effect on regional MBF in the non-ischemic regions.

The effect of ET-1 on regional MBF distribution, as assessed by the subendocardium/subepicardium ratio, is presented in Figure 6. It caused a non significant increase of this ratio in non-ischemic myocardium and a non significant decrease in ischemic myocardium during the ET-1 lowest doses (1 and 5 ng/kg/min).

## DISCUSSION

LAD intracoronary administration of ET-1 causes a significant dose-related decrease of the LAD minimal lumen diameter. For example, a dose of 10  $\eta$ g/kg/min of this peptide induces a reduction of 11.7% of the LAD minimal lumen diameter compared to baseline. This vasoconstriction of coronary vessel decreases the epicardial LAD blood flow and the regional MBF. Thus, this peptide does not produce a fixed coronary stenosis because a reduction of the internal diameter from 80% to 90% is needed to cause a decrease of resting coronary blood flow.(31; 34) Our results suggest that ET-1 induces a long stenotic segment because the reduction of epicardial coronary blood flow is proportional to the length of the stenotic segment.(31; 34) This effect of ET-1 on a long segment of epicardial vessel was also observed in other studies.(2; 6; 14)

ET-1 demonstrates a heterogeneity effect on coronary circulation. Like we observed, this peptide induced a significant dose-related contraction of isolated epicardial coronary vessel.(2; 6; 14) This vasoconstriction is significantly higher in distal segment of epicardial vessels.(2; 6; 14) ET-1 sensibility increases with the reduction of epicardial coronary artery diameter and this relation seems to be present in all coronary arterial tree. Effectively, some studies conclude that the lower doses of this peptide create a vasoconstriction of microvascular vessels and the vasoconstriction of epicardial vessels needs a higher concentration.(9; 26) Lower concentrations induce a little decrease of epicardial diameter with a significant decrease of epicardial coronary blood flow.(9; 26; 37) Our results show the same conclusion because a significant decrease of LAD blood flow

was observed with a non significant decrease of LAD minimal lumen diameter but it is not necessarily a result of a vasoconstrictive action on microvascular vessel. This effect can be explained by a vasoconstriction of a long segment of epicardial coronary vessel and the microvessel (diameter > 130  $\mu\text{m}$ ). (24; 31; 34) On the other hand, the subendocardial vessel can be more affected by this little decrease of LAD blood flow because it is sensitive to a reduction of coronary blood flow. (1; 32)

Effect of ET-1 on regional MBF was observed with the microsphere technique. Our results and other results show no significant changes of this ratio after an administration of lower doses of ET-1. (24; 40) A non significant decrease of subendocardial/subepicardial ratio of regional MBF is observed in ischemic region and an increase is observed in non-ischemic regions. It was demonstrated that the intracoronary administration of higher concentrations of this peptide induces an elevation of the subendocardial/subepicardial ratio of ischemic regional MBF measured with radioactive microspheres. (7; 26; 45) We observed the same elevation in the ischemic region at higher doses (10 and 15 ng/kg/min). The utilization of lower doses of ET-1 caused a decrease of the regional MBF ratio in ischemic region and higher doses created an increased of this ratio. (7; 26; 45) Therefore, these results suggested that the lowest doses of ET-1 participated to a more important reduction of subendocardial MBF because it is more sensitive to ischemia. (1; 32)

Many studies have demonstrated ECG changes after administration of ET-1. (9 ; 11; 21; 26; 45) Some studies illustrated ST-segment changes (lead I, II, V<sub>1</sub> or epicardial electrogram) after intracoronary administration of ET-1, but haven't associated ST-segment changes (ST-segment depression or ST-segment elevation) with the reduction of epicardial coronary blood flow or regional MBF in pigs and dogs. (9; 11; 26) Igarashi and al. showed a ST-segment elevation on epicardial electrogram after a intracoronary administration of 500 pmol of ET-1. (21) This change is associated with a decrease of 91.0% of the coronary

blood flow.(21) Watanabe and al. demonstrated presence of ST-segment depression (36  $\mu\text{M}/\text{min}$ ) and a ST-segment elevation (98  $\mu\text{M}/\text{min}$ ) on epicardial electrogram.(45) In that case, ST-segment depression was associated with a 16.4% decrease of coronary blood flow and the ST-segment elevation was linked to a 31.9% decrease of coronary blood flow.(45) Our results also demonstrated that intracoronary administration of ET-1 causes ST-segment changes in Cm5, DIII or PA leads. These leads were chosen to ensure that any anterior wall transmural or subendocardial ischemia could be detected as previously described.(33) LAD intracoronary infusion of 1 and 5  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  causes a non significant ST-segment depression. From 10  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$ , a biphasic ST-segment changes can be observed (ST-segment depression followed by a ST-segment elevation). ST-segment depression is significant (vs baseline) in PA lead during intracoronary administration of 5 and 10  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  and the ST-segment elevation is significant at 10 (PA and Cm5 leads) and 15  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  in PA lead (vs baseline).

ST-segment depression can be induced by a subendocardial ischemia.(36) This subendocardial ischemia can be caused by a small reduction LAD coronary blood flow and subendocardial MBF because the subendocardium hasn't enough of coronary reserve to compensate this ischemia. Our epicardial blood flow results and minimal lumen diameter demonstrated that the increase of ET-1 concentration induces a progression of the ischemia towards the epicardium (transmural ischemia). The evolution of this vasoconstriction can also be observed with ECG behaviours. The beginning of the epicardial vasoconstriction was associated with a ST-segment elevation because the ischemia is no longer subendocardial but now transmural.(36)

Implication of ET-1 in myocardial ischemia has always been suspected because it is an important vasoconstrictor endogenous peptide and our results suggested the same hypothesis. Transient myocardial ischemia with an elevation of plasmatic ET-1

concentration in patients, are associated most of the time with a ST-segment depression.(25) ST-segment depression observed after intracoronary injection of ET-1 illustrates the pathological characteristic of a patient with unstable angina with episodes of ST-segment depression. Then, ST-segment depression observed in patients with unstable angina seems to be caused by microvascular ischemia like it was already evoked by some authors.(27)

This study has some limitations. We evaluated the ET-1 effect in normal distal vascular response in healthy pigs. The effect of ET-1 in atherosclerotic coronary artery vessel will be compared to evaluate the implication of the endothelium-dependant vasodilatation. Moreover, our model may have introduced discrepancies in our results in two ways. First, isoflurane, which is known to mimic ischemic preconditioning and attenuate the degree of ST-segment changes during ischemia, was used to anesthetize the animals. Myocardial ischemia and ST-segment changes of greater amplitude may have occurred if a non-volatile anesthetic agent had been administered but many disadvantages restrain its use.(3; 19; 35) In addition, the use of an open-chest model, which increases the insulation of the heart, results in higher-amplitude epicardial electrograms, without affecting the distribution patterns. The effect of such an open-chest model on the surface electrocardiograms is not as clearly defined.(16; 17) Finally, even though we did demonstrate that a slow, progressive coronary occlusion did not result in ST-segment depression, our study did not allow us to determine whether vasoconstriction of the microcirculation was a determinant factor for the development of ST-segment depression ischemia.

## CONCLUSION

In conclusion, intracoronary infusions of low doses of ET-1 caused a ST-segment depression in healthy pigs. This effect is linked to a dose-related decrease of coronary blood flow and LAD minimal lumen diameter. ST-segment elevation appears with higher



doses and it is induced by an important epicardial stenosis and a transmural ischemia. Understanding the ST-segment depression mechanism can have a great impact in treatment strategies used for the management of UA/NSTEMI. ST-segment depression can be induced by a microvascular constriction and ischemia sensitivity of the subendocardium.

**REFERENCES**

1. **Bache RJ, McHale PA and Greenfield JC, Jr.** Transmural myocardial perfusion during restricted coronary inflow in the awake dog. *Am J Physiol* 232: H645-H651, 1977.
2. **Balligand JL and Godfraind T.** Effect of nisoldipine on contractions evoked by endothelin-1 in human isolated distal and proximal coronary arteries and veins. *J Cardiovasc Pharmacol* 24: 618-625, 1994.
3. **Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M and Menasche P.** Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 100: II340-II344, 1999.
4. **Bloor CM, White CF and Roth DM.** The pig as a model of myocardial ischemia and gradual coronary artery occlusion. In: *Swine as models in biomedical research*, edited by Swindle MM. Iowa: Iowa State University Press, 1992, p. 163-175.
5. **Braunwald E.** Unstable angina: an etiologic approach to management. *Circulation* 98: 2219-2222, 1998.
6. **Chester AH, O'Neil GS, Allen SP, Luu TN, Tadjkarimi S and Yacoub MH.** Effect of endothelin on normal and diseased human coronary arteries. *Eur J Clin Invest* 22: 210-213, 1992.
7. **Clozel JP and Clozel M.** Effects of endothelin on the coronary vascular bed in open-chest dogs. *Circulation Research* 65: 1193-1200, 1989

8. De Chantal, M., Nasmith, J., Diodati, J. G., Amyot, R., Simard, M., Dube, B., LeBlanc, A., Schampaert, E., and Pharand, C. ST-segment changes and regional myocardial blood flow determined by colored microspheres and myocardial contrast echocardiography during progressive, epicardial coronary flow reduction. *Can J Cardiol*, 2005.
9. **Egashira K, Pipers FS, Rush JE and Morgan JP.** Effects of calcium channel blockers on coronary vasoconstriction induced by endothelin-1 in closed chest pigs. *Journal of the American College of Cardiology* 16: 1296-1303, 1990.
10. **Ekmekci A, Toyoshima H, Kwoczynski JK, Nagaya T and Prinzmetal M. IV.** Clinical and experimental difference between ischemia with S-T elevation and ischemia with S-T depression. *Am J Cardiol* 7: 412-26, 1961.
11. **Ezra D, Goldstein RE, Czaja JF and Feuerstein GZ.** Lethal ischemia due to intracoronary endothelin in pigs. *Am J Physiol* 257: 339-43, 1989
12. **Franco-Cereceda A, Grip LG, Moor E, Velander M, Liska J and Lundberg JM.** Influence of percutaneous transluminal coronary angioplasty on cardiac release of endothelin, neuropeptide Y and noradrenaline. *Int J Cardiol* 48: 231-233, 1995.
13. **Gerber BL, Rochitte CE, Melin JA, McVeigh ER, Bluemke DA, Wu KC, Becker LC and Lima JA.** Microvascular obstruction and left ventricular remodeling early after acute myocardial infarction. *Circulation* 101: 2734-2741, 2000
14. **Godfraind T.** Evidence for heterogeneity of endothelin receptor distribution in human coronary artery. *Br J Pharmacol* 110: 1201-1205, 1993.

15. **Gould KL and Lipscomb K.** Effects of coronary stenoses on coronary flow reserve and resistance. *Am J Cardiol* 34: 48-55, 1974.
16. **Green LS, Taccardi B, Ershler PR and Lux RL.** Epicardial potential mapping. Effects of conducting media on isopotential and isochrone distributions. *Circulation* 84: 2513-2521, 1991.
17. **Guyton RA, McClenathan JH, Newman GE and Michaelis LL.** Significance of subendocardial S-T segment elevation caused by coronary stenosis in the dog. Epicardial S-T segment depression, local ischemia and subsequent necrosis. *Am J Cardiol* 40: 373-80, 1977.
18. **Hale SL, Alker KJ and Kloner RA.** Evaluation of nonradioactive, colored microspheres for measurement of regional myocardial blood flow in dogs. *Circulation* 78: 428-34, 1988.
19. **Haroun-Bizri S, Khoury SS, Chehab IR, Kassas CM and Baraka A.** Does isoflurane optimize myocardial protection during cardiopulmonary bypass? *J Cardiothorac Vasc Anesth* 15: 418-421, 2001.
20. **Hasdai D, Holmes DR, Garratt KN, Edwards WD and Lerman A.** Mechanical pressure and stretch release endothelin-1 from human atherosclerotic coronary arteries in vivo. *Circulation* 95: 357-62, 1997.
21. **Igarashi Y, Aizawa Y, Tamura M, Ebe K, Yamaguchi T and Shibata A.** Vasoconstrictor effect of endothelin on the canine coronary artery: is a novel

endogenous peptide involved in regulating myocardial blood flow and coronary spasm? *Am Heart J* 118: 674-678, 1989.

22. **Kato K, Fukuda H and Koyama S.** Depression of the S-T segment in epicardial electrocardiogram associated with experimental major coronary artery constriction. *J Electrocardiol* 1: 167-74, 1968.
23. **Kowallik P, Schulz R, Guth BD, Schade A, Paffhausen W, Gross R and Heusch G.** Measurement of regional myocardial blood flow with multiple colored microspheres. *Circulation* 83: 974-82, 1991.
24. **Lamping KG, Clothier JL, Eastham CL and Marcus ML.** Coronary microvascular response to endothelin is dependent on vessel diameter and route of administration. *Am J Physiol* 263: H703-H709, 1992.
25. **Lanza GA, Bencardino G, Sestito A, Shaw S, Sgueglia GA, Infusino F, Luscher TF and Crea F.** Association of endothelin-1 with transient myocardial ischemia in patients with unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 95: 492-494, 2005.
26. **Larkin SW, Clarke JG, Keogh BE, Araujo L, Rhodes C, Davies GJ, Taylor KM and Maseri A.** Intracoronary endothelin induces myocardial ischemia by small vessel constriction in the dog. *Am J Cardiol* 64: 956-958, 1989.
27. **Li D, Li CY, Yong AC and Kilpatrick D.** Source of electrocardiographic ST changes in subendocardial ischemia. *Circ Res* 82: 957-70, 1998
28. **Libby P and Theroux P.** Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* 111: 3481-3488, 2005.

29. **Macleod RS, Punske B, Yilmaz B, Shome S and Taccardi B.** The role of heart rate in myocardial ischemia from restricted coronary perfusion. *J Electrocardiol* 34 Suppl: 43-51, 2001.
30. **Matsumura K, Jeremy RW, Schaper J and Becker LC.** Progression of myocardial necrosis during reperfusion of ischemic myocardium. *Circulation* 97: 795-804, 1998.
31. **Melvin L and Marcus M.** Physiological effects of a coronary stenosis. In: The coronary circulation in health and disease, edited by Melvin L and Marcus M. Texas, USA: McGraw Hill, 1983, p. 242-269.
32. **Moir TW.** Subendocardial distribution of coronary blood flow and the effect of antianginal drugs. *Circ Res* 30: 621-627, 1972.
33. **Nasmith JB, Pharand C, Dube B, Matteau S, LeBlanc A and Nadeau R.** Localization of maximal ST segment displacement in various ischemic settings by orthogonal ECG: Implications for lead selection and the mechanism of ST shift. *Can J Cardiol* 17: 57-62, 2001.
34. **Opie L.H.** Oxygen Supply : Coronary Flow. In: The Heart. Physiology, from the cell to circulation, edited by Opie L.H. Philadelphia, USA: Lippincott-Raven Publishers, 1997, p. 267-293.
35. **Piriou V and Chiari P.** Con: Ischemic preconditioning is not necessary because volatile agents accomplish it. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 18: 803-805, 2004.

36. **Savard P, Cohen D, Lepeschkin E, Cuffin BN and Madias JE.** Magnetic measurement of S-T and T-Q segment shifts in humans. Part I: Early repolarization and left bundle branch block. *Circulation Research* 53: 264-273, 1983.
37. **Sudhir K, Ko E, Zellner C, Wong HE, Hutchison SJ, Chou TM and Chatterjee K.** Physiological concentrations of estradiol attenuate endothelin 1- induced coronary vasoconstriction in vivo. *Circulation* 96: 3626-32, 1997.
38. **Swindle MM.** Swine as replacements for dogs in the surgical teaching and research laboratory. *Lab Anim Sci* 34: 383-385, 1984.
39. **Timogiannakis G, Amende I, Martinez E and Thomas M.** ST segment deviation and regional myocardial blood flow during experimental partial coronary artery occlusion. *Cardiovas Res* 8: 469-477, 1974.
40. **Traverse JH, Judd D and Bache RJ.** Dose-dependent effect of endothelin-1 on blood flow to normal and collateral-dependent myocardium. *Circulation* 93: 558-566, 1996.
41. **Verdouw PD, van den Doel MA, de ZS and Duncker DJ.** Animal models in the study of myocardial ischaemia and ischaemic syndromes. *Cardiovasc Res* 39: 121-135, 1998.
42. **Wagner OF, Christ G, Wojta J, Vierhapper H, Parzer S, Nowotny PJ, Schneider B, Waldhausl W and Binder BR.** Polar secretion of endothelin-1 by cultured endothelial cells. *J Biol Chem* 267: 16066-16068, 1992.

43. **Wang QD, Hensen A, Li XS, Lundberg JM, Uriuda Y and Pernow J.** Local overflow and enhanced tissue content of endothelin following myocardial ischaemia and reperfusion in the pig: modulation by L-arginine. *Cardiovasc Res* 29: 44-49, 1995.
44. **Wang QD, Li XS, Lundberg JM and Pernow J.** Protective effects of non-peptide endothelin receptor antagonist bosentan on myocardial ischaemic and reperfusion injury in the pig. *Cardiovasc Res* 29: 805-812, 1995.
45. **Watanabe S, Buffington CW and Moresea G.** Comparison of myocardial ischemia induced by endothelin vs. mechanical stenosis in pigs. *Am J Physiol* 268: H1276-H1283, 1995.
46. **Watanabe T, Suzuki N, Shimamoto N, Fujino M and Imada A.** Contribution of endogenous endothelin to the extension of myocardial infarct size in rats. *Circ Res* 69: 370-377, 1991.
47. **Winkles JA, Alberts GF, Brogi E and Libby P.** Endothelin-1 and endothelin receptor mRNA expression in normal and atherosclerotic human arteries. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 191: 1081-1088, 1993.
48. **Zeiber AM, Goebel H, Schachinger V and Ihling C.** Tissue endothelin-1 immunoreactivity in the active coronary atherosclerotic plaque. A clue to the mechanism of increased vasoreactivity of the culprit lesion in unstable angina. *Circulation* 91: 941-7, 1995.



### Figure Legends

Figure 1. Representative dissection of the heart for the evaluation of the RMBF. Ao: aorta; Diag: diagonal coronary artery; LAD: left anterior descending coronary artery; LCx: left circumflex coronary artery; OM: obtuse marginal coronary artery; PDA: posterior descending coronary artery; RCA: right coronary artery.

Figure 2. Absolute changes in heart rate, epicardial CBF, systolic and diastolic blood pressure at the end of the intracoronary administration of the vehicle and ET-1 (1, 5, 10 and 15  $\eta\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ). All values are expressed as means  $\pm$  SD. \*  $P < 0.05$ , †  $P < 0.005$ , ‡  $P < 0.001$  vs. baseline.

Figure 3. Absolute changes in ST-segment amplitude with administration of the vehicle (n=12), ET-1 at 1  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  (n=12), 5  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  (n=11), 10  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  (n=10), and 15  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  (n=8) when: a) ST-segment depression occurred in the PA lead, and b) ST-segment elevation was observed in the that same lead. All values are expressed as means  $\pm$  SD. Data from four animals were excluded because of the development of a bundle branch block during injection. \*  $P < 0.05$ , †  $P < 0.005$  vs. baseline.

Figure 4. Absolute changes in the LAD minimal lumen diameter (vs baseline) determined by QCA during intracoronary infusion of ET-1 at 1  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  (n=12), 5  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  (n=12), 10  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  (n=10), and 15  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  (n=10). All values are expressed as means  $\pm$  SD. \* $P < 0.001$ , † $P < 0.05$  vs baseline.

Figure 5. RMBF in the layer below the injection site (layer 3) determined by colored microspheres at the baseline (n=9) and during LAD infusion of ET-1 at 1  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  (n=3), 5  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  (n=5), 10  $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$  (n=7), and 15  $\eta\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  (n=6). All values are expressed as means  $\pm$  SD.

Figure 6. Subendocardial/subepicardial ratio of regional MBF assessed by colored microspheres at baseline and during LAD infusion of ET-1 at 1 ng/kg/min (n=3), 5 ng/kg/min (n=5), 10 ng/kg/min (n=7), and 15 ng/kg/min (n=6). All values are expressed as means  $\pm$  SD.

Figure 1

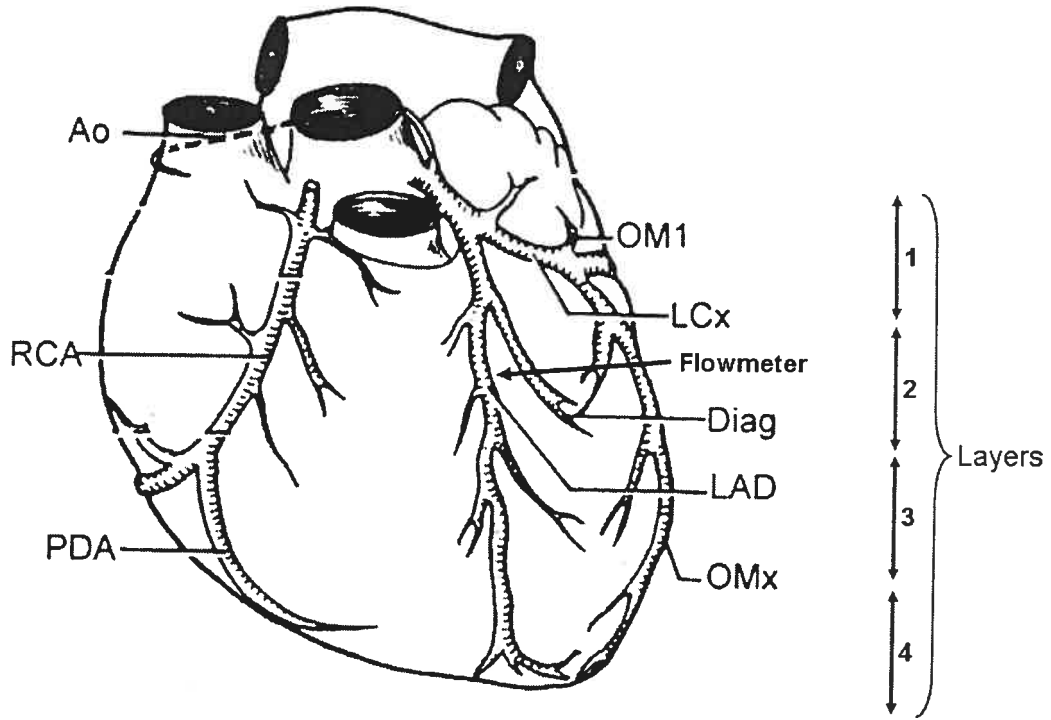


Figure 2

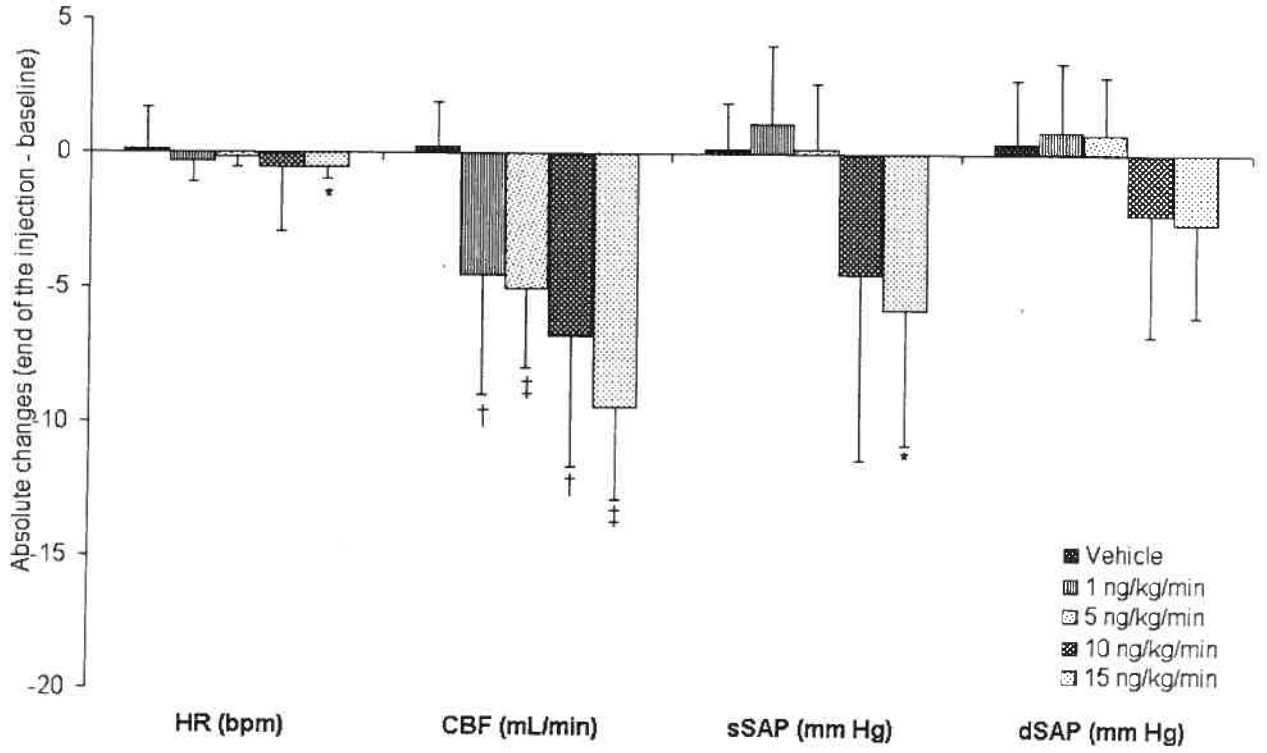


Figure 3

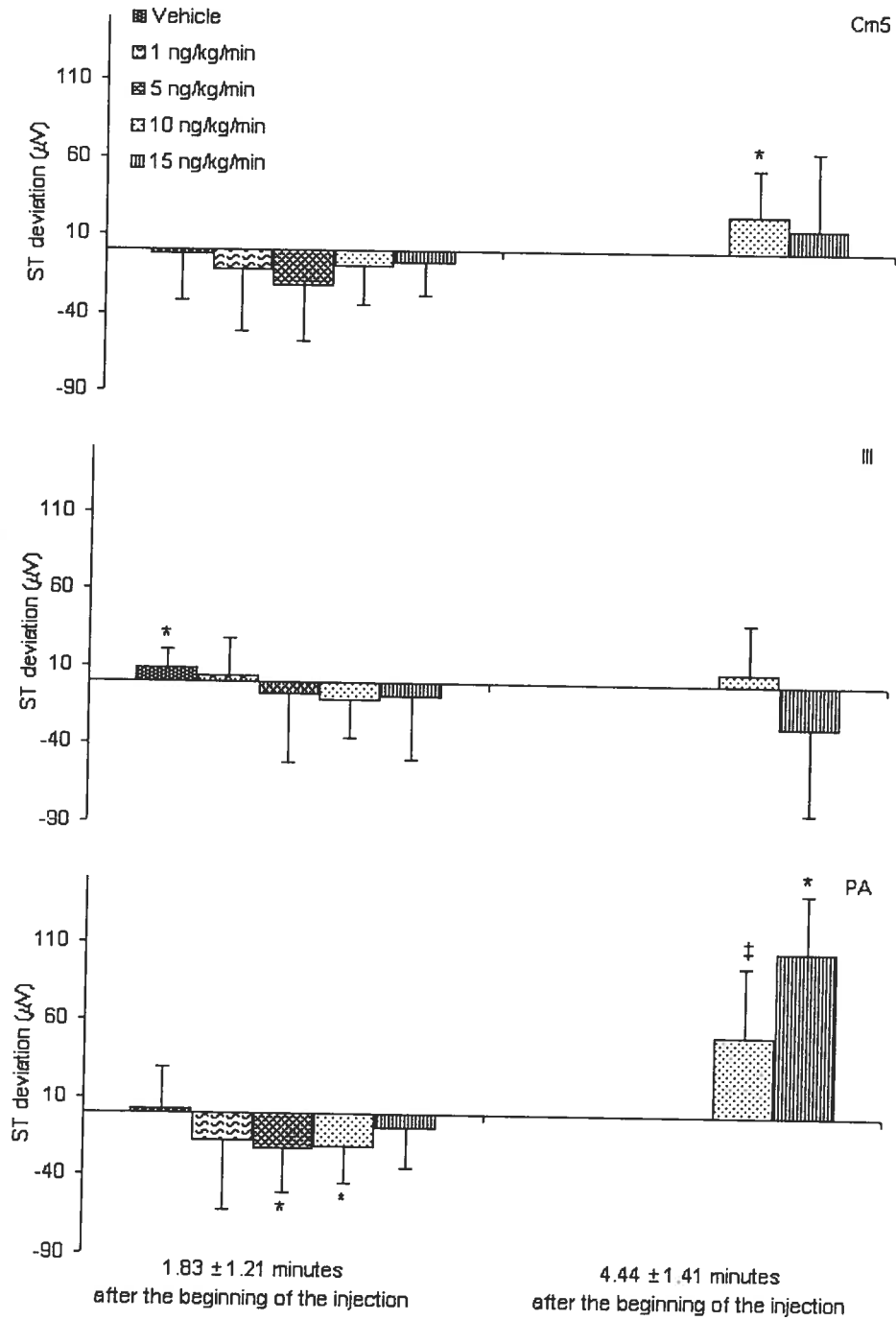


Figure 4

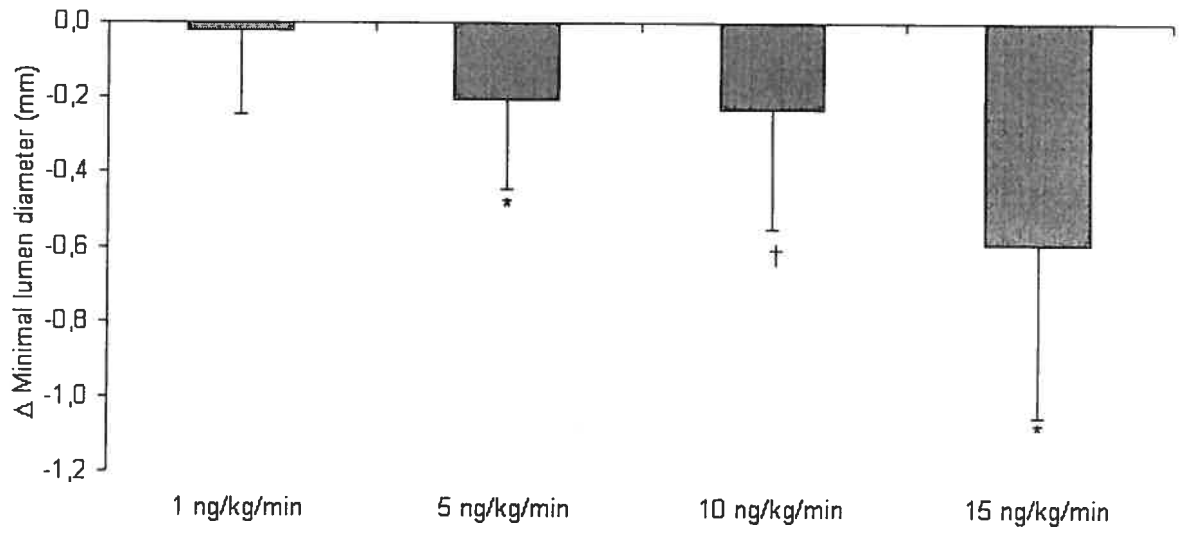


Figure 5

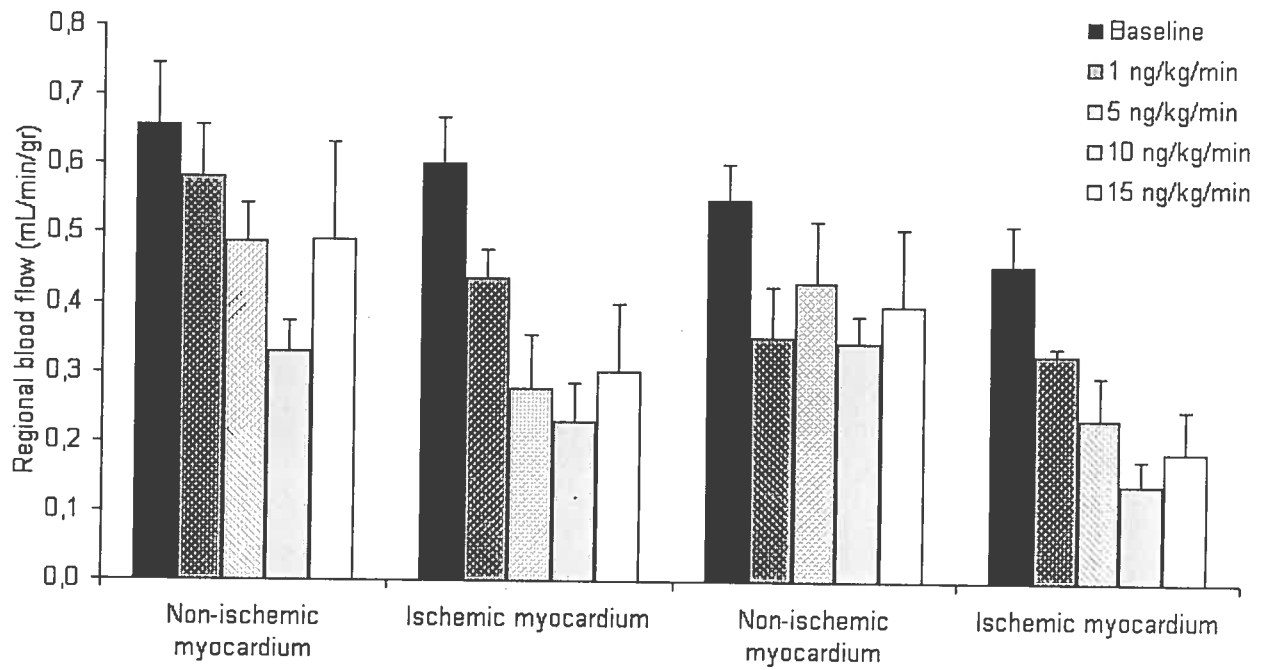
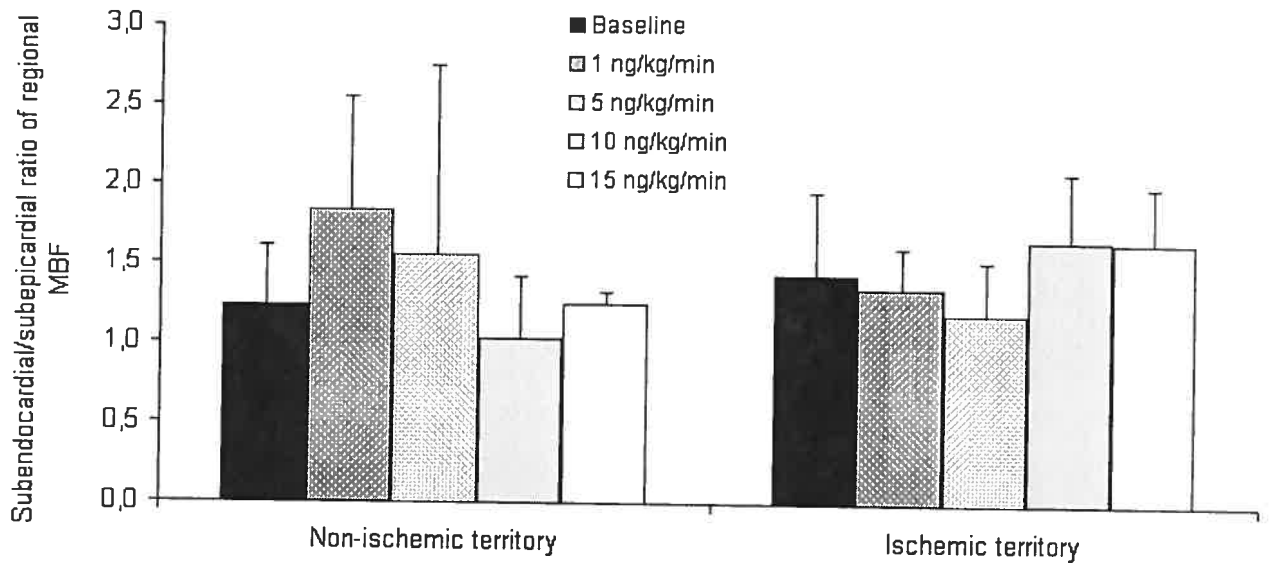


Figure 6





## **Chapitre 9: Effet de la 5-HT sur la perfusion myocardique et l'ECG suite à l'administration de L-NAME.**

### **Mise en situation**

Il a été souligné dans l'introduction que l'ET-1, la 5-HT et le NPY peuvent jouer un rôle dans les pathologies cardiovasculaires. Ainsi, il est essentiel de déterminer l'action de ces agents vasoconstricteurs sur le myocarde. Le chapitre 8 démontrait les effets de l'ET-1 sur plusieurs paramètres, dont l'ECG. Les chapitres 9 et 10 comprennent les effets de la 5-HT et du NPY sur les paramètres hémodynamiques et ECG, entre autres. Du L-NAME a été injecté lors des expériences avec la 5-HT, puisque l'effet vasodilatateur est important et peut masquer l'effet vasoconstricteur. Ainsi, l'administration de cet inhibiteur permet d'observer seulement l'effet vasoconstricteur de la 5-HT.

### **Résultats**

Ces expérimentations ont été effectuées sur 15 animaux, mais quatre sont morts lors de la chirurgie. L'enregistrement de l'ECG, des paramètres hémodynamiques et des données angiographiques a été effectué sur les 11 animaux ( $33,7 \pm 1,5$  kg). Par contre, la corruption des fichiers d'un animal a empêché l'analyse de ses données angiographiques. Le débit régional myocardique a seulement été évalué chez 8 de ces animaux, dû à des problèmes avec le fournisseur des microsphères non-radioactives de couleur (2 animaux) ou un problème technique (1 animal).

### Données hémodynamiques

L'administration de L-NAME a causé des changements significatifs des paramètres hémodynamiques qui ont débutés durant l'injection et ont perdurés jusqu'à la fin de

l'injection (tableau 4). L'inhibition du NO a induit, à la fin de l'infusion du L-NAME, une augmentation significative de la pression artérielle systolique ( $7,1 \pm 9,5$  mm Hg;  $P=0,03$ ) et diastolique ( $10,6 \pm 11,8$  mm Hg;  $P=0,01$ ), qui a été accompagnée d'une réduction du débit coronaire épicaudique ( $-3,4 \pm 3,8$  mL/min;  $P=0,01$ ). L'injection du L-NAME a aussi provoqué une diminution significative de la fréquence cardiaque ( $-3,0 \pm 0,9$  bpm;  $P=0,006$ ). Ces modifications hémodynamiques étaient toujours présentes 5 minutes après la fin de l'administration. Étant donné que les effets hémodynamiques du L-NAME sont reconnus pour perdurer au moins 90 minutes, ces valeurs ont été considérées comme les valeurs de base.<sup>309</sup>

Tableau 4: Effets hémodynamiques de l'inhibition de la production de NO suite à l'administration intraveineuse de L-NAME (10 mg/kg) sur les paramètres hémodynamiques.

	Ligne de base	Fin de l'injection	P (vs. ligne de base)	5 min. après la fin de l'injection	P (vs. ligne de base)
Fréquence cardiaque (bpm)	72.6 ± 6.9	69.6 ± 6.9	0.006	68.3 ± 6.2	<0.001
Débit coronaire épicaudique (mL/min)	21.6 ± 8.7	18.2 ± 6.4	0.01	18.0 ± 6.2	0.01
Pression artérielle systolique (mm Hg)	85.4 ± 5.9	92.6 ± 12.1	0.03	92.2 ± 12.9	0.05
Pression artérielle diastolique (mm Hg)	55.2 ± 6.7	65.8 ± 11.7	0.01	65.6 ± 12.5	0.02

Les valeurs sont rapportées sous la forme moyenne ± écart-type; n=11.

L'injection intracoronaire de salin a causé une diminution significative de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle systolique et diastolique comparée à l'effet induit par le L-NAME (figure 17). L'administration de la 5-HT a provoqué une augmentation dose-dépendante, et de la fréquence cardiaque et du débit coronaire

épiscardique qui n'était pas significativement différente de l'effet du salin. Toutefois, l'augmentation de la pression artérielle systolique et diastolique induite par l'infusion intracoronaire de la dose de 1 et 3  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  était significativement différente de l'effet du salin. L'effet significatif le plus important a été remarqué lors de l'administration de la dose de 3  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  de 5-HT ( $4,4 \pm 8,2$  mm Hg;  $P=0,03$  pour la pression artérielle systolique et  $3,1 \pm 6,0$  mm Hg;  $P=0,03$  pour la pression artérielle diastolique).

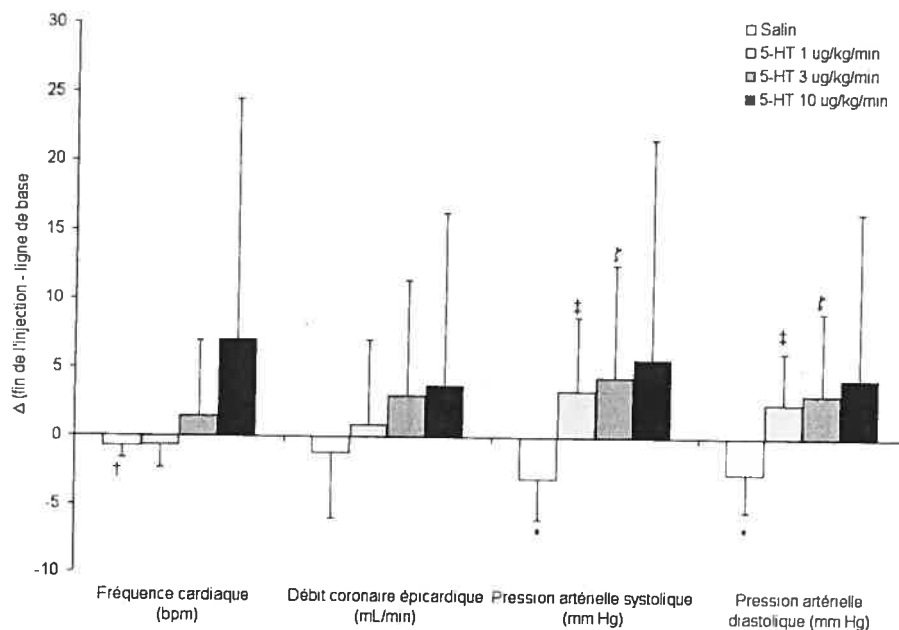


Figure 17: Changements hémodynamiques causés par l'administration intracoronaire du salin et de la 5-HT (1, 3 et 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ).

Les valeurs sont rapportées sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type;  $n=11$ . \* $P < 0,01$  vs. L-NAME, † $P < 0,05$  vs. L-NAME, ‡ $P < 0,01$  vs. salin, § $P < 0,05$  vs. salin.

### Données ECG

En plus des changements décelés à la fin de l'infusion, ceux observés à  $3,0 \pm 1,2$  minutes sont présentés car ils représentaient l'effet maximum observé sur l'amplitude du

segment ST lors de l'injection de la 5-HT, dans le cas présent dans la dérivation PA (figure 18 et 19). Le véhicule n'avait aucun effet sur le segment ST dans les trois dérivations ECG par rapport à la ligne de base. L'injection de la première dose de 5-HT (1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) a causé des changements ECG significatifs dans les trois dérivations, tandis que les deux autres doses (3 et 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) ont seulement affecté la dérivation PA. L'injection de la 5-HT (1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) a provoqué un sus-décalage du segment ST significatif dans la dérivation Cm5 et III au milieu et/ou à la fin de l'injection de l'agent. Ce sus-décalage du segment ST était maximal dans la dérivation III à la fin de l'injection de la 5-HT ( $25,9 \pm 21,3 \mu\text{V}$ ;  $P=0,001$ ). L'augmentation de la dose de 5-HT a induit une atténuation du sus-décalage du segment ST qui a été remplacé par un sous-décalage du segment ST lors de l'infusion de doses supérieures. L'administration intracoronaire de 5-HT a causé un sous-décalage du segment ST qui était dose-dépendant dans la dérivation PA. À  $3,0 \pm 1,2$  minutes du début de l'infusion, ce sous-décalage du segment ST était significatif lors de l'injection de la première dose de 5-HT et il a atteint un maximum à la dose de 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  ( $-52,2 \pm 37,4 \mu\text{V}$ ;  $P=0,01$ ). Dans cette dérivation, le changement d'amplitude du segment ST s'est atténué lors de l'injection, mais il est demeuré significatif lors de l'administration de la dose de 3  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  ( $-22,1 \pm 19,0 \mu\text{V}$ ;  $P=0,04$ ). Il est important de noter que l'augmentation du débit coronaire épicaire observée après la fin de l'injection de la 5-HT a été causée par l'administration d'iopamidol qui a été utilisé pour l'angiographie (figure 19).

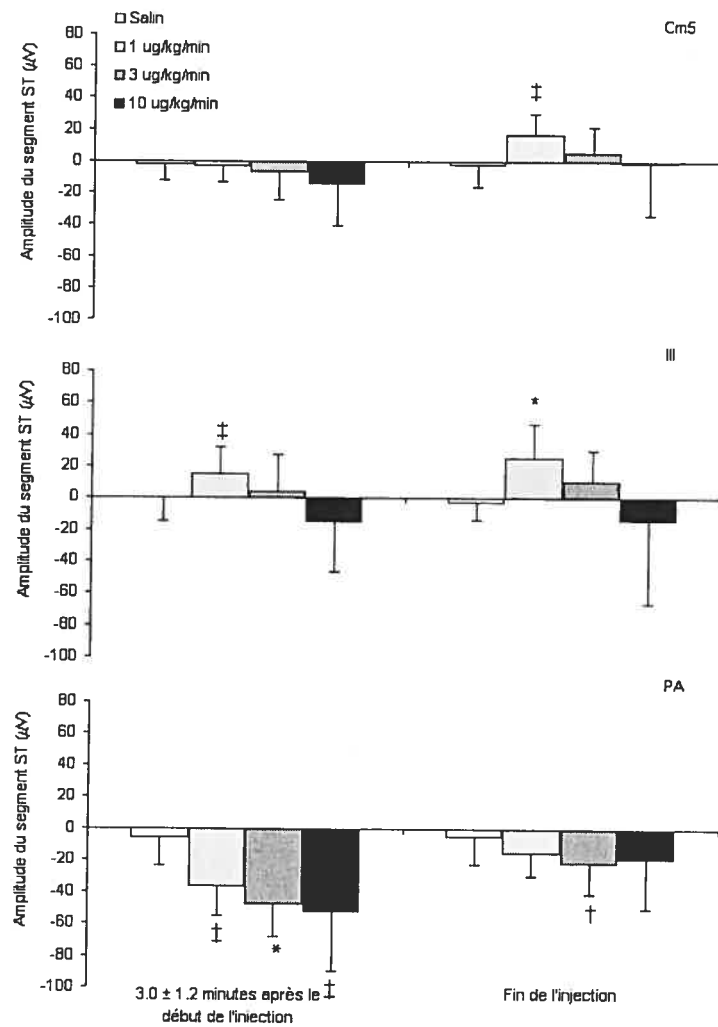


Figure 18: Changement de l'amplitude du segment ST suite à l'administration de la 5-HT intracoronaire dans les trois dérivation, à deux temps différents qui correspondent au maximum d'effet observé dans la dérivation PA et à la fin de l'injection.

Les valeurs sont rapportées sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type; n=11. †P<0,01 vs. salin, \*P<0,001 vs. salin et †P<0,05 vs. salin.

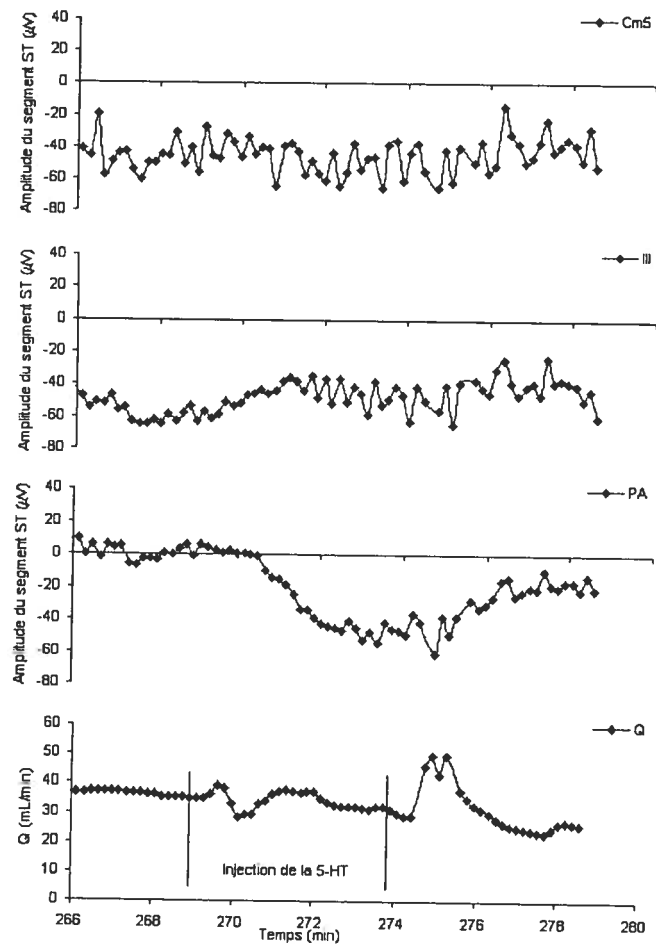


Figure 19: Effet représentatif de l'administration intracoronaire de la 5-HT ( $3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) sur l'ECG et le débit coronaire épicardique.

Chaque point représente une moyenne des données brutes effectuée sur 10 sec.

### Débit régional myocardique

L'administration de L-NAME a causé peu d'effet sur le débit régional myocardique (figure 20). Cette injection a induit une légère réduction du débit régional myocardique qui était seulement significative dans le sous-endocarde sain de la couche 3 ( $-0,48 \pm 0,33 \text{ mL}/\text{min}/\text{g}$ ;  $P=0,004$  [voir la représentation graphique à la figure 15]). Par la suite, aucun

changement significatif du débit régional myocardique n'a été observé lors de l'administration de la 5-HT (3 et 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) en comparaison avec l'effet qui a été occasionné par l'infusion de L-NAME. Toutefois, il était possible de remarquer que la 5-HT a tendance à élever le débit régional myocardique dans les régions saines et à le diminuer dans les régions de l'IVA.

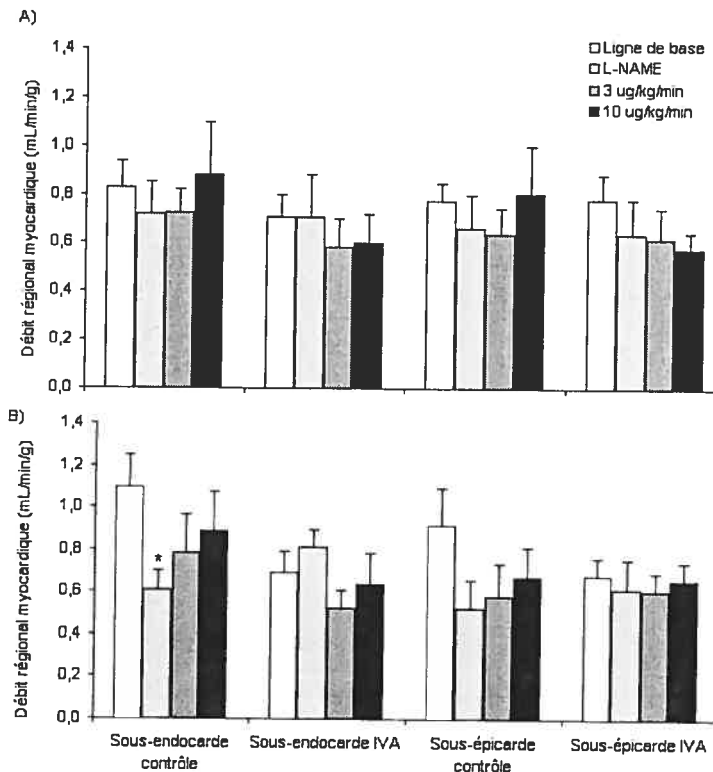


Figure 20: Débit régional myocardique mesuré par des microsphères non-radioactives de couleur de la couche #2 (A) et #3 (B) à la ligne de base, après l'administration de L-NAME (10 mg/kg) et après l'injection intracoronaire de 5-HT (3 et 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ).

Les valeurs sont rapportées sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type;  $n=8$ . \* $P < 0,01$  vs. la ligne de base.

Toutefois, cet agent vasoconstricteur avait la capacité de diminuer le ratio sous-endocardique et sous-épicaudique du débit régional myocardique dans la région de l'IVA de la 3<sup>e</sup> couche (figure 21). Ces diminutions étaient significatives par rapport à la valeur observée suite à l'administration du L-NAME, mais elles ne différaient pas de la valeur observée lors du contrôle.

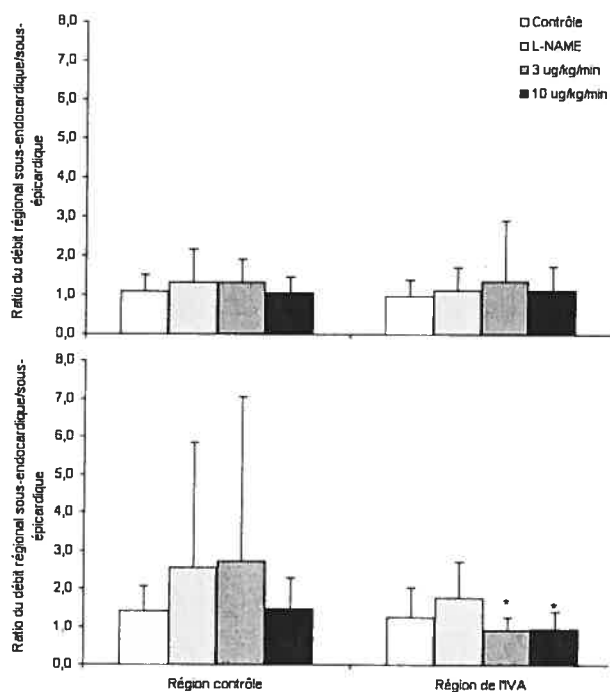


Figure 21 : Ratio du débit régional sous-endocardique / sous-épicaudique mesuré par des microsphères non-radioactives de couleur à la couche #2 et #3 à la ligne de base, après l'administration de L-NAME (10 mg/kg) et après l'injection intracoronaire de 5-HT (3 et 10  $\mu$ g/kg/min).

Les valeurs sont rapportées sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type; n=8. \* $P < 0,05$  vs. L-NAME.



### Données angiographiques

Le diamètre minimum de l'IVA a été mesuré à deux endroits, c'est-à-dire à 1 cm (proximal) ou 2 cm (distal) du site d'injection des agents. L'infusion de L-NAME n'a pas modifié le diamètre minimum de l'IVA aux sites proximal et distal (figure 22). L'injection intracoronaire de salin a causé une diminution significative du diamètre de l'IVA distal par rapport à l'effet du L-NAME ( $-0,23 \pm 0,21$  mm;  $P=0,008$ ). La 5-HT a provoqué une réduction significative du diamètre minimum de l'IVA proximal et distal comparé à l'effet induit par le salin. Au site proximal, l'effet maximum de la 5-HT a été observé suite à l'administration de la 1<sup>ière</sup> dose ( $-0,92 \pm 0,41$  mm;  $P<0,001$ ) et la réduction du diamètre minimum de l'IVA a été atténuée lors de l'administration de doses supérieures ( $-0,67 \pm 0,34$  mm;  $P=0,001$ , pour la dose de  $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ). La diminution du diamètre minimum de l'IVA au site distal était maximale à la 2<sup>e</sup> dose de 5-HT ( $-0,83 \pm 0,25$  mm;  $P<0,001$ ), mais elle a aussi faiblit lors de l'injection de la dose la plus élevée ( $-0,64 \pm 0,35$  mm;  $P=0,001$ ).

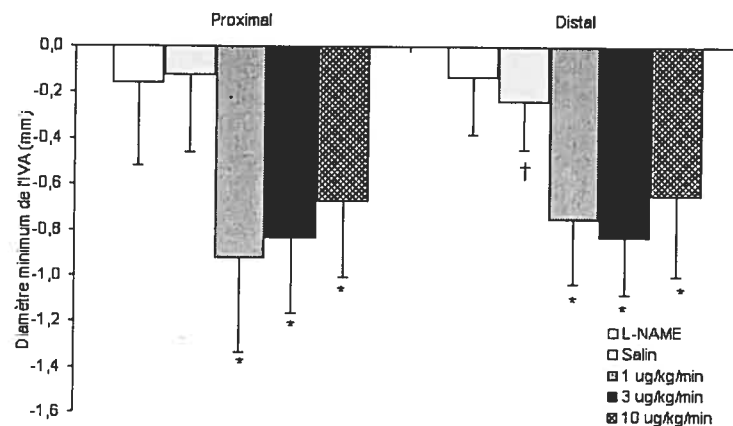


Figure 22: Changement du diamètre de l'IVA proximal et distal du site d'injection de la 5-HT déterminé par angiographie après l'administration de L-NAME (10 mg/kg), de salin et des doses de 5-HT (1, 3 et  $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ).

Les valeurs sont rapportées sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type;  $n=10$ .  $^{\dagger}P < 0,01$  vs. L-NAME et  $^*P < 0,001$  vs. salin.

## Chapitre 10: Induction d'un sous-décalage du segment ST suite à l'administration du NPY

### Résultats

Ces expériences ont été effectuées sur 17 animaux, mais deux d'entre eux sont morts lors de la chirurgie. De plus, quatre animaux sont morts à la fin de l'injection de la deuxième dose de NPY (10 pmol/kg/min), ainsi il n'y a que 11 animaux qui ont reçu la dose la plus élevée (100 pmol/kg/min). L'enregistrement de l'ECG et des paramètres hémodynamiques a donc été effectué chez 15 animaux ( $33,8 \pm 1,9$  kg). La détermination du diamètre minimum de l'IVA a été évaluée chez 8 animaux puisque l'appareil n'était pas en service lors du commencement du protocole. L'utilisation de microsphères non-radioactives pour déterminer le débit régional myocardique a été utilisée chez 6 animaux puisque la technique a été modifiée durant le protocole parce qu'il y avait trop de variations dans les données.

### Données hémodynamiques

L'injection intracoronaire du salin a causé une augmentation significative du débit coronaire épicaudique par rapport à la ligne de base ( $1,7 \pm 2,9$  mL/min;  $P = 0,04$ ; figure 23). Toutefois, aucun changement n'a été observé au niveau de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle systolique et diastolique lors de l'administration du véhicule. Par la suite, l'administration du NPY n'a eu aucun effet significatif sur les paramètres hémodynamiques par rapport aux changements occasionnés par le véhicule.

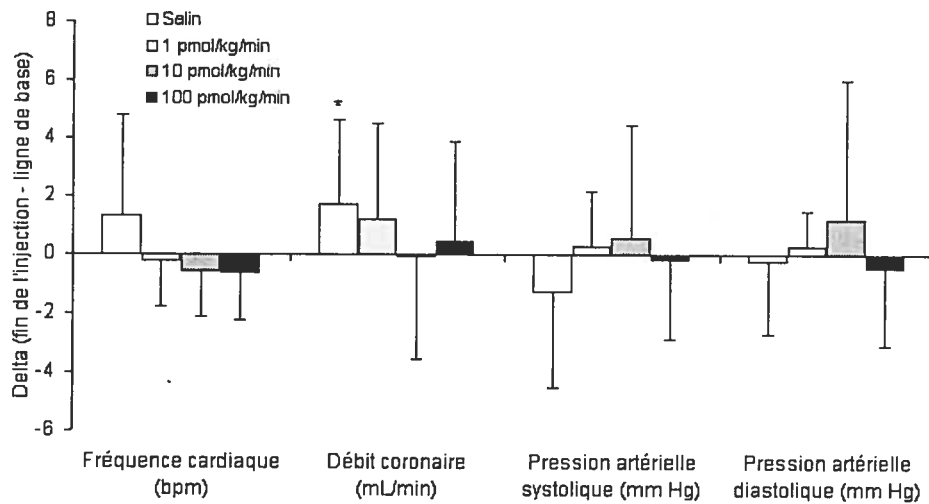


Figure 23: Changement des paramètres hémodynamiques lors de l'injection intracoronaire de salin et de NPY (1, 10 et 100 pmol/kg/min).

Les valeurs sont rapportées sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type; n=15. \* $P < 0,05$  vs. la ligne de base.

#### Données ECG

Le seul changement significatif induit par l'injection intracoronaire de salin a été un sous-décalage du segment ST ( $-11,3 \pm 19,1 \mu\text{V}$ ;  $P = 0,03$ ) observé à la fin de l'injection dans la dérivation PA (figure 24). Cette dérivation a démontré les changements les plus importants de l'amplitude du segment ST suite à l'injection intracoronaire du NPY. Ainsi, les changements observés dans les différentes dérivations ont été évalués à partir de l'effet maximum noté dans la dérivation PA. Le sous-décalage du segment ST maximal dans cette dérivation est survenu après  $3,3 \pm 1,6$  min d'injection du NPY (figure 24 et 25). Il est important de noter que l'augmentation du débit coronaire épicaire observée après la fin de l'injection du NPY a été causée par l'administration d'iopamidol qui a été utilisé pour l'angiographie.

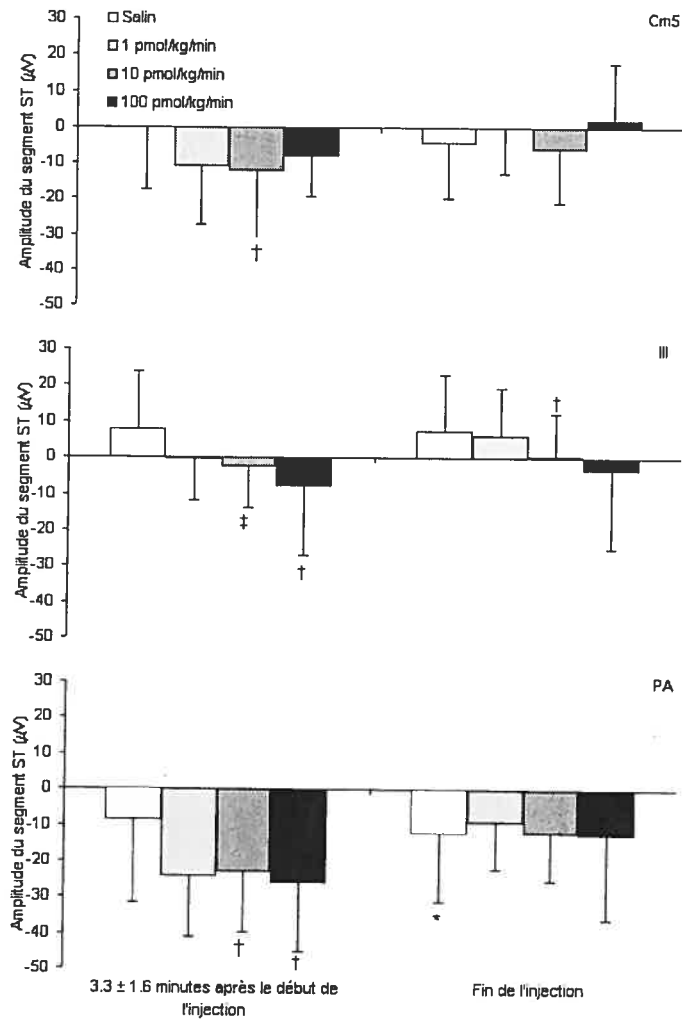


Figure 24 : Changement de l'amplitude du segment ST dans les trois dérivation à deux temps différents qui correspondent au maximum de l'effet dans la dérivation PA et à la fin de l'injection.

Les valeurs sont rapportées sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type;  $n=15$ . \* $P<0,05$  vs. ligne de base, † $P<0,05$  vs. salin et ‡ $P<0,001$  vs. salin.

Le NPY (10 et 100 pmol/kg/min) a causé après  $3,3 \pm 1,6$  min un sous-décalage du segment ST significatif dans les trois dérivation. Dans la dérivation Cm5, le sous-

décalage du segment ST maximal et significatif a été obtenu lors de l'injection de la deuxième dose de NPY ( $-12,1 \pm 18,9 \mu\text{V}$ ;  $P = 0,03$ ), tandis que dans les deux autres dérivation il est survenu suite à l'administration de la dose de  $100 \text{ pmol/kg/min}$  de NPY ( $-7,6 \pm 19,5 \mu\text{V}$ ;  $P = 0,03$  pour la dérivation III et  $-25,6 \pm 19,4 \mu\text{V}$ ;  $P = 0,03$ , pour la dérivation PA). Pour finir, le sous-décalage du segment ST observé dans toutes les dérivation s'est atténué lors de l'injection et il n'était plus significatif à la fin de l'injection. Il n'y avait que le changement du segment ST remarqué lors de l'injection intracoronaire de  $10 \text{ pmol/kg/min}$  du NPY ( $0,5 \pm 11,9 \mu\text{V}$ ;  $P = 0,05$ ) dans la dérivation III qui était toujours significatif à la fin de l'injection par rapport à l'effet causé par le salin.

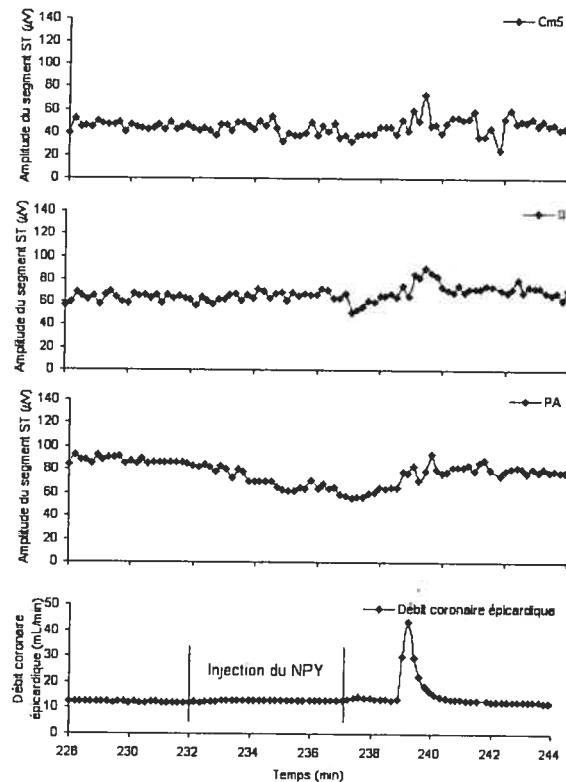


Figure 25 : Effet représentatif de l'administration intracoronaire du NPY ( $1 \text{ pmol/kg/min}$ ) sur l'ECG et le débit coronaire épicardique.

Chaque point représente une moyenne des données brutes effectuée sur 10 sec.

### Débit régional myocardique

Aucun changement significatif n'a été observé au niveau du débit régional myocardique suite à l'administration des différentes doses de NPY (figure 26). Toutefois, il a été possible d'observer que l'administration de la première dose de NPY causait une diminution plus importante dans la région de l'IVA (sous-endocarde et sous-épicerde).

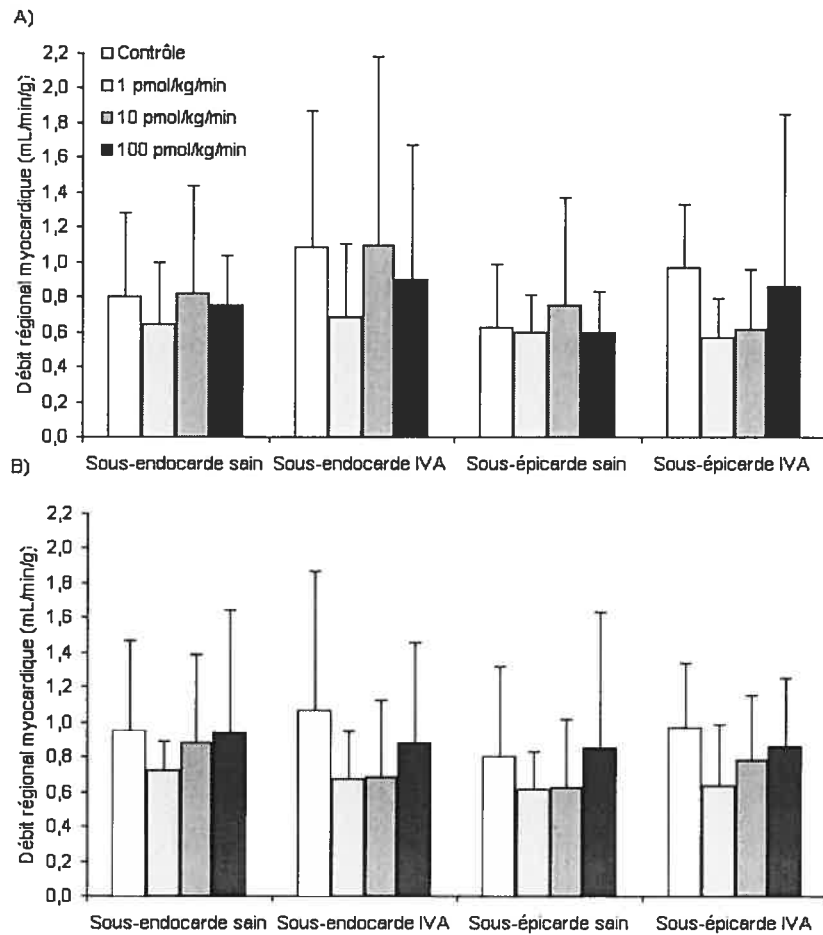


Figure 26 : Débit régional myocardique mesuré par des microsphères non-radioactives de couleurs de la couche #2 (A) et #3 (B) à la ligne de base et après l'injection intracoronaire du NPY (1, 10 et 100 pmol/kg/min).

Couche myocardique: voir la représentation graphique à la figure 15. Les valeurs sont rapportées sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type; n=6.

Par la suite, il n'y a eu aucun changement des ratios du débit régional sous-endocardique / sous-épicardique, qui aurait pu permettre de déceler une hétérogénéité du débit régional myocardique (figure 27).

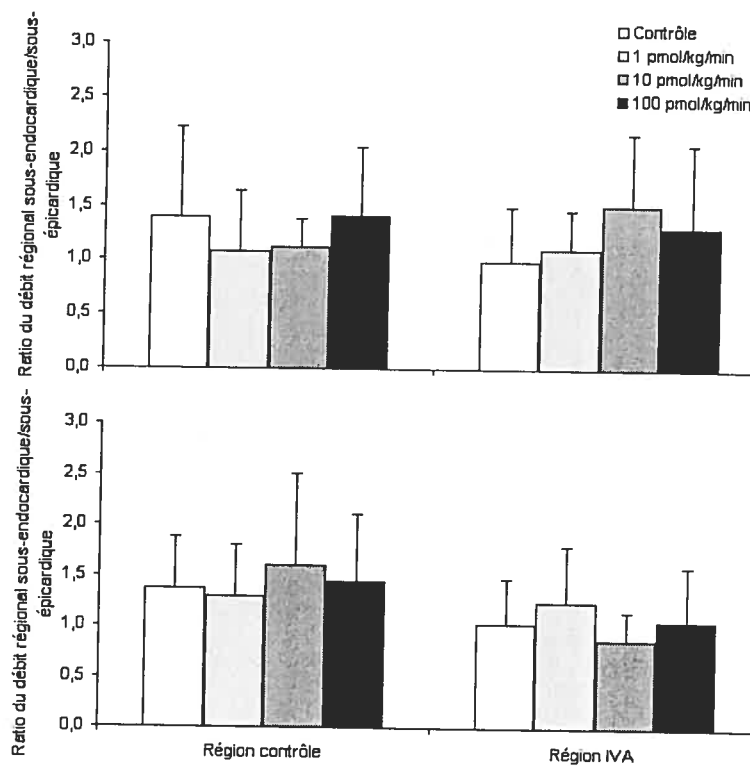


Figure 27: Ratio du débit régional sous-endocardique / sous-épicardique mesuré par des microsphères de couleur à la couche #2 et #3 à la ligne de base et après l'injection intracoronaire du NPY (1, 10 et 100 pmol/kg/min).

Les valeurs sont rapportées sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type; n=6.

### Données angiographiques

Le diamètre minimum de l'IVA a été mesuré à deux endroits, c'est-à-dire à 1 cm (proximal) ou 2 cm (distal) du site d'injection des agents. Tout d'abord, le salin a causé une diminution significative du diamètre dans la portion proximale de l'IVA ( $-0,19 \pm 0,17$  mm;  $P = 0,02$ ), mais pas dans la région distale (figure 28). Par la suite, l'administration du NPY a induit une réduction dose-dépendante du diamètre proximal minimum de l'IVA qui était non-significative et qui a atteint une valeur maximale lors de l'injection de la dose de 100 pmol/kg/min ( $-0,22 \pm 0,20$  mm;  $P = 0,8$ ). Les changements qui ont été observés dans la région distale étaient importants, mais le maximum a été atteint lors de l'injection de la deuxième dose de NPY ( $-0,25 \pm 0,28$  mm;  $P = 0,03$ ) et il était le seul changement significatif induit par le NPY.

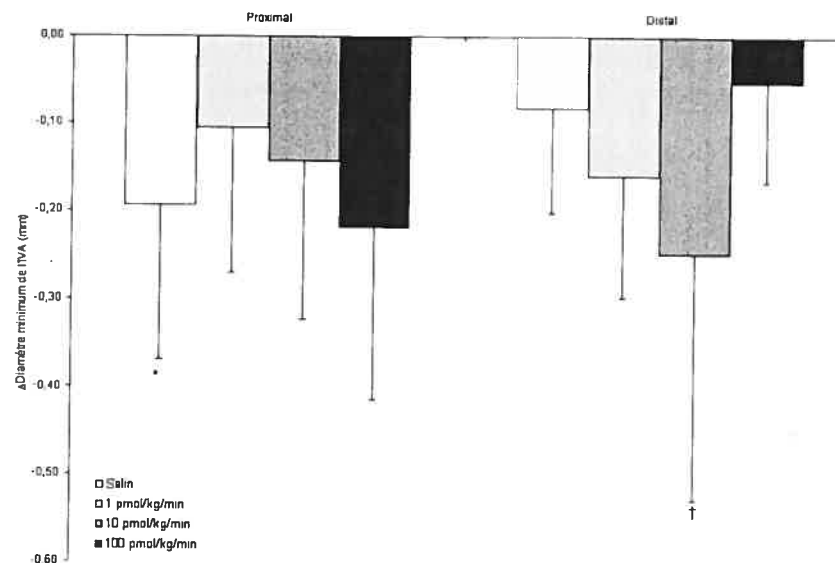


Figure 28: Changement du diamètre de l'IVA proximal et distal du site d'injection du NPY déterminé par angiographie après l'injection intracoronaire de salin et du NPY (1, 10 et 100 pmol/kg/mol).

Les valeurs sont rapportées sous la forme moyenne  $\pm$  écart-type;  $n=8$ . \*  $P < 0,05$  vs. la ligne de base, †  $P < 0,05$  vs. salin.



## Chapitre 11: Discussion

Ce projet de recherche a permis de faire la lumière sur certains aspects des changements ECG observés lors d'une ischémie myocardique. Tout d'abord, nous avons démontré que la sténose proximale n'est pas impliquée dans le développement du sous-décalage du segment ST dans un modèle animal sans tachycardie. La progression de cette sténose proximale est représentée par un sus-décalage du segment ST lors d'une réduction sévère du débit coronaire épicaudique. Toutefois, nous avons reproduit le sous-décalage du segment ST suite à l'administration de certains agents vasoconstricteurs, tels que l'ET-1 (faibles doses), la 5-HT et le NPY. La cause de ce sous-décalage du segment ST observé suite à l'injection intracoronaire pourrait provenir d'une ischémie sous-endocardique.

### **Implication de la sténose proximale dans le développement du sous-décalage du segment ST**

Le sous et le sus-décalage du segment ST sont deux manifestations ECG typiques de l'ischémie myocardique et elles sont identifiées chez les patients avec des pathologies cardiovasculaires.<sup>199, 200, 225, 228, 230, 231</sup> Le sus-décalage du segment ST est provoqué par une ischémie myocardique transmurale qui découle de l'occlusion sévère ou complète d'une artère coronaire.<sup>280, 288, 296, 303, 308</sup> Le sous-décalage du segment ST, quant à lui, est observé lors d'une ischémie sous-endocardique, mais la cause exacte demeure inconnue.<sup>294, 299, 315-317</sup>

Kato et al. ont élaboré une théorie concernant les causes du sous-décalage du segment ST.<sup>294</sup> En effet, ils ont énoncé: «...severe constriction or occlusion of a coronary artery is associated with epicardial ST elevation while a mild constriction is associated with ST depression. ».<sup>294</sup> Cette hypothèse suggère que la progression d'une sténose partielle associée à un sous-décalage du segment ST vers l'occlusion complète d'une artère

coronaire représentée par un sus-décalage du segment ST permettrait d'observer une transition entre ces deux manifestations ECG. Cette théorie est largement acceptée dans la communauté médicale, malgré l'absence de données appuyant cette hypothèse. Ainsi, il a été important de démystifier l'implication de la progression d'une sténose partielle vers une occlusion totale dans le développement du sous-décalage du segment ST puisque la diminution ponctuelle du débit coronaire épicardique n'a jamais démontré de sous-décalage du segment ST.<sup>302, 313, 321</sup> L'étude de la progression de la sténose a été nécessaire pour s'assurer que l'apparition du sous-décalage du segment ST n'est pas un phénomène transitoire associé à une diminution du débit épicardique de 75%, par exemple.

Notre étude a clairement démontré que la progression d'une sténose partielle vers l'occlusion totale de l'IVA n'a pas causée, dans un modèle animal sans tachycardie, de sous-décalage significatif du segment ST avant l'apparition du sus-décalage dans les différentes dérivations utilisées. Ces dérivations sont utilisées pour détecter la présence d'une ischémie antérieure transmurale ou sous-endocardique.<sup>330</sup> Le sus-décalage du segment ST dans la dérivation PA est apparu lorsque le débit coronaire épicardique a été réduit d'au moins 70%. Ce sus-décalage du segment ST est demeuré stable jusqu'à l'atteinte du maximum lors de l'occlusion quasi totale de l'artère. La dérivation Cm5 a démontré le même comportement que la dérivation PA, tandis qu'un sous-décalage du segment ST a été noté dans la dérivation III. Ce sous-décalage du segment ST a été l'image miroir des changements remarqués dans la dérivation PA, comme il a été observé dans le cadre de d'autres études. En effet, il a été démontré que les patients qui ont subi une angioplastie coronarienne de l'IVA ont présenté un sus-décalage du segment ST dans les dérivations précordiales et la dérivation I et un sous-décalage du segment ST dans la dérivation III.<sup>340</sup>

Nos résultats contredisent les observations qui ont été rapportées par Kato et al. qui ont remarqué un sous-décalage du segment ST sur un EG épicardique lors de l'occlusion partielle de la LCx. Cette étude présente plusieurs lacunes qui ont permis de questionner leur conclusion. Tout d'abord, ils ont noté que l'apparition du sous-décalage du segment ST était survenue lors d'une diminution de 15% du diamètre de l'artère. La méthode utilisée pour déterminer la réduction du diamètre de l'artère n'est pas mentionnée, ce qui permet de douter de l'exactitude de cette donnée, puisque nos résultats ont démontré qu'une sténose supérieure à 70% a été nécessaire pour induire un changement de l'amplitude du segment ST. De plus, ils n'ont pas répertorié les valeurs des paramètres hémodynamiques lors de la réduction du débit coronaire épicardique. La mention de la valeur de la fréquence cardiaque est primordiale dans ce modèle animal (artère coronaire avec une sténose), puisque plusieurs études ont démontré que l'augmentation de la demande métabolique grâce à une élévation de la fréquence cardiaque causait un sous-décalage du segment ST.<sup>315-317</sup> Ainsi, nous avons fait preuve d'une rigueur scientifique pour assurer la validité de nos résultats en recueillant les données hémodynamiques lors de la réduction du débit coronaire épicardique, contrairement à ce qui avait été fait par Kato et al. Ainsi, nous avons démontré que la progression d'une sténose proximale au niveau de l'IVA n'est pas impliquée dans le développement du sous-décalage du segment ST dans la dérivation PA.

### **Implication des substances vasoactives dans le développement du sous-décalage du segment ST**

Étant donné que l'hypothèse que nous avons émise en ce qui concerne l'implication d'une occlusion partielle et progressive dans le développement du sous-décalage du segment ST s'est avérée vraie, nous avons orienté nos recherches vers l'implication potentielle des agents vasoconstricteurs. Le rôle éventuel de ces agents dans le développement du sous-décalage du segment ST a déjà été souligné dans la littérature.

Les mécanismes qui permettent de développer une ischémie sous-endocardique et un sous-décalage du segment ST sont divers. Tout d'abord, le sous-décalage du segment ST observé en périphérie d'une ischémie transmurale est tributaire d'une hausse du métabolisme cardiaque.<sup>299</sup> Ce changement ECG apparaît quelques minutes après le sus-décalage du segment ST suite à l'accroissement de la tension pariétale induit par l'occlusion totale d'une artère coronaire.<sup>280, 288, 299</sup> Par la suite, l'augmentation des besoins métaboliques cardiaques, grâce à une tachycardie, est aussi essentielle pour créer un sous-décalage du segment ST dans un modèle avec une sténose partielle.<sup>315, 317</sup> Toutefois, ces mécanismes ne sont pas sollicités lors du déclenchement du sous-décalage du segment ST lors d'un épisode ischémique chez les patients avec de l'angine instable. L'exclusion de ces mécanismes d'action s'explique par le fait que le sous-décalage du segment ST est le seul changement ECG observé et qu'il survient chez les patients avec une fréquence cardiaque normale.<sup>230, 232, 234, 236, 237, 239, 240, 341</sup>

Le sous-décalage du segment ST doit donc être déclenché par d'autres mécanismes chez ces patients. Plusieurs observations suggèrent une implication importante des facteurs neurohumoraux qui régulent le tonus des microvaisseaux sous-endocardiques et sous-épicaux. Ces agents sont impliqués directement ou indirectement dans l'athérosclérose et les pathologies cardiovasculaires. En condition pathologique, ils sont emmagasinés par la plaque athérosclérotique et les plaquettes sanguines et ils sont libérés lors du bris ou de l'érosion de la plaque, ce qui mène à une augmentation de leur concentration.<sup>55, 77, 78, 115, 177, 180, 259, 264</sup> Les agents qui peuvent être impliqués dans ce processus sont nombreux, incluant la 5-HT, l'ET-1 et le NPY.

L'administration intracoronaire de ces substances vasoactives a permis de reproduire leurs effets ECG et hémodynamiques lorsqu'elles sont libérées suite à la rupture ou l'érosion de la plaque athérosclérotique. Tout d'abord, l'ET-1 a eu une action différente

par rapport à l'effet des deux autres agents, puisque l'injection intracoronaire de faibles doses de ce peptide a causé un sous-décalage du segment ST, tandis que les doses plus élevées ont induit une réponse biphasique dans la dérivation PA. Ces changements ECG découlaient probablement de l'action vasoconstrictrice de ce peptide et de la vulnérabilité de la couche sous-endocardique. L'ET-1 a causé une vasoconstriction des artères épigardiques qui a été associée à une diminution significative du débit coronaire épigardique et une réduction du débit régional sous-endocardique et sous-épigardique. L'injection de faibles doses d'ET-1, comme dans le cas de la 1<sup>ère</sup> et 2<sup>e</sup> doses, causeraient une vasoconstriction des microvaisseaux, tandis que l'augmentation de la concentration (3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> doses) induirait majoritairement une vasoconstriction des vaisseaux épigardiques.<sup>131, 138</sup> Ainsi, lors de l'administration de la faible dose, l'ET-1 a probablement causé une vasoconstriction des microvaisseaux sous-endocardiques et sous-épigardiques. La diminution du débit régional sous-épigardique a pu être compensée par sa réserve coronarienne, tandis que la couche sous-endocardique possède une réserve coronarienne partiellement épuisée qui n'a pu contrer l'ischémie sous-endocardique. Cette ischémie s'est représentée comme un sous-décalage du segment ST. Par contre, il a été possible de remarquer que l'augmentation de la dose d'ET-1 (3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> doses) a changé l'effet ECG de ce peptide, puisqu'il a causé une vasoconstriction marquée des vaisseaux épigardiques qui a été associée à une ischémie transmurale. Ainsi, un sus-décalage du segment ST a été observé. La modification transmurale du débit régional myocardique a pu être causée par l'effet vasoconstricteur généralisé de l'ET-1 au niveau de l'arbre artériel.

Nos résultats ECG provenant de l'administration de faibles doses d'ET-1 n'ont pas été confirmés par d'autres études puisque des doses supérieures sont généralement utilisées. Ces études ont démontré, tout comme nous, que l'administration intracoronaire d'une concentration élevée d'ET-1 causait un sus-décalage du segment ST, dont l'amplitude était proportionnelle à la dose d'ET-1, et une réduction transmurale du débit régional myocardique.<sup>131, 138, 342</sup>

Contrairement à l'ET-1, l'administration intracoronaire de la 5-HT et du NPY a seulement causé un sous-décalage du segment ST dans la dérivation PA. Les résultats obtenus avec ces agents suggèrent que ce changement ECG a été induit par une ischémie sous-endocardique. Un bref retour sera effectué sur ces résultats, puisqu'aucune discussion n'a été présentée sur ceux-ci. Tout d'abord, l'administration du L-NAME a été essentielle pour contrer la vasodilatation induite par la 5-HT et stimuler la vasoconstriction des artères coronaires, mais elle a induit des changements au niveau des paramètres hémodynamiques. En effet, nous avons observé que l'inhibition du NO causait une légère réduction du diamètre minimum de l'IVA qui était associée à une diminution du débit coronaire épicaudique et de la fréquence cardiaque, et une élévation des pressions artérielles. Ces changements ont aussi été observés dans le cadre de plusieurs expérimentations.<sup>153, 268, 343,</sup>

<sup>344</sup> La diminution du diamètre des vaisseaux artériels a provoqué une réduction du débit coronaire épicaudique et une élévation des pressions artérielles. Ces changements ont déclenché le baroréflexe qui a induit une diminution de la fréquence cardiaque.<sup>345</sup>

L'injection intracoronaire de la 5-HT a causé des changements significatifs des paramètres hémodynamiques qui ont aussi été reproduits dans le cadre de d'autres expériences.<sup>84, 85, 208, 310</sup> Toutefois, il est important de souligner que ces changements n'ont pas été cliniquement significatifs. L'administration du NPY n'a causé aucun effet statistiquement significatif sur les paramètres hémodynamiques, mais elle a induit une légère diminution de la fréquence cardiaque et une élévation des pressions artérielles. Ces changements des paramètres hémodynamiques ont aussi été observés dans certains modèles animaux, mais la concentration nécessaire de NPY pour induire un changement significatif était supérieure à celle utilisée dans le cadre de ce protocole.<sup>50, 346</sup>

Nous avons démontré que ces peptides induisaient une vasoconstriction des vaisseaux coronaires épicaudiques, mais leur action n'a pas été limitée à ces artères. En

effet, il a été prouvé que ces agents ont un effet vasoconstricteur sur certains microvaisseaux coronaires. La 5-HT a causé une constriction des microvaisseaux sous-épicaudiques avec un diamètre supérieur à 90  $\mu\text{m}$  dans un animal sain.<sup>85</sup> L'effet vasoconstricteur de ce peptide a été amplifié lorsque l'animal a développé une dysfonction endothéliale, ce qui pourrait s'apparenter à l'effet du L-NAME dans le cadre de nos expériences. Le NPY (1, 10 et 100 pmol/kg/min), quant à lui, cause une réduction dose-dépendante du diamètre des petits (< 100  $\mu\text{m}$ ), moyens (entre 100 et 200  $\mu\text{m}$ ) et larges (> 200  $\mu\text{m}$ ) microvaisseaux épicaudiques et une augmentation significative de la résistance microvasculaire.<sup>62</sup> Étant donné qu'il est difficile d'étudier la réactivité des microvaisseaux sous-épicaudiques, il faut assumer que l'action de ces peptides a été similaire au niveau des artères sous-épicaudiques et sous-épicaudiques. Les peptides ont été choisis sur la base de cette assomption. Ainsi, l'injection intracoronaire de ces agents vasoconstricteurs a causé une vasoconstriction des microvaisseaux sous-épicaudiques et sous-épicaudiques. La réserve coronaire sous-épicaudique a probablement été suffisante pour contrer le développement d'une ischémie sous-épicaudique, ce qui n'a pas été le cas de la couche sous-épicaudique.<sup>347</sup> La réserve coronaire limitée dans la couche sous-épicaudique a possiblement été inapte à contrecarrer la réduction du débit régional myocardique induite par la vasoconstriction sévère des microvaisseaux.<sup>348-350</sup> Ainsi, la diminution de l'apport sanguin sous-épicaudique a produit une ischémie sous-épicaudique qui a été représentée par un sous-décalage du segment ST.

Ces changements occasionnés par l'injection intracoronaire de 5-HT et du NPY ont été accompagnés de modifications ECG associées à une ischémie myocardique. L'effet le plus important sur l'amplitude du segment ST a été observé dans la dérivation PA. Les changements qui ont été observés suite à l'administration de la 5-HT dans les autres dérivations n'ont pas été constants et n'ont pas démontré de tendance, contrairement à la dérivation PA. Cet agent a induit un sous-décalage du segment ST dans la dérivation PA.

qui a été proportionnel à la dose administrée. Cet effet diffère des observations qui ont été relatées dans la littérature. Il a été démontré que l'administration de la 5-HT causait une importante vasoconstriction de l'artère épicaudique résultant en un sus-décalage du segment ST.<sup>107, 208, 309, 310</sup> Cette réponse ECG a été provoquée par une diminution du diamètre de l'artère coronaire de plus de 90%, c'est-à-dire un spasme épicaudique, ce qui a toujours été associé à un sus-décalage du segment ST. Cet effet vasoconstricteur puissant a été induit par le traitement attribué à ces animaux, c'est-à-dire une diète riche en cholestérol et une ou plusieurs dénudations de l'artère coronaire.

Les modifications qui ont été observées lors de l'administration du NPY dans les dérivation III et Cm5 n'ont pas été constantes et n'ont pas démontré de tendance, contrairement à celle remarquées dans la dérivation PA. Dans la dérivation PA, le sous-décalage du segment ST provoqué suite à l'administration de chacune des doses de NPY a été similaire. Le sous-décalage du segment ST a atteint une valeur maximale après 3,3 min et il s'est atténué ensuite jusqu'à la fin de l'injection de NPY. Les autres dérivation ont aussi démontré une atténuation ou un renversement du sous-décalage du segment ST. Il a été démontré dans certains modèles animaux que l'administration de NPY induisait un changement significatif de l'amplitude du segment ST, mais ces modifications n'ont pas été répertoriées.<sup>61, 62</sup> Il est possible d'observer que les effets ECG du NPY demeuraient après la fin de l'injection puisque la demie-vie de ce peptide est cinq minutes.<sup>48</sup>

Les effets ECG de ces peptides ont été investigués dans quelques études cliniques avec des patients souffrant d'angine, mais ces résultats sont difficiles à interpréter puisque l'effet de ces agents vasoconstricteurs varie selon l'état du patient, qui n'a pas été décrit. L'administration intracronaire de 5-HT chez des patients avec de l'angine stable a causée un sous (50% des cas) ou un sus-décalage du segment ST (50% des cas).<sup>108</sup> Les proportions qui ont été observées chez les patients avec de l'angine de Prinzmetal ou de



l'angine instable ont été similaires à celles notées chez les patients avec de l'angine stable (45% de sus et 55% de sous-décalage du segment ST).<sup>108, 109</sup> Les changements ECG qui ont été observés suite à l'administration de NPY sont aussi variés (2 patients avec un sus-décalage et 1 patient avec un sous-décalage du segment ST) et sont probablement déterminés par l'état du patient.<sup>311</sup>

Ainsi, nous avons clairement démontré que le sous-décalage du segment ST n'a pas été causé par la présence d'une sténose proximale de l'artère coronaire. Toutefois l'administration de certains agents vasoconstricteurs (la 5-HT, le NPY et l'ET-1) ont induit un sous-décalage du segment ST, qui peut être causé par une ischémie sous-endocardique. Toutefois, cette ischémie sous-endocardique peut être amplifiée par la vulnérabilité du sous-endocarde à la présence de forces pariétales très importantes. Il a déjà été démontré que les changements ECG peuvent survenir dans un modèle non-ischémique et qu'ils découlent exclusivement d'un déséquilibre des concentrations ioniques. Le débalancement ionique est causé par l'application épicaudique de différentes solutions (haute concentration  $K^+$  ou  $Na^+$ ).<sup>351</sup> Les peptides utilisés ont des effets multiples sur les canaux  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  et  $Na^+$ , mais leurs effets sur ceux-ci seront homogènes à travers la paroi vasculaire. Ainsi, l'effet ionique des agents vasoactifs ne peut être la cause de l'effet observé.<sup>66, 71, 139, 143-145, 352-354</sup>

### **Changement du débit régional myocardique**

Nous avons complété l'étude de ces changements ECG (sus et sous-décalage du segment ST) et hémodynamiques avec une évaluation du débit régional myocardique pour améliorer la compréhension de ces phénomènes.

Tout d'abord, nous avons démontré que l'occlusion sévère de l'IVA causait une diminution du débit régional myocardique et de la perfusion myocardique des régions

saines et ischémiques, sans changement du ratio sous-endocardique / sous-épicardique. Ces résultats diffèrent des observations recueillies par d'autres chercheurs qui ont noté qu'une occlusion rapide d'une artère coronaire causait une diminution importante du débit régional sous-endocardique dans la région ischémique et une réduction significative du ratio sous-endocardique / sous-épicardique.<sup>26, 317</sup> L'occlusion rapide induisait également une élévation du débit régional dans la région saine. Ces différences entre nos observations et celles rapportées dans la littérature peuvent découler du temps nécessaire pour réduire significativement le débit coronaire épicardique. Dans le territoire ischémique, l'occlusion lente de l'artère coronaire a pu favoriser l'adaptation de la circulation coronaire, ce qui a pu permettre une diminution homogène (endocardique et épicardique) du débit régional myocardique, tandis que l'occlusion rapide a pu induire une diminution hétérogène. L'ischémie observée dans la région saine (occlusion lente) a pu être causée par un changement de la fonction cardiaque associée à une altération des paramètres hémodynamiques observée lors de la progression de l'occlusion, ce qui n'est pas observé lors d'une occlusion rapide de l'artère.

Par la suite, nous avons étudié la distribution du débit régional myocardique lors de l'administration de différents agents vasoactifs qui ont causé un sous-décalage du segment ST. Tout d'abord, l'administration des microsphères dans le protocole sur l'ET-1 a été effectuée à la fin de l'injection de l'agent ce qui a limité l'utilisation des données aux deux premières doses associées à un sous-décalage du segment ST (réponse monophasique). Ces données ont démontré une réduction importante du débit régional myocardique dans la région de l'IVA qui a été associée à une diminution non-significative du ratio du débit régional sous-endocardique / sous-épicardique. Ces données tendent à confirmer la présence d'une ischémie sous-endocardique lors d'un sous-décalage du segment ST.

Pour mieux évaluer les changements des débits régionaux lors de l'administration de la 5-HT et du NPY, les microsphères non-radioactives de couleurs ont été injectées lors du maximum de l'effet ECG. Nous avons démontré que la 5-HT causait une légère réduction du débit régional sous-endocardique caractérisée par une diminution non significative du ratio du débit régional sous-endocardique / sous-épicaire. L'administration du NPY n'a causé aucun changement significatif du débit régional myocardique et du ratio du débit régional sous-endocardique / sous-épicaire.

Les résultats obtenus suite à l'administration de la 5-HT tendent à confirmer la présence d'une ischémie sous-endocardique lors du développement du sous-décalage du segment ST. Ce peptide n'a causé aucun changement significatif du débit régional myocardique, mais il a induit une diminution du ratio du débit sous-endocardique / sous-épicaire dans la région de l'IVA. Le NPY, quant à lui, a provoqué une diminution transmurale du débit régional myocardique. Cette réduction transmurale a pu être critique pour le myocarde et ainsi faire en sorte que le myocarde soit à un seuil de déclenchement de l'ischémie sous-endocardique. En effet, la présence d'une tension pariétale plus importante au sous-endocarde a pu déclencher une ischémie seulement dans cette couche puisque le sous-épicaire n'est pas importuné par les forces pariétales. Ainsi, l'ischémie sous-endocardique induite lors de l'administration du NPY et de la 5-HT a pu être causée par une interaction entre une diminution de l'apport sanguin sous-endocardique et la vulnérabilité de la couche sous-endocardique.

Nos résultats ne démontrent pas hors de tout doute que le sous-décalage du segment ST induit par les substances vasoactives soit causé par une ischémie sous-endocardique, mais ils suggèrent que cette explication est plausible. Toutefois, la technique utilisée possède certains inconvénients qui sont discutés dans l'annexe 3.

### **Échocardiographie de contraste**

Une section de ce travail a consisté à évaluer si l'utilisation de faibles doses de perflutren était sécuritaire chez notre modèle animal. La confirmation de cette hypothèse nous a permis d'envisager l'utilisation de cette technique lors de ce projet. Toutefois, nous n'avons pas comparé les données entre l'échocardiographie de contraste et les microsphères non-radioactives de couleurs.

L'utilisation de l'échocardiographie de contraste pour l'évaluation de la perfusion myocardique comporte certains désavantages par rapport aux microsphères non-radioactives de couleur. Tout d'abord, les paramètres utilisés pour le calcul de la perfusion myocardique à partir des données recueillies lors d'un échocardiographie de contraste varient selon les auteurs puisque certains privilégient l'utilisation du produit de  $A$  et  $\beta$ , tandis que d'autres préfèrent utiliser la valeur de  $\beta$ .<sup>243-247</sup> Toutefois, certaines contraintes techniques nous ont empêché de vérifier la corrélation entre le produit de  $A$  et  $\beta$  ou le facteur  $\beta$  et les données calculées à partir des microsphères non-radioactives de couleur. Ainsi, nous avons basé notre choix (produit de  $A$  et  $\beta$ ) sur les arguments exposés dans la littérature.

Les données recueillies avec cette technique peuvent difficilement être comparées aux résultats obtenus avec d'autres méthodes. L'évaluation de la perfusion myocardique obtenue à l'aide de l'échocardiographie de contraste est exprimée en  $\text{dB}\cdot\text{sec}^{-1}$ , ce qui diffère des unités généralement utilisés, soit des  $\text{mL}/\text{min}$ . Ces données nous permettent de déterminer si la perfusion myocardique est modifiée suite à l'expérience, mais il est impossible de chiffrer cette altération. De plus, il est impossible d'établir une échelle de conversion pour ces valeurs puisque les valeurs de perfusion myocardique évaluées avec

cette méthode varient en fonction de plusieurs paramètres (concentration de microbulles, concentration d'agent de contraste administré et l'intervalle de stimulation).<sup>243, 246</sup>

Les résultats obtenus avec l'échocardiographie de contraste dans cette étude et aussi dans d'autres études sont encourageants quant à la possibilité d'utiliser cette technique en recherches animale et clinique. Toutefois, l'uniformisation des procédures qui entourent cette méthode permettrait de rendre cette technique plus sécuritaire pour permettre son utilisation chez l'humain. De plus, il serait essentiel d'établir une échelle de comparaison de ces données avec des valeurs de débits régionaux myocardiques, ce qui pourrait améliorer la diffusion et l'impact de ces résultats.

#### Utilisation de l'isoflurane

L'anesthésie des animaux a pu avoir un certain impact sur les résultats observés. L'isoflurane est un anesthésique volatil qui diminue l'activité du système nerveux central et cause une légère augmentation de la fréquence cardiaque et une faible diminution de la pression artérielle moyenne.<sup>355, 356</sup> Il a aussi la capacité d'induire une réponse inotropique négative.<sup>357</sup> Les répercussions de l'isoflurane sur les paramètres hémodynamiques sont probablement mineures puisque les effets sont présents mais faibles dans notre modèle; aucun animal n'a souffert de tachycardie et d'hypotension au début des expériences. De plus, la variation des facteurs hémodynamiques causée par cet agent anesthésique a probablement été stable lors des expériences puisque son effet atteint un plateau après 30 minutes d'exposition. Toutefois, il est important de souligner que l'isoflurane a la capacité d'induire une cardioprotection, ce qui a pour conséquence d'atténuer certains changements du segment ST, grâce à une interaction avec certains canaux.<sup>358, 359</sup> Ainsi, il atténue le sus-décalage du segment ST d'environ 20  $\mu$ V, ce qui aurait peu d'impact sur les résultats, si ce n'est que de diminuer la significativité de certains résultats.

### Limitations

Ce travail de recherche comporte quelques limitations qu'il est nécessaire de souligner. Ces expériences ont eu pour objectif de représenter un état pathologique, mais elles ont été effectuées dans un modèle animal sain pour limiter les facteurs qui auraient pu influencer nos résultats. En effet, l'utilisation de ce modèle animal permet d'isoler certaines sections de l'arbre vasculaire. La présence d'une pathologie influencerait grandement l'effet de ces agents puisqu'elle pourrait :

- Augmenter l'expression de certains récepteurs (athérosclérose);<sup>360</sup>
- Potentialiser l'effet contractile de quelques peptides (dysfonction endothéliale ou hypercholestérolémie);<sup>84, 93, 94, 97, 130, 361-367</sup>
- Augmenter la résistance microvasculaire;<sup>368</sup>
- Favoriser la formation de vaisseaux collatéraux;
- Permettre la présence de microembolisation de débris cellulaires.

L'utilisation de modèles animaux âgés pourrait altérer l'effet induit par ces agents vasoconstricteurs puisque l'effet vasoconstricteur de la 5-HT et de l'ET-1 est accentué chez les animaux âgés.<sup>352, 369</sup>

Une autre limitation de ce projet est d'avoir observé individuellement l'effet des agents vasoconstricteurs. L'administration simultanée d'un ou plusieurs agents vasoconstricteurs pourrait influencer les effets ECG et hémodynamiques observés. Cette technique pourrait davantage représentée la réalité puisque ces substances sont relâchées ensembles lors de la rupture ou l'érosion d'une plaque. En effet, il serait possible de reproduire l'interaction entre ces agents lors de leur libération qui pourrait mener à la potentialisation positive ou négative.<sup>79, 124, 126, 370-372</sup>

Il existe aussi quelques limitations liées à la technique utilisée. L'activité électrique myocardique a été évaluée à partir d'un ECG à trois dérivations, mais

l'utilisation d'un ECG avec plus de dérivations aurait permis de mieux dépeindre la situation. Toutefois, l'appareil d'acquisition n'a pas permis d'acquérir plus de trois dérivations à la fois. Ainsi, un choix judicieux des dérivations a été effectué pour permettre la meilleure évaluation de l'activité électrique du myocarde. L'utilisation d'un EG a aussi été envisagée pour améliorer les signaux électriques enregistrés, mais le dommage myocardique a du être limité pour diminuer les facteurs qui auraient pu interférer dans l'analyse des résultats.

Les limitations soulevées sont nombreuses, mais elles n'altèrent pas la qualité de nos résultats. Ces limitations doivent servir à améliorer les travaux qui vont s'effectuer dans cet axe de recherche.

## Conclusion

Cette étude a permis d'améliorer les connaissances actuelles sur les causes du sous-décalage du segment ST. Tout d'abord, nous avons démontré que la présence d'une sténose proximale partielle ne cause pas de sous-décalage du segment ST dans un modèle animal sans tachycardie. La progression de celle-ci a seulement mené à l'apparition d'un sous-décalage du segment ST. Nous avons prouvé que l'administration intracoronaire de l'ET-1 (faible doses), de NPY et de 5-HT a permis de reproduire un sous-décalage du segment ST. Ainsi, il est clair que les substances vasoactives relâchées lors de la rupture d'une plaque athérosclérotique peuvent être impliquées dans ce changement ECG. Le mécanisme d'action de ces substances n'a pu être confirmé hors de toute doute dans le cadre de nos expériences, mais il est suggéré que le sous-décalage du segment ST causé par l'action d'agent vasoconstricteur (ET-1, 5-HT et NPY) est provoqué par la présence d'une ischémie sous-endocardique. Toutefois, des données supplémentaires sont essentielles pour confirmer cette hypothèse. Il est donc nécessaire de continuer les recherches pour investiguer davantage cette voie.

Cette étude a aussi permis de démontrer la fiabilité et la sécurité associée à l'utilisation des agents de contraste avec l'échocardiographie. Cette étude a prouvé que l'utilisation d'une faible dose de perflutren (agent de contraste) était sécuritaire et a permis une bonne analyse des résultats. Toutefois, cette méthode pour évaluer la perfusion myocardique nécessite quelques ajustements pour améliorer la diffusion et la comparaison des résultats.

### Contribution originale

Tout d'abord, l'établissement du rôle d'une occlusion progressive dans une artère coronaire dans le développement du sous-décalage du segment ST a permis de mettre à jour les connaissances sur le sujet (*chapitre 7*). En effet, des spéculations sur l'impact d'une sténose épicaudique perduraient depuis très longtemps et orientaient même les traitements



cliniques, malgré l'absence de confirmation de l'importance d'un tel processus sur le développement d'ischémie sous-endocardique. Ainsi, les précisions que nos travaux ont apportées permettront de réévaluer l'importance du traitement clinique accordé à la sténose épicaudique et d'effectuer les ajustements nécessaires. Par la suite, nous avons déterminé l'influence hémodynamique et ECG des substances vasoactives (ET-1, 5-HT et NPY) qui sont potentiellement relâchées dans la circulation coronaire lors de la rupture de la plaque athérosclérotique (*chapitre 8, 9 et 10*). L'obtention de ces données permettra une meilleure compréhension des mécanismes sous-jacents à l'état clinique des patients souffrant d'angine instable avec un sous-décalage du segment ST. Pour finir, nous avons investigué l'apparition des effets secondaires suite à l'administration de perflutren afin d'avoir une meilleure évaluation de l'innocuité de cet agent de contraste chez un modèle porcin.

#### Avenue future

Tout d'abord, l'évaluation de l'effet vasoconstricteur dans un modèle animal sain a été cruciale et a été le point de départ de ce projet. L'utilisation d'un animal sain, sans vaisseaux collatéraux a facilité l'étude de l'effet vasoconstricteur de ces agents. Étant donné que nous avons démontré que l'injection intracoronaire de certaines substances vasoactives causait un sous-décalage du segment ST qui semble être induit par une réduction du débit régional sous-endocardique dans un animal sain, la prochaine étape serait de vérifier le tout dans un modèle pathologique. Effectivement, l'effet ECG de ces substances vasoconstrictrices sera évalué chez des porcs nourris pendant plusieurs semaines avec une diète riche en cholestérol et une dénudation de l'artère coronaire pour favoriser le développement d'une plaque athérosclérotique. Par la suite, la potentialisation de l'effet vasoconstricteur de plusieurs agents sera évaluée grâce à l'administration d'un PRP activé qui permettra leur libération simultanée. Ce protocole sera lui aussi effectué dans un modèle sain et pathologique.

Pour finir, il est important d'envisager une modification des procédures reliées à l'utilisation des microsphères non-radioactives de couleur. Tout d'abord, chaque couche myocardique devrait être divisée selon l'endocarde, la partie moyenne et l'épicarde. Il faudrait aussi envisager d'augmenter le nombre de compte effectué par échantillon, qui est présentement de 20. Aussi, il est possible d'examiner la possibilité d'utiliser d'autres techniques, telles que les microsphères radioactives ou « neutron activated » et l'échocardiographie de contraste.

## Bibliographie

- (1) Guyton A.C., Hall J.E. Overview of the Circulation; Medical Physics of Pressure, Flow, and Resistance. In: Guyton A.C., Hall J.E, editors. *Textbook of Medical Physiology*. Tenth edition ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2000. p. 144-51.
- (2) Opie L.H. Oxygen Supply : Coronary Flow. In: Opie L.H., editor. *The Heart. Physiology, from the cell to circulation*. Third edition ed. Philadelphia, USA: Lippincott-Raven Publishers; 1997. p. 267-93.
- (3) Melvin L, Marcus M. Anatomy of the Coronary Vasculature. In: Melvin L, Marcus M., editors. *The coronary circulation in health and disease*. Texas, USA: McGraw Hill; 1983. p. 3-21.
- (4) Melvin L, Marcus M. Metabolic regulation of coronary blood flow. In: Melvin L, Marcus M., editors. *The coronary circulation in health and disease*. Texas, USA: McGraw Hill; 1983. p. 65-92.
- (5) Ganz P, Ganz W. Coronary blood flow and myocardial ischemia. In: Braunwald E., Zipes DP, Libby P, editors. *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 6th edition ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p. 1087-113.
- (6) Vatner SF, Higgins CB, Franklin D, Braunwald E. Role of tachycardia in mediating the coronary hemodynamic response to severe exercise. *J Appl Physiol* 1972 March;32(3):380-5.
- (7) Yoshida S, Ganz W, Donoso R, Marcus HS, Swan HJ. Coronary hemodynamics during successive elevation of heart rate by pacing in subjects with angina pectoris. *Circulation* 1971 December;44(6):1062-71.
- (8) Bache RJ, Vrobel TR, Arentzen CE, Ring WS. Effect of maximal coronary vasodilation on transmural myocardial perfusion during tachycardia in dogs with left ventricular hypertrophy. *Circ Res* 1981 September;49(3):742-50.
- (9) Ball RM, Bache RJ, Cobb FR, Greenfield JC, Jr. Regional myocardial blood flow during graded treadmill exercise in the dog. *J Clin Invest* 1975 January;55(1):43-9.
- (10) Kern MJ. Coronary Blood Flow and Myocardial Ischemia. In: Zipes DP, Libby P, Bonow R.O., Braunwald E., editors. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 7th Edition ed. United States of America: W.B. Saunders Company; 2004. p. 1103-28.

- (11) Opie L.H. Ventricular Function. In: Opie L.H., editor. *The Heart. Physiology, from the cell to circulation*. Third edition ed. Philadelphia, USA: Lippincott-Raven Publishers; 1997. p. 343-89.
- (12) Graham TP, Jr., Covell JW, Sonnenblick EH, Ross J, Jr., Braunwald E. Control of myocardial oxygen consumption: relative influence of contractile state and tension development. *J Clin Invest* 1968 February;47(2):375-85.
- (13) Schwartz GG, McHale PA, Greenfield JC, Jr. Coronary vasodilation after a single ventricular extra-activation in the conscious dog. *Circ Res* 1982 January;50(1):38-46.
- (14) Melvin L, Marcus M. Transmural Distribution of Myocardial Perfusion. In: Melvin L, Marcus M., editors. *The coronary circulation in health and disease*. Texas, USA: McGraw Hill; 1983. p. 113-54.
- (15) Vinten-Johansen J, Weiss HR. Oxygen consumption in subepicardial and subendocardial regions of the canine left ventricle. The effect of experimental acute valvular aortic stenosis. *Circ Res* 1980 January;46(1):139-45.
- (16) Bache RJ, McHale PA, Greenfield JC, Jr. Transmural myocardial perfusion during restricted coronary inflow in the awake dog. *Am J Physiol* 1977 June;232(6):H645-H651.
- (17) Yada T, Hiramatsu O, Kimura A et al. In vivo observation of subendocardial microvessels of the beating porcine heart using a needle-probe videomicroscope with a CCD camera. *Circ Res* 1993 May;72(5):939-46.
- (18) Kajiya F, Goto M. Integrative physiology of coronary microcirculation. *Jpn J Physiol* 1999 June;49(3):229-41.
- (19) Kajiya F, Yada T, Kimura A et al. Endocardial coronary microcirculation of the beating heart. *Adv Exp Med Biol* 1993;346:173-80.
- (20) Chilian WM. Microvascular pressures and resistances in the left ventricular subepicardium and subendocardium. *Circ Res* 1991 September;69(3):561-70.
- (21) Chilian WM, Marcus ML. Phasic coronary blood flow velocity in intramural and epicardial coronary arteries. *Circ Res* 1982 June;50(6):775-81.

- (22) Baird RJ, Manktelow RT, Shah PA, Ameli FM. Intramyocardial pressure. A study of its regional variations and its relationship to intraventricular pressure. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1970 June;59(6):810-23.
- (23) Duncker DJ, Merkus D. Regulation of coronary blood flow. Effect of coronary artery stenosis. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2004 December;97(12):1244-50.
- (24) Bache RJ, Cobb FR. Effect of maximal coronary vasodilation on transmural myocardial perfusion during tachycardia in the awake dog. *Circ Res* 1977 November;41(5):648-53.
- (25) Moir TW. Subendocardial distribution of coronary blood flow and the effect of antianginal drugs. *Circ Res* 1972 June;30(6):621-7.
- (26) Dellsperger KC, Janzen DL, Eastham CL, Marcus ML. Effects of acute coronary artery occlusion on the coronary microcirculation. *Am J Physiol* 1990 September;259(3 Pt 2):909-16.
- (27) Komaru T, Kanatsuka H, Shirato K. Coronary microcirculation: physiology and pharmacology. *Pharmacol Ther* 2000 June;86(3):217-61.
- (28) Chilian WM, Eastham CL, Marcus ML. Microvascular distribution of coronary vascular resistance in beating left ventricle. *Am J Physiol* 1986 October;251(4 Pt 2):H779-H788.
- (29) Chilian WM, Layne SM, Klausner EC, Eastham CL, Marcus ML. Redistribution of coronary microvascular resistance produced by dipyridamole. *Am J Physiol* 1989 February;256(2 Pt 2):H383-H390.
- (30) Nellis SH, Liedtke AJ, Whitesell L. Small coronary vessel pressure and diameter in an intact beating rabbit heart using fixed-position and free-motion techniques. *Circ Res* 1981 August;49(2):342-53.
- (31) Eckenhoff JE, Hafkenschiel JH, Landmesser CM, Harmel M. Cardiac oxygen metabolism and control of the coronary circulation. *Am J Med Sc* 1947 August;213(123):634-49.
- (32) Bache RJ, Hess DS. Reactive hyperemia following one-beat coronary occlusions in the awake dog. *Am J Physiol* 1986 March;250(3 Pt 2):H474-H481.

- (33) Kanatsuka H, Lamping KG, Eastham CL, Dellsperger KC, Marcus ML. Comparison of the effects of increased myocardial oxygen consumption and adenosine on the coronary microvascular resistance. *Circ Res* 1989 November;65(5):1296-305.
- (34) Chilian WM, Layne SM. Coronary microvascular responses to reductions in perfusion pressure. Evidence for persistent arteriolar vasomotor tone during coronary hypoperfusion. *Circ Res* 1990 May;66(5):1227-38.
- (35) Kuo L, Chilian WM, Davis MJ. Coronary arteriolar myogenic response is independent of endothelium. *Circ Res* 1990 March;66(3):860-6.
- (36) Kuo L, Davis MJ, Chilian WM. Myogenic activity in isolated subepicardial and subendocardial coronary arterioles. *Am J Physiol* 1988 December;255(6 Pt 2):H1558-H1562.
- (37) Miller FJ, Jr., Dellsperger KC, Gutterman DD. Myogenic constriction of human coronary arterioles. *Am J Physiol* 1997 July;273(1 Pt 2):H257-H264.
- (38) DeFily DV, Chilian WM. Coronary microcirculation: autoregulation and metabolic control. *Basic Res Cardiol* 1995 March;90(2):112-8.
- (39) Wei K, Kaul S. The coronary microcirculation in health and disease. *Cardiol Clin* 2004 May;22(2):221-31.
- (40) Dole WP. Autoregulation of the coronary circulation. *Prog Cardiovasc Dis* 1987 January;29(4):293-323.
- (41) Muller JM, Davis MJ, Chilian WM. Integrated regulation of pressure and flow in the coronary microcirculation. *Cardiovascular Research* 1996 October;32(4):668-78.
- (42) Denn MJ, Stone HL. Autonomic innervation of dog coronary arteries. *J Appl Physiol* 1976 July;41(1):30-5.
- (43) Chilian WM. Functional distribution of alpha 1- and alpha 2-adrenergic receptors in the coronary microcirculation. *Circulation* 1991 November;84(5):2108-22.

- (44) Nakayama K, Osol G, Halpern W. Reactivity of isolated porcine coronary resistance arteries to cholinergic and adrenergic drugs and transmural pressure changes. *Circ Res* 1988 April;62(4):741-8.
- (45) Chilian WM, Layne SM, Eastham CL, Marcus ML. Heterogeneous microvascular coronary alpha-adrenergic vasoconstriction. *Circ Res* 1989 February;64(2):376-88.
- (46) Lundberg JM, Terenius L, Hokfelt T, Goldstein M. High levels of neuropeptide Y in peripheral noradrenergic neurons in various mammals including man. *Neurosci Lett* 1983 December 2;42(2):167-72.
- (47) Morris MJ, Cox HS, Lambert GW et al. Region-specific neuropeptide Y overflows at rest and during sympathetic activation in humans. *Hypertension* 1997 January;29(1 Pt 1):137-43.
- (48) Mertes PM, el-Abbassi K, Jaboin Y et al. Consequences of coronary occlusion on changes in regional interstitial myocardial neuropeptide Y and norepinephrine concentrations. *J Mol Cell Cardiol* 1996 September;28(9):1995-2004.
- (49) Allen JM, Gjorstrup P, Bjorkman JA, Ek L, Abrahamsson T, Bloom SR. Studies on cardiac distribution and function of neuropeptide Y. *Acta Physiologica Scandinavica* 1986;126(3):405-11.
- (50) Rudehill A, Sollevi A, Franco-Cereceda A, Lundberg JM. Neuropeptide Y (NPY) and the pig heart: release and coronary vasoconstrictor effects. *Peptides* 1986 September;7(5):821-6.
- (51) Haass M, Cheng B, Richardt G, Lang RE, Schomig A. Characterization and presynaptic modulation of stimulation-evoked exocytotic co-release of noradrenaline and neuropeptide Y in guinea pig heart. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 1989;339(1-2):71-8.
- (52) Lundberg JM, Rudehill A, Sollevi A, Hamberger B. Evidence for co-transmitter role of neuropeptide Y in the pig spleen. *British Journal of Pharmacology* 1989;96(3):675-87.
- (53) Lundberg JM, Terenius L, Hokfelt T et al. Neuropeptide Y (NPY)-like immunoreactivity in peripheral noradrenergic neurons and effects of NPY on sympathetic function. *Acta Physiol Scand* 1982 December;116(4):477-80.

- (54) Ericsson A, Schalling M, McIntyre KR et al. Detection of neuropeptide Y and its mRNA in megakaryocytes: enhanced levels in certain autoimmune mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1987;84(16):5585-9.
- (55) Myers AK, Torres Duarte AP, Zukowska-Grojec Z. Immunoreactive neuropeptide Y (NPY) in plasma and platelets of rat and mouse strains and human volunteers. *Regul Pept* 1993 September 22;47(3):239-45.
- (56) Roberts RE, Kendall DA, Wilson VG. alpha(2)-adrenoceptor and NPY receptor-mediated contractions of porcine isolated blood vessels: evidence for involvement of the vascular endothelium. *British Journal of Pharmacology* 1999;128(8):1705-12.
- (57) Pernow J, Svenberg T, Lundberg JM. Actions of calcium antagonists on pre- and postjunctional effects of neuropeptide Y on human peripheral blood vessels in vitro. *European Journal of Pharmacology* 1987;136(2):207-18.
- (58) Pernow J, Lundberg JM. Neuropeptide Y constricts human skeletal muscle arteries via a nifedipine-sensitive mechanism independent of extracellular calcium? *Acta Physiologica Scandinavica* 1986;128(4):655-6.
- (59) Franco-Cereceda A, Lundberg JM. Potent effects of neuropeptide Y and calcitonin gene-related peptide on human coronary vascular tone in vitro. *Acta Physiologica Scandinavica* 1987;131(1):159-60.
- (60) Erlinge D, Edvinsson L, Brunkwall J, Yee F, Wahlestedt C. Human neuropeptide Y Y1 receptor antisense oligodeoxynucleotide specifically inhibits neuropeptide Y-evoked vasoconstriction. *European Journal of Pharmacology* 1993;240(1):77-80.
- (61) Maturi MF, Greene R, Speir E et al. Neuropeptide-Y. A peptide found in human coronary arteries constricts primarily small coronary arteries to produce myocardial ischemia in dogs. *Journal of Clinical Investigation* 1989;83(4):1217-24.
- (62) Komaru T, Ashikawa K, Kanatsuka H, Sekiguchi N, Suzuki T, Takishima T. Neuropeptide Y modulates vasoconstriction in coronary microvessels in the beating canine heart. *Circulation Research* 1990;67(5):1142-51.



- (63) Glenn TC, Huang SL, Duckles SP. Cocaine promotes an apparent direct vasoconstrictor effect of neuropeptide Y in the rat tail artery. *European Journal of Pharmacology* 1995;276:191-4.
- (64) Lundberg JM, Torssell L, Sollevi A et al. Neuropeptide Y and sympathetic vascular control in man. *Regulatory Peptides* 1985;13(1):41-52.
- (65) Prieto D, Buus CL, Mulvany MJ, Nilsson H. Neuropeptide Y regulates intracellular calcium through different signalling pathways linked to a Y(1)-receptor in rat mesenteric small arteries. *British Journal of Pharmacology* 2000 April;129(8):1689-99.
- (66) Garcia-Villalon AL, Padilla J, Fernandez N et al. Effect of neuropeptide Y on the sympathetic contraction of the rabbit central ear artery during cooling. *European Journal of Physiology* 2000;440(4):548-55.
- (67) Xia J, Neild TO, Kotecha N. Effects of neuropeptide Y and agonists selective for neuropeptide Y receptor sub-types on arterioles of the guinea-pig small intestine and the rat brain. *British Journal of Pharmacology* 1992;107(3):771-6.
- (68) Roberts RE, Kendall DA, Wilson VG. A study of NPY-mediated contractions of the porcine isolated ear artery. *British Journal of Pharmacology* 1999;127(1):284-90.
- (69) Misra S, Murthy KS, Zhou H, Grider JR. Coexpression of Y1, Y2, and Y4 receptors in smooth muscle coupled to distinct signaling pathways. *J Pharmacol Exp Ther* 2004 December;311(3):1154-62.
- (70) Gicquiaux H, Lecat S, Gaire M et al. Rapid internalization and recycling of the human neuropeptide Y Y(1) receptor. *J Biol Chem* 2002 February 22;277(8):6645-55.
- (71) Prieto D, Buus C, Mulvany MJ, Nilsson H. Interactions between neuropeptide Y and the adenylate cyclase pathway in rat mesenteric small arteries: role of membrane potential. *J Physiol* 1997 July 15;502 ( Pt 2):281-92.
- (72) Pellieux C, Sauthier T, Domenighetti A et al. Neuropeptide Y (NPY) potentiates phenylephrine-induced mitogen-activated protein kinase activation in primary cardiomyocytes via NPY Y5 receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2000;97(4):1595-600.

- (73) Voisin T, Goumain M, Lorinet AM, Maoret JJ, Laburthe M. Functional and molecular properties of the human recombinant Y4 receptor: resistance to agonist-promoted desensitization. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 2000;292(2):638-46.
- (74) Grouzmann E, Meyer C, Burki E, Brunner H. Neuropeptide Y Y2 receptor signalling mechanisms in the human glioblastoma cell line LN319. *Peptides* 2001 March;22(3):379-86.
- (75) Aakerlund L, Gether U, Fuhlendorff J, Schwartz TW, Thastrup O. Y1 receptors for neuropeptide Y are coupled to mobilization of intracellular calcium and inhibition of adenylate cyclase. *FEBS Lett* 1990 January 15;260(1):73-8.
- (76) Franco-Cereceda A, Liska J. Neuropeptide Y Y1 receptors in vascular pharmacology. *Eur J Pharmacol* 1998 May 15;349(1):1-14.
- (77) Ashton JH, Benedict CR, Fitzgerald C et al. Serotonin as a mediator of cyclic flow variations in stenosed canine coronary arteries. *Circulation* 1986 March;73(3):572-8.
- (78) Benedict CR, Mathew B, Rex KA, Cartwright J, Jr., Sordahl LA. Correlation of plasma serotonin changes with platelet aggregation in an in vivo dog model of spontaneous occlusive coronary thrombus formation. *Circ Res* 1986 January;58(1):58-67.
- (79) Frishman WH, Grewall P. Serotonin and the heart. *Ann Med* 2000 April;32(3):195-209.
- (80) Nebigil CG, Maroteaux L. Functional consequence of serotonin/5-HT<sub>2B</sub> receptor signaling in heart: role of mitochondria in transition between hypertrophy and heart failure?. *Circulation* 2003;108(7):902-8.
- (81) Vanhoutte PM. Platelet-derived serotonin, the endothelium, and cardiovascular disease. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 1991;17(Suppl 5):S6-S12.
- (82) Vanhoutte PM. Cardiovascular effects of serotonin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987;10 Suppl 3:S8-11.

- (83) Martin GR, Leff P, Cambridge D, Barrett VJ. Comparative analysis of two types of 5-hydroxytryptamine receptor mediating vasorelaxation: differential classification using tryptamines. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1987 October;336(4):365-73.
- (84) Chilian WM, Dellsperger KC, Layne SM et al. Effects of atherosclerosis on the coronary microcirculation. *Am J Physiol* 1990 February;258(2 Pt 2):529-39.
- (85) Lamping KG, Kanatsuka H, Eastham CL, Chilian WM, Marcus ML. Nonuniform vasomotor responses of the coronary microcirculation to serotonin and vasopressin. *Circ Res* 1989 August;65(2):343-51.
- (86) Kamper AM, Paul LC, Blauw GJ. Prostaglandins are involved in acetylcholine- and 5-hydroxytryptamine-induced, nitric oxide-mediated vasodilatation in human forearm. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002 December;40(6):922-9.
- (87) Vanhoutte PM, Luscher TF. Serotonin and the blood vessel wall. *J Hypertens Suppl* 1986 April;4(1):S29-S35.
- (88) Glusa E, Pertz HH. Further evidence that 5-HT-induced relaxation of pig pulmonary artery is mediated by endothelial 5-HT(2B) receptors. *Br J Pharmacol* 2000 June;130(3):692-8.
- (89) Molderings GJ, Engel G, Roth E, Gothert M. Characterization of an endothelial 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptor mediating relaxation of the porcine coronary artery. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1989 September;340(3):300-8.
- (90) Schoeffter P, Hoyer D. 5-Hydroxytryptamine (5-HT)-induced endothelium-dependent relaxation of pig coronary arteries is mediated by 5-HT receptors similar to the 5-HT1D receptor subtype. *J Pharmacol Exp Ther* 1990 January;252(1):387-95.
- (91) Pernow J, Modin A. Endothelial regulation of coronary vascular tone in vitro: contribution of endothelin receptor subtypes and nitric oxide. *Eur J Pharmacol* 1993 October 26;243(3):281-6.
- (92) Wright L, Homans DC, Laxson DD, Dai XZ, Bache RJ. Effect of serotonin and thromboxane A2 on blood flow through moderately well developed coronary collateral vessels. *J Am Coll Cardiol* 1992 March 1;19(3):687-93.

- (93) Miwa Y, Hirata K, Matsuda Y, Suematsu M, Kawashima S, Yokoyama M. Augmented receptor-mediated Ca<sup>2+</sup> mobilization causes supersensitivity of contractile response to serotonin in atherosclerotic arteries. *Circ Res* 1994 December;75(6):1096-102.
- (94) Shibano T, Vanhoutte PM. Involvement of 5-HT<sub>2</sub> receptors in chronic endothelial dysfunction after balloon injury of porcine coronary arteries. *Circulation* 1994 April;89(4):1776-85.
- (95) Kaumann AJ, Frenken M, Posival H, Brown AM. Variable participation of 5-HT<sub>1</sub>-like receptors and 5-HT<sub>2</sub> receptors in serotonin-induced contraction of human isolated coronary arteries. 5-HT<sub>1</sub>-like receptors resemble cloned 5-HT<sub>1D</sub> beta receptors. *Circulation* 1994 September;90(3):1141-53.
- (96) Toda N, Okamura T. Comparison of the response to 5-carboxamidotryptamine and serotonin in isolated human, monkey and dog coronary arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 1990 May;253(2):676-82.
- (97) Yokoyama M, Akita H, Mizutani T, Fukuzaki H, Watanabe Y. Hyperreactivity of coronary arterial smooth muscles in response to ergonovine from rabbits with hereditary hyperlipidemia. *Circ Res* 1983 July;53(1):63-71.
- (98) Gutterman DD, Rusch NJ, Hermsmeyer K, Dole WP. Differential reactivity to 5-hydroxytryptamine in canine coronary arteries. *Blood Vessels* 1986;23(4-5):165-72.
- (99) Apprill P, Schmitz JM, Campbell WB et al. Cyclic blood flow variations induced by platelet-activating factor in stenosed canine coronary arteries despite inhibition of thromboxane synthetase, serotonin receptors, and alpha-adrenergic receptors. *Circulation* 1985 August;72(2):397-405.
- (100) Willerson JT, Eidt JF, McNatt J et al. Role of thromboxane and serotonin as mediators in the development of spontaneous alterations in coronary blood flow and neointimal proliferation in canine models with chronic coronary artery stenoses and endothelial injury. *Journal of American College of Cardiology* 1991 May;17(6 Supp B):101B-10B.
- (101) Eidt JF, Ashton J, Golino P, McNatt J, Buja LM, Willerson JT. Thromboxane A<sub>2</sub> and serotonin mediate coronary blood flow reductions in unsedated dogs. *Am J Physiol* 1989 September;257(3 Pt 2):H873-H882.

- (102) Golino P, Buja LM, Ashton JH, Kulkarni P, Taylor A, Willerson JT. Effect of thromboxane and serotonin receptor antagonists on intracoronary platelet deposition in dogs with experimentally stenosed coronary arteries. *Circulation* 1988 September;78(3):701-11.
- (103) Tanaka T, Morishima Y, Watanabe K, Shibutani T, Yasuoka M, Shibano T. Combined effect of the 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonist DV-7028 and aspirin or heparin on coronary cyclic flow reductions in dogs. *Cardiovascular Research* 1993 July;27(7):1374-9.
- (104) Brum JM, Sufan Q, Lane G, Bove AA. Increased vasoconstrictor activity of proximal coronary arteries with endothelial damage in intact dogs. *Circulation* 1984 December;70(6):1066-73.
- (105) Lamping KG, Marcus ML, Dole WP. Removal of the endothelium potentiates canine large coronary artery constrictor responses to 5-hydroxytryptamine in vivo. *Circ Res* 1985 July;57(1):46-54.
- (106) Saitoh S, Onogi F, Aikawa K et al. Multiple endothelial injury in epicardial coronary artery induces downstream microvascular spasm as well as remodeling partly via thromboxane A<sub>2</sub>. *Journal of the American College of Cardiology* 2001;37(1):308-15.
- (107) Saitoh S, Muto M, Osugi T et al. Repeated epicardial coronary artery endothelial injuries lead to a global spontaneous coronary artery spasm. *Coronary Artery Disease* 2004 May;15(3):137-45.
- (108) Mc Fadden EP, Clarke JG, Davies GJ, Kaski JC, Haider AW, Maseri A. Effect of intracoronary serotonin on coronary vessels in patients with stable angina and patients with variant angina. *New England Journal of Medicine* 1991 March;324(10):648-54.
- (109) Mc Fadden EP, Bauters C, Lablanche JM, Quandalle P, Leroy F, Bertrand ME. Response of human coronary arteries to serotonin after injury by coronary angioplasty. *Circulation* 1993 November;88(5 Pt 1):2076-85.
- (110) Yildiz O, Smith JR, Purdy RE. Serotonin and vasoconstrictor synergism. *Life Sci* 1998;62(19):1723-32.

- (111) Rashid M, Nakazawa M, Nagatomo T. Effects of sarpogrelate, a novel 5-HT<sub>2</sub> antagonist, on 5-HT-induced endothelium-dependent relaxations in porcine coronary artery. *Japanese Journal of Pharmacology* 2002;89(4):405-12.
- (112) Liu JQ, Folz RJ. Extracellular superoxide enhances 5-HT-induced murine pulmonary artery vasoconstriction. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004 July;287(1):L111-L118.
- (113) Bhattacharya A, Schenck KW, Xu YC, Nisenbaum L, Galbreath E, Cohen ML. 5-Hydroxytryptamine<sub>1B</sub> receptor-mediated contraction of rabbit saphenous vein and basilar artery: role of vascular endothelium. *J Pharmacol Exp Ther* 2004 May;309(2):825-32.
- (114) Davenport AP, Nunez DJ, Hall JA, Kaumann AJ, Brown MJ. Autoradiographical localization of binding sites for porcine. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989;13 Suppl 5:166-70.
- (115) Zeiher AM, Goebel H, Schachinger V, Ihling C. Tissue endothelin-1 immunoreactivity in the active coronary atherosclerotic plaque. A clue to the mechanism of increased vasoreactivity of the culprit lesion in unstable angina. *Circulation* 1995 February 15;91(4):941-7.
- (116) Wagner OF, Christ G, Wojta J et al. Polar secretion of endothelin-1 by cultured endothelial cells. *J Biol Chem* 1992 August 15;267(23):16066-8.
- (117) Rakugi H, Tabuchi Y, Nakamaru M et al. Evidence for endothelin-1 release from resistance vessels of rats in response to hypoxia. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 1990;169(3):973-7.
- (118) Dagassan PH, Breu V, Clozel M et al. Up-regulation of endothelin-B receptors in atherosclerotic human coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996 January;27(1):147-53.
- (119) Hasdai D, Mathew V, Schwartz RS et al. Enhanced endothelin-B-receptor-mediated vasoconstriction of small porcine coronary arteries in diet-induced hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997 November;17(11):2737-43.

- (120) Yanagisawa M, Inoue A, Ishikawa T et al. Primary structure, synthesis, and biological activity of rat endothelin, an endothelium-derived vasoconstrictor peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988 September;85(18):6964-7.
- (121) Marsden PA, Danthuluri NR, Brenner BM, Ballermann BJ, Brock TA. Endothelin action on vascular smooth muscle involves inositol trisphosphate and calcium mobilization. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 1989;158(1):86-93.
- (122) Zhou Y, Dirksen WP, Zweier JL, Periasamy M. Endothelin-1-induced responses in isolated mouse vessels: the expression and function of receptor types. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004 August;287(2):H573-H578.
- (123) Godfraind T. Evidence for heterogeneity of endothelin receptor distribution in human coronary artery. *Br J Pharmacol* 1993 November;110(3):1201-5.
- (124) Balligand JL, Godfraind T. Effect of nisoldipine on contractions evoked by endothelin-1 in human isolated distal and proximal coronary arteries and veins. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994 October;24(4):618-25.
- (125) Tippins JR, Antoniw JW, Maseri A. Endothelin-1 is a potent constrictor in conductive and resistive coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989;13 Suppl 5:S177-S179.
- (126) Chester AH, O'Neil GS, Allen SP, Luu TN, Tadjkarimi S, Yacoub MH. Effect of endothelin on normal and diseased human coronary arteries. *Eur J Clin Invest* 1992 March;22(3):210-3.
- (127) Suzuki S, Kajikuri J, Suzuki A, Itoh T. Effects of endothelin-1 on endothelial cells in the porcine coronary artery. *Circ Res* 1991 November;69(5):1361-8.
- (128) Warner TD, Mitchell JA, de Nucci G, Vane JR. Endothelin-1 and endothelin-3 release EDRF from isolated perfused arterial vessels of the rat and rabbit. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989;13 Suppl 5:85-8.
- (129) Lamping K, Faraci F. Enhanced vasoconstrictor responses in eNOS deficient mice. *Nitric Oxide* 2003;8(4):207-13.

- (130) Mathew V, Cannan CR, Miller VM et al. Enhanced endothelin-mediated coronary vasoconstriction and attenuated basal nitric oxide activity in experimental hypercholesterolemia. *Circulation* 1997 September 16;96(6):1930-6.
- (131) Larkin SW, Clarke JG, Keogh BE et al. Intracoronary endothelin induces myocardial ischemia by small vessel constriction in the dog. *Am J Cardiol* 1989 October 15;64(14):956-8.
- (132) Igarashi Y, Aizawa Y, Tamura M, Ebe K, Yamaguchi T, Shibata A. Vasoconstrictor effect of endothelin on the canine coronary artery: is a novel endogenous peptide involved in regulating myocardial blood flow and coronary spasm? *Am Heart J* 1989 October;118(4):674-8.
- (133) Fukuda K, Hori S, Kusuhashi M et al. Intracoronary endothelin-1 increases coronary retrograde pressure by constricting arterioles. *Cardiovasc Res* 1990 December;24(12):987-92.
- (134) Watanabe T, Suzuki N, Shimamoto N, Fujino M, Imada A. Contribution of endogenous endothelin to the extension of myocardial infarct size in rats. *Circ Res* 1991 August;69(2):370-7.
- (135) Wang J, Zeballos GA, Kaley G, Hintze TH. Dilation and constriction of large coronary arteries in conscious dogs by endothelin. *American Journal of Physiology* 1991;261:1379-86.
- (136) Munter K, Ehmke H, Kirchengast M. Maintenance of blood pressure in normotensive dogs by endothelin. *American Journal of Physiology* 1999;276:1022-7.
- (137) Egashira K, Pipers FS, Rush JE, Morgan JP. Effects of calcium channel blockers on coronary vasoconstriction induced by endothelin-1 in closed chest pigs. *Journal of the American College of Cardiology* 1990;16(5):1296-303.
- (138) Lamping KG, Clothier JL, Eastham CL, Marcus ML. Coronary microvascular response to endothelin is dependent on vessel diameter and route of administration. *Am J Physiol* 1992 September;263(3 Pt 2):H703-H709.
- (139) Haynes WG, Webb DJ. Endothelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease. *Journal of hypertension* 1998;16(8):1081-98.



- (140) Masaki T. The endothelin family: an overview. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2000;35(4 Supp 2):S3-S5.
- (141) Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med* 1995 August 10;333(6):356-63.
- (142) Iwasaki H, Eguchi S, Marumo F, Hirata Y. Endothelin-1 stimulates DNA synthesis of vascular smooth-muscle cells through transactivation of epidermal growth factor receptor. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;31 Suppl 1:S182-S184.
- (143) Rosati C, Jeanclos E, Cavalier S et al. Stimulatory action of endothelin-1 on membrane Na<sup>+</sup> transport in vascular smooth muscle cells in culture. *Am J Hypertens* 1990 September;3(9):711-3.
- (144) Brunner F, Opie LH. Role of endothelin-A receptors in ischemic contracture and reperfusion injury. *Circulation* 1998;97(4):391-8.
- (145) Meyer-Lehnert H, Wanning C, Predel HG, Backer A, Stelkens H, Kramer HJ. Effects of endothelin on sodium transport mechanisms: potential role in cellular Ca<sup>2+</sup> mobilization. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 1989;163(1):458-65.
- (146) Aramori I, Nakanishi S. Coupling of two endothelin receptor subtypes to differing signal transduction in transfected Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem* 1992 June 25;267(18):12468-74.
- (147) Cramer H, Muller-Esterl W, Schroeder C. Subtype-specific desensitization of human endothelin ETA and ETB receptors reflects differential receptor phosphorylation. *Biochemistry* 1997 October 28;36(43):13325-32.
- (148) Liu S, Premont RT, Kontos CD, Huang J, Rockey DC. Endothelin-1 activates endothelial cell nitric-oxide synthase via heterotrimeric G-protein betagamma subunit signaling to protein kinase B/Akt. *Journal of Biological Chemistry* 2003;278(50):49929-35.
- (149) Davenport AP, O'Reilly G, Kuc RE. Endothelin ETA and ETB mRNA and receptors expressed by smooth muscle in the human vasculature: majority of the ETA sub-type. *Br J Pharmacol* 1995 March;114(6):1110-6.

- (150) Pierre LN, Davenport AP. Relative contribution of endothelin A and endothelin B receptors to vasoconstriction in small arteries from human heart and brain. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;31 Suppl 1:S74-S76.
- (151) Koller A, Sun D, Kaley G. Role of shear stress and endothelial prostaglandins in flow- and viscosity-induced dilation of arterioles in vitro. *Circ Res* 1993 June;72(6):1276-84.
- (152) Kuo L, Davis MJ, Chilian WM. Longitudinal gradients for endothelium-dependent and -independent vascular responses in the coronary microcirculation. *Circulation* 1995 August 1;92(3):518-25.
- (153) Dube S, Canty JM. Shear stress-induced vasodilation in porcine coronary conduit arteries is independent of nitric oxide release. *American Journal of Physiology* 2001;280(6):2581-90.
- (154) Silber HA, Bluemke DA, Ouyang P, Du YP, Post WS, Lima JA. The relationship between vascular wall shear stress and flow-mediated dilation: endothelial function assessed by phase-contrast magnetic resonance angiography. *Journal of the American College of Cardiology* 2001;38(7):1859-65.
- (155) Jones CJ, Kuo L, Davis MJ, Chilian WM. Regulation of coronary blood flow: coordination of heterogeneous control mechanisms in vascular microdomains. *Cardiovasc Res* 1995 May;29(5):585-96.
- (156) Melvin L, Marcus M. Physiological effects of a coronary stenosis. In: Melvin L, Marcus M., editors. *The coronary circulation in health and disease*. Texas, USA: McGraw Hill; 1983. p. 242-69.
- (157) Gould KL, Lipscomb K. Effects of coronary stenoses on coronary flow reserve and resistance. *Am J Cardiol* 1974 July;34(1):48-55.
- (158) Gould KL, Lipscomb K, Hamilton GW. Physiologic basis for assessing critical coronary stenosis. Instantaneous flow response and regional distribution during coronary hyperemia as measures of coronary flow reserve. *Am J Cardiol* 1974 January;33(1):87-94.
- (159) Vlodaver Z, Edwards JE. Pathology of coronary atherosclerosis. *Prog Cardiovasc Dis* 1971 November;14(3):256-74.

- (160) Arnett EN, Isner JM, Redwood DR et al. Coronary artery narrowing in coronary heart disease: comparison of cineangiographic and necropsy findings. *Ann Intern Med* 1979 September;91(3):350-6.
- (161) Hillis WS, Friesinger GC. Reactive hyperemia: an index of the significance of coronary stenoses. *Am Heart J* 1976 December;92(6):737-40.
- (162) Feldman RL, Nichols WW, Pepine CJ, Conti CR. Hemodynamic effects of long and multiple coronary arterial narrowings. *Chest* 1978 September;74(3):280-5.
- (163) Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *New England Journal of Medicine* 1999 January;340(2):115-25.
- (164) Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000 September 14;407(6801):233-41.
- (165) Libby P. The vascular biology of atherosclerosis. In: Braunwald E., Zipes DP, Libby P, editors. *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 6th edition ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p. 995-1009.
- (166) Camejo G, Hurt-Camejo E, Wiklund O, Bondjers G. Association of apo B lipoproteins with arterial proteoglycans: pathological significance and molecular basis. *Atherosclerosis* 1998 August;139(2):205-22.
- (167) Fuster V, Stein B, Ambrose JA, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. Atherosclerotic plaque rupture and thrombosis. Evolving concepts. *Circulation* 1990 September;82(3 Suppl):47-59.
- (168) Robbie L, Libby P. Inflammation and atherothrombosis. *Ann N Y Acad Sci* 2001 December;947:167-79.
- (169) Hutter R, Valdiviezo C, Sauter BV et al. Caspase-3 and tissue factor expression in lipid-rich plaque macrophages: evidence for apoptosis as link between inflammation and atherothrombosis. *Circulation* 2004 April 27;109(16):2001-8.
- (170) Nemecek GM, Coughlin SR, Handley DA, Moskowitz MA. Stimulation of aortic smooth muscle cell mitogenesis by serotonin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986 February;83(3):674-8.

- (171) Yang Z, Krasnici N, Luscher TF. Endothelin-1 potentiates human smooth muscle cell growth to PDGF: effects of ETA and ETB receptor blockade. *Circulation* 1999;100(1):5-8.
- (172) Zukowska-Grojec Z, Karwatowska-Prokopczuk E, Rose W et al. Neuropeptide Y: a novel angiogenic factor from the sympathetic nerves and endothelium. *Circ Res* 1998 July 27;83(2):187-95.
- (173) Kim J, Ruff M, Karwatowska-Prokopczuk E et al. HIV envelope protein gp120 induces neuropeptide Y receptor-mediated proliferation of vascular smooth muscle cells: relevance to AIDS cardiovascular pathogenesis. *Regul Pept* 1998 September 25;75-76:201-5.
- (174) Zukowska-Grojec Z, Karwatowska-Prokopczuk E, Fisher TA, Ji H. Mechanisms of vascular growth-promoting effects of neuropeptide Y: role of its inducible receptors. *Regul Pept* 1998 September 25;75-76:231-8.
- (175) Hayashi T, Sumi D, Matsui-Hirai H et al. Sarpogrelate HCl, a selective 5-HT<sub>2A</sub> antagonist, retards the progression of atherosclerosis through a novel mechanism. *Atherosclerosis* 2003;168(1):23-31.
- (176) Winkles JA, Alberts GF, Brogi E, Libby P. Endothelin-1 and endothelin receptor mRNA expression in normal and atherosclerotic human arteries. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 1993;191(3):1081-8.
- (177) Hasdai D, Holmes DR, Garratt KN, Edwards WD, Lerman A. Mechanical pressure and stretch release endothelin-1 from human atherosclerotic coronary arteries in vivo. *Circulation* 1997 January 21;95(2):357-62.
- (178) Bacon CR, Cary NR, Davenport AP. Endothelin peptide and receptors in human atherosclerotic coronary artery and aorta. *Circ Res* 1996 October;79(4):794-801.
- (179) Zeiher AM, Ihling C, Pistorius K, Schachinger V, Schaefer HE. Increased tissue endothelin immunoreactivity in atherosclerotic lesions associated with acute coronary syndromes. *Lancet* 1994 November 19;344(8934):1405-6.
- (180) Franco-Cereceda A, Grip LG, Moor E, Velander M, Liska J, Lundberg JM. Influence of percutaneous transluminal coronary angioplasty on cardiac release of

- endothelin, neuropeptide Y and noradrenaline. *Int J Cardiol* 1995 March 3;48(3):231-3.
- (181) Ameli S, Kaul S, Castro L, Arora C, Mirea A, Shah PK. Effect of percutaneous transluminal coronary angioplasty on circulating endothelin levels. *Am J Cardiol* 1993 December 15;72(18):1352-6.
- (182) Moreno PR, Falk E, Palacios IF, Newell JB, Fuster V, Fallon JT. Macrophage infiltration in acute coronary syndromes. Implications for plaque rupture. *Circulation* 1994 August;90(2):775-8.
- (183) Fishbein MC, Siegel RJ. Coronary artery plaque dimension and rupture. *Cardiologia* 1998 July;43(7):693-700.
- (184) Fuster V, Fayad ZA, Badimon JJ. Acute coronary syndromes: biology. *Lancet* 1999 June;353 Suppl 2:SII5-SII9.
- (185) van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM, Das PK. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation* 1994 January;89(1):36-44.
- (186) Shah PK. Pathophysiology of coronary thrombosis: role of plaque rupture and plaque erosion. *Progress in Cardiovascular Diseases* 2002 March;44(5):357-68.
- (187) Ueda Y, Ohtani T, Shimizu M, Hirayama A, Kodama K. Assessment of plaque vulnerability by angioscopic classification of plaque color. *Am Heart J* 2004 August;148(2):333-5.
- (188) Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995 August 1;92(3):657-71.
- (189) Yeghiazarians Y, Braunstein JB, Askari A, Stone PH. Unstable angina pectoris.[comment]. *New England Journal of Medicine* 2000;342(2):101-14.
- (190) Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001 July 17;104(3):365-72.

- (191) Faxon DP, Fuster V, Libby P et al. Atherosclerotic Vascular Disease Conference: Writing Group III: pathophysiology. *Circulation* 2004 June 1;109(21):2617-25.
- (192) Taylor AJ, Bobik A, Berndt MC, Ramsay D, Jennings G. Experimental rupture of atherosclerotic lesions increases distal vascular resistance: a limiting factor to the success of infarct angioplasty. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002 January;22(1):153-60.
- (193) Mansaray M, Hynd JW, Vergroesen I, Belcher PR, Drake-Holland AJ, Noble MI. Thrombosis in one coronary artery causes generalized coronary vasoconstriction in a dog model of unstable angina. *Clin Sci (Lond)* 2001 April;100(4):405-10.
- (194) Belcher PR, Vergroesen I, Drake-Holland AJ, Noble MI. The pressure-flow relation in the canine coronary artery: combined effects of critical stenosis and intracoronary thrombosis. *Cardiovasc Res* 1995 November;30(5):807-14.
- (195) Gersh BJ, Braunwald E., Rutherford J.D. Chronic coronary artery disease. In: Braunwald E., Zipes DP, Libby P, editors. *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 6th edition ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p. 1289-370.
- (196) Konidala S, Gutterman DD. Coronary vasospasm and the regulation of coronary blood flow. *Prog Cardiovasc Dis* 2004 January;46(4):349-73.
- (197) Diver DJ, Bier JD, Ferreira PE et al. Clinical and arteriographic characterization of patients with unstable angina without critical coronary arterial narrowing (from the TIMI-III Trial). *Am J Cardiol* 1994 September 15;74(6):531-7.
- (198) Sun H, Mohri M, Shimokawa H, Usui M, Urakami L, Takeshita A. Coronary microvascular spasm causes myocardial ischemia in patients with vasospastic angina. *J Am Coll Cardiol* 2002 March 6;39(5):847-51.
- (199) Masaki N, Takase B, Satomura K et al. Provocation of microvessel spasm by low-dose acetylcholine in patients with suspected coronary artery disease--two case reports. *Angiology* 2005 March;56(2):211-6.
- (200) Sarnago CF, Sarnago BF, Avanzas P et al. Microvascular angina due to microvascular coronary vasospasm. *Int J Cardiol* 2005 July 10;102(2):371-3.

- (201) Masumoto A, Mohri M, Shimokawa H, Urakami L, Usui M, Takeshita A. Suppression of coronary artery spasm by the Rho-kinase inhibitor fasudil in patients with vasospastic angina. *Circulation* 2002 April 2;105(13):1545-7.
- (202) Mohri M, Koyanagi M, Egashira K et al. Angina pectoris caused by coronary microvascular spasm. *Lancet* 1998 April 18;351(9110):1165-9.
- (203) Kaski JC, Crea F, Meran D et al. Local coronary supersensitivity to diverse vasoconstrictive stimuli in patients with variant angina. *Circulation* 1986 December;74(6):1255-65.
- (204) Ito A, Shimokawa H, Nakaike R et al. Role of protein kinase C-mediated pathway in the pathogenesis of coronary artery spasm in a swine model. *Circulation* 1994 November;90(5):2425-31.
- (205) Saito S, Yamagishi M, Takayama T et al. Plaque morphology at coronary sites with focal spasm in variant angina: study using intravascular ultrasound. *Circ J* 2003 December;67(12):1041-5.
- (206) Kadokami T, Shimokawa H, Fukumoto Y et al. Coronary artery spasm does not depend on the intracellular calcium store but is substantially mediated by the protein kinase C-mediated pathway in a swine model with interleukin-1 beta in vivo. *Circulation* 1996 July 15;94(2):190-6.
- (207) Shimokawa H, Ito A, Fukumoto Y et al. Chronic treatment with interleukin-1 beta induces coronary intimal lesions and vasospastic responses in pigs in vivo. The role of platelet-derived growth factor. *J Clin Invest* 1996 February 1;97(3):769-76.
- (208) Fukai T, Egashira K, Hata H et al. Serotonin-induced coronary spasm in a swine model. A minor role of defective endothelium-derived relaxing factor. *Circulation* 1993 October;88(4 Pt 1):1922-30.
- (209) Cannon CP, Braunwald E. Unstable Angina. In: Braunwald E., Zipes DP, Libby P, editors. *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 6th edition ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p. 1232-71.
- (210) Klootwijk P, Hamm C. Acute coronary syndromes: diagnosis. *Lancet* 1999 June;353 Suppl 2:SII10-SII15.

- (211) Simoons ML, Boersma E, van Der ZC, Deckers JW. The challenge of acute coronary syndromes. *Lancet* 1999 June;353 Suppl 2:SIII-SIII4.
- (212) Kirwan BA, Lubsen J, Poole-Wilson PA. Treatment of angina pectoris: associations with symptom severity. *Int J Cardiol* 2005 February 15;98(2):299-306.
- (213) Eslick GD. Usefulness of chest pain character and location as diagnostic indicators of an acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2005 May 15;95(10):1228-31.
- (214) Abrams J. Clinical practice. Chronic stable angina. *N Engl J Med* 2005 June 16;352(24):2524-33.
- (215) Hong MK, Mintz GS, Lee CW et al. Comparison of coronary plaque rupture between stable angina and acute myocardial infarction: a three-vessel intravascular ultrasound study in 235 patients. *Circulation* 2004 August 24;110(8):928-33.
- (216) Ambrose JA, Winters SL, Stern A et al. Angiographic morphology and the pathogenesis of unstable angina pectoris. *J Am Coll Cardiol* 1985 March;5(3):609-16.
- (217) Bertoni AG, Bonds DE, Thom T, Chen GJ, Goff DC, Jr. Acute coronary syndrome national statistics: challenges in definitions. *Am Heart J* 2005 June;149(6):1055-61.
- (218) Grech ED, Ramsdale DR. Acute coronary syndrome: unstable angina and non-ST segment elevation myocardial infarction. *BMJ* 2003 June 7;326(7401):1259-61.
- (219) DeVon HA, Ryan CJ. Chest pain and associated symptoms of acute coronary syndromes. *J Cardiovasc Nurs* 2005 July;20(4):232-8.
- (220) Mallat Z, Tedgui A. Apoptose et syndromes coronariens aigus. *Med Sci (Paris)* 2004 March;20(3):298-303.
- (221) Braunwald E. Unstable angina: an etiologic approach to management. *Circulation* 1998 November 24;98(21):2219-22.
- (222) Antman EM, Braunwald E. ST-Elevation Myocardial Infarction: Pathology, Pathophysiology, and Clinical Features. In: Zipes DP, Libby P, Bonow R.O., Braunwald E., editors. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 7th edition ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p. 1141-66.



- (223) Egashira K, Inou T, Yamada A, Hirooka Y, Takeshita A. Preserved endothelium-dependent vasodilation at the vasospastic site in patients with variant angina. *J Clin Invest* 1992 March;89(3):1047-52.
- (224) Lee TH, Cannon CP. Approach to the patient with chest pain. In: Zipes DP, Libby P, Bonow R.O., Braunwald E., editors. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 7th edition ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p. 1129-40.
- (225) Yan GX, Lankipalli RS, Burke JF, Musco S, Kowey PR. Ventricular repolarization components on the electrocardiogram: cellular basis and clinical significance. *Journal of the American College of Cardiology* 2003;42(3):401-9.
- (226) Goldman L, Cook EF, Johnson PA, Brand DA, Rouan GW, Lee TH. Prediction of the need for intensive care in patients who come to the emergency departments with acute chest pain. *N Engl J Med* 1996 June 6;334(23):1498-504.
- (227) Connolly DC, Elveback LR, Oxman HA. Coronary heart disease in residents of Rochester, Minnesota. IV. Prognostic value of the resting electrocardiogram at the time of initial diagnosis of angina pectoris. *Mayo Clin Proc* 1984 April;59(4):247-50.
- (228) Daly CA, Clemens F, Sendon JL et al. The clinical characteristics and investigations planned in patients with stable angina presenting to cardiologists in Europe: from the Euro Heart Survey of Stable Angina. *Eur Heart J* 2005 May;26(10):996-1010.
- (229) Gandhi MM, Lampe FC, Wood DA. Incidence, clinical characteristics, and short-term prognosis of angina pectoris. *Br Heart J* 1995 February;73(2):193-8.
- (230) Holmvang L, Clemmensen P, Wagner G, Grande P. Admission standard electrocardiogram for early risk stratification in patients with unstable coronary artery disease not eligible for acute revascularization therapy: a TRIM substudy. Thrombin Inhibition in Myocardial Infarction. *Am Heart J* 1999 January;137(1):24-33.
- (231) Marmur JD, Freeman MR, Langer A, Armstrong PW. Prognosis in medically stabilized unstable angina: early Holter ST-segment monitoring compared with pre-discharge exercise thallium tomography. *Ann Intern Med* 1990 October 15;113(8):575-9.

- (232) Larsson H, Areskog M, Areskog NH et al. The diagnostic and prognostic importance of ambulatory ST recording compared to a predischarge exercise test after an episode of unstable angina or non-Q wave myocardial infarction. *Eur Heart J* 1995 July;16(7):888-93.
- (233) Cannon CP, McCabe CH, Stone PH et al. The electrocardiogram predicts one-year outcome of patients with unstable angina and non-Q wave myocardial infarction: results of the TIMI III Registry ECG Ancillary Study. Thrombolysis in Myocardial Ischemia. *J Am Coll Cardiol* 1997 July;30(1):133-40.
- (234) Hyde TA, French JK, Wong CK, Straznicky IT, Whitlock RM, White HD. Four-year survival of patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation and prognostic significance of 0.5-mm ST-segment depression. *Am J Cardiol* 1999 August 15;84(4):379-85.
- (235) Kaul P, Fu Y, Chang WC et al. Prognostic value of ST segment depression in acute coronary syndromes: insights from PARAGON-A applied to GUSTO-IIb. PARAGON-A and GUSTO Iib Investigators. Platelet Iib/IIIa Antagonism for the Reduction of Acute Global Organization Network. *J Am Coll Cardiol* 2001 July;38(1):64-71.
- (236) Kaul P, Newby LK, Fu Y et al. Troponin T and quantitative ST-segment depression offer complementary prognostic information in the risk stratification of acute coronary syndrome patients. *J Am Coll Cardiol* 2003 February 5;41(3):371-80.
- (237) Kaul P, Newby LK, Fu Y et al. Relation between baseline risk and treatment decisions in non-ST elevation acute coronary syndromes: an examination of international practice patterns. *Heart* 2005 July;91(7):876-81.
- (238) Diderholm E, Andren B, Frostfeldt G et al. ST depression in ECG at entry indicates severe coronary lesions and large benefits of an early invasive treatment strategy in unstable coronary artery disease; the FRISC II ECG substudy. The Fast Revascularisation during InStability in Coronary artery disease. *Eur Heart J* 2002 January;23(1):41-9.
- (239) Savonitto S, Ardissino D, Granger CB et al. Prognostic value of the admission electrocardiogram in acute coronary syndromes. *JAMA* 1999 February 24;281(8):707-13.

- (240) Wienbergen H, Gitt AK, Schiele R et al. Different treatments and outcomes of consecutive patients with non-ST-elevation myocardial infarction depending on initial electrocardiographic changes (results of the Acute Coronary Syndromes [ACOS] Registry). *Am J Cardiol* 2004 June 15;93(12):1543-6.
- (241) Amyot R, Morales MA, Rovai D. Contrast echocardiography for myocardial perfusion imaging using intravenous agents: progress and promises. *Eur J Echocardiogr* 2000 December;1(4):233-43.
- (242) Lafitte S, Perron JM, Roudaut R. Échocardiographie de contraste : de la validation expérimentale à la pratique. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2003 June;96(5):51-7.
- (243) Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, Linka A, Skyba DM, Kaul S. Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion. *Circulation* 1998;97(5):473-83.
- (244) Masugata H, Lafitte S, Peters B, Strachan GM, DeMaria AN. Comparison of real-time and intermittent triggered myocardial contrast echocardiography for quantification of coronary stenosis severity and transmural perfusion gradient. *Circulation* 2001 September;104(13):1550-6.
- (245) Masugata H, Peters B, Lafitte S, Strachan GM, Ohmori K, DeMaria AN. Quantitative assessment of myocardial perfusion during graded coronary stenosis by real-time myocardial contrast echo refilling curves. *Journal of American College of Cardiology* 2001 January;37(1):262-9.
- (246) Masugata H, Fujita N, Kondo I et al. Assessment of right ventricular perfusion after right coronary artery occlusion by myocardial contrast echocardiography. *Journal of American College of Cardiology* 2003 May;41(10):1823-30.
- (247) Wei K, Ragosta M, Thorpe J, Coggins M, Moos S, Kaul S. Noninvasive quantification of coronary blood flow reserve in humans using myocardial contrast echocardiography. *Circulation* 2001 May;103(21):2560-5.
- (248) van den Berg EK, Schmitz JM, Benedict CR, Malloy CR, Willerson JT, Dehmer GJ. Transcardiac serotonin concentration is increased in selected patients with limiting angina and complex coronary lesion morphology. *Circulation* 1989 January;79(1):116-24.

- (249) Vikenes K, Farstad M, Nordrehaug JE. Serotonin is associated with coronary artery disease and cardiac events. *Circulation* 1999;100(5):483.
- (250) Shimada T, Murakami Y, Hashimoto M et al. Impairment of serotonin-mediated nitric oxide release across the coronary bed in patients with coronary spastic angina. *American Journal of Cardiology* 1999;83(6):953-5.
- (251) Golino P, Piscione F, Benedict CR et al. Local effect of serotonin released during coronary angioplasty. *N Engl J Med* 1994 February 24;330(8):523-8.
- (252) Leosco D, Fineschi M, Pierli C et al. Intracoronary serotonin release after high-pressure coronary stenting. *American Journal of Cardiology* 1999;84(44):1317-22.
- (253) Rubanyi GM, Frye RL, Holmes DR, Jr., Vanhoutte PM. Vasoconstrictor activity of coronary sinus plasma from patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1987 June;9(6):1243-9.
- (254) De Clerck F., Van Nueten JM. Platelet-mediated vascular contractions: inhibition of the serotonergic component by ketanserin. *Thromb Res* 1982 September 15;27(6):713-27.
- (255) Kaijser L, Pernow J, Berglund B, Lundberg JM. Neuropeptide Y is released together with noradrenaline from the human heart during exercise and hypoxia. *Clinical Physiology* 1990;10(2):179-88.
- (256) Kaijser L, Pernow J, Berglund B, Grubbstrom J, Lundberg JM. Neuropeptide Y release from human heart is enhanced during prolonged exercise in hypoxia. *Journal of Applied Physiology* 1994;76(3):1346-9.
- (257) Gullestad L, Jorgensen B, Bjuro T et al. Postexercise ischemia is associated with increased neuropeptide Y in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000;102(9):987-93.
- (258) Gullestad L, Bjuro T, Aaberge L et al. The effect of a neuropeptide Y Y1 receptor antagonist in patients with angina pectoris. *European Heart Journal* 2003;24(12):1120-7.

- (259) Li L, Lee EW, Ji H, Zukowska Z. Neuropeptide Y-induced acceleration of postangioplasty occlusion of rat carotid artery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003 July 1;23(7):1204-10.
- (260) Ullman B, Franco-Cereceda A, Hulting J, Lundberg JM, Sollevi A. Elevation of plasma neuropeptide Y-like immunoreactivity and noradrenaline during myocardial ischaemia in man. *Journal of Internal Medicine* 1990;228(6):583-9.
- (261) Maisel AS, Scott NA, Motulsky HJ et al. Elevation of plasma neuropeptide Y levels in congestive heart failure. *American Journal of Medicine* 1989;86(1):43-8.
- (262) Feng Q, Lambert ML, Callow ID, Arnold JM. Venous neuropeptide Y receptor responsiveness in patients with chronic heart failure. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2000;67(3):292-8.
- (263) Wieczorek I, Haynes WG, Webb DJ, Ludlam CA, Fox KA. Raised plasma endothelin in unstable angina and non-Q wave myocardial infarction: relation to cardiovascular outcome. *Br Heart J* 1994 November;72(5):436-41.
- (264) Taylor AJ, Bobik A, Richards M et al. Myocardial endothelin-1 release and indices of inflammation during angioplasty for acute myocardial infarction and stable coronary artery disease. *Am Heart J* 2004 August;148(2):e10.
- (265) Taylor AJ, Bobik A, Richards M et al. Myocardial endothelin-1 release and indices of inflammation during angioplasty for acute myocardial infarction and stable coronary artery disease. *Am Heart J* 2004 August;148(2):e10.
- (266) Wang QD, Li XS, Lundberg JM, Pernow J. Protective effects of non-peptide endothelin receptor antagonist bosentan on myocardial ischaemic and reperfusion injury in the pig. *Cardiovasc Res* 1995 June;29(6):805-12.
- (267) Wang QD, Hemsén A, Li XS, Lundberg JM, Uriuda Y, Pernow J. Local overflow and enhanced tissue content of endothelin following myocardial ischaemia and reperfusion in the pig: modulation by L-arginine. *Cardiovasc Res* 1995 January;29(1):44-9.
- (268) Fernandez N, MartA-nez MA, Climent B et al. In vivo coronary effects of endothelin-1 after ischemia-reperfusion. Role of nitric oxide and prostanoids. *European Journal of Pharmacology* 2003;481(1):109-17.

- (269) Surawicz B. Introduction: Historical outline. In: Surawicz B., editor. *Electrophysiology basis of ECG and cardiac arrhythmias*. United States of America: Williams & Wilkins; 1995. p. 3-12.
- (270) Mirvis DM, Goldberg AL. Electrophysiology. In: Braunwald E., Zipes DP, Libby P, editors. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 6th edition ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p. 82-126.
- (271) Opie L.H. Pacemakers, Conduction System, and Electrocardiogram. In: Opie L.H., editor. *The Heart Physiology from Cell to Circulation*. third edition ed. United States of America: Lippincott-Raven; 1997. p. 115-45.
- (272) Opie L.H. Channels, Pumps, and Exchangers. In: Opie L.H., editor. *The Heart Physiology from Cell to Circulation*. third edition ed. United States of America: Lippincott-Raven; 1997. p. 71-114.
- (273) Downar E, Janse MJ, Durrer D. The effect of "ischemic" blood on transmembrane potentials of normal porcine ventricular myocardium. *Circulation* 1977;55(3):455-62.
- (274) Downar E, Janse MJ, Durrer D. The effect of acute coronary artery occlusion on subepicardial transmembrane potentials in the intact porcine heart. *Circulation* 1977;56(2):217-24.
- (275) Morena H, Janse MJ, Fiolet JW, Krieger WJ, Crijns H, Durrer D. Comparison of the effects of regional ischemia, hypoxia, hyperkalemia, and acidosis on intracellular and extracellular potentials and metabolism in the isolated porcine heart. *Circulation Research* 1980;46(5):634-46.
- (276) Wirth KJ, Uhde J, Rosenstein B et al. K(ATP) channel blocker HMR 1883 reduces monophasic action potential shortening during coronary ischemia in anesthetised pigs. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 2000;361(2):155-60.
- (277) Coronel R, Wilms-Schopman FJ, Opthof T, Cinca J, Fiolet JW, Janse MJ. Reperfusion arrhythmias in isolated perfused pig hearts. Inhomogeneities in extracellular potassium, ST and TQ potentials, and transmembrane action potentials. *Circulation Research* 1992;71:1131-42.

- (278) Kingaby RO, Lab MJ, Cole AW, Palmer TN. Relation between monophasic action potential duration, ST segment elevation, and regional myocardial blood flow after coronary occlusion in the pig. *Cardiovascular Research* 1986 October;20(10):740-51.
- (279) Kleber AG, Janse MJ, van Capelle FJ, Durrer D. Mechanism and time course of S-T and T-Q segment changes during acute regional myocardial ischemia in the pig heart determined by extracellular and intracellular recordings. *Circulation Research* 1978 May;42(5):603-13.
- (280) Prinzmetal M, Toyoshima H, Ekmekci A, Mizuno Y, Nagaya T. Myocardial ischemia. Nature of ischemic electrocardiographic patterns in mammalian ventricles as determined by intracellular electrocardiographic and metabolic changes. *American Journal of Cardiology* 1961;8:493-503.
- (281) Ejima J, Martin D, Engle C, Sherman Z, Kunimoto S, Gettes LS. Ability of activation recovery intervals to assess action potential duration during acute no-flow ischemia in the in situ porcine heart. Experimental Cardiology Group, University of North Carolina at Chapel Hill. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology* 1998 August;9(8):832-44.
- (282) Kleber AG. Resting membrane potential, extracellular potassium activity, and intracellular sodium activity during acute global ischemia in isolated perfused guinea pig hearts. *Circ Res* 1983 April;52(4):442-50.
- (283) Watanabe I, Johnson TA, Buchanan J, Engle CL, Gettes LS. Effect of graded coronary flow reduction on ionic, electrical, and mechanical indexes of ischemia in the pig. *Circulation* 1987 November;76(5):1127-34.
- (284) Gima K, Rudy Y. Ionic current basis of electrocardiographic waveforms: a model study.[comment]. *Circulation Research* 2002;90(8):889.
- (285) Cabo C, Boyden PA. Electrical remodeling of the epicardial border zone in the canine infarcted heart: a computational analysis. *American Journal of Physiology* 2003;284(1):372-84.
- (286) Carmeliet E. Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias. *Physiol Rev* 1999 July;79(3):917-1017.

- (287) Jiang M, Cabo C, Yao J, Boyden PA, Tseng G. Delayed rectifier K currents have reduced amplitudes and altered kinetics in myocytes from infarcted canine ventricle.[comment]. *Cardiovascular Research* 2000;48(1):34-43.
- (288) Ekmekci A, Toyoshima H, Kwoczynski JK, Nagaya T, Prinzmetal M. IV. Clinical and experimental difference between ischemia with S-T elevation and ischemia with S-T depression. *Am J Cardiol* 1961;7:412-26.
- (289) Savard P, Cohen D, Lepschkin E, Cuffin BN, Madias JE. Magnetic measurement of S-T and T-Q segment shifts in humans. Part I: Early repolarization and left bundle branch block. *Circulation Research* 1983;53:264-73.
- (290) Holland RP, Brooks H. Precordial and epicardial surface potentials during Myocardial ischemia in the pig. A theoretical and experimental analysis of the TQ and ST segments. *Circulation Research* 1975 October;37(4):471-80.
- (291) Smith HJ, Singh BN, Norris RM, John MB, Hurley PJ. Changes in myocardial blood flow and S-T segment elevation following coronary artery occlusion in dogs. *Circulation Research* 1975;36:697-705.
- (292) Timogiannakis G, Amende I, Martinez E, Thomas M. ST segment deviation and regional myocardial blood flow during experimental partial coronary artery occlusion. *Cardiovas Res* 1974;8:469-77.
- (293) Li D, Li CY, Yong AC, Johnston PR, Kilpatrick D. Epicardial ST depression in acute myocardial infarction. *Circulation Research* 1999;85(10):959-64.
- (294) Kato K, Fukuda H, Koyama S. Depression of the S-T segment in epicardial electrocardiogram associated with experimental major coronary artery constriction. *J Electrocardiol* 1968;1(2):167-74.
- (295) Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF. Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. *Journal of Clinical Investigation* 1975 October;56(4):978-85.
- (296) Maehara K, Kyono H, Kitaoka S et al. A comparison of ST segment deviation and calculated solid angle during acute regional ischemia in the isolated canine heart at



- precordial, epicardial and intramyocardial lead surfaces. *Journal of Electrocardiology* 1986;19(3):235-46.
- (297) Heng MK, Singh BN, Norris RM, John MB, Elliot R. Relationship between epicardial ST-segment elevation and myocardial ischemic damage after experimental coronary artery occlusion in dogs. *Journal of Clinical Investigation* 1976;58:1317-26.
- (298) Guyton RA. Subendocardial S-T segment changes during acute coronary occlusion. *Annals of Thoracic Surgery* 1975;20(1):52-5.
- (299) Kjekshus JK, Maroko PR, Sobel BE. Distribution of myocardial injury and its relation to epicardial ST-segment changes after coronary artery occlusion in the dog. *Cardiovascular Research* 1972;6:490-9.
- (300) Lessick J, Wolf T, Gepstein L, Hayam G, Ben-Haim SA. Temporal changes in the endocardial ST segment during the evolution of myocardial infarction in dogs. *Pacing & Clinical Electrophysiology* 2002 November;25(11):1616-23.
- (301) RAKITA L, BORDUAS JL, ROTHMAN S, Prinzmetal M. Studies on the mechanism of ventricular activity. XII. Early changes in the RS-T segment and QRS complex following acute coronary artery occlusion: experimental study and clinical applications. *Am Heart J* 1954 September;48(3):351-72.
- (302) Miller MM, Thorvaldson J, Ilebekk A, Lekven J. Myocardial ischemia. Relationship between local flow, function and ST-segment elevation. *Eur J Cardiol* 1979 July;10(1):7-18.
- (303) Taggart P, Sutton P, John R, Hayward R, Swanton H. The epicardial electrogram: a quantitative assessment during balloon angioplasty incorporating monophasic action potential recordings. *British Heart Journal* 1989 November;62(5):342-52.
- (304) Macdonald RG, Hill JA, Feldman RL. ST segment response to acute coronary occlusion: coronary hemodynamic and angiographic determinants of direction of ST segment shift. *Circulation* 1986;74(5):973-9.
- (305) Kracoff OH, Adelman AG, Marquis JF, Caspi A, Aldridge HE, Schwartz L. Twelve-lead electrocardiogram recording during percutaneous transluminal

- coronary angioplasty. Analysis of reciprocal changes. *Journal of Electrocardiology* 1990 July;23(3):191-8.
- (306) Wong CK, Freedman SB, Bautovich G, Bailey BP, Bernstein L, Kelly DT. Mechanism and significance of precordial ST-segment depression during inferior wall acute myocardial infarction associated with severe narrowing of the dominant right coronary artery. *American Journal of Cardiology* 1993 May 1;71(12):1025-30.
- (307) Samson WE, Scher AM. Mechanism of ST segment alteration during acute myocardial injury. *Circulation Research* 1960 July;8(780-7).
- (308) Naslund U, Haggmark S, Johansson G, Reiz S. Quantification of myocardium at risk and detection of reperfusion by dynamic vectorcardiographic ST segment monitoring in a pig occlusion-reperfusion model. *Cardiovascular Research* 1993 December;27(12):2170-8.
- (309) Saitoh S, Saito T, Ohwada T et al. Morphological and functional changes in coronary vessel evoked by repeated endothelial injury in pigs. *Cardiovascular Research* 1998;38(3):772-81.
- (310) Shimokawa H, Tomoike H, Nabeyama S et al. Coronary artery spasm induced in miniature swine: angiographic evidence and relation to coronary atherosclerosis. *American Heart Journal* 1985;110(2):300-10.
- (311) Clarke JG, Davies GJ, Kerwin R et al. Coronary artery infusion of neuropeptide Y in patients with angina pectoris. *Lancet* 1987 May 9;1(8541):1057-9.
- (312) Sato S, Ikegaki I, Asano T, Shimokawa H. Antiischemic properties of fasudil in experimental models of vasospastic angina. *Jpn J Pharmacol* 2001 September;87(1):34-40.
- (313) Watanabe S, Buffington CW, Moresea G. Comparison of myocardial ischemia induced by endothelin vs. mechanical stenosis in pigs. *Am J Physiol* 1995 March;268(3 Pt 2):H1276-H1283.
- (314) Prinzmetal M, GOLDMAN A, SHUBIN H, BOR N, WADA T. Angina pectoris. II. Observations on the classic form of angina pectoris; preliminary report. *Am Heart J* 1959 April;57(4):530-43.

- (315) Li D, Li CY, Yong AC, Kilpatrick D. Source of electrocardiographic ST changes in subendocardial ischemia. *Circ Res* 1998;82:957-70.
- (316) Evans CH, Harris G, Mendold V, Ellestad MH. A basic approach to the interpretation of the exercise test. *Primary Care* 2001 March;28(1):73-98.
- (317) Guyton RA, McClenathan JH, Newman GE, Michaelis LL. Significance of subendocardial S-T segment elevation caused by coronary stenosis in the dog. Epicardial S-T segment depression, local ischemia and subsequent necrosis. *Am J Cardiol* 1977;40:373-80.
- (318) Johnston PR, Kilpatrick D, Li CY. The importance of anisotropy in modeling ST segment shift in subendocardial ischaemia. *IEEE Trans Biomed Eng* 2001 December;48(12):1366-76.
- (319) MacLachlan MC, Sundnes J, Lines GT. Simulation of ST segment changes during subendocardial ischemia using a realistic 3-D cardiac geometry. *IEEE Trans Biomed Eng* 2005 May;52(5):799-807.
- (320) Macleod RS, Shome S, Stinstra J, Punske BB, Hopenfeld B. Mechanisms of ischemia-induced ST-segment changes. *J Electrocardiol* 2005 October;38(4 Suppl):8-13.
- (321) Macleod RS, Punske B, Yilmaz B, Shome S, Taccardi B. The role of heart rate in myocardial ischemia from restricted coronary perfusion. *J Electrocardiol* 2001;34 Suppl:43-51.
- (322) Pasini E, Scarabelli TM, D'Antona G, Dioguardi FS. Effect of amino acid mixture on the isolated ischemic heart. *American Journal of Cardiology* 2004 April 22;93(8A):30A-4A.
- (323) Fozzard HA, DasGupta DS. ST-segment potentials and mapping. Theory and experiments. *Circulation* 1976 October;54(4):533-7.
- (324) Ay T, Havaux X, Van Camp G et al. Destruction of contrast microbubbles by ultrasound: effects on myocardial function, coronary perfusion pressure, and microvascular integrity. *Circulation* 2001 July;104(4):461-6.

- (325) Ostensen J, Hede R, Myreng Y, Ege T, Holtz E. Intravenous injection of Albunex microspheres causes thromboxane mediated pulmonary hypertension in pigs, but not in monkeys or rabbits. *Acta Physiol Scand* 1992 March;144(3):307-15.
- (326) Grauer SE, Pantely GA, Xu J et al. Myocardial imaging with a new transpulmonary lipid-fluorocarbon echo contrast agent: experimental studies in pigs. *Am Heart J* 1996 November;132(5):938-45.
- (327) Rich S, McLaughlin VV. Endothelin receptor blockers in cardiovascular disease. *Circulation* 2003;108(18):2184-90.
- (328) Kereveur A, Callebert J, Humbert M et al. High plasma serotonin levels in primary pulmonary hypertension. Effect of long-term epoprostenol (prostacyclin) therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000 October;20(10):2233-9.
- (329) Carteaux JP, Gast A, Tschopp TB, Roux S. Activated clotting time as an appropriate test to compare heparin and direct thrombin inhibitors such as hirudin or Ro 46-6240 in experimental arterial thrombosis. *Circulation* 1995 March 1;91(5):1568-74.
- (330) Nasmith JB, Pharand C, Dube B, Matteau S, LeBlanc A, Nadeau R. Localization of maximal ST segment displacement in various ischemic settings by orthogonal ECG: Implications for lead selection and the mechanism of ST shift. *Can J Cardiol* 2001;17(1):57-62.
- (331) Prinzen FW, Bassingthwaite JB. Blood flow distributions by microsphere deposition methods. *Cardiovasc Res* 2000 January 1;45(1):13-21.
- (332) Matsumura K, Jeremy RW, Schaper J, Becker LC. Progression of myocardial necrosis during reperfusion of ischemic myocardium. *Circulation* 1998 March 3;97(8):795-804.
- (333) Gerber BL, Rochitte CE, Melin JA et al. Microvascular obstruction and left ventricular remodeling early after acute myocardial infarction. *Circulation* 2000 June 13;101(23):2734-41.
- (334) Hale SL, Alker KJ, Kloner RA. Evaluation of nonradioactive, colored microspheres for measurement of regional myocardial blood flow in dogs. *Circulation* 1988 August;78(2):428-34.

- (335) Kowallik P, Schulz R, Guth BD et al. Measurement of regional myocardial blood flow with multiple colored microspheres. *Circulation* 1991 March;83(3):974-82.
- (336) Patterson RE, Kirk ES. Analysis of coronary collateral structure, function, and ischemic border zones in pigs. *Am J Physiol* 1983 January;244(1):H23-H31.
- (337) Mihaylov D, Reintke H, Blanksma P, De Jong ED, Elstrodt J, Rakhorst G. Development of acute ischemic heart failure in sheep. *International Journal of Artificial Organs* 2000;23(5):325-30.
- (338) Chien GL, Anselone CG, Davis RF, Van Winkle DM. Fluorescent vs. radioactive microsphere measurement of regional myocardial blood flow. *Cardiovasc Res* 1995 September;30(3):405-12.
- (339) Szebeni J, Baranyi L, Savay S et al. Liposome-induced pulmonary hypertension: properties and mechanism of a complement-mediated pseudoallergic reaction. *Am J Physiol* 2000 September;279(3):1319-28.
- (340) Mizutani M, Ben Freedman S, Barns E, Ogasawara S, Bailey BP, Bernstein L. ST monitoring for myocardial ischemia during and after coronary angioplasty. *American Journal of Cardiology* 1990 August 15;66(4):389-93.
- (341) Armstrong PW, Fu Y, Chang WC et al. Acute coronary syndromes in the GUSTO-IIb trial: prognostic insights and impact of recurrent ischemia. The GUSTO-IIb Investigators. *Circulation* 1998 November 3;98(18):1860-8.
- (342) Traverse JH, Judd D, Bache RJ. Dose-dependent effect of endothelin-1 on blood flow to normal and collateral-dependent myocardium. *Circulation* 1996 February 1;93(3):558-66.
- (343) Sventek P, Turgeon A, Schiffrin EL. Vascular endothelin-1 gene expression and effect on blood pressure of chronic ETA endothelin receptor antagonism after nitric oxide synthase inhibition with L-NAME in normal rats. *Circulation* 1997 January 7;95(1):240-4.
- (344) Parent R, Lavallee M. Endothelin-dependent effects limit flow-induced dilation of conductance coronary vessels after blockade of nitric oxide formation in conscious dogs. *Cardiovascular Research* 2000;45(2):470-7.

- (345) Opie L.H. Blood pressure and peripheral circulation. In: Opie L.H., editor. *The Heart Physiology from Cell to Circulation*. third edition ed. United States of America: Lippincott-Raven; 1997. p. 421-46.
- (346) Awad SJ, Einstein R, Potter EK, Richardson DP. The effects of neuropeptide Y on myocardial contractility and coronary blood flow. *British Journal of Pharmacology* 1991;104(1):195-201.
- (347) Chilian WM, Eastham CL, Layne SM, Marcus ML. Small vessel phenomena in the coronary microcirculation: phasic intramyocardial perfusion and coronary microvascular dynamics. *Prog Cardiovasc Dis* 1988 July;31(1):17-38.
- (348) Mathes P, Rival J. Effect of nitroglycerin on total and regional coronary blood flow in the normal and ischaemic canine myocardium. *Cardiovasc Res* 1971 January;5(1):54-61.
- (349) Howe BB, Winbury MM. Effect of pentritinol, nitroglycerin and propranolol on small vessel blood content of the canine myocardium. *J Pharmacol Exp Ther* 1973 December;187(3):465-74.
- (350) Myers WW, Honig CR. Number and distribution of capillaries as determinants of myocardial oxygen tension. *Am J Physiol* 1964 September;207:653-60.
- (351) Prinzmetal M, Ekmekci A, Toyoshima H, Kwoczynski JK. Angina pectoris. III. Demonstration of a chemical origin of ST deviation in classic angina pectoris, its variant form, early myocardial infarction, and some noncardiac conditions. *American Journal of Cardiology* 1959;276-93.
- (352) Simonsen AH, Sheykhzade M, Berg Nyborg NC. Age- and endothelium-dependent changes in coronary artery reactivity to serotonin and calcium. *Vascul Pharmacol* 2004 March;41(2):43-9.
- (353) Richter DW, Manzke T, Wilken B, Ponimaskin E. Serotonin receptors: guardians of stable breathing. *Trends Mol Med* 2003 December;9(12):542-8.
- (354) Yamaguchi H, Sakamoto N, Watanabe Y, Saito T, Masuda Y, Nakaya H. Dual effects of endothelins on the muscarinic K<sup>+</sup> current in guinea pig atrial cells. *Am J Physiol* 1997 October;273(4 Pt 2):1745-53.

- (355) Polis I, Gasthuys F, Van HL, Laevens H. Recovery times and evaluation of clinical hemodynamic parameters of sevoflurane, isoflurane and halothane anaesthesia in mongrel dogs. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2001 September;48(7):401-11.
- (356) Hikasa Y, Okuyama K, Kakuta T, Takase K, Ogasawara S. Anesthetic potency and cardiopulmonary effects of sevoflurane in goats: comparison with isoflurane and halothane. *Can J Vet Res* 1998 October;62(4):299-306.
- (357) Hanouz JL, Vivien B, Gueugniaud PY, Lecarpentier Y, Coriat P, Riou B. Interaction of isoflurane and sevoflurane with alpha- and beta-adrenoceptor stimulations in rat myocardium. *Anesthesiology* 1998 May;88(5):1249-58.
- (358) Haroun-Bizri S, Khoury SS, Chehab IR, Kassas CM, Baraka A. Does isoflurane optimize myocardial protection during cardiopulmonary bypass? *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2001 August;15(4):418-21.
- (359) Weber NC, Schlack W. The concept of anaesthetic-induced cardioprotection: mechanisms of action. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2005 September;19(3):429-43.
- (360) Barton M, Traupe T, Haudenschild CC. Endothelin, hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Coronary Artery Disease* 2003;14(7):477-90.
- (361) Kuo L, Davis MJ, Cannon MS, Chilian WM. Pathophysiological consequences of atherosclerosis extend into the coronary microcirculation. Restoration of endothelium-dependent responses by L-arginine. *Circ Res* 1992 March;70(3):465-76.
- (362) Luscher TF, Raij L, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent vascular responses in normotensive and hypertensive Dahl rats. *Hypertension* 1987 February;9(2):157-63.
- (363) Cocks TM, Angus JA. Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature* 1983 October 13;305(5935):627-30.
- (364) Cohen RA, Shepherd JT, Vanhoutte PM. 5-Hydroxytryptamine can mediate endothelium-dependent relaxation of coronary arteries. *Am J Physiol* 1983 December;245(6):H1077-H1080.

- (365) Shimokawa H, Aarhus LL, Vanhoutte PM. Porcine coronary arteries with regenerated endothelium have a reduced endothelium-dependent responsiveness to aggregating platelets and serotonin. *Circ Res* 1987 August;61(2):256-70.
- (366) Benzuly KH, Padgett RC, Kaul S, Piegors DJ, Armstrong ML, Heistad DD. Functional improvement precedes structural regression of atherosclerosis. *Circulation* 1994 April;89(4):1810-8.
- (367) Kinlay S, Behrendt D, Wainstein M et al. Role of endothelin-1 in the active constriction of human atherosclerotic coronary arteries. *Circulation* 2001 September 4;104(10):1114-8.
- (368) Chamuleau SA, Siebes M, Meuwissen M, Koch KT, Spaan JA, Piek JJ. Association between coronary lesion severity and distal microvascular resistance in patients with coronary artery disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003 November;285(5):H2194-H2200.
- (369) Korzick DH, Muller-Delp JM, Dougherty P, Heaps CL, Bowles DK, Krick KK. Exaggerated coronary vasoreactivity to endothelin-1 in aged rats: role of protein kinase C. *Cardiovasc Res* 2005 May 1;66(2):384-92.
- (370) Nakayama K, Hata S, Ishiro H, Tanaka Y, Ishii K. Potentiation by endothelin-1 of 5-hydroxytryptamine-induced contraction in coronary artery of the pig. *Jpn J Pharmacol* 1992;58 Suppl 2:281P.
- (371) Wacker MJ, Wilhelm HL, Gomez SE, Floor E, Orr JA. Role of serotonin in thromboxane A2-induced coronary chemoreflex. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003 March;284(3):867-75.
- (372) Young MS, Iwanov V, Moulds RF. Interaction between platelet-released serotonin and thromboxane A2 on human digital arteries. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1986 February;13(2):143-52.
- (373) Clozel JP, Clozel M. Effects of endothelin on the coronary vascular bed in open-chest dogs. *Circulation Research* 1989;65(5):1193-200.



## **Annexe 1 : Référence du tableau 1**

**Chilian, 1991** : Chilian W.M., (1991b) *Functional distribution of alpha-1 and alpha-2-adrenergic receptors in the coronary microcirculation*. Circulation 84, 2108-2122.

**Komaru et al., 1990** : Komaru T., Ashikawa K., Kanatsuka H., Sekiguchi N., Suzuki T., and Takishima T. (1990). *Neuropeptide Y modulates vasoconstriction in coronary microvessels in the beating canine heart*. Circ Res 67, 1142-1151.

**Lamping et al., 1992** : Lamping K.G., Clothier J.L., Eastham C.L., and Marcus M.L., (1992b). Coronary microvascular response to endothelin is dependant on vessel diameter and route of administration. Am J Physiol 263 (3 pt 2), H703-H709.

**Lamping et al., 1989** : Lamping K.G., Kanatsuka H., Eastham C.L., Chilian W.M., and Marcus M.L., (1989). Nonuniform vasomotor responses of the coronary microcirculation to serotonin and vasopressin. Circ Res 65, 343-351.

## Annexe 2: Autorisation des éditeurs et des coauteurs

### ACCORD DES COAUTEURS

#### 1. Identification de l'étudiant

Marilyn de Chantal  
Ph.D. Physiologie

#### 2. Description de l'article

Marilyn de Chantal, Robert Amyot, Jean G. Diodati, A.-Robert LeBlanc et Chantal Pharand.

Absence of clinically significant increase in pulmonary artery pressure after intravenous perfutren injection for myocardial perfusion imaging in pigs.

Journal of the American Society of Echocardiography  
2005 Dec;18(12):1299-303.

#### 3. Déclaration de tous les coauteurs

À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, je suis d'accord pour que Marilyn de Chantal inclue cet article dans sa thèse de doctorat qui a pour titre Relation entre une ischémie cardiaque transmurale ou partielle (sous-endocardique) et les changements ECG chez le porc. Implication des substances vasoactives.

Robert Amyot

16 mai 2006  
Date

Jean G. Diodati

19 mai 2006  
Date

A.-Robert LeBlanc

24 mai 06  
Date

Chantal Pharand

24 mai 2006  
Date

Signature

## ACCORD DES COAUTEURS (diffusion de l'article)

### 1. Identification de l'étudiant

Marilyn de Chantal  
Ph.D. Physiologie

### 2. Description de l'article

Marilyn de Chantal, Robert Amyot, Jean G. Diodati, A.-Robert LeBlanc et Chantal Pharand.

Absence of clinically significant increase in pulmonary artery pressure after intravenous perflutren injection for myocardial perfusion imaging in pigs.  
Journal of the American Society of Echocardiography  
2005 Dec;18(12):1299-303.

### 3. Déclaration de tous les coauteurs

À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, je suis d'accord pour que Marilyn de Chantal inclue cet article dans sa thèse de doctorat qui a pour titre Relation entre une ischémie cardiaque transmurale ou partielle (sous-endocardique) et les changements ECG chez le porc. Implication des substances vasoactives. De plus, j'accepte que cet article soit diffusé et reproduit lors de la reproduction de la thèse de doctorat.

Robert Amyot

26 mai 2006  
Date

Jean G. Diodati

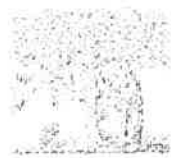
26 mai 2006  
Date

A.-Robert LeBlanc

24 mai 06  
Date

Chantal Pharand

24 mai 2006  
Date



Date: 23<sup>rd</sup> January 2006

Our ref: deChantaiCRSF1-06

Marilyn deChantal

**PUBLICATION DETAILS:** Article from *JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF ECHOCARDIOGRAPHY*, V18(12): 1299-1303, de Chantal M. et al: "Absence of clinically significant increase..." © 2005 The American Society of Echocardiography

As per your letter dated, 20<sup>th</sup> January 2006, we hereby grant you permission to reprint the aforementioned material at no charge in your thesis subject to the following conditions:

1. If any part of the material to be used (for example, figures) has appeared in our publication with credit or acknowledgement to another source, permission must also be sought from that source. If such permission is not obtained then that material may not be included in your publication copies.
2. Suitable acknowledgment to the source must be made, either as a footnote or in a reference list at the end of your publication, as follows:  

"Reprinted from Publication title, Vol number, Author(s), Title of article, Pages No., Copyright (Year), with permission from The American Society of Echocardiography."
3. Reproduction of this material is confined to the purpose for which permission is hereby given.
4. This permission is granted for non-exclusive world **English** rights only. For other languages please reapply separately for each one required. Permission excludes use in an electronic form. Should you have a specific electronic project in mind please reapply for permission.
5. This includes permission for the National Library of Canada to supply single copies, on demand, of the complete thesis. Should your thesis be published commercially, please reapply for permission.

Yours sincerely,

Sebastian Fortino  
for Elsevier

Your future requests will be handled more quickly if you complete the online form at [www.us.elsevierhealth.com](http://www.us.elsevierhealth.com).

Elsevier, Inc., 1600 John F. Kennedy Blvd., Ste. 1800, Philadelphia, PA 19103-2899  
 Phone: (215) 239-3804 Fax: (215) 239-3805 Email: [healthpermissions@elsevier.com](mailto:healthpermissions@elsevier.com)

## ACCORD DES COAUTEURS

### 1. Identification de l'étudiant

Marilyn de Chantal  
Ph.D. Physiologie

### 2. Description de l'article

Marilyn de Chantal, Jean G. Diodati, James B. Nasmith, Robert Amyot, A-Robert LeBlanc, Érick Schampaert, Chantal Pharand

Progressive epicardial coronary blood flow reduction fails to produce ST-segment depression at normal heart rate.

Soumis : American Journal of Physiology

### 3. Déclaration de tous les coauteurs

À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, je suis d'accord pour que Marilyn de Chantal inclue cet article dans sa thèse de doctorat qui a pour titre Relation entre une ischémie cardiaque transmurale ou partielle (sous-endocardique) et les changements ECG chez le porc. Implication des substances vasoactives.

Jean G. Diodati

19 mai 2006  
Date

James B. Nasmith

10 mai 2006  
Date

Robert Amyot

26 mai 2006  
Date

A.-Robert LeBlanc

24 mai 06  
Date

Érick Schampaert

06/05/26  
Date

Chantal Pharand

24 mai 2006  
Date

## ACCORD DES COAUTEURS

### 1. Identification de l'étudiant

Marilyn de Chantal  
Ph.D. Physiologie

### 2. Description de l'article

Marilyn de Chantal, Jean G. Diodati., Robert Amyot, A-Robert LeBlanc, Érick Schampaert, Chantal Pharand

Subendocardial ischemia and ST-segment depression induced by intracoronary administration of Endothelin-1  
Article en préparation

### 3. Déclaration de tous les coauteurs

À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, je suis d'accord pour que Marilyn de Chantal inclue cet article dans sa thèse de doctorat qui a pour titre Relation entre une ischémie cardiaque transmurale ou partielle (sous-endocardique) et les changements ECG chez le porc. Implication des substances vasoactives.

Jean G. Diodati

19 mai 2006  
Date

Robert Amyot

20 mai 2006  
Date

A.-Robert LeBlanc

24 mai 06  
Date

Érick Schampaert

01/05/2006  
Date

Chantal Pharand

29 mai 2006  
Date

Signature

**Penny Ripka**

**From:** marilyn de chantal [REDACTED]  
**Sent:** Friday, October 20, 2006 4:15 PM  
**To:** Penny Ripka  
**Subject:** Permission to include the article in my thesis.

Hi,

I need the authorization to include the following article in my thesis (physiology department of the Université de Montréal). I am the first author of this article and it is a great part of my graduate work. Please can you send me an email authorization and it will be included in my thesis.

thanks for your help

: [Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2006 Aug 11; \[Epub ahead of print\]](#)

Right-click here to download pictures. To help protect your privacy, Outlook prevented automatic download of this picture from the Internet.  
 Click here to read

[Links](#) [Am J Physiol Heart Circ Physiol \(August 11, 2006\).doi:10.1152/ajpheart.00400.2006](#)

### **Progressive epicardial coronary blood flow reduction fails to produce ST-segment depression at normal heart rates.**

- [De Chantal M.](#)
- [Diodati JG.](#)
- [Nasmith JB.](#)
- [Amyot R.](#)
- [Leblanc AR.](#)
- [Schampaert E.](#)
- [Pharand C.](#)

Research Center, Hopital du Sacre-Coeur de Montreal, Montreal, Canada; Faculty of Medicine, Universite de Montreal, Montreal, Canada.

ST-segment depression is commonly seen in patients with acute coronary syndromes. Most authors have attributed it to transient reductions in coronary blood flow due to nonocclusive thrombus formation on a disrupted atherosclerotic plaque and dynamic focal vasospasm at the site of coronary artery stenosis. However, ST-segment depression was never reproduced in classic animal models of coronary stenosis without the presence of tachycardia. We hypothesized that ST-segment depression occurring during acute coronary syndromes is not entirely explained by changes in epicardial coronary artery resistance and thus, evaluated the effect of a slow, progressive epicardial coronary artery occlusion on the ECG and regional myocardial blood flow in anesthetized pigs. Slow, progressive occlusion over 72±27 min of the left anterior descending coronary artery in 20 anesthetized pigs led to a 90% decrease in coronary blood flow and the development of ST-segment elevation associated with homogeneous and transmural myocardial blood flow reductions, confirmed by microspheres and myocardial contrast echocardiography. ST-segment depression was not observed in any ECG lead prior to the development of ST-segment elevation. At normal heart rates, progressive epicardial stenosis of a coronary artery results in

10/23/2006

myocardial ischemia associated with homogeneous, transmural reduction in regional myocardial blood flow and ST-segment elevation, without preceding ST-segment depression. Thus, in coronary syndromes with ST-segment depression and predominant subendocardial ischemia, factors other than mere increase in epicardial coronary resistance must be invoked to explain the heterogeneous parietal distribution of flow and associated ECG changes. Key words: ST-segment elevation, epicardial resistance, ST-segment depression, myocardial perfusion.

PMID: 16905602 [PubMed - as supplied by publisher]

--  
Marilyn de Chantal  
Étudiante PhD Physiologie / Physiology PhD student  
Centre de Recherche HSCM / HSCM Research Center  
514-338-2222 poste 2501

APPROVED  
By PRIP/le at 7.47 am, Oct 23, 2006

THE AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY  
9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814-3991

Permission is granted for use of the material specified  
above provided the publication is credited as the  
source, including the words "used with permission."

Publications Manager & Executive Editor

10/23/2006



### **Annexe 3 : Discussion sur la technique des microsphères**

Nous avons démontré que le sous-décalage du segment ST est induit suite à l'administration intracoronaire de substances vasoactives. Toutefois, notre hypothèse #3 suggèrait que ce sous-décalage du segment ST serait induit par une ischémie sous-endocardique. Toutefois, nos résultats ne nous permettent pas de confirmer complètement cette hypothèse puisque la présence d'une ischémie sous-endocardique n'a pu être démontrée avec l'utilisation des microsphères de couleur non-radioactives. Ceci peut être causé par un manque de précision associé à la technique des microsphères. En effet, les études qui ont démontré la présence d'un sous-décalage du segment ST lors d'une ischémie sous-endocardique ont utilisées des couches plus restreintes du myocarde.<sup>315, 317</sup> Ils ont séparé chaque couche du myocarde en trois sections qui correspondent à l'épicarde, à la couche moyenne et à l'endocarde, tandis que nous avons seulement séparé le myocarde en deux couches: l'endocarde et l'épicarde. Cette différence dans la technique a pu avoir un impact sur les résultats obtenus, puisque la couche moyenne du myocarde se comporte différemment de l'endocarde. En effet, il a été démontré que la couche myocardique moyenne avait une diminution du débit régional qui a été beaucoup plus faible que celle observée dans l'endocarde et légèrement supérieure à celle de l'épicarde lors d'une occlusion ou lors de l'injection d'ET-1, par exemple.<sup>16, 373</sup> Ainsi, l'incorporation de la couche moyenne a pu être un facteur qui a influencé nos résultats.

