

2m11.2631.3

Université de Montréal

**Dysfonction endothéliale chez l'adulte à risque pour l'athérosclérose
et effet d'un programme de prévention primaire.**

par

Isabelle Jodoin

Département de sciences biomédicales

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences biomédicales

avril, 1998

© Isabelle Jodoin, 1998



W
4
U58
1998
V.069

Université de Montréal

Évaluation endométriale chez l'adulte à risque pour l'athérosclérose
et effet d'un programme de prévention primaire.

par

Isabelle Leduc

Département de sciences biomédicales

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maîtrise en sciences (M.Sc.)
en sciences biomédicales

Année 1998



Isabelle Leduc

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

Dysfonction endothéliale chez l'adulte à risque pour l'athérosclérose
et effet d'un programme de prévention primaire

présenté par:
Isabelle Jodoin

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Président rapporteur:	Jocelyn Dupuis, MD, PhD
Directeur de recherche:	Martin Juneau, MD
Co-directrice de recherche:	Lizanne Bussièrès, MD, PhD
Membre du jury:	François Charbonneau, MD

Mémoire accepté le 98.07.22

SOMMAIRE

La présente étude s'inscrivait dans la problématique de la fonction endothéliale impliquée dans la régulation de la vasoactivité artérielle chez l'humain, et plus particulièrement sur la dysfonction endothéliale chez l'adulte à haut risque pour l'athérosclérose. Il est connu que les sujets avec un ou plusieurs facteurs de risque pour la maladie coronarienne présentent une anomalie de vasodilatation endothélium-dépendante des artères coronaires, laquelle favorise la formation de plaques athéromateuses. Par contre, le degré de dysfonction vis-à-vis celui des patients avec une maladie coronarienne déjà établie est inconnu. De plus, il n'est pas établi si la réversibilité de la fonction endothéliale est possible, chez les sujets à risque pour l'athérosclérose, suite à un programme de prévention primaire.

Dans une première étude, afin de comparer la dysfonction endothéliale entre les sujets à risque et les patients coronariens, nous avons évalué la réactivité vasculaire endothélium-dépendante et indépendante de l'artère brachiale auprès d'une population de 66 hommes et femmes divisée en trois groupes de sujets: à haut risque pour l'athérosclérose mais sans évidence de maladie coronarienne (n=32), avec une maladie coronarienne établie (n=14), et chez un groupe d'individus sains sans facteur de risque servant comme groupe contrôle (n=20). Ces mesures ont été faites à l'aide d'une sonde échographique de haute résolution qui permet d'évaluer de façon non-invasive la réactivité vasculaire périphérique endothélium-dépendante (suite à une hyperémie réactive) et endothélium-indépendante (suite à l'administration de nitroglycérine sublinguale) de l'artère brachiale. Il a été démontré que cette méthode est un indicateur fiable de la capacité de vasodilatation des artères coronariennes. Les résultats ont permis de démontrer, que chez nos sujets à risque pour l'athérosclérose, la vasodilatation endothélium-dépendante de l'artère brachiale est significativement réduite de façon similaire à celle des patients avec maladie coronarienne

établie, et ce, lorsqu'ils présentent le même âge et profil des facteurs de risque. Les valeurs obtenues étaient diminuées de 60% et 50% respectivement de la réponse normale trouvée chez les sujets sains.

Ayant observé une dysfonction endothéliale marquée chez les sujets asymptomatiques avec facteurs de risque, nous avons donc émis l'hypothèse qu'un programme de prévention pourrait améliorer la fonction endothéliale chez ces sujets.

Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons évalué, au cours d'une deuxième étude, l'effet d'un programme de prévention primaire de trois mois (diète, exercice aérobique et cessation du tabagisme) sur la fonction endothéliale, auprès de 22 sujets asymptomatiques, sédentaires et dyslipidémiques. En moyenne, ils présentaient 4 ± 1 facteurs de risque. Les sujets ont subi une épreuve d'effort et un test sanguin pour déterminer le bilan lipidique en plus de la mesure échographique de la capacité de vasodilatation de l'artère brachiale avant, et trois mois après le début du programme de prévention. Suite au programme, on a observé une amélioration significative de la capacité d'exercice ainsi que du profil lipidique. Par contre, la réactivité vasculaire périphérique n'a pas changé de façon significative. Ces résultats suggèrent que malgré la réduction des facteurs de risque par de meilleures habitudes de vie adoptées suite à notre programme préventif de courte durée, la fonction endothéliale ne s'est pas améliorée. Elle serait potentiellement réversible avec un programme plus prolongé. Des études additionnelles sont donc requises pour déterminer si l'amélioration de la fonction endothéliale, par changements des habitudes de vie, pourrait être un des mécanismes par lequel il serait possible de diminuer la morbidité et mortalité cardiovasculaires chez les sujets à risque pour l'athérosclérose.

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE	iii
LISTE DES TABLEAUX	viii
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS	x
REMERCIEMENTS	xi
CHAPITRE I: INTRODUCTION	2
A. Maladie coronarienne, pathophysiologie de l'athérosclérose et l'endothélium	5
B. Mesures de la fonction endothéliale	7
C. Endothélium et facteurs de risque pour la maladie coronarienne ..	10
D. Endothélium et modification des facteurs de risque en prévention secondaire et primaire	15
CHAPITRE II: <i>Adults with risk factors for atherosclerosis present the same degree of endothelial dysfunction as patients with established coronary artery disease.</i>	22
2.1 ABSTRACT	23
2.2 INTRODUCTION	24
2.3 METHODS	
2.3.1 Subjects	25
2.3.2 Brachial artery vasoactivity	25
2.3.3 Ultrasound measurements	26
2.3.4 Reproducibility	27
2.3.5 Statistics	27
2.4 RESULTS	
2.4.1 Subjects' characteristics and lipid profile	28

2.4.2 Brachial artery endothelial function.....	28
2.5 DISCUSSION.....	30
2.6 REFERENCES.....	33

CHAPITRE III: <i>Effect of a short-term primary prevention program on the endothelium-dependent vasodilatation in adults at risk for atherosclerosis.</i>	41
3.1 ABSTRACT.....	42
3.2 INTRODUCTION.....	43
3.3 METHODS	
3.3.1 Subjects.....	44
3.3.2 Study design.....	44
3.3.3 Prevention program.....	44
-Exercise training - Diet - Smoking cessation	
3.3.4 Exercise test.....	45
3.3.5 Brachial artery vasoactivity.....	46
3.3.6 Ultrasound measurements.....	47
3.3.7 Reproducibility.....	47
3.3.8 Percent body fat.....	47
3.3.9 Statistics.....	47
3.4 RESULTS	
3.4.1 Subjects' characteristics.....	48
3.4.2 Effects of intervention program.....	48
-Exercise training - Body composition, nutritional habits and lipids levels - Brachial artery endothelial function	
3.5 DISCUSSION.....	50
3.6 REFERENCES.....	53

CHAPITRE IV: DISCUSSION	63
4.1 Étude de la fonction endothéliale chez différentes populations.....	64
4.2 Étude des effets de la prévention primaire.....	65
4.3 Limitations des études	67
4.4 Conclusion	72
 RÉFÉRENCES	 75

LISTE DES TABLEAUX*À l'intérieur du chapitre II.*

TABLEAU 1. Subjects' characteristics.....36

TABLEAU 2. Lipid profile.....37

À l'intérieur du chapitre III.

TABLEAU 1. Subjects' characteristics at the beginning of the study.....57

TABLEAU 2. Exercise test results before and after the prevention program.....58

TABLEAU 3. Body composition assesement results.....59

TABLEAU 4. Biochemical results.....60

TABLEAU 5. Brachial artery vasoactive response before and after a three months primary prevention program.....61

LISTE DES FIGURES

À l'intérieur du chapitre II.

FIGURE 1. The mean percent change in brachial artery diameter in response to reactive hyperemia and nitroglycerin among all three groups.....	38
---	----

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACH	: Acétylcholine
ACV	: Accident vasculaire cérébral
BMI	: Body mass index
CAD	: Coronary artery disease
CT	: Cholestérol total
ECG	: Électrocardiogramme
EDRF	: Endothelium derived relaxing factor
FMD	: Flow-mediated dilatation
HDL	: High density lipoproteins
IDDM	: Insulin-dependent diabetes mellitus
LDL	: Low density lipoproteins
MCAS	: Maladie coronarienne
MET	: Metabolic equivalent
mg	: Milligramme
ml/kg/min	: Millilitre par kilogramme par minute
mm	: Millimètre
mmHg	: Millimètre de mercure
mmol/L	: Millimole par litre
NCEP	: National cholesterol education program
NO	: Nitric oxide
NS	: Non significatif
NTG	: Nitroglycérine
RPE	: Rate of perceived exertion
SD	: Standard deviation
SE	: Standard error
TG	: Triglycéride

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier mes parents qui ont su m'appuyer, me donner le courage et la volonté de persévérer tout au long de mes études académiques. J'adresse un merci particulier à Nagib pour son support moral et ses judicieux conseils quant à la réalisation de ce mémoire.

J'exprime ma profonde reconnaissance au docteur Lizanne Bussières, qui m'a permis de rendre à terme mon objectif qu'est l'obtention d'un diplôme d'études supérieures. Je la remercie pour son expertise, sa disponibilité ainsi que pour m'avoir si gentiment guidée durant cette période fructueuse.

Je remercie également le docteur Martin Juneau, personne ressource, pour ses commentaires pertinents et son support tant apprécié.

J'aimerais aussi dire un gros merci à la diététiste Élise Latour pour son aide précieuse en ce qui concerne les services de nutrition et à l'équipe du docteur Jean-Claude Tardif pour leur collaboration, l'aide technique et l'analyse des échographies.

Enfin, un grand merci à Lyne, Lucie, Julie, Chantal et Marie du Centre ÉPIC pour l'encouragement et l'amitié qu'elles m'ont manifestés au cours de la réalisation de mon projet d'étude.

CHAPITRE I: INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les maladies cardiovasculaires sont responsables d'un taux considérable de morbidité et mortalité dans les pays de l'ouest. Au Canada, les maladies de l'appareil circulatoire constituent la première cause de mortalité.¹ En 1995, elles étaient responsables de 37% de l'ensemble des décès au Canada, selon une étude effectuée par Statistique Canada. De ce nombre, 21% des décès sont associés aux maladies cardiaques ischémiques, qui représentent la composante majeure de la mortalité cardiovasculaire.¹ Il n'y a pas si longtemps, les maladies coronariennes étaient toujours définies comme des sténoses, des resserrements anormaux, pouvant mener à des blocages au niveau des artères coronariennes.² Des études récentes ont apporté un nouveau concept en démontrant que des anomalies de fonction peuvent précéder ces changements structuraux de la paroi des vaisseaux sanguins.³ Ces anomalies fonctionnelles vasculaires sont causées par une dysfonction de l'endothélium. La dysfonction des cellules endothéliales est considérée comme un facteur fondamental dans l'athérogénèse, puisque l'endothélium joue un rôle important dans la modification du tonus vasculaire et dans la maintenance de l'homéostasie vasculaire.⁴ La dysfonction endothéliale joue un rôle appréciable non seulement dans la pathogénèse de l'angine de poitrine et de l'infarctus du myocarde, mais aussi des accidents cérébro-vasculaires et des formes vasculaires d'insuffisance rénale.³

Depuis 1981, on a noté une diminution de 22% à 16% en 1991 de cas fatals d'infarctus du myocarde.⁵ Cette diminution peut être expliquée en partie par l'utilisation des agents bêtabloquants, de l'aspirine et de la thérapie thrombolytique.⁶ Mise à part ces améliorations de traitement, un impact significatif par la prévention au niveau des facteurs de risque a aussi démontré une baisse de mortalité des maladies coronariennes.⁷

En effet, dès 1970, les résultats d'études épidémiologiques à long-terme comme l'étude de Framingham^{8,9} ont permis d'identifier les facteurs de risque majeurs pour la maladie coronarienne tels le tabagisme, l'hypercholestérolémie, le diabète, l'hypertension artérielle, l'histoire familiale et la sédentarité. Il a été démontré que le dysfonctionnement endothélial est proportionnel à ces facteurs de risque.^{10,11} Malgré la diminution importante par causes coronariennes de la mortalité, elle risque d'augmenter dans le futur avec le vieillissement relatif de la population.

Une prévention optimale est donc requise pour diminuer davantage la mortalité et morbidité des maladies coronariennes par la modification agressive des facteurs de risque chez les gens asymptomatiques (prévention primaire) et chez les sujets avec une maladie coronarienne diagnostiquée (prévention secondaire).^{12,13} À cet effet, peu d'attention a été portée sur l'étude de la prévention primaire, même s'il a été démontré que presque 80% de la population québécoise présente au moins un facteur de risque modifiable tel que: le tabagisme, l'hypertension, l'hypercholestérolémie et la sédentarité.¹²

Récemment, il a été démontré qu'un programme agressif de modification des facteurs de risque en prévention secondaire peut amener une régression de la maladie coronarienne.^{14,15} Il est donc pertinent d'évaluer si un programme de modification des habitudes de vie chez des sujets asymptomatiques avec facteurs de risque pour la maladie coronarienne peut améliorer la fonction endothéliale, puisque la dysfonction endothéliale se manifeste tôt dans le développement de l'athérosclérose, bien avant la démonstration angiographique et la manifestation clinique des lésions athéromateuses.¹⁶⁻¹⁸

Notre premier objectif était donc d'étudier la fonction endothéliale chez trois groupes de sujets, soient une population saine sans facteur de risque pour la maladie coronarienne, une population avec facteurs de risque mais sans évidence de maladie coronarienne et une population de sujets avec une maladie coronarienne, pour établir si un gradient de dysfonction est présent entre ces groupes. Notre deuxième objectif était d'évaluer si la modification des facteurs de risque par un programme de prévention primaire avec exercice peut améliorer la fonction endothéliale chez des adultes à risque pour l'athérosclérose.

Les travaux réalisés durant ce programme de maîtrise ont mené à la préparation de deux manuscrits. Le premier a été soumis pour publication à la revue "Journal of the American College of Cardiology" et le deuxième à la revue "The Canadian Journal of Cardiology".

A. MALADIE CORONARIENNE, PATHOPHYSIOLOGIE DE L'ATHÉROSCLÉROSE ET L'ENDOTHÉLIUM:

Le processus de la maladie coronarienne (MCAS) débute à un très jeune âge, même si les manifestations cliniques de la maladie ne surviennent que beaucoup plus tard au courant de la vie.¹⁶ Des changements pathologiques concrets apparaissent chez les nourrissons et progressent durant l'enfance, suggérant une prédisposition à l'athérosclérose. Les études de McMillan¹⁷ ont révélé que des accumulations de lipides dans la tunique interne aortique sont présentes chez plusieurs enfants de moins d'un an et presque chez tous les enfants de l'âge de 3 ans. La signification clinique de ces changements pathologiques chez l'enfant n'est toutefois pas connue. À un âge plus avancé, Enos et al¹⁸ ont démontré, chez un groupe de soldats américains d'une moyenne d'âge de 22,1 années, décédés lors des combats de la Guerre de Corée, que 77,3% d'entre eux avaient déjà une évidence de maladie coronarienne variant de l'épaississement de l'intima, à une occlusion complète d'une ou plusieurs des branches principales lors d'autopsie.

Des études sur la pathophysiologie de l'athérosclérose démontrent que l'endothélium est une structure vasculaire cruciale ciblée initialement dans le processus de cette maladie.³ On a longtemps pensé que l'endothélium vasculaire était une membrane semi-perméable, qui lorsque lésée tendait à promouvoir la thrombose. On sait maintenant que l'endothélium est une entité métabolique fondamentale, pas seulement parce qu'il est stratégiquement localisé entre le sang circulant et le muscle lisse vasculaire, mais aussi parce qu'il est une source de médiateurs variés régulant le tonus^{19,20} et la croissance²¹ vasculaire, en plus de la fonction plaquettaire et de la coagulation.^{19,22}

L'endothélium produit ou modifie plusieurs substances dont l'oxyde nitrique (NO), un puissant vasodilatateur qui, aussi, inhibe l'aggrégation plaquettaire.¹⁹

La majorité de ces substances sont relâchées localement pour agir sur le muscle lisse sous-jacent ou directement sur les parois vasculaires. Cependant, quelques unes d'entre elles entrent en circulation et jouent le rôle d'hormones circulantes. On estime que l'endothélium couvre environ 1000 m² chez l'humain.

Un endothélium sain présente les fonctions suivantes: il a une activité vasodilatatrice, une surface anticoagulante et prévient la prolifération du muscle lisse sous-jacent en plus de l'adhésion des leucocytes à sa surface. L'effet global de ces caractéristiques est la prévention de l'athérosclérose.⁴

Quand l'endothélium devient activé ou dysfonctionnel, il tend à promouvoir la vasoconstriction, la prolifération du muscle lisse et l'adhésion leucocytaire.²³ Par conséquent, l'endothélium activé favorise la formation de la plaque athéromateuse définie comme étant des lésions caractérisées initialement par l'accumulation de lipides dans la tunique interne, et plus tard par la prolifération des muscles lisses provoquant une diminution de l'élasticité des vaisseaux.²⁴ Ceci a pour conséquence que lors d'une augmentation du travail cardiaque, une moins grande réserve de sang peut y circuler, pouvant entraîner une ischémie et, si le blocage est complet, un infarctus.

Fuster et al²⁵ ont récemment décrit l'état des connaissances sur la pathogénèse de l'athérosclérose. Ils suggèrent qu'un endommagement de l'endothélium est un événement clé pour l'origine et la progression de l'athérosclérose. Pendant la phase initiale de l'athérosclérose, l'endothélium vasculaire est complètement normal morphologiquement parlant, mais il est prouvé que sa fonction métabolique est anormale. Elle mène ainsi à une accumulation de lipides et de macrophages qui relâchent des produits toxiques, entraînant la deuxième phase de l'athérosclérose, la dénudation de l'endothélium avec un endommagement de l'intima. À ce stade, l'adhésion plaquettaire et la migration et prolifération des cellules musculaires lisses contribuent à la formation d'une

lésion lipidique. Par la suite, la troisième phase est caractérisée par des lésions de la média, en plus de celles de l'intima et de la dénudation endothéliale. La lésion lipidique rompt, causant la formation de thrombi qui contribuent à la croissance de la plaque athéromateuse.

Puisque ces changements dans la fonction endothéliale constituent le premier événement de la pathogénèse de l'athérosclérose, et puisqu'ils surviennent tôt dans le développement des maladies cardiovasculaires,³ le développement de tests diagnostiques capables de détecter les débuts de changements vasculaires rendraient possible l'identification des patients à risque pour la progression de l'athérosclérose et ses conséquences qu'on connaît: l'angine, l'infarctus, l'accident vasculaire cérébral (ACV) et l'insuffisance rénale. Aussi, ils pourraient servir comme moyen de monitoring de thérapie.

B. MESURES DE LA FONCTION ENDOTHÉLIALE:

Furchgott et Zawadski²⁰ ont découvert en 1980, que l'intégrité de l'endothélium vasculaire est nécessaire pour que l'acétylcholine (ACH) produise une relaxation dose-dépendante de segments artériels isolés par relâche d'une substance vasodilatatrice appelée le "endothelium derived relaxing factor" (EDRF). Des travaux subséquents ont démontré que ce vasodilatateur dérivé de l'endothélium est l'oxyde nitrique (NO),²⁶ le plus puissant vasodilatateur endogène qu'on connaît. Un marqueur important de la fonction endothéliale est la capacité de l'endothélium de sécréter le NO. Plusieurs stimuli pharmacologiques, incluant l'ACH, peuvent stimuler cette sécrétion de NO.

Les stimuli physiologiques qui haussent le débit sanguin ou la force de cisaillement, telle que l'hyperémie réactive suivant l'ischémie, causent aussi une augmentation de la sécrétion de NO. La vasodilatation qui se produit ainsi est

appelée –vasodilatation médiée par le débit.^{27,28} L'importance du rôle du NO pour le contrôle du tonus vasculaire a été établie dans la plupart des lits vasculaires.²⁹

Avec l'introduction des techniques de cathétérisme pour étudier la vasomotricité des coronaires, ces observations ont été étendues aux humains. Ludmer et al³⁰ ont été les premiers à démontrer que l'ACH cause une vasodilatation chez les patients avec des coronaires normales angiographiquement et une vasoconstriction chez les patients avec l'athérosclérose. D'autres études invasives ont rapporté que ces anomalies de vasodilatation dépendante de l'endothélium sont présentes non seulement dans les artères malades mais aussi dans les artères coronaires saines chez des sujets à risque pour les maladies coronariennes.³¹⁻³³ De plus, on a rapporté que la vasodilatation des artères coronaires sténosées est diminuée suite à l'exercice.³⁴

Des études utilisant l'ultrason intravasculaire ont démontré que la dysfonction endothéliale peut être mesurée avant même que l'athérosclérose puisse être détectée.³¹ Il a été suggéré que durant l'histoire naturelle de l'athérosclérose, la diminution de l'activation des récepteurs muscariniques de l'endothélium par l'ACH est le premier événement, suivi par une diminution de la vasodilatation induite par des forces de cisaillement. À ce stade, puisque la réponse vasodilatatrice à la nitroglycérine, un donneur de NO qui stimule directement le muscle lisse, est normale, l'anomalie vasomotrice est attribuée à une anomalie de l'endothélium. Plus tard, lorsque l'athérosclérose est plus avancée, cette réponse vasodilatatrice du muscle lisse, indépendante de l'endothélium, est aussi significativement diminuée indiquant une réduction générale de la capacité vasodilatatrice.³⁵

Le dysfonctionnement endothélial peut également être mesuré de façon invasive dans les lits vasculaires périphériques en mesurant le débit sanguin de

l'avant-bras par pléthysmographie en utilisant des infusions intra-artérielles d'ACH ou de ses analogues.

Récemment, une technique non-invasive, utilisant l'échographie à haute résolution pour mesurer le diamètre de l'artère brachiale, a été utilisée pour étudier la réactivité vasculaire des vaisseaux périphériques.³⁶ Les anomalies de vasodilatation des artères périphériques semblent refléter la capacité de vasodilatation des artères coronariennes, puisqu'une relation positive a été observée entre les anomalies de la vasodilatation aux infusions d'ACH des artères coronaires et la vasodilatation suite à une augmentation de débit causée par une hyperémie réactive de l'artère brachiale,³⁷ (deux mécanismes endothélium-dépendants) suggérant une anomalie généralisée de l'endothélium vasculaire. De façon similaire, les réponses aux infusions de nitroglycérine des artères coronaires ont été trouvées semblables à celles de l'artère brachiale obtenues suite à l'administration sublinguale de la nitroglycérine en pulvérisateur (endothélium-indépendantes).

Une diminution de la vasodilatation dépendante de l'endothélium de l'artère brachiale a été démontrée par cette mesure non-invasive chez les sujets avec une maladie coronarienne connue^{36,38} et chez les sujets asymptomatiques avec facteurs de risque tels que: l'hypercholestérolémie,³⁹ le diabète,⁴⁰ l'âge avancé^{41,42} et le tabagisme,⁴³ alors que la vasodilatation indépendante de l'endothélium, testée avec la nitroglycérine, ne se trouvait pas diminuée.

Les études récentes nous démontrent qu'il est donc possible de mesurer de façon non-invasive, par échographie, la capacité de la vasodilatation dépendante et indépendante des gros vaisseaux. Cette technique échographique est précise avec un coefficient de variation de moins de 2% pour la variabilité et reproductibilité entre observateurs.^{44,45} Cette mesure permet, d'une manière plus accessible, de détecter non-invasivement les anomalies de

la vasodilatation chez plusieurs populations de sujets chez qui des études invasives ne sont pas justifiées.

C. ENDOTHÉLIUM ET FACTEURS DE RISQUE POUR LA MALADIE CORONARIENNE:

Les études épidémiologiques, telle que l'étude de Framingham,⁸ ont permis l'identification des facteurs de risque associés avec la maladie coronarienne. Le développement de cette maladie est le résultat de l'action simultanée et successive des facteurs de risque et s'aggrave tout au long de l'enfance, de l'adolescence et de la vie adulte. Présentement, les principaux facteurs de risque des maladies cardiovasculaires sont: le tabagisme (une cigarette/jour pour \geq un an), l'hypercholestérolémie (lipoprotéines de base densité (LDL) \geq 3.4 mmol/L), l'hypertension (pression \geq 140/90 mmHg), le diabète, la sédentarité ($<$ 2 fois 20 minutes/semaine d'exercice pour \geq un an) et une histoire familiale d'une maladie précoce chez un membre de la famille (angine, infarctus du myocarde ou pontage à $<$ 60 ans pour les hommes et $<$ 65 ans pour les femmes).^{1,9} La présence d'un seul de ces facteurs de risque double le risque de maladie, deux facteurs multiplient le risque par quatre et la présence de trois le multiplie par huit. Un adulte est considéré à haut risque en présence de deux facteurs de risque ou plus.⁴⁶ Au Québec, on estime qu'environ 79% de la population âgée de 18 à 74 ans présente au moins un des quatre facteurs de risque modifiables suivants: le tabagisme, l'hypertension, l'hypercholestérolémie et la sédentarité.¹

Une caractéristique commune des facteurs de risque pour l'athérosclérose est leur habileté à causer une dysfonction endothéliale qui, à son tour, favorise l'athérosclérose. Il a déjà été démontré clairement que le degré de dysfonction endothéliale est proportionnel aux facteurs de risque d'un individu donné.^{10,11}

Hypercholestérolémie

Selon Santé Canada, quarante pourcent (40%) des hommes canadiens et 32% des femmes ont un niveau élevé des LDL (>3.4 mmol/L).^{47,48} L'étude de Framingham et d'autres études épidémiologiques ont depuis plusieurs années clairement démontré que des niveaux élevés de cholestérol total (CT) et de LDL placent un individu à risque accru pour les maladies du cœur.⁴⁹ Un grand nombre de ces observations semblent maintenant soutenues par la compréhension récente du rôle des LDL dans les mécanismes vasculaires biologiques menant à la maladie coronarienne symptomatique. Trois évidences lient les niveaux sériques élevés de LDL et la dysfonction endothéliale. Premièrement, les LDL oxydés et modifiés produits par les cellules endothéliales sont cytotoxiques, fournissant un mécanisme pour un endommagement endothélial direct chez les patients hypercholestérolémiques.⁵⁰ Deuxièmement, l'attraction chémotactique des monocytes et leur affinité stimulée aux LDL modifiés expliquent la formation des dépôts lipidiques, précurseurs des lésions athérosclérotiques.^{51,52} Troisièmement, les LDL dans leur forme normale ou oxydée démontrent une habileté d'interférer avec plusieurs récepteurs à la surface de la cellule endothéliale, réduisant ainsi leur production de protéines-G requises pour la production de NO.⁵³

De plus, il a été rapporté que les artères coronaires normales angiographiquement, chez les sujets avec une dyslipidémie, se contractent au lieu de se dilater suite à une injection d'ACH, supportant l'hypothèse d'un dysfonctionnement endothélial.⁵⁴ Également, Celermajer et al³⁶ ont démontré une diminution de la vasodilatation endothélium-dépendante de l'artère brachiale chez des enfants et adultes avec une hypercholestérolémie.

Diabète

Globalement, 5% de la population canadienne a rapporté avoir le diabète.¹² La vraie fréquence des cas de diabète au Canada pourrait être le double de ceux rapportés par les gens eux-mêmes, en se basant sur des études nord-américaines évoquant l'évidence qu'environ 50% des adultes diabétiques ne sont pas diagnostiqués avec cette condition.⁵⁵ Le diabète augmente les risques de développer la maladie coronarienne. La maladie diabétique vasculaire est pathologiquement caractérisée par une hyperplasie des cellules endothéliales (deux à quatre fois plus élevée comparativement à des sujets normaux) et un épaississement de leur membrane basale. Dû à l'hyperglycémie, il est aussi suggéré que la matrice extracellulaire pourrait être altérée par la glycosylation, modifiant de cette façon la fonction endothéliale.⁵⁶ De plus, l'hypertriglycémie (>2,5 mmol/L) accroît l'adhérence des monocytes aux cellules endothéliales.⁵⁷

Au niveau des vaisseaux de résistance, une anomalie de la vasodilatation dépendante de l'endothélium a été notée chez les patients avec le diabète de Type I insulino-dépendant (IDDM).^{58,59} Des patients avec une hypercholestérolémie et du diabète présentent aussi une vasodilatation endothélium-dépendante réduite en réponse à l'ACH, à la fois dans la circulation périphérique⁶⁰ et coronarienne,^{61,62} longtemps avant que des changements vasculaires structuraux ou que des symptômes cliniques apparaissent. De plus, Clarkson et al⁶³ ont rapporté une altération de la réactivité vasculaire endothélium-dépendante médiée par le débit. Cette altération semble être inversement reliée à la durée du diabète et aux concentrations sériques des LDL.

Tabagisme

Une forte et consistante relation dose-réponse a été démontrée entre les MCAS et la durée et l'intensité du tabagisme.⁶⁴⁻⁶⁶ Le tabagisme est le plus important facteur de risque modifiable. Selon la Fondation des maladies du coeur, 21% de tous les décès au Canada en 1991 étaient attribuables au tabagisme. De ces décès imputables à la cigarette, l'infarctus du myocarde comptait pour environ 22,5% des décès.¹ Aucun niveau de l'utilisation du tabac n'est sans danger. Les risques d'infarctus du myocarde et de mortalité cardiovasculaire sont élevés chez les individus qui fument qu'une à quatre cigarettes par jour.⁶⁶ Ce risque d'infarctus du myocarde ou de mort subite est de deux à quatre fois plus élevé chez les fumeurs.⁶⁵

L'effet vasculaire principal du tabagisme est médié par une influence directe sur l'endothélium. La dilatation endothélium-dépendante du débit de l'avant-bras⁴³ et des coronaires⁶⁷ est diminuée chez les fumeurs. De plus, les concentrations d'un marqueur spécifique de l'endommagement endothélial, soit l'antigène du facteur von Willebrand, et les concentrations de NO ont été trouvées anormales chez les fumeurs comparativement aux non-fumeurs.⁶⁸

Le tabagisme présente aussi plusieurs effets métaboliques en accord avec les autres facteurs de risque. Il cause une augmentation dose-dépendante de 3% du CT, de 9% des triglycérides (TG) et une diminution de 6% des lipoprotéines de haute densité (HDL).⁶⁹ L'insuline et le métabolisme du glucose semblent aussi être affectés défavorablement par le tabagisme chronique.⁷⁰

Finalement, si on combine l'hypercholestérolémie à la cigarette, les résultats démontrent qu'ils détériorent de façon synergique la fonction endothéliale et que leur présence combinée est associée à une augmentation des niveaux plasmatiques d'autoanticorps contre le LDL oxydé. Ces observations augmentent la probabilité que le tabagisme à long terme potentialise la

dysfonction endothéliale chez les patients hypercholestérolémiques en majorant l'oxydation des LDL.⁷¹ La cigarette favorise donc non seulement le dépôt de cholestérol sur les artères et contribue à endommager l'endothélium, mais elle augmente aussi la contraction des artères et elle prive le système cardiovasculaire d'une bonne oxygénation.

Hypertension

De même, l'hypertension est un important facteur de risque cardiovasculaire associé à l'infarctus du myocarde, à la défaillance cardiaque et à l'ACV pouvant augmenter ces risques par un facteur de trois.⁷² Au pays, 21% de la population présente une pression artérielle élevée ($\geq 140/90$ mmHg).⁷³ Des altérations morphologiques et fonctionnelles de l'endothélium surviennent dans l'hypertension expérimentale.¹⁹ Chez les patients hypertendus, la formation basale de NO et l'effet d'une infusion d'ACH sur la relâche de NO s'en sont trouvées réduites.⁷⁴⁻⁷⁶ Une diminution de la vasodilatation a également été notée chez ces patients.⁷⁷⁻⁷⁹ De tels changements de la fonction endothéliale pourraient être une cause ou une conséquence de l'hypertension.

Sédentarité

En 1992, l'American Heart Association reconnaissait la sédentarité comme un facteur de risque majeur pour la maladie cardiaque ischémique⁸⁰ équivalent à la consommation d'un paquet de cigarettes par jour.⁸¹ Au Québec, 37% des gens sont inactifs physiquement. Les individus sédentaires ont un risque deux fois plus élevé de mort prématurée que les individus actifs. Le Surgeon General's Report⁸¹ a souligné les effets bénéfiques de l'exercice sur la santé. Il a démontré que le niveau de diminution des risques pour MCAS attribuables à l'activité physique régulière est similaire à celui dû aux autres facteurs de risque liés aux habitudes de vie. On note que les individus actifs ont 35% moins de risque de développer l'hypertension.¹ Cependant, aucune étude jusqu'à ce jour n'a évalué l'effet de la sédentarité sur la fonction endothéliale.

D. ENDOTHÉLIUM ET MODIFICATION DES FACTEURS DE RISQUE EN PRÉVENTION SECONDAIRE ET PRIMAIRE:

Depuis quelques années, l'accent a été mis sur l'importance des interventions pour modifier les facteurs de risque chez les patients avec une maladie vasculaire établie en prévention secondaire. Cette approche survient après publication d'études démontrant les effets bénéfiques d'une réduction du cholestérol, de l'hypertension et de l'arrêt du tabagisme sur la morbidité et la mortalité cardiaques. De plus, des études récentes ont démontré une diminution de la progression de la maladie coronarienne et même une régression suite à des modifications agressives des habitudes de vie⁸² ou suite à un traitement hypocholestérolémiant⁸³ chez les coronariens. Par contre, ce n'est que récemment que les études supportent une approche agressive similaire chez les individus à haut risque en l'absence clinique de maladie coronarienne.⁵⁴ Il est beaucoup mieux de prévenir que de réadapter.

Diminution du cholestérol

Un grand nombre de personnes avec un niveau élevé de cholestérol n'auraient pas besoin de médicaments hypocholestérolémiants s'ils adoptaient des changements appropriés quant à leur style de vie.⁸⁴ L'étude Biosphere 2 a démontré très clairement que les niveaux américains moyens de cholestérol peuvent être réduits de 36%, la pression artérielle de 20% et le glucose par 20% simplement en adoptant une diète réduite en calories, faible en gras et plutôt végétarienne.⁸⁴ Les résultats de l'étude 4S⁸⁵ ont indiqué une réduction importante de 42% de la mortalité due à une cause cardiovasculaire suite à un traitement hypocholestérolémiant. De plus, certains chercheurs ont rapporté qu'une diminution de plus de 35% des LDL par une diète sévère, sans¹⁴ ou avec médicaments,⁸⁶ peut mener à une diminution de la progression de l'athérosclérose des coronaires.

Il est peu probable que la diminution de la progression, qui est de l'ordre de quelques pourcents, soit la seule responsable pour la diminution à long terme de la mortalité. Une amélioration de la fonction endothéliale semble être un des mécanismes par lequel la diminution du cholestérol diminue de façon importante la morbidité et mortalité cardiovasculaires. En effet, quelques études ont démontré une amélioration de la fonction endothéliale des vaisseaux périphériques⁸⁷ et des coronaires⁸⁸ suite à un traitement hypocholestérolémiant énergétique de 6 mois, à l'aide de médicaments. Récemment, une amélioration de la vasodilatation endothélium-dépendante de l'artère brachiale a aussi été rapportée, suite à une diminution des niveaux des LDL de 28%, par un traitement pharmacologique (simvastatin) de un mois⁸⁹ et même en moins de 15 minutes par aphérèse des LDL.⁹⁰

Cessation du tabagisme

L'arrêt du tabagisme réduit de 25% à 50% le taux de mortalité et diminue le risque d'infarctus récurrent en prévention secondaire.⁹¹ Ce même arrêt chez les fumeurs sans MCAS diagnostiquée ramène le risque d'infarctus du myocarde à celui de ceux qui n'ont jamais fumé seulement 2 à 3 ans après abstinence.⁹² Ceci démontre une fois de plus l'importance fondamentale de la prévention primaire. En effet, la dilatation médiée par le débit des anciens fumeurs, approche celle des gens qui n'ont jamais fumé. Cette étude suggère que la dysfonction endothéliale causée par le tabagisme est réversible. Une amélioration de la réactivité vasculaire endothélium-dépendante de l'artère brachiale a en effet été notée après un temps moyen de six ans suite à l'arrêt du tabagisme.⁴³

Diminution de la pression artérielle

Des études animales^{93,94} sur l'hypertension ont rapporté que la normalisation de la pression artérielle peut rétablir les anomalies de réponses vasculaires à des agents endothélium-dépendants. Ceci suggère que la dysfonction endothéliale

observée chez ces animaux était en fait secondaire à la pression artérielle élevée. Toutefois, ce rétablissement de la fonction endothéliale n'a pas été démontré par thérapie antihypertensive chez les patients hypertendus.⁹⁵ Ceci indique qu'il pourrait être favorable de prévenir, avant que la dysfonction endothéliale devienne irréversible, une fois que le processus hypertensif est établi.

Exercice

Chez l'humain, plusieurs études épidémiologiques en prévention secondaire⁹⁶ et primaire⁹⁷ ont démontré que l'exercice est directement relié à une diminution de la progression de la maladie et de la mortalité cardiaques. Les individus inactifs courent deux fois plus le risque de développer une maladie du coeur que ceux qui s'entraînent.⁹⁸ Pour en retirer un maximum d'avantages, l'exercice doit être exécuté au moins trois fois par semaine pour une durée minimum de 30 minutes par session⁹⁹ à une intensité minimum de 65% à 85% de la fréquence cardiaque maximum.¹⁰⁰ L'amélioration de la fonction endothéliale pourrait être un des mécanismes par lequel l'exercice physique diminue le taux d'incidents cardiovasculaires en prévention primaire et secondaire. Les études chez les animaux suggèrent que l'entraînement physique de une heure par jour, cinq jours semaine pendant deux mois, augmente la capacité de la vasodilatation dépendante de l'endothélium des vaisseaux conducteurs¹⁰¹ et de résistance.¹⁰²

L'activité physique aérobique affecte aussi positivement plusieurs facteurs de risque tels l'hypercholestérolémie, l'hypertension, le diabète et l'obésité. On a rapporté qu'elle augmente les HDL-C de 5% à 15%,¹⁰³ qu'elle mène à des réductions en moyenne de 10,8 mmHg et 8,2 mmHg des pressions systolique et diastolique respectivement¹⁰⁴ et qu'elle réduit le risque de développer le diabète noninsulino-dépendant en augmentant la sensibilité des cellules à l'insuline, en réduisant la production de glucose par le foie et en augmentant le nombre de cellules musculaires.¹⁰⁵ L'exercice aide aussi à la perte de poids sans toutefois

amener une perte de la masse musculaire, ce qui se produit avec une diète non combinée à l'exercice.¹⁰⁶ De plus, accroître l'activité physique semble être bénéfique pour prévenir le gain de poids associé avec la cessation du tabagisme.¹⁰⁷ Cependant, à part ces effets favorables apparents de l'exercice, de tels bénéfices deviennent plus ou moins apparents si la modification des autres facteurs de risque pour la maladie coronarienne n'est pas aussi accomplie.

Programme intégré

L'effet d'un programme de réadaptation avec modification des facteurs de risque et entraînement physique, chez des gens déjà atteints d'une maladie cardiovasculaire, diminue la morbidité et la mortalité cardiaques.^{108,109} De plus, Ornish et al¹⁴ ont démontré que des changements d'habitudes de vie (diète végétarienne faible en gras, arrêt du tabagisme, gestion du stress et exercice modéré) peuvent faire régresser l'athérosclérose sévère. Après un an, le diamètre moyen des lésions sténosées à plus de 50% des coronaires a diminué de 61,1% à 55,8%. Schuler et al¹⁵ ont aussi étudié l'effet d'un programme intégré de prévention secondaire sur la progression de la maladie coronarienne par une étude randomisée. Ils ont observé une diminution de 5% de la masse corporelle, de 10% du CT, de 24% des TG et une augmentation de 3% des HDL chez un groupe de patients angineux participant à un programme d'un an, comprenant l'exercice physique régulier et une diète faible en gras. La capacité d'exercice s'est améliorée de 23% et le diamètre des coronaires lésées a régressé chez 32% des patients comparativement à seulement 17% chez les patients ne recevant que les soins habituels. Toutes ces études démontrent qu'un ralentissement de la progression de la maladie cardiovasculaire est possible avec un programme intégré de prévention secondaire.

Par contre, l'effet d'un programme de prévention primaire intégré de courte durée, comprenant une diète, l'arrêt du tabagisme et un entraînement, sur les

anomalies précoces de l'athérosclérose (diminution de vasodilatation dépendante de l'endothélium) chez des adultes à haut risque n'a pas encore été évalué. De plus le degré de dysfonction endothéliale de ces sujets vis-à-vis celui des patients avec une maladie coronarienne déjà établie est inconnu.

Au terme de cette discussion, nous voulons donc, dans un premier temps, évaluer la réactivité vasculaire endothélium-dépendante et indépendante de l'artère brachiale chez trois différents groupes de sujets: sains sans facteur de risque, à haut risque mais sans évidence de maladie coronarienne et une population de sujets avec une maladie coronarienne établie. Ces mesures seront faites à l'aide d'une sonde échographique qui permet d'évaluer la réactivité vasculaire d'une artère périphérique (artère brachiale) de façon non-invasive. L'objectif est de déterminer si un gradient de dysfonction est présent entre ces groupes.

Dans un deuxième temps, nous voulons évaluer l'effet d'un programme de prévention primaire intégré (diète, exercice aérobique et cessation du tabagisme) de 3 mois sur cette même mesure de la vasodilatation endothélium-dépendante et indépendante chez des sujets à haut risque de maladies coronariennes. Ceci pourrait nous permettre d'évaluer si ce programme de courte durée a un effet sur la fonction endothéliale.

CHAPITRE II: ARTICLE*

*Cette version de l'article a été soumise au journal
Journal of the American College of Cardiology

**ADULTS WITH RISK FACTORS FOR ATHEROSCLEROSIS
PRESENT THE SAME DEGREE OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION
AS PATIENTS WITH ESTABLISHED CORONARY ARTERY DISEASE**

Isabelle Jodoin, BSc, Lizanne Bussières, MD, PhD,
Jean-Claude Tardif, MD, FRCPC, Martin Juneau, MD, FRCPC

Centre of preventive medicine and physical activity
of the Montreal Heart Institute

Brief title: Endothelial dysfunction in high risk adults

Correspondence and reprints: Lizanne Bussières, MD, PhD
Research Centre of the
Montreal Heart Institute
5000, rue Bélanger,
Montréal, Québec
Canada, H1T 1L8
Tel: (514) 374-1480
Fax: (514) 374-2416

Abstract

Objectives. The purpose of the present investigation was to determine if patients with established coronary artery disease have more severe endothelial dysfunction than adults at high risk for the disease.

Background. Endothelium-dependent vasodilatation has been independently reported to be reduced either in patients with established coronary artery disease or symptom free individuals with coronary risk factors.

Methods. Sixty-six subjects (age 55 ± 11 years [mean \pm SD]) were included in the study, 14 had coronary artery disease, 32 were at risk for coronary artery disease, and 20 were healthy individuals with no known risk factors for atherosclerosis. Subjects in the first two groups were matched for age and cholesterol levels. Brachial artery diameter was measured using high-resolution ultrasound at rest, during reactive hyperemia (flow-mediated dilatation, which is endothelium-dependent) and after sublingual nitroglycerin (endothelium-independent vasodilatation).

Results. Percent (%) diameter change of brachial artery in response to reactive hyperemia was similar between patients with established coronary artery disease and subjects at risk for the disease ($4.3 \pm 2.3\%$ vs. $5.1 \pm 4.2\%$, $p=NS$). These responses were significantly reduced when compared to the one in healthy individuals ($8.4 \pm 4.9\%$), ($p < 0.05$). Nitroglycerin induced significant vasodilatation in all groups. This vasodilatation was less pronounced in the patients with documented coronary artery disease.

Conclusions. Endothelium-dependent vasodilatation is impaired in symptom free individuals with coronary risk factors to a similar extent as in patients with established coronary artery disease when they are matched for age and coronary risks profile.

Key words: endothelium, vasodilatation, coronary artery disease, risk factors

Introduction :

Vascular endothelial dysfunction plays an important role in the pathogenesis and clinical manifestation of atherosclerosis (1-3). Endothelial dependent vasodilatation is a sensitive index of endothelial function and is reduced in patients with established coronary artery disease (4-6) and symptom free individuals with coronary risk factors (7-16). Initially, abnormalities in endothelial function could only be detected using invasive and time consuming approaches. Recently, however, a non-invasive approach, using high-resolution ultrasound in peripheral arteries has been described (17). Endothelial dysfunction appears to be a generalized process as the vascular reactivity of the peripheral vessels is closely related to the vasomotor response of coronary arteries (18). Impaired flow-mediated dilatation, an endothelial dependent vasodilatation, has been described in the brachial artery of individuals with established atherosclerosis (17) or with risk factors only (12-16).

It is not known if patients with established coronary artery disease have more severe endothelial dysfunction than individuals at moderate to high risk for the disease, when subjects are matched for similar coronary risk profiles. The present study evaluates the brachial artery endothelial dependent and independent vasodilatation in symptom free subjects at risk for coronary artery disease and subjects with established coronary artery disease. Both groups were matched for age and cholesterol levels. In addition, both groups were compared to an age matched population of healthy individuals without coronary risk factors.

METHODS

Subjects. Sixty-six subjects aged 55 ± 11 years (range 22 to 75 years) were recruited from the Montreal Heart Institute and its centre for preventive medicine and physical activity - (EPIC Centre). Fourteen subjects had established coronary heart disease defined by either a previous myocardial infarction (>3 months), coronary angiography with stenosis >70% of at least one major vessel, or positive thallium, MIBI or stress echocardiogram. Thirty-two subjects were clinically well, had no evidence of heart disease by clinical history, physical exam and resting and exercise ECG and had at least two or more of the following cardiac risk factors: 1) Age (≥ 45 years for men, age ≥ 55 for women), 2) cigarette smoking (one or more cigarettes per day for \geq one year), 3) hypertension, 4) hypercholesterolemia ($LDL \geq 3.4$ mmol/L), 5) diabetes mellitus, 6) positive family history of premature atherosclerosis in a first-degree relative and 7) obesity ($BMI > 30$) (19). The remaining twenty subjects were age-matched to the subjects in the above groups. They were healthy with no evidence of heart disease and none of the risk factors previously mentioned except for age. Subjects' characteristics are summarized in Table 1. Only 3 premenopausal women were included in groups 2 and 3, while postmenopausal women on hormone replacement therapy were excluded. The study design was approved by the ethics committee of our institution and written informed consent was obtained from each individual.

Brachial artery vasoactivity. Flow-mediated and nitroglycerin induced-dilatation were measured using ultrasound scanning of the brachial artery. Eleven patients took medication for the treatment of hypertension (four in the coronary artery disease and seven in the risk factors group; $p=NS$). Vasoactive agents, such as angiotensin converting enzyme inhibitors and calcium blockers, were held for 24 hours prior to the brachial artery study, when applicable. None were taking nitrates. All subjects refrained from smoking and consuming

caffeine-containing beverages for at least 10 hours prior to the test. Studies were performed in a temperature-controlled room (22°C) using high-resolution ultrasound system (Sonos 1000, Hewlett Packard). A 7.5-MHz linear array transducer was applied to the right arm just above the antecubital crease to image the brachial artery in a longitudinal view. Images were recorded at baseline after the subject had been resting for 10 minutes in the supine position and then after 5 minutes of upper arm arterial occlusion using a blood pressure cuff inflated at 200 mmHg. The ensuing flow-mediated vasodilatation was used as a measure of endothelium-dependent vasodilatation. The brachial artery diameter was then allowed to return to baseline and a second baseline scan was recorded (20 minutes after cuff release). Subsequently, 0.4 mg of nitroglycerin spray was administered sublingually, and brachial artery images were recorded for the next 5 minutes. This response evaluates endothelium-independent vasodilatation. Care was taken to maintain the transducer in a fixed position throughout the study relative to the subject's arm by marking the surface of the skin. During each study, ECG was monitored continuously.

Ultrasound measurements. Vessel diameter was measured by an observer unaware of the subject's clinical information and stage of the experiment. At each step (baseline, 1 minute after cuff release, repeat baseline and 3 minutes after nitroglycerin), three sequential diastolic frames (taken at the peak of the R wave) were digitized, with the use of a Macintosh 7500 computer built-in video board with analog to digital converter. The observer traced the intimal borders along the arterial segment. A software algorithm, developed locally from Matlab language (MathWorks), automatically calculated the average diameter over the entire segment. The measurements from the three frames were then averaged for each step. Endothelium-dependent and independent vasodilatations were determined as the percent diameter change of the brachial artery in response to reactive hyperemia and nitroglycerin respectively.

Reproducibility. We assessed intraobserver variability for measuring brachial artery diameter by comparing the two baseline arterial diameter measurements of our sixty-six subjects, as previously described by Corretti et al. (16). This showed a mean difference in this study of the two determinations of 0.10 ± 0.09 mm. The coefficient of variance for arterial diameter measurement was 2.4%, a value similar to that previously reported (16).

Statistics. Data are expressed as mean \pm SD. Test for proportion was introduced to compare pharmacological therapy of hypertensive subjects and risk factors distribution. Differences between measurements obtained in the three groups were evaluated by one way analysis of variance. The Bonferroni correction was used when the analysis of variance was significant. Correction for the difference between baseline vessel size and relation between percent flow-mediated dilatation was assessed by covariance analysis. Power calculation was performed assuming a SD=4 with an expected difference in means of 5, based on available literature (12,17), with a power of 80% and α of 5%. A sample size of 14 subjects per group was needed. Statistical significance was defined as a p value < 0.05 .

RESULTS

Subjects' characteristics and lipid profile.

The clinical characteristics of the coronary patients (group 1), subjects at risk (group 2) and healthy individuals (group 3) are shown in Table 1. There were no significant differences between the three groups in age and height. The weight, however, differed significantly between group 2 and group 3. It could be explained by the fact that a high proportion of subjects at risk (63%) had obesity as a risk factor. Patients in groups 1 and 2 presented both an average of 3 ± 1 risk factors for coronary artery disease, ($p=NS$).

Because of the selection criteria used in this study, the lipid profile between patients with coronary artery disease and subjects at risk were statistically the same (Table 2). LDL cholesterol and TG levels were significantly higher, whereas HDL cholesterol levels were lower, in groups 1 and 2 when compared to the levels in healthy individuals (group 3).

Brachial artery endothelial function.

Baseline arterial diameter was $4.6 \pm 0.4\%$ in group 1, $4.4 \pm 0.6\%$ in group 2 and $3.8 \pm 0.7\%$ in group 3. It was significantly different in healthy subjects (group 3) when compared to the coronary patients (group 1) and to subjects at risk (group 2), ($p < 0.05$). Endothelium-dependent flow-mediated vasodilatation was substantially less in patients with established coronary artery disease than in healthy individuals ($4.3 \pm 2.3\%$ vs. $8.4 \pm 4.9\%$, $p < 0.05$), (Figure 1). Similarly, it was less in subjects with risk factors when compared to healthy individuals ($5.1 \pm 4.2\%$ vs. $8.4 \pm 4.9\%$, $p < 0.05$). Subjects in groups 1 and 2, however, had comparable flow-mediated responses, ($p=NS$). When we analysed only the male data to correct for the possible gender difference, the similarity of the flow-mediated responses between groups 1 and 2 persisted ($4.4 \pm 2.4\%$ vs. $4.8 \pm$

4.7%, $p=NS$). However, when baseline diameters were considered using covariance analysis, results were not found to be significant.

One subject in group 1, had a post nitroglycerin scan of insufficient quality to be analyzed. In all the other subjects, NTG induced significant vasodilatation from baseline vessel diameter. Subjects in groups 2 and 3 had similar responses to NTG ($9.19 \pm 4.38\%$ vs. $9.94 \pm 4.89\%$, $p=NS$). Patients with coronary artery disease (group1) , however, had significantly less vasodilatation in response to NTG ($5.7 \pm 3.7\%$ vs. group 2 and 3, $p<0.05$). The same trend was observed in all groups for the response to NTG when only males were studied.

DISCUSSION

Previous studies have shown that endothelium-dependent vasoactivity is impaired in subjects with established coronary artery disease (4-6,17) or with risk factors associated with coronary artery disease, namely hypercholesterolemia (9), smoking (12), hypertension (11), diabetes mellitus (13), advanced age (8), and male gender (16). It is not known, however, if the endothelial dysfunction is as pronounced in subjects at high risk than subjects with established coronary artery disease when they are matched for risk factors profile. The present study suggests that endothelium-dependent vasodilatation is impaired to a similar degree in subjects with or without established coronary artery disease when presenting with comparable moderate to severe coronary risk factors.

In the present study, flow-mediated brachial artery vasoactivity was significantly reduced in subjects with risk factors for coronary artery disease whether they had or not established coronary artery disease when compared to the healthy individuals without coronary risk factor ($p < 0.05$). This supports previous reports showing that endothelial function is impaired in patients with established coronary artery disease (4-6,17), and in subjects with risk factor(s) for the disease (7,15). Interestingly, the extent of impairment was similar in both groups with risk factors ($4.3 \pm 2.3\%$ vs $5.1 \pm 4.2\%$; $p = \text{NS}$), regardless of whether they had established disease or not. Homogeneity between these two groups was insured by matching the subjects for age and serum cholesterol levels, two factors known to influence the vasoactivity of the endothelium, thus consolidating our results. However, our groups were not equally matched for gender, due to the difficulty of recruiting enough female subjects. When we compared the flow-mediated dilatation in male only, the similarity between endothelial vasodilatation responses in subjects with established coronary artery disease and at risk for the disease persisted ($4.4 \pm 2.4\%$ vs $4.8 \pm 4.7\%$; $p = \text{NS}$,

respectively). This confirms that gender was not a major determinant in the impaired peripheral vascular response reported in our study. Moreover, except for obesity ($p=0.021$), risk factors' proportional distribution between groups 1 and 2 were similar. Furthermore, patients in these two first groups had similar risk factors profile. Such that, patients with coronary artery disease and subjects at risk had an average of 3 ± 1 risk factors, ($p=NS$). Hence, the similar extent of the endothelial injury as evidenced by the peripheral response to flow-mediated dilatation in our study groups 1 and 2 could be safely interpreted.

Nitroglycerin induced significant vasodilatation in all groups as predicted. However, we observed a less pronounced dilatation response to exogenous nitric oxide, in subjects with established coronary artery disease. Significant reduction in the dilatation of brachial artery to NTG has been previously observed in patients with coronary artery disease when compared to healthy controls by Celermajer et al. (17). This could reflect the effects of atherosclerosis on the contractile system of the vascular wall in these subjects with established disease.

Limitations of the study.

A total of 6 premenopausal women were included in this study. We cannot exclude a possible effect of estrogen on endothelium-dependent vasodilation. Also, because the correction for the difference between baseline diameters changes the final statistic analysis, further investigation is warranted to enhance our findings.

Conclusion

In conclusion, the finding that endothelial vascular response is impaired in subjects with coronary risk factors without evidence of heart disease, to the same extent as patients with the established disease, strongly support the

necessity of early prevention in these subjects. These results support the notion that the difference between primary and secondary prevention in subjects with coronary risk factors is an arbitrary concept. The non-invasive measurement of endothelial function is a simple and effective tool to help improve patients' compliance. Further studies on the effects of a primary prevention program with aggressive lifestyle changes on vascular function in subjects at risk for atherosclerosis are needed.

REFERENCES

1. Reddy KG, Nair RN, Sheehan HM, Hodgson J McB. Evidence that selective endothelial dysfunction may occur in the absence of angiographic or ultrasound atherosclerosis in patients with risk factors for atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:833-43.
2. Zeiher AM, Drexler H, Wolschlagler H, Just H. Modulation of coronary vasomotor tone in humans: progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991;83:391-401.
3. Cooke JP, Dzau VJ. Derangements of the nitric pathway, L-arginine, and cardiovascular diseases. *Circulation* 1997;96:379-82.
4. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986;315:1046-51.
5. Cox DA, Vita JA, Treasure CB, et al. Atherosclerosis impairs flow-mediated dilatation of coronary arteries in humans. *Circulation* 1989;80:458-65.
6. Nabel EL, Selwyn AP, Ganz P. Large coronary arteries in humans are responsive to changing blood flow: an endothelium-dependent mechanism that fails in patients with atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1990;16:349-56.
7. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, et al. Coronary vasomotor responses to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation* 1990;81:491-97.
8. Egashira K, Inou T, Hirooka Y, et al. Effects of age on endothelium-dependent vasodilatation of resistance coronary artery by acetylcholine in humans. *Circulation* 1993;88:77-81.
9. Seiler C, Hess OM, Buechi M, Suter TM, Krayenbuehl P. Influence of serum cholesterol and other coronary risk factors on vasomotion of angiographically normal coronary arteries. *Circulation* 1993;88:2139-48.

10. Reddy KG, Nair RN, Sheehan HM, Hodgson J McB. Evidence that selective endothelial dysfunction may occur in the absence of angiographic or ultrasound atherosclerosis in patients with risk factors for atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:833-43.
11. Taddei S, Virdis A, Mattei P, et al. Aging and endothelial function in normotensive subjects and patients with essential hypertension. *Circulation* 1995;91:1981-87.
12. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilatation in healthy young adults. *Circulation* 1993;88:2149-55.
13. Clarkson P, Celermajer DS, Donald AE, et al. Impaired vascular reactivity in insulin-dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density lipoprotein cholesterol levels. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:573-79.
14. Celermajer DS, Sorenson KE, Spiegelhalter DJ, Georgapoulos D, Robinson J, Deanfield JE. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:471-76.
15. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilatation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1468-74.
16. Corretti MC, Plotnick GD, Vogel RA. The effects of age and gender on brachial artery endothelium-dependent vasoactivity are stimulus-dependent. *Clin Cardiol* 1995;18:471-76.
17. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-15.

18. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1235-41.
19. Garrow JS. *Treat Obesity Seriously. A Clinical Manual*. New York: Churchill Livingstone, 1981.

Table 1. Subjects' characteristics.

Variable	Group 1 CAD (n=14)	Group 2 At risk (n=32)	Group 3 Healthy (n=20)
Age (years)	61 ± 8	54 ± 10	52 ± 12
Men/Women (n)	13/1	20/12	10/10
Height (cm)	174 ± 7	169 ± 8	168 ± 11
Weight (kg)	82 ± 9	88 ± 19	72 ± 16 [†]
Risk factors			
-Age	14 (100%)	23 (72%)	-
-Cigarette users	1 (7%)	10 (31%)	-
-Hypertension	1 (7%)	10 (31%)	-
-Hypercholesterolemia	14 (100%)	31 (97%)	-
-Diabetes mellitus	0 (0%)	1 (3%)	-
-Family history of CAD	6 (43%)	13 (41%)	-
-Obesity	4 (21%) [†]	20 (63%)	-

Values are expressed as mean ± SD.

[†] p < 0.05 from group 2

CAD = coronary artery disease

Table 2. Lipid profile.

Variable	Group 1 CAD (n=14)	Group 2 At risk (n=32)	Group 3 Healthy (n=20)
LDL (mmol/L)	3.98 ± 0.41	4.46 ± 0.89	2.94 ± 0.61 ‡
HDL (mmol/L)	1.12 ± 0.18	1.19 ± 0.32	1.57 ± 0.38 ‡
TG (mmol/L)	1.64 ± 0.40	2.14 ± 1.19	1.10 ± 0.49 ‡

Values are expressed as mean ± SD.

‡ p < 0.05 from group 1 and 2

HDL = high density lipoproteins; LDL = low density lipoproteins;

TG = triglycerides

FIGURE LEGEND

Figure 1 : The mean percent change in brachial artery diameter in response to reactive hyperemia (FMD; flow-mediated dilatation) and nitroglycerin (NTG) among all three groups.

Values are means \pm SE.

* $p < 0.05$ from group 1.

‡ $p < 0.05$ from group 1 and 2.

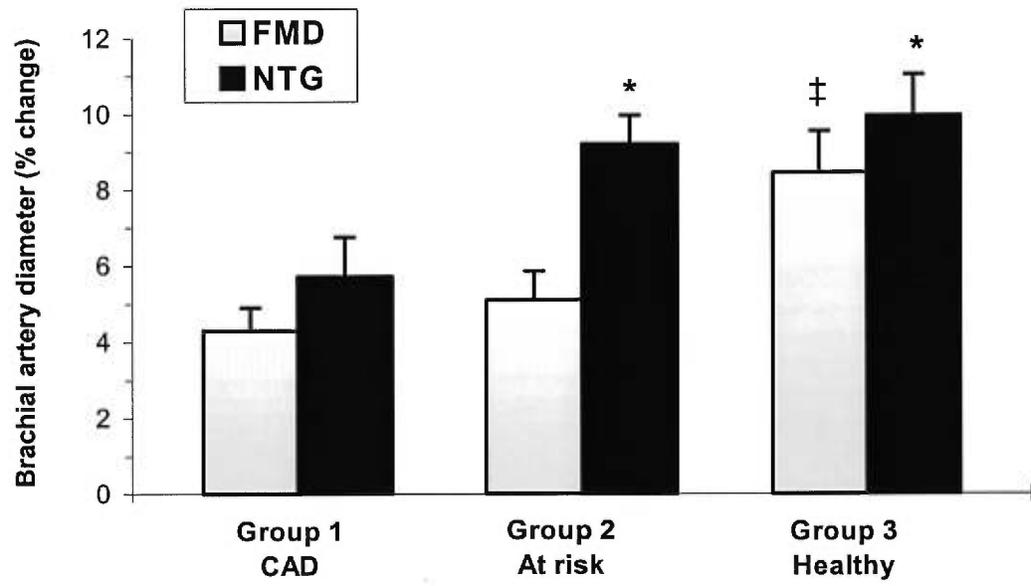


Figure 1

CHAPITRE III: ARTICLE*

*Cette version de l'article a été soumise au journal
The Canadian Journal of Cardiology

**EFFECT OF A SHORT-TERM PRIMARY PREVENTION PROGRAM
ON THE ENDOTHELIUM-DEPENDENT VASODILATATION
IN ADULTS AT RISK FOR ATHEROSCLEROSIS**

Isabelle Jodoin BSc, Lizanne Bussières MD PhD,
Jean-Claude Tardif MD FRCPC, Martin Juneau MD FRCPC

Centre of preventive medicine and physical activity
of the Montreal Heart Institute

Running title: Effect of primary prevention on vascular reactivity

Correspondence and reprints: Lizanne Bussières, MD, PhD
Research Centre of the
Montreal Heart Institute
5000, rue Bélanger,
Montréal, Québec
Canada, H1T 1L8
Tel: (514) 374-1480
Fax: (514) 374-2416

Abstract

Background: Endothelium-dependent vasodilatation is impaired in asymptomatic subjects with risk factors for atherosclerosis. The purpose of the present investigation was to determine if an integrative primary prevention program of 3 months can improve endothelial function in these subjects.

Methods: Twenty-two asymptomatic middle-aged men and women (13 men, 9 women) aged 55 ± 7 yrs with sedentary lifestyle and dyslipidemia ($LDL > 3.4$ mmol/L) underwent an exercise test, determination of fasting blood lipid levels and non-invasive measurement of brachial artery reactivity before and 3 months after the beginning of a prevention program. The program consisted of exercise training (3 times per week) and NCEP step 1 diet in all subjects. A smoking cessation program was offered when applicable ($n=6$). Brachial artery diameter was measured using high-resolution ultrasound at rest, during reactive hyperemia (FMD, flow-mediated dilatation which is endothelium-dependent) and after sublingual nitroglycerin (NTG, endothelium-independent vasodilatation).

Results: After 3 months of this program, peak oxygen uptake increased significantly from 25.4 ± 4.9 to 27.5 ± 4.8 ml/kg/min ($p < 0.005$) and LDL decreased significantly from 4.48 ± 0.92 to 4.00 ± 0.83 mmol/L ($p < 0.005$). FMD and NTG responses assessed as % diameter change from baseline however, did not change (FMD; before $5.4\pm 4.3\%$ and at 3 months $5.1\pm 3.9\%$, NS, NTG; before $8.4\pm 3.8\%$ and at 3 months $7.4\pm 4.5\%$, NS).

Conclusion: In the present study, short-term application of the currently recommended lifestyle intervention in adults with coronary risk factors did not improve vascular endothelial function. Longer and more aggressive programs may be needed to improve vascular function in subjects with risk factors for atherosclerosis.

Key words: endothelium, vasodilatation, primary prevention, risk factors, atherosclerosis

Introduction:

Vascular endothelial dysfunction has recently been identified as an initial step in the development of atherosclerosis (1,2). Impairment of vascular endothelial function is associated with the same risk factors known to predispose to atherosclerosis and its complications (3-8). Numerous risk factors for atherosclerosis are modifiable and many operate from early life causing vascular damage long before the disease becomes a clinically recognized problem (6-9). Normalization of atherogenic factors by aggressive lifestyle changes have been shown to retard the angiographic progression of coronary atherosclerosis and even caused regression of some plaques in patients with established coronary heart disease (10,11).

No study has however evaluated if currently recommended lifestyle changes can improve endothelial function, an early marker for atherosclerosis, in subjects at high risk for coronary artery disease. The purpose of the present investigation therefore was to determine if a short-term primary prevention program with exercise training and dietary counselling can improve endothelial function in asymptomatic subjects with risk factors for atherosclerosis.

METHODS

Subjects. Twenty-two subjects (13 men and 9 women), aged 55 ± 7 years (43 to 68 years) were recruited from the centre for preventive medicine and physical activity of the Montreal Heart Institute - (EPIC Centre) as they entered a primary prevention program. The subjects were approached to participate in the study if they had no evidence of heart disease and presented at least two or more of the following cardiac risk factors: 1) cigarette smoking (one or more cigarettes per day for \geq one year), 2) hypertension, 3) hypercholesterolemia (LDL \geq 3.4 mmol/L), 4) diabetes mellitus, 5) positive family history of premature atherosclerosis in a first-degree relative, 6) obesity (BMI $>$ 30) (12) and 7) sedentary lifestyle (\leq twice twenty minutes/week of physical activity during the year preceding the study). Evidence of heart disease was excluded by clinical history, physical exam, and resting and exercise electrocardiogram. Only one premenopausal woman was included, while postmenopausal women on hormone replacement therapy were excluded.

Study design. This study was approved by the ethics committee of our institution. Written informed consent was obtained from all subjects. Exercise capacity, brachial artery vasoactivity and fasting blood lipid levels were measured at baseline and 3 months after the beginning of the prevention program.

Prevention program. All subjects were incited to improve their cardiac risk factors profile during the study period.

Exercise training. Exercise training was an integral part of the program. Subjects were encouraged to participate in 3 supervised exercise training sessions a week at the EPIC Centre. The training sessions were 45 minutes long and consisted of stretching and strenghtening exercise in addition to a minimum of 20 minutes of aerobic exercise (walking, jogging or cycling) performed at 75% to 85

% of maximum heart rate. Subjects held a training diary for their supervised exercise sessions. In addition, they noted activity performed at home that were 4.5 METS or more (13). They were called once every 2 weeks to assess and reinforce their participation in the program.

Diet. To improve dietary habits and reduce body weight and serum cholesterol level, subjects met with a dietician on 3 occasions. On the first visit, at the beginning of the study, the subjects completed a Food Frequency Questionnaire (14) to determine their nutritional habits. The NCEP (National Cholesterol Education Program) phase I (prevention phase) diet was explained. Briefly, this diet consists of: 30% or less of total energy from lipids with less than 300 mg/day of cholesterol, and a total energetic supply to obtain and/or maintain a healthy weight ($20 \leq \text{BMI} \leq 25$) (15). Recommendations were then made to adapt this diet to the Canadian Food Guide according to the individual eating habits, sex and age. A second visit was performed at week 6 to review the subject's dietary changes and to give additional advices to promote further modification of the diet if needed. At the end of the study (week 12), the Food Frequency Questionnaire was repeated. The changes in total calories, proteins (%), lipids (%) and carbohydrates (%) intake from baseline to week 12 were calculated.

Smoking cessation. Smokers were referred to our Center's smoking cessation program. This program offered a group introductory lecture, an individual session to explore patterns of addiction and to design a treatment program (with or without nicotine replacement therapy) and a monthly support group session.

Exercise test. Subjects underwent an upright graded exercise test on a cycle ergometer (Ergoline, 800S) with mixed expired gas and ventilatory measurements (V_{max} 29, Sensor Medic) at baseline and 3 months after the beginning of the prevention program. The exercise test consisted of two minutes of unloaded pedalling followed by an incremental load of 10 to 15 Watts per minute, depending on the subject's capacity. During the exercise test, the rate of

the perceived exertion (RPE) using the Borg scale (16) and the blood pressure were recorded every 2 minutes. Exercise was discontinued at the point of fatigue. Maximal workload and peak oxygen intake were noted. The ventilatory threshold was determined using the V-slope method (17).

Brachial artery vasoactivity. Brachial artery studies were completed on a separate day but within a week of the exercise test. Vasoactive agents, including calcium channel blockers and angiotensin converting enzyme inhibitors, were discontinued for 24 hours before the study in the 5 patients who took these medications for the treatment of hypertension. All subjects refrained from smoking and use of caffeine-containing beverages for at least 10 hours prior to the test. Studies were performed in a temperature-controlled room (22°C) using high-resolution ultrasound system (Sonos 1000, Hewlett Packard). A 7.5-MHz linear array transducer was applied to the right arm just above the antecubital crease to image the brachial artery in a longitudinal view. Images were recorded at baseline after the subject had been resting for 10 minutes in the supine position and then after 5 minutes of upper arm arterial occlusion using a blood pressure cuff inflated at 200 mmHg. The ensuing flow-mediated vasodilatation was used as a measure of endothelium-dependent vasodilatation. The brachial artery diameter was allowed to return to baseline (20 minutes after cuff release) and a second baseline scan was recorded. Then, 0.4 mg of nitroglycerin spray was administered sublingually, and brachial artery images were recorded for the next 5 minutes. This response evaluates endothelium-independent vasodilatation. Care was taken to maintain the transducer in a fixed position throughout the study relative to the subject's arm by marking the surface of the skin. In addition, in order to obtain imaging of the same segment of the brachial artery in the subsequent evaluation (3 months), the distance between the transducer and the distal edge of the third finger was measured. During each study, ECG was monitored continuously.

Ultrasound measurements. Vessel diameter was measured by an observer unaware of the subject's clinical information and stage of the experiment. At each step (baseline, 1 minute after cuff release, repeat baseline and 3 minutes after nitroglycerin), three sequential diastolic frames (taken at the peak of the R wave) were digitized, with the use of a Macintosh 7500 computer built-in video board with analog to digital converter. The observer traced the intimal borders along the arterial segment. A software algorithm, developed locally from Matlab language (MathWorks), automatically calculated the average diameter over the entire segment. The measurements from the three frames were then averaged for each step. Endothelium-dependent and independent vasodilatation were determined as the percent diameter change of the brachial artery in response to reactive hyperemia and nitroglycerin respectively.

Reproducibility. We assessed intraobserver variability for measuring brachial artery diameter by comparing the two baseline arterial diameter measurements, as previously described by Corretti et al (18). This showed a mean difference of the two determinations in this study of 0.10 ± 0.08 mm. The coefficient of variance for arterial diameter measurement was 2.4%, a value similar to that previously reported.

Percent body fat. A fat caliper (Jonh Bull, British indicators LTD) was used to measure subcutaneous fat thickness at 4 selected sites : triceps, biceps, subscapular and suprailiac skinfold. Two measurements were made at each site and the average value was used for the total fatfold score. Total percent body fat was estimated from the value of the sum of the four skinfolds (19).

Statistics. Data are expressed as mean \pm SD. Changes between measurements obtained before and after the participation in the primary prevention program were analyzed by a two-tailed paired Student t-test. Statistical significance was defined as a p value < 0.05 .

RESULTS

Subjects characteristics.

Upon entry in the study, all subjects were sedentary and hypercholesterolemic. In addition, 27% of subjects were cigarette smokers, 36% were hypertensive, 45% had a positive family history for coronary artery disease and 68% were obese. Only one subject was treated for diabetes mellitus type II. On average, subjects presented 4 ± 1 risk factors for coronary heart disease (Table 1).

Effects of intervention program.

Exercise training. Compliance with the exercise training program was very good and evaluated at 97%, even though exceeding weekly requirements was not honored by a score of $> 100\%$. The results of the graded exercise tests are shown in Table 2. The exercise capacity measured as peak oxygen uptake, corrected for body weight (ml/kg/min), increased significantly ($p < 0.05$) with training by 8%. In addition, the maximum workload performed increased significantly by 16% ($p < 0.05$). The ventilatory threshold was also significantly delayed with exercise training from 13.4 ± 2.8 to 15.8 ± 2.7 ml/kg/min ($p < 0.005$). Unlike exercise capacity, peak ventilation, heart rate and blood pressure were not changed by the training program.

Body composition, nutritional habits and lipid levels. Two subjects did not have formal dietary counselling. Their dyslipidemia was minor and it was felt they could modify their diet adequately with the consulting physician guidelines. The total intake of calories decreased from 2710 ± 854 kCal to 2317 ± 574 kCal ($p < 0.05$) for the entire population during the study. Of these total calories, the percentage of fat calories intake decreased from $34.3 \pm 6.4\%$ to $24.3 \pm 4.9\%$ ($p < 0.0001$). After 3 months of the program, a significant reduction in body weight, percent body fat and body mass index were observed (Table 3). Total and LDL cholesterol levels decreased by 10% and 11%, respectively, during the

study period (Table 4). Four out of the six smokers successfully stopped smoking, all without nicotine replacement therapy.

Brachial artery endothelial function. Baseline brachial artery diameter was not significantly different before and after the program. Before the program, arterial vasodilatation in response to reactive hyperemia (endothelium-dependent) was $5.4 \pm 4.3\%$, whereas endothelium-independent vasodilatation was $8.4 \pm 3.8\%$. Flow-mediated and nitroglycerin-induced vasodilatations were not significantly altered by the intervention program (Table 5).

DISCUSSION

To our knowledge, this is the first study to measure the short-term effects of the application of the currently recommended lifestyle changes in middle-aged men and women. Flow-mediated dilatation, a measure of vascular endothelial function, is impaired in adults with risk factors for coronary artery disease (3-8) well before clinical evidence of the disease (1,2). The present study has examined the effect of a preventive program of 3 months on vascular reactivity in symptom-free subjects with risk factors for coronary artery disease. Their baseline flow-mediated response was $5.4 \pm 4.3\%$, well below the reported normal value of $10.0 \pm 3.5\%$ (5). The recommended lifestyle changes were beneficial in augmenting exercise capacity and reducing total and LDL cholesterol levels, body weight, percent body fat. In addition, smoking cessation was achieved in 4 out of 6 subjects. Despite modification in the risk factors profile, flow-mediated dilatation of the brachial artery did not improve.

Lifestyle modification with exercise training has been shown to reduce morbidity and mortality due to cardiovascular disease in both primary (20) and secondary prevention (21). The exact mechanism by which such an intervention changes the clinical course in cardiovascular disease is not fully known and is probably multifactorial in origin (22). Increasing evidence supports the role of risk factor modification in reducing the evolution of atherosclerosis (23,24). Aggressive lifestyle changes in subjects with documented coronary artery disease have been shown to reduce the progression of coronary disease and even bring about regression in some arteries (10,11). The improvement in myocardial perfusion after aggressive risk factor modifications, however, is much greater than the angiographic changes (25). These results support the hypothesis of an improvement in endothelial dependent flow-induced vasodilatation (25,26). Less is known, however, about the effect of lifestyle modifications on endothelial function in symptom-free patients with cardiac risk factors.

In clinical practice, many subjects present with several coronary risk factors. In these subjects a multidisciplinary approach is often recommended with an initial emphasis on lifestyle changes. Individuals recruited for our study were representative of a sample of a large number of subjects at moderate to high risk for coronary artery disease. On average, subjects had 4 risk factors for coronary artery disease. The lifestyle changes endorsed mirror the currently recommended initial approach in primary prevention. Patients participating in the present study were given dietary recommendations based on the NCEP Step I diet (27). Using these recommendations, patients reported a satisfactory reduction in total fat consumption of 30 %. These changes were reflected by a corresponding reduction in total and LDL cholesterol levels of 10 % and 11% respectively. Such drop in total and LDL cholesterol levels have been previously reported using this diet (28). The decrease in cholesterol levels however is much lower than values achieved by drug therapy (29) or strict vegetarian diet (10).

Subjects were encouraged to participate in 3 supervised exercise sessions per week. Subjects could choose from 36 available sessions per week and they were called every 2 weeks for encouragements. The flexible schedule and the regular check-up probably played an important role in the high compliance rate observed (more than 95%). Subjects training prescription was at 75 to 85% of their maximal heart rate, which is an exercise of moderate to high intensity level. We have observed an increased in peak oxygen uptake and peak workload of 8% and 16% respectively. These results are comparable to previous reports with exercise training of similar duration (30,31).

Subjects in our study improved their cardiac risk profile. Despite lifestyle intervention such as active living, dietary recommendation and cessation of smoking in 4 of the 6 smokers, vascular endothelial function did not improve in our subjects. The lack of significant changes in endothelial dysfunction could be due to the modest changes in cholesterol level and exercise capacity in our study. Studies demonstrating improvement in endothelial function, after lipid

lowering intervention have a marked reduction in LDL cholesterol of 29 to 40% (29,32). In our study, LDL cholesterol decreased by 11% only. Secondly, while exercise training has been shown to improve endothelial function, (33-35) the improvement in function might be area-specific. Since subjects' exercise training involved mostly the legs, change in vascular function might have been observed if we had used scanning of the femoral artery. Lastly, the absence of endothelial function improvement may be due to the short study period. One year of sustained lifestyle changes was needed to demonstrate changes in coronary artery disease progression in clinical trials (10,11). In addition, while Celermajer et al (5) have observed greater flow-mediated vasodilatation in former smokers when compared to that of current smokers, it is important to note that former smokers in their study had stopped for an average of 6 years. The time course of the improvement in vascular function after cigarette smoking cessation is not known. In the present study, the flow-mediated vasodilatation of the 4 subjects who stopped smoking during the study period did not change, indicating that it may take more than 3 months of smoking cessation for the endothelial response to improve.

In the present study, short-term application of the currently recommended lifestyle intervention in middle-aged men and women with coronary risk factors did not improve vascular endothelial function. Longer and more aggressive program of active living, dietary recommendations and cessation of smoking may be needed to improve vascular function in subjects with risk factors for atherosclerosis.

REFERENCES

1. Reddy KG, Nair RN, Sheehan HM, Hodgson J McB. Evidence that selective endothelial dysfunction may occur in the absence of angiographic or ultrasound atherosclerosis in patients with risk factors for atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:833-43.
2. Zeiher AM, Drexler H, Wolschlagler H, Just H. Modulation of coronary vasomotor tone in humans: progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991;83:391-401.
3. Georgapoulos D, Celermajer D, Thomas O, Robinson J, Betteridge J, Deanfield J. Endothelium-dependent dilatation is impaired in the large arteries of healthy young adult type 1 diabetics and is related to the presence of microalbuminuria. *J Am Coll Cardiol* 1994;Supp:484A (abstract).
4. Panza JA, Garcia CE, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, Cannon RO. Impaired endothelium dependent vasodilatation in patients with essential hypertension. *Circulation* 1995;91:1732-38.
5. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgapoulos D, et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilatation in healthy young adults. *Circulation* 1993;88:2149-55.
6. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-15.
7. Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD. Changes in flow-mediated brachial artery vasoactivity with lowering of desirable cholesterol levels in middle-aged men. *Am J Cardiol* 1996;77:37-40.
8. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Deanfield JE. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in

- women. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:471-76.
9. McGill HC, McMahan CA, Malcom GT, Oalmann MC, Strong JP. Effects of serum lipoproteins and smoking on atherosclerosis in young men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:95-106.
 10. Ornish D, Brown S, Scherwitz LW, et al. Can lifestyle changes reverse coronary heart disease? *Lancet* 1990;336:129-133.
 11. Schuler G, Hambrecht R, Schlierf G, et al. Regular physical exercise and low-fat diet effects on progression of coronary artery disease. *Circulation* 1992;86:1-11.
 12. Garrow JS. *Treat Obesity Seriously - A Clinical Manual*. New York: Churchill Livingstone, 1981.
 13. Pashkow FJ, Dafoe WA. *Clinical Cardiac Rehabilitation - A Cardiologist's Guide*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993:366-67.
 14. Ordre Professionnelle des Diététistes du Québec. *Manuel de Nutrition Clinique*. Annexe D: Histoire Diététique; Questionnaire de fréquence de consommation et rappel de l'alimentation habituelle. Montreal: Guy Connolly, 1997:6-7.
 15. Micozzi MS, Albanes D, Jones DY, Chumlea WC. Correlations of body mass indices with weight, stature, and body composition in men and women in NHANES I and II. *Am J Clin Nutr* 1986;44:725.
 16. Borg GAV. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exc* 1982;14:377.
 17. Beaver WL, Wasserman K, Whipp BJ. A new method for detecting the anaerobic threshold by gas exchange. *J Appl Physiol* 1986;60:2020-27.
 18. Corretti MC, Plotnick GD, Vogel RA. The effects of age and gender on brachial artery endothelium-dependent vasoactivity are stimulus-dependent. *Clin Cardiol* 1995;18:471-76.
 19. Durnin J.V.G.A., Womersley J. Body fat assessed from total body density and estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged 16 to 72 years. *Br J Nutr* 1974;32:77-97.
 20. Paffenbarger RS, Hyde RT, Wing AL, Lee IM, Jung DL, Kampert JB. The

association of changes in physical-activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. *N Engl J Med* 1993;328:538-45.

21. O'Connor GT, Buring JE, Yusuf S, et al. An overview of randomized trials of rehabilitation with exercise after myocardial infarction. *Circulation* 1989;80:234-44.
22. Sellier P. Physical activity in the cardiac patient. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;25(Suppl. 1):S9-S14.
23. Jukema JW, Bruschke AVG, van Boven AJ, et al. Effects of lipid lowering by pravastatin on progression and regression of coronary artery disease in symptomatic men with normal to moderately elevated serum cholesterol levels. *Circulation* 1995;91:2528-2540.
24. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian simvastatin survival study (4S). *Lancet* 1994;344:1383-89.
25. Schuler G, Hambrecht R, Schlierf G, et al. Myocardial perfusion and regression of coronary artery disease in patients on a regimen of intensive physical exercise and low fat diet. *J Am Coll Cardiol* 1992;19:34-42.
26. Levine GN, Keaney JF, Vita JA. Cholesterol reduction in cardiovascular disease: Clinical benefits and possible mechanisms. *N Engl J Med* 1995;332:512-21.
27. Second report of the expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). *Circulation* 1994;89:1336.
28. Davidson MH, Kong JC, Drennan KB, Story K, Anderson GH. Efficacy of the National Cholesterol Education Program Step 1 Diet. *Arch Intern Med* 1996;156:305-12.
29. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS, et al. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1995;332(8):281-87.

30. Nicklas BJ, Rogus EM, Goldberg AP. Exercise blunts declines in lipolysis and fat oxidation after dietary-induced weight loss in obese older women. *Am J Physiol* 1997;273(1 pt 1):E149-55.
31. Suter E, Hoppeler H, Claassen H, et al. Ultrastructural modification of human skeletal muscle tissue with 6-month moderate-intensity exercise training. *Int J Sports Med* 1995;16:160-66.
32. O'Driscoll G, Green D, Taylor RR. Simvastatin, an HMG-Coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. *Circulation* 1997;95:1126-31.
33. Koller A, Huang A, Sun D, Kaley G. Exercise training augments flow-dependent dilatation in rat skeletal muscle arterioles. *Cir Res* 1995;76:544-50.
34. Delp MD, McAllister RM, Laughlin MH. Exercise training alters endothelium-dependent vasoactivity of rat abdominal aorta. *J Appl Physiol* 1993;75:1354-63.
35. Hornig B, Maier V, Drexler H. Physical training improves endothelial function in patients with chronic heart failure. *Circulation* 1996;93:210-4.

Table 1. Subjects' characteristics at the beginning of the study.

Variable	Mean \pm SD (n =22)
Age (years)	55 \pm 7
Men/Women (n)	13/9
Height (cm)	170 \pm 8
Weight (kg)	89 \pm 18
Risk factors	
-Smoking	6 (27%)
-Hypertension	8 (36%)
-Hypercholesterolemia	22 (100%)
-Diabetes mellitus	1 (5%)
-Family history	10 (45%)
-Obesity	15 (68%)
-Sedentary lifestyle	22 (100%)

Values are expressed as mean \pm SD or number (%) of subjects.

Table 2. Exercise test results before and after the prevention program.

Variable	BEFORE	AFTER
SBP rest (mmHg)	136 ± 20	135 ± 16
DBP rest (mmHg)	86 ± 10	83 ± 10
HR rest (BPM)	82 ± 10	77 ± 9
RPE at 1L/min VO _{2Max}	10 ± 2	9 ± 2*
VT (L/min)	1.18 ± 0.31	1.35 ± 0.33**
VT (ml/kg/min)	13.4 ± 2.8	15.8 ± 2.7**
VO _{2Max} (L/min)	2.25 ± 0.62	2.35 ± 0.60*
VO _{2Max} (ml/kg/min)	25.4 ± 4.9	27.5 ± 4.8**
RQ _{Max}	1.06 ± 0.10	1.09 ± 0.07
SBP _{Max} (mmHg)	200 ± 23	199 ± 25
DBP _{Max} (mmHg)	94 ± 14	90 ± 10*
HR _{Max} (BPM)	152 ± 17	152 ± 14
VE _{Max} (BTPS) (L/min)	78.6 ± 22.4	82.5 ± 20.7
WL _{Max} (Watts)	138 ± 37	160 ± 42**

Values are expressed as mean ± SD.

* p < 0.05 vs value before the program

** p < 0.005 vs value before the program

DBP = diastolic blood pressure; HR = heart rate; RPE = rate of perceived exertion; RQ = respiratory quotient; SBP = systolic blood pressure; VE = minute ventilation; VO_{2Max} = peak oxygen uptake; VT = ventilatory threshold; WL = workload

Table 3. Body composition assessment results.

Variable	BEFORE	AFTER
Body weight (kg)	88.6 ± 18.1	85.5 ± 16.6**
Body fat (%)	39.6 ± 6.1	36.8 ± 5.1**
BMI (kg/m ²)	30.7 ± 5.5	29.7 ± 5.0**

Values are expressed as mean ± SD.

** p < 0.005 vs value before the program

BMI = body mass index

Table 4. Biochemical results.

Variable	BEFORE	AFTER
Total cholesterol (mmol/L)	6.70 ± 0.96	6.02 ± 0.91**
LDL cholesterol (mmol/L)	4.48 ± 0.92	4.00 ± 0.83**
HDL cholesterol (mmol/L)	1.16 ± 0.34	1.18 ± 0.35
Triglycerides (mmol/L)	2.36 ± 1.27	1.88 ± 0.82*

Values are expressed as mean ± SD.

* p < 0.05 vs value before the program

** p < 0.005 vs value before the program

HDL = high density lipoproteins; LDL = low density lipoproteins

Table 5. Brachial artery vasoactive response before and after a three months primary prevention program.

Variable	BEFORE	AFTER
Baseline diameter (mm)	4.4 ± 0.7	4.3 ± 0.6
FMD (%)	5.4 ± 4.3	5.1 ± 3.9
NTG-induced dilatation (%)	8.4 ± 3.8	7.4 ± 4.5

Values are expressed as mean ± SD.

FMD = flow-mediated dilatation; NTG = nitroglycerin

CHAPITRE IV: DISCUSSION

DISCUSSION

Des études sur la pathophysiologie de la maladie coronarienne démontrent que l'endothélium est une structure vasculaire cruciale ciblée initialement dans le processus de l'athérosclérose.³ Il est connu que les sujets avec un ou plusieurs facteurs de risque pour la maladie coronarienne présentent une anomalie de vasodilatation endothélium-dépendante des artères coronaires,^{11,110} laquelle favorise la formation de plaques athéromateuses. Par contre, la comparaison du degré de dysfonction endothéliale chez ces sujets sans évidence de maladie versus celui des patients avec une maladie coronarienne déjà établie,^{30,36} lorsque les deux groupes sont dans la même catégorie de risques coronariens, n'a pas été faite. De plus, il n'est pas établi si la réversibilité de la fonction endothéliale est possible, chez les sujets à risque pour l'athérosclérose, suite à un programme de prévention primaire.

Afin d'étudier l'impact des facteurs de risque sur la fonction endothéliale, nous avons, dans un premier temps, évalué la réactivité vasculaire périphérique chez trois groupes de sujets: à haut risque pour l'athérosclérose mais sans évidence de maladie coronarienne, avec une maladie coronarienne établie, et chez un groupe d'individus sains sans facteur de risque. Dans un deuxième temps, nous avons évalué l'effet d'un programme de prévention primaire de 3 mois (diète, exercice aérobique et cessation du tabagisme) sur la fonction endothéliale auprès d'un groupe de sujets à risque pour l'athérosclérose. Ces derniers ont subi une épreuve d'effort, un test sanguin pour déterminer le bilan lipidique et une étude de la réactivité vasculaire de l'artère brachiale avant, et 3 mois après le début du programme de prévention primaire. Dans les deux études, les mesures de la réactivité vasculaire ont été faites à l'aide d'une sonde échographique de haute résolution qui permet d'évaluer de façon non-invasive la réactivité vasculaire endothélium-dépendante (suite à l'hyperémie réactive) et endothélium-indépendante (suite à l'administration de nitroglycérine sublinguale)

de l'artère brachiale. Il a été démontré que cette méthode reflète conformément la capacité de vasodilatation des artères coronariennes.

4.1 ÉTUDE DE LA FONCTION ENDOTHÉLIALE CHEZ DIFFÉRENTES POPULATIONS

Les résultats de la première étude, ont tout d'abord authentifié les observations d'études antérieures révélant des anomalies de fonction endothéliale chez les sujets à risque pour l'athérosclérose^{11,110} et les patients coronariens.^{30,36} La vasodilatation endothélium-dépendante a été trouvée significativement réduite chez ces deux groupes comparativement à la réponse trouvée chez les sujets sains. Toutefois, nos résultats se distinguent par le fait que dans notre échantillon de sujets à risque pour l'athérosclérose, la vasodilatation endothélium-dépendante de l'artère brachiale a été trouvée significativement réduite, de façon similaire à celle des patients avec une maladie coronarienne établie, respectivement 40% et 50% de la réponse normale. Ceci suggère que l'endothélium présente une anomalie de fonction importante avant toute déclaration de la maladie coronarienne, chez les sujets avec plusieurs facteurs de risque.

Ces observations peuvent aussi nous amener à reconsidérer la classification des sujets suggérée jusqu'à présent, les sujets asymptomatiques avec facteurs de risque étant toujours considérés cliniquement comme des individus sains.¹ De plus, puisque le profil de facteurs de risque chez nos deux groupes de sujets, à risque et coronariens, était également élevé, ceci nous porte à penser qu'il pourrait s'agir de deux groupes identiques, en ce qui concerne l'anomalie de la fonction endothéliale des vaisseaux coronariens. La seule différence serait qu'un groupe de sujets a présenté des événements cardiovasculaires, par conséquent diagnostiqués coronariens, et qu'il ne s'agirait que d'une question de temps pour qu'ils surviennent chez l'autre groupe.

Ceci démontre la nécessité de développer des méthodes pour prévenir la manifestation de ces événements cardiovasculaires et leurs conséquences. Il est possible que la modification des habitudes de vie, visant la réduction des facteurs de risque, puisse améliorer la fonction endothéliale des sujets asymptomatiques avec facteurs de risque.

4.2 ÉTUDE DES EFFETS DE LA PRÉVENTION PRIMAIRE

Nous avons observé, au cours de la deuxième étude, une amélioration du profil des facteurs de risque, sans toutefois se traduire par une amélioration de la fonction endothéliale suite à notre programme de prévention primaire.

Le traitement diététique de l'hypercholestérolémie proposé par le National Cholesterol Education Program step I diet, a eu comme effet de produire une réduction significative de l'apport quotidien en calories totales chez nos sujets à risque pour l'athérosclérose. De cet apport journalier, une diminution de 30% de la consommation de gras a été atteinte. Ceci peut expliquer la diminution de 10% et 11% du niveau de cholestérol total et de LDL, respectivement. Cette baisse de cholestérol a déjà été rapportée avec l'utilisation de cette diète.¹¹¹ Il est possible, par contre, que la réduction observée dans la présente étude ne soit pas suffisante pour changer la fonction endothéliale, vu qu'une diminution du LDL de 28% à 40% par un traitement pharmacologique a été obtenue dans les études démontrant une amélioration de la fonction vasculaire.^{88,89} À notre connaissance, aucune valeur seuil concernant la réduction du cholestérol pour produire une amélioration de la fonction endothéliale vasculaire n'est connue. Cette donnée suggérerait peut-être que l'utilisation d'une diète de phase I est insuffisante pour obtenir à court terme les résultats escomptés sur la fonction endothéliale.

Une diminution significative du poids a aussi été observée après 3 mois de notre programme. Ceci peut être dû, entre autres, aux changements alimentaires, mais aussi au passage d'un style de vie sédentaire à un style de vie actif chez tous nos sujets. En preuve de ce changement, la consommation maximale d'oxygène et le travail maximum ont augmenté de 8% et 16%, respectivement. L'effet de l'exercice est comparable avec d'autres résultats rapportés suite à un entraînement physique d'une durée similaire.^{112,113} Même s'il a été démontré que suite à un entraînement physique, la fonction endothéliale peut s'améliorer,^{101,114} il semble que cette amélioration soit spécifique aux vaisseaux des membres stimulés par l'entraînement. Chez des insuffisants cardiaques, une amélioration spécifique de la fonction endothéliale du bras entraîné a été démontrée, alors qu'aucune amélioration n'a été observée au niveau du bras contrôle.¹¹⁵ Puisque l'entraînement chez nos sujets impliquait principalement les jambes, nous spéculons qu'un changement de la fonction vasculaire aurait possiblement été détectable en mesurant la réactivité de l'artère fémorale.

Enfin, l'absence d'amélioration de la fonction endothéliale pourrait être due au fait que la période de l'étude était courte. Dans les études antérieures, il a fallu un an de modifications soutenues des habitudes de vie pour démontrer des changements dans la progression de la maladie coronarienne.^{14,15} De plus, Celermajer et al.⁴³ ont observé une meilleure vasodilatation endothélium-dépendante chez les anciens fumeurs comparativement à celle des fumeurs. Cependant, il est important de souligner que cette amélioration a été notée après un temps moyen de six ans suite à l'arrêt du tabagisme. Le temps requis pour l'amélioration de la fonction vasculaire suite à l'arrêt du tabac est inconnu. Dans la présente étude, la vasodilatation médiée par le débit des quatre sujets qui ont cessé de fumer n'a pas changé, indiquant qu'il pourrait prendre plus que 3 mois pour que la fonction endothéliale s'améliore suite à l'arrêt du tabac.

Un programme de prévention plus long et plus agressif pour les recommandations diététiques, l'adaptation à un style de vie actif, et l'arrêt du

tabac pourrait donc être nécessaire pour améliorer la fonction vasculaire des sujets avec facteurs de risque pour l'athérosclérose.

4.3 LIMITATIONS DES ÉTUDES

Les deux études présentées dans ce mémoire ont la particularité d'être les premières visant à démontrer, dans un premier temps, l'absence de différence de dysfonction endothéliale entre les sujets à risque pour les maladies coronariennes et les coronariens, et dans un deuxième temps, à démontrer l'absence de l'amélioration de la fonction endothéliale chez les sujets à risque par un programme de prévention primaire d'intensité modérée et de courte durée.

De plus, la deuxième étude comporte un certain trait d'originalité puisqu'elle reflète la vie de tous les jours suggérant un programme, beaucoup moins sévère que celui proposé par Ornish et al.,¹⁴ mais correspondant à la réalité du quotidien quant aux changements des habitudes de vie. Les résultats s'avèrent décevants puisqu'aucune amélioration de la fonction endothéliale n'a été démontrée, mais probablement que ceci reflète la réalité et qu'il faudrait un programme plus agressif et plus long pour produire un changement.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer la variabilité de nos résultats. Il est possible qu'on ait manqué un effet du programme de prévention ou une différence de la fonction endothéliale des sujets à risque et coronariens par manque de puissance statistique dû à des échantillons trop restreints. Ceci peut être dû aussi en partie aux limitations méthodologiques du Doppler brachial, l'outil principal de ces études.

Tout d'abord on observe dans notre première étude, que les réponses à la nitroglycérine pour les coronariens (5,7%) ou pour les sujets à risque et

normaux (environ 9%) sont inférieures à celles rapportées dans la littérature. Ceci peut être dû à la courbe d'apprentissage de la technique. De plus, les Dopplers ont été effectués par deux individus, contribuant ainsi à augmenter la variabilité des mesures.

Les calculs de puissance à priori (effectués à partir des chiffres obtenus dans la littérature) sont différents de ceux effectués à posteriori (fait à partir des chiffres obtenus dans notre étude). La variabilité n'explique pas l'inexactitude possible des résultats, dans la première étude, puisque l'écart-type obtenu est égal à celui prévu. L'écart-type moyen trouvé est de 3.74%, alors que celui attendu était aussi de 4%, comme rapporté par Celermajer et al.⁴³ C'est ce dernier qui a été utilisé pour calculer à priori la taille échantillonnale requise pour l'ANOVA comprenant trois groupes, pour une puissance $1-\beta$ de 80% et un niveau critique α de 5.00%.¹¹⁶ La taille de l'échantillon a été établie par ce calcul à 14 sujets par groupe. Le nombre de sujets requis par groupe a donc été respecté dans cette première étude ($n_1=14$, $n_2=32$, $n_3=20$).

Par contre, la puissance est diminuée en deçà de 80% par une autre variable, puisque nous avons obtenu une moins grande différence entre les moyennes que celle estimée. On s'attendait à une différence de 5% entre les groupes de sujets coronariens et à risque pour la vasodilatation médiée par le débit (FMD). Ce chiffre a été obtenu en faisant une moyenne de ce que Celermajer et al.⁴³ ont observé, soit un FMD de 10% chez les sujets contrôles et de 4% chez les fumeurs et en considérant une autre étude de Celermajer et al.³⁶ qui ont rapporté un FMD de 11% chez les contrôles, 4% chez les fumeurs et 0% chez les coronariens. Nos résultats suggèrent qu'il y a aucune différence du degré de dysfonction endothéliale entre les coronariens et les sujets à risque. Il est possible que nous n'ayons pas eu la puissance pour démontrer une différence significative.

En ce qui concerne l'étude de prévention primaire, l'écart-type obtenu, soit de 4.1% en moyenne, est supérieur à celui estimé à priori lors du calcul de puissance pour test t de Student pour mesures répétées.¹¹⁶ L'écart-type prévu était de 3%, mais ce chiffre est trop petit considérant qu'il est de 4% en moyenne dans la littérature⁴³ et dans notre laboratoire.¹¹⁷ La différence entre les moyennes pré et post attendue était de 2% pour le FMD, puisque la littérature rapporte une différence de 1.1% entre les fumeurs et anciens fumeurs (5.1%-4.0%).⁴³ Une plus grande amélioration de la fonction endothéliale était attendue puisque notre programme impliquait une intervention multiple. Nous avons donc sous-estimé l'écart-type et surestimé l'effet attendu, puisqu'aucun changement significatif de la fonction endothéliale a été observé en 3 mois. Cette conclusion est présentée sous toute réserve, car le calcul de puissance utilisé était basé sur des données trop optimistes. On comprend alors l'importance primordiale de bien définir à priori les variables du calcul de puissance dans un protocole bien structuré, avant de débiter une étude.

D'autres paramètres ont pu affecter la mesure de la fonction endothéliale au cours de ce projet. Il est connu qu'il existe une corrélation négative entre la réactivité brachiale à l'hyperémie réactive et le diamètre de base.¹¹⁰ Dans la première étude, les diamètres de l'artère brachiale du groupe de sujets normaux étaient statistiquement plus petits que ceux des coronariens et des sujets à risque. La réponse pour le diamètre de base a alors été corrigée par une étude de covariance en contrôlant cette variable. Ceci a permis une comparaison plus homogène des données. Avec ces corrections, l'analyse statistique finale change. La fonction endothéliale des sujets normaux devient non significative avec celle du groupe de sujets à risque et des coronariens. Ainsi, le diamètre brachial de base devient une limitation majeure.

La fonction endothéliale varie aussi selon l'âge. Le vieillissement est associé à la progression de la dysfonction endothéliale.⁴¹ Pour nos études, il ne s'agit pas d'un facteur limitant puisque nos groupes ont une moyenne d'âge

statistiquement semblable. Il est concevable que ces mêmes études effectuées chez des groupes d'individus d'âge différents donneraient des résultats différents. Le sexe des sujets influence aussi la fonction endothéliale.⁴² Idéalement, les études ne devraient pas être mixtes, surtout lorsqu'on considère le cycle menstruel. Il est difficile de connaître à quelle phase du cycle les femmes se situent lors des études, et surtout, encore plus d'exiger qu'elles se trouvent toutes à la même phase. Il est clairement démontré que ceci influence la réactivité vasculaire et amène à croire que les femmes préménopausées devraient être exclues, rendant autrement les données hétérogènes. Pour notre première étude, 6 femmes dans les groupes de sujets à risque et normaux étaient préménopausées. Il est possible que ce facteur ait pu contribuer à augmenter la variabilité globale des résultats. Par contre, une seule femme était préménopausée pour la deuxième étude, influençant de façon négligeable les données finales. La majorité des femmes étaient donc postménopausées, comme souhaité, et aucune sous hormonothérapie de remplacement, autre paramètre connu pour modifier la réactivité de l'artère brachiale, les estrogènes semblant améliorer la fonction endothéliale.¹¹⁸

Enfin, la prise de multiples autres médicaments (ACE, antagonistes de calcium etc.), et les stimulants tels le tabac et la caféine influencent aussi cette mesure. Toutes les précautions ont été prises pour réduire leurs effets. Tous les sujets cessaient leur médication 24 heures précédant l'échographie et s'abstenaient de fumer et de consommer des boissons à teneur de caféine 10 heures avant le test. De plus, les sujets ne pouvaient prendre d'anti-inflammatoires non-stéroïdiens une semaine précédant le test, car ils peuvent diminuer la réponse en bloquant les prostaglandines, dont la prostacycline qui est un puissant vasodilatateur endogène. Aucun sujet ne prenait de nitrates, substance dilatatrice majeure impliquée dans la vasoactivité artérielle.

Finalement, toutes ces limitations présentées ici doivent être considérées lors de l'ébauche d'un projet de recherche et lors de l'interprétation des résultats

des études. Dans notre cas, les faiblesses des études sont clairement la puissance et le diamètre de base des sujets de la première étude. Ces études sont ainsi limitées, mais il s'agit d'études pilotes suggérant que les adultes à risque pour l'athérosclérose présentent une fonction endothéliale altérée, au même niveau que celle des patients coronariens, et qu'une amélioration de la fonction endothéliale chez les sujets à risque n'est pas détectée après un programme de prévention primaire d'intensité modérée et de courte durée. Des études à plus grande échelle et plus longues pourraient mieux répondre à ces questions.

4.4 CONCLUSION

L'étude de la dysfonction endothéliale chez les adultes à risque pour l'athérosclérose a permis d'identifier ces sujets comme ayant une fonction endothéliale réduite de façon similaire à celle des patients avec maladie coronarienne établie. Toutefois, étant toujours considérés comme des sujets sains asymptomatiques, il semble absolument indispensable d'encourager ces individus avec facteurs de risque à modifier leurs habitudes de vie, dans le but de maintenir leur bon état de santé plus longtemps. Les facteurs de risque sont en grande partie des retentissements du style de vie moderne, et ils sont interactifs. Ainsi, pour produire l'impact le plus significatif sur l'amélioration de la santé générale et pour réduire le risque de maladie cardiovasculaire, il est impératif de s'occuper de la personne entière, modifiant la totalité du style de vie pour parvenir à de bonnes habitudes en accord avec la santé.

Dans cette optique, les résultats de notre deuxième étude suggèrent que malgré une amélioration possible du profil des facteurs de risque, la dysfonction endothéliale n'est pas réversible à court terme par un programme de prévention primaire. Ces observations suggèrent que puisque la réversibilité semble être un processus à plus long terme, suite à un tel programme, pour un maximum de bénéfices, les efforts de mesures préventives devraient également être dirigés vers les jeunes. De plus, ceci démontre l'importance de développer des techniques pour la détection précoce de la maladie.

Il s'avèrerait fort intéressant d'assurer un suivi auprès de cet échantillon d'individus à risque pour l'athérosclérose afin de déterminer à quel moment la fonction endothéliale serait réversible et de quantifier l'impact de chaque facteur de risque. Des études additionnelles seraient aussi nécessaires pour déterminer la contribution relative de chaque composante du programme de modification des habitudes de vie et les mécanismes de changements dans l'athérosclérose coronarienne.

Par la suite, une série d'études sur les réponses endothélium-dépendantes artérielles devraient permettre l'investigation de thérapies de types appropriés et l'établissement d'une grande variété d'interventions, incluant la modification des facteurs de risque, à un moment où le processus de la maladie est le plus susceptible d'être modifiable.

On pourrait ainsi penser à une ère où les sujets à haut risque pour la maladie coronarienne ne seront non seulement identifiables avant la présentation symptomatique de la maladie, mais les résultats d'un test non-invasif de la vasodilatation médiée par le débit de l'artère brachiale pourraient permettre un moyen facile de diagnostique quant au suivi des sujets. Les résultats de ce test pourraient également fournir la motivation à un individu pour modifier ses habitudes de vie.

La disponibilité d'une méthode non-invasive pour évaluer la santé vasculaire va devenir un outil important pour nous aider à définir davantage l'importance et l'interaction complexe entre les facteurs de risque coronariens, la fonction endothéliale et l'athérosclérose.

RÉFÉRENCES

RÉFÉRENCES CITÉES AUX CHAPITRES I ET IV

1. Heart and Stroke Foundation of Canada: **Heart Disease and Stroke in Canada**. Ottawa, Canada, 1997.
2. Baim DS, Grossman W. **Cardiac catheterization, angiography and intervention**. (5th edition) Williams and Wilkins, Baltimore. 1996; 13:183-218.
3. Lüscher TF. The endothelium and cardiovascular disease - a complex relation. **N Eng J Med** 1994; 330: 1081-1083.
4. Dupuis J. The endothelium and the paradoxes of heart disease. **Can J CME** 1995; Dec: 87-96.
5. Naylor CD, Chen E. Population-wide mortality trends among patients hospitalized for acute myocardial infarction: The Ontario experience, 1981-1991. **J Am Coll Cardiol** 1994; 24:1431-1438.
6. Rogers WJ, Bowlby LJ, Chandra NA. Treatment of myocardial infarction in the United States (1990 to 1993): Observations from the national registry of myocardial infarction. **Circulation** 1994; 90: 2103-2114.
7. Hunink MGM, Goldman L, Tosteson ANA. The Recent decline in mortality from the coronary heart disease, 1980-1990. The effect of secular trends in risk factors and treatment. **JAMA** 1997; 277: 535-542.
8. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular risk factors: the Framingham Study. **Circulation** 1979; 59: 8-13.
9. Dawber TR. **The Framingham Study: The epidemiology of Atherosclerosis Disease**. Cambridge, Ma: Harvard University Press, 1980, p.257.
10. Förstermann U, Mügge A, Alheid U, Haverich A, Frölich JC. Selective attenuation of endothelium-mediated vasodilatation in atherosclerotic human coronary arteries. **Cir Res** 1988; 62: 185-190.
11. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, McLenachan JM, Fish RD, Yeung AC, Vekshtein VI, Selwyn AP, Ganz P. Coronary vasomotor response to

acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. **Circulation** 1990; 81: 491-497.

12. Health Canada. **Canadians and Heart Health: Reducing the risk.** Ottawa, ON: Health Canada, 1995.
13. Wong T, Wilkins K. How many deaths from major chronic disease could be prevented: **Chronic Disease in Canada.** 1990; 11: 573-575.
14. Ornish D, Brown S, Scherwitz LW, Billings JH, Armstrong WT, Ports TA, McLanahan SM, Kirkeeide RL, Brand RJ, Gould, KL. Can lifestyle changes reverse coronary heart disease? **Lancet** 1990; 336: 129-133.
15. Schuler G, Hambrecht R, Schlierf G, Niebauer J, Hauer K, Neumann J, Hoberg E, Drinkmann A, Bacher F, Grunze M, Kübler W. Regular physical exercise and low-fat diet effects on progression of coronary artery disease. **Circulation** 1992; 86: 1-11.
16. Kannel WB, Dawber TR. Atherosclerosis as a pediatric problem. **J Pediatr** 1972; 80: 544-554.
17. McMillan GC. Development of atherosclerosis. **Am J Cardiol** 1973; 31: 542-546.
18. Enos WF, Holmes RH, Beyer J. Coronary disease among United-States soldiers killed in action in Korea. **JAMA** 1986; 256(20): 2859-2862.
19. Lüscher TF, Vanhoutte PM. **The endothelium: modulator of cardiovascular function.** Boca Raton, Fla.: CRC Press, 1990.
20. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature** 1980; 288: 373-376.
21. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. **Nature** 1993; 362: 801-809.
22. Yang Z, Stulz P, von Segesser L, Bauer E, Turina M, Lüscher TF. Different interactions of platelets with arterial and venous coronary bypass vessels. **Lancet** 1991; 337: 939-943.

23. Meredith IT, Anderson TJ, Uehata A, Yeung AC, Selwyn AP, Ganz P. Role of endothelium in ischemic coronary syndromes. **Am J Cardiol** 1993; 72: 27C-32C.
24. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis - an update. **N Engl J Med** 1986; 114: 488-500.
25. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. **N Engl J Med** 1992; 326(4): 242-250.
26. Ignarro LB, Byrns RE, Buga GM, Wood KS. Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possess pharmacologic and chemical properties identical to those of NO radical. **Circ Res** 1987; 61: 866-879.
27. Pohl U, Holtz J, Busse R, Bassenge E. Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo. **Hypertension** 1986; 8: 37-44.
28. Inoue T, Tomoike H, Hisano K, Nakamura M. Endothelium determines flow-dependent dilatation of the epicardial coronary in dogs. **J Am Coll Cardiol** 1988; 11: 187-191.
29. Rubanyi GM. **Cardiovascular significance of endothelium-derived vasoactive factors**. Mt. Kisco, NY: Futura Publishing, 1991.
30. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, Ganz P. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. **N Engl J Med** 1986; 315: 1046-1051.
31. Reddy KG, Nair RN, Sheehan HM, Hodgson J McB. Evidence that selective endothelial dysfunction may occur in the absence of angiographic or ultrasound atherosclerosis in patients with risk factors for atherosclerosis. **J Am Coll Cardiol** 1994; 23: 833-843.
32. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, McLenachan JM, Fish D, Yeung AC, Vekshtein VI, Selwyn AP, Ganz P. Coronary vasomotor response to

acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. **Circulation** 1990; 81: 491-497.

33. Seiler C, Hess OM, Buechi M, Suter TM, Krayenbuehl HP. Influence of serum cholesterol and other coronary risk factors on vasomotion of angiographically normal coronary arteries. **Circulation** 1993; 88(part 1): 2139-2148.
34. Gage JE, Hess OM, Murakami T, Ritter M, Grimm J, Krayenbuehl HP. Vasoconstriction of stenotic coronary arteries during exercise in patients with classic angina pectoris: reversibility by nitroglycerin. **Circulation** 1986; 73: 865-876.
35. Zeiher AM, Drexler H, Wolschlagler H, Just H. Modulation of coronary vasomotor tone in humans: progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. **Circulation** 1991; 83: 391-401.
36. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. **Lancet** 1992; 340: 1111-1115.
37. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrangue D, Lieberman EH, Ganz P, Creager MA, Yeung AC, Selwyn AP. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. **J Am Coll Cardiol** 1995; 26(5): 1235-1241.
38. Motoyama T, Kawano H, Kugiyama K, Okumura K, Ohgushi M, Yoshimura M, Hirashima O, Yasue H. Flow-mediated, endothelium-dependent dilatation of the brachial arteries is impaired in patients with coronary spastic angina. **Am Heart J** 1997; 133 : 263-267.
39. Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD. Changes in flow-mediated brachial artery vasoactivity with lowering of desirable cholesterol levels in middle-aged men. **Am J Cardiol** 1996; 77: 37-40.

40. Georgapoulos D, Celermajer D, Thomas O, Robinson J, Betteridge J, Deanfield J. Endothelium-dependent dilatation is impaired in the large arteries of healthy young adult type 1 diabetics and is related to the presence of microalbuminuria. **J Am Coll Cardiol** 1994; Supp: 484A. (abstract)
41. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Deanfield JE. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. **J Am Coll Cardiol** 1994; 24: 471-476.
42. Corretti MC, Plotnick GD, Vogel RA. The effects of age and gender on brachial artery endothelium-dependent vasoactivity are stimulus-dependent. **Clin Cardiol** 1995; 18: 471-476.
43. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgapoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, Deanfield JE. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilatation in healthy young adults. **Circulation** 1993; 88 : 2149-2155.
44. Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Thomas O, Deanfield JE. Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. **Br Heart J** 1995; 74: 247-53.
45. Uehata A, Lieberman EH, Meredith IT, Anderson TJ, Polak J, Ganz P, Selwyn AP, Creager M, Yeung AC. Non-invasive assessment of flow-mediated vasodilatation in brachial arteries: diminished response in young males compared to females. **Circulation** 1992; 86; 1-620. (Abstract)
46. Lowensteyn I, Grover SA, Smilovitch M. Heart disease and exercise part I: Prevention of disease. **Can J CME** 1995; Feb; 57-64.
47. Canadian Heart Health Surveys: A profile of cardiovascular risk. **Can Med Ass J** 1992; 146: 1969-2029.

48. Connelly PW, Mac Lean DR, Horlick L. Plasma lipids and lipoproteins and the prevalence of risk for coronary heart disease in Canadian adults. **Can Med Ass J** 1992; 146(11,suppl): 1977-1987.
49. Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PWF, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. **JAMA** 1986; 256: 2835-2838.
50. Cathcart MK, Morel DW, Chilsom GM. Monocytes and neutrophils oxidize low density lipoprotein making it cytotoxic. **J Leukoc Biol** 1985; 38: 341-350.
51. Fogelman AM, Schechter I, Seager J. Malondialdehyde alteration of low density lipoprotein leads to cholesteryl-ester accumulation in human monocyte-macrophages. **Proc Natl Acad Sci U S A** 1980; 77: 2214-2218.
52. Henriksen T, Mahoney EM, Steinberg D. Enhanced macrophage degradation of low density lipoprotein previously incubated with cultured endothelial cells: Recognition by receptors for acetylated low density lipoproteins. **Proc Natl Acad Sci U S A** 1981; 78: 6499-6503.
53. Flavahan NA. Atherosclerosis or lipid-induced endothelial dysfunction. Potential mechanisms underlying reduction in EDRF / nitric oxide activity. **Circulation** 1992; 85: 1927-1938.
54. Pearson TA, Swan HJC. Lipid lowering. The case for identifying and treating the high-risk patient. **Cardiol Clin** 1996; 14(1): 177-130.
55. Harris MI, Hadden WC, Knoler WC. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance and plasma glucose levels in the US population aged 20-74 years. **Diabetes** 1987; 36: 523-534.
56. Sank A, Wei D, Reid J, Ertl D, Nimni M, Weaver F, Yellin A, Tuan TL. Human endothelial cells are defective in diabetic vascular disease. **J Surg Res** 1994; 57: 647-653.

57. Hoogerbrugge N, Verkerk A, Jacobs ML, Postema PT, Jongkind JF. Hypertriglyceridemia enhances monocyte binding to endothelial cells in NIDDM. **Diabetes Care** 1996; 19: 1122-1125.
58. Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, Cusco JA, Lee BK, Creager MA. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. **Circulation** 1993; 88: 2510-2516.
59. McNally PG, Watt PA, Rimmer T, Burden AC, Hearnshaw JR, Thurston H. Impaired contraction and endothelium-dependent relaxation in isolated resistance vessels from patients with insulin-dependent diabetes mellitus. **Clin Sci** 1994; 87: 31-36.
60. Creager MC, Crooke JP, Mendelsohn ME, Gallagher SJ, Coleman SM, Loscalzo J, Dzau VJ. Impaired vasodilatation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. **J Clin Invest** 1990; 86: 228-34.
61. Zeiher AM, Drexler H, Saurbier B, Just H. Endothelium-mediated coronary blood flow modulation in humans: effects of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia, and hypertension. **J Clin Invest** 1993; 92: 652-662.
62. Saenz de Tejada , Goldstein I, Azadzo K, Krane RJ, Cohen RA. Impaired neurogenic and endothelium-mediated relaxation of penile smooth muscle from diabetic men with impotence. **N Engl J Med** 1989; 320: 1025-1030.
63. Clarkson P, Celermajer DS, Donald AE, Sampson M, Sorensen KE, Adams M, Yue DK, Betteridge DJ, Deanfield JE. Impaired vascular reactivity in insulin-dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density lipoprotein cholesterol levels. **J Am Coll Cardiol** 1996; 28: 573-579.
64. Doll R, Peto R, Wheatley K. Mortality in relation to smoking: 40 years' observations on male British doctors. **BMJ** 1994; 309: 901-911.

65. Jonas MA, Oates JA, Ockene JK. Statement on smoking and cardiovascular disease for health care professionals: AHA Medical/Scientific Statement. **Circulation** 1992; 86: 1664-1669.
66. Willett WC, Green A, Stampfer MJ. Relative and absolute excess risks of coronary heart disease among women who smoke cigarettes. **N Engl J Med** 1987; 317: 1303-1309.
67. Quillen JE, Rossen JD, Oskarsson HJ. Acute effect of cigarette smoking on the coronary circulation: Constriction of epicardial and resistance vessels. **J Am Coll Cardiol** 1993; 22: 642-647.
68. Blann AD. The acute influence of smoking on the endothelium. **Atherosclerosis** 1992; 96: 249-250.
69. Craig WY, Palomaki GE, Haddow JE. Cigarette smoking and serum lipid and lipoprotein concentrations: An analysis of published data. **BMJ** 1989; 298: 784-788.
70. Eliasson M, Asplund K, Evrin P-E. Relationship of cigarette smoking and snuff dipping to plasma fibrinogen, fibrinolytic variables and serum insulin: The Northern Sweden MONICA study. **Atherosclerosis** 1995; 113: 41-53.
71. Heitze, Olschewski M, Drexel H. Cigarette smoking potentiates endothelial dysfunction of forearm resistance vessels in patients with hypercholesterolemia. Role of oxidized LDL. **Circulation** 1996; 93: 1346-1353.
72. Kannel WB. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevalence and treatment. **JAMA** 1996; 275: 1571-1576.
73. Joffres MR, Hamet P, Rabkin SW. Prevalence, control and awareness of high blood pressure among Canadians adults. **Can Med Assoc J** 1992; 146(Suppl): 1997-2005.
74. Treasure CB, Manouakian SV, Klein JI. Epicardial coronary artery responses to acetylcholine are impaired in hypertensive patients. **Cir Res** 1992; 71: 776-781.

75. Linder L, Kiowski W, Büuler FR, Lüscher TF. Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo: blunted response in essential hypertension. **Circulation** 1990; 81: 1762-1767.
76. Panza JA, Casino Pr, Badar DM, Quyyumi AA. Effect of increased availability of endothelium-derived nitric oxide precursor on endothelium-dependent vascular relaxation in normal subjects and patients with essential hypertension. **Circulation** 1993; 87: 1475-1481.
77. Panza JA, Garcia CE, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, Cannon RO. Impaired endothelium dependent vasodilatation in patients with essential hypertension. **Circulation** 1995; 91: 1732-1738.
78. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. **N Eng J Med** 1990; 323: 22-27.
79. Taddei S, Virdis A, Mattei P, Salvetti A. Vasodilatation to acetylcholine in primary and secondary forms of humans hypertension. **Hypertension** 1993; 21: 929-933.
80. American Heart Association. The committee on exercise and cardiac rehabilitation of the council on clinical cardiology. Benefits and recommendations for physical activity programs for all americans. **Circulation** 1992; 86: 340-344.
81. United States Department of Health and Human Services. **Physical activity and health: A report of the Surgeon General**. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, 1996.
82. Ornish D. **Reversing heart disease**. New York: Random House, Inc., 1991.

83. Nikkilä EA, Viikinkoki P, Valle M, Frick M. Prevention of progression of coronary atherosclerosis by treatment of hyperlipidemia: a seven year prospective angiographic study. **BMJ** 1984; 289: 220-223.
84. Rose C. Beyond cholesterol: lifestyle and heart disease. **Med North America** 1995; Jul/Aug: 627-632.
85. Frontières médicales internationales. Mise à jour sur le traitement de l'athérosclérose: Nouvelles informations tirées de la récente analyse de l'étude 4S. **68^e Séance scientifique de l'American Heart Association** 1995; Nov.
86. Jukema JW, Bruschke AVG, Boven AJ, Reiber JHC, Bal ET, Zwinderman AH, Jansen H, Boerma GJM, Rappard FM, Lie KI. Effects of lipid lowering by pravastatin on progression and regression of coronary artery disease in symptomatic men with normal to moderately elevated serum cholesterol levels: The regression growth evaluation statin study (REGRESS). **Circulation** 1995; 91: 2528-2540.
87. Zelis R, Mason DT, Braunwald E, Levy RI. Effects of hypolipoproteinemias and their treatment on the peripheral circulation. **J Clin Invest** 1970; 49: 1007-1015.
88. Treasure CB, Klein JL, Weintraub W, Talley JD, Stillabower ME, Kosinski AS, Zhang J, Boccuzzi SJ, Cedarholm JC, Alexander RW. Beneficial effects of cholesterol lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. **N Eng J Med** 1995; 332: 481-487.
89. O'Driscoll G, Green D, Taylor RR. Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month. **Circulation** 1997; 95: 1126-1131.
90. Tamai O, Matsuoka H, Itabe H, Wada Y, Kohno K, Imaizumi T. Single LDL apheresis improves endothelium-dependent vasodilatation in hypercholesterolemic humans. **Circulation** 1997; 95: 76-82.

91. Aberg A, Bergstrand R, Johansson S. Cessation of smoking after myocardial infarction: Effects on mortality after 10 years. **Br Heart J** 1983; 49: 416-422.
92. Rosenberg L, Palmer JR, Shapiro S. Decline in the risk of myocardial infarction among women who stop smoking. **N Engl J Med** 1990; 322: 213-217.
93. Luscher TF, Vanhoutte PM, Raij L. Antihypertensive treatment normalizes decreased endothelium-dependent relaxations in rats with salt-induced hypertension. **Hypertension** 1987; (Suppl): 193-197.
94. Sugimoto T, Tobian L, Ganguli MC. High potassium diets protect against dysfunction of endothelial cells in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Hypertension** 1988; 11: 579-585.
95. Panza JA, Quyyumi AA, Callahan TS, Epstein SE. Effect of antihypertensive treatment on endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. **J Am Coll Cardiol** 1993; 21: 1145-1151.
96. Hambrecht R, Niebauer J, Marburger C. Various intensities of leisure time physical activity in patients with coronary artery disease: Effects on cardiorespiratory fitness and progression of coronary atherosclerotic lesions. **J Am Coll Cardiol** 1993; 22: 467-468.
97. Blair SN, Kohl HW III, Paffenbarger RS Jr. Physical fitness and all-cause mortality: A prospective study of healthy men and women. **JAMA** 1989; 262: 2395-2401.
98. Powell KE, Thompson PD, Caspersen CJ. Physical activity and the incidence of coronary heart disease. **Ann Rev Public Health** 1987; 8: 253-287.
99. Fletcher GF. The antiatherosclerotic effect of exercise and development of an exercise prescription. 1996; 14: 85-95.
100. Smilovitch M, Grover S, Lowensteyn I. Heart disease and exercise part II: Can patients benefit? **Can J CME** 1995; Jul: 67-70.

101. Delp MD, Mc Allister M, Laughlin. Exercise training alters endothelium-dependent vasoreactivity of rat abdominal aorta. **J Appl Physiol** 1993; 75: 1354-1363.
102. Koller A, Huang A, Sun D, Kaley G. Exercise training augments flow-dependent dilatation in rat skeletal muscle arterioles. **Cir Res** 1995; 76: 544-550.
103. Gordon N, Cooper K. Controlling cholesterol levels through exercise. **Compr Ther** 1988; 14: 52-57.
104. Hagberg JM, Seals DR. Exercise training and hypentension. **Acta Med Scand** 1986; 711(suppl): 131-136.
105. Helmrich SP, Ragland DR, Leung RW. Physical activity and reduced occurrence of non-insulin-dependent diabetes mellitus. **N Engl J Med** 1991; 325: 147-152.
106. Wood PD, Stefanick ML, Dreon DM. Changes in plasma lipids and lipoproteins in overweight men during weight loss through dieting as compared to exercise. **N Engl J Med** 1988; 319: 1173-1179.
107. Rigotti NA, Pasternak RC. Cigarette smoking and coronary heart disease. Risks and management. **Cardiol Clin** 1996; 14: 51-68.
108. William. Cardiovascular risk-factor reduction in elderly patients with cardiac disease. **Phys Ther** 1996; 76: 469-480.
109. DeBusk RF. MULTIFIT A new approach to risk factor modification. **Cardiol Clin** 1996; 14: 143-157.
110. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilatation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. **J Am Coll Cardiol** 1994; 24 : 1468-1474.
111. Davidson MH, Kong JC, Drennan KB, Story K, Anderson GH. Efficacy of the National Cholesterol Education Program Step 1 Diet. **Arch Intern Med** 1996; 156: 305-312.

112. Nicklas BJ, Rogus EM, Goldberg AP. Exercise blunts declines in lipolysis and fat oxidation after dietary-induced weight loss in obese older women. **Am J Physiol** 1997; 273(1 pt 1): E149-55.
113. Suter E, Hoppeler H, Claassen H, et al. Ultrastructural modification of human skeletal muscle tissue with 6-month moderate-intensity exercise training. **Int J Sports Med** 1995; 16: 160-166.
114. Koller A, Huang A, Sun D, Kaley G. Exercise training augments flow-dependent dilatation in rat skeletal muscle arterioles. **Cir Res** 1995; 76: 544-550.
115. Hornig B, Maier V, Drexler H. Physical training improves endothelial function in patients with chronic heart failure. **Circulation** 1996; 93: 210-214.
116. Stanton A Glantz. **Primer of biostatistics**. Toronto: McGraw-Hill, 1992.
117. Dupuis J, Tardif JC, Th  roux P. Cholesterol reduction rapidly improves endothelial function after acute coronary syndrome. **J Am Coll Cardiol** 1998; 31(2): suppl A. (abstract)
118. Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A, Walsh BW, Selwyn AP, Ganz P, Yeung AC, Creager MA. Estrogen improves endothelium-dependent, flow-mediated vasodilatation in postmenopausal women. **Ann Intern Med** 1994; 121: 936-941.