

Direction des bibliothèques

AVIS

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

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

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

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

NOTICE

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

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

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

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

Université de Montréal

Faculté de pharmacie
Université de Montréal
Grade octroyé le:

2009-11-05

**Identification de marqueurs phénotypiques et
génétiques influençant la réponse au traitement et le
pronostic des patients atteints d'insuffisance cardiaque**

par

Simon de Denus

Faculté de pharmacie

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.)
en Sciences pharmaceutiques,
option pharmacologie.

Juin 2009

© Simon de Denus, 2009

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée :

**Identification de marqueurs phénotypiques et
génétiques influençant la réponse au traitement et le
pronostic des patients atteints d'insuffisance cardiaque**

présentée par :

Simon de Denus

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Daniel Lamontagne, B. Pharm, Ph.D., président-rapporteur

Michel White, MD, FRCPC, FACC, FESC, directeur de recherche

Jacques Turgeon, B. Pharm, Ph. D., co-directeur

Pierre Larochelle, MD, membre du jury

Ross T Tsuyuki, B.Sc(Pharm), Pharm D, M.Sc, examinateur externe

Louise Béliveau, Ph.D., doyenne de la FES

Résumé

L'insuffisance cardiaque (IC) est une maladie aux conséquences dévastatrices tant au point de vue de la qualité de vie, que de l'espérance de vie. De nombreux traitements ont été démontrés efficaces pour réduire le risque de mortalité et de morbidité associé à l'IC incluant les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA) et les antagonistes du récepteur AT1 de l'angiotensine II (ARA). Il existe toutefois une importante variabilité interindividuelle de l'efficacité et de l'innocuité de ces agents et, de façon plus générale, au niveau du pronostic des patients atteints d'IC. Étant donné cette variabilité considérable, il est difficile pour les cliniciens de prédire l'efficacité ou l'innocuité d'un traitement donné chez un individu, ou de déterminer son pronostic. L'objectif de cette thèse est d'expliquer une partie de cette variabilité en identifiant des caractéristiques démographiques, des marqueurs phénotypiques ou génétiques associés au pronostic ou à la réponse à certains traitements des patients atteints d'IC ou receveurs d'une greffe cardiaque. Quatre projets spécifiques ont été complétés. Les trois premiers visaient l'identification de facteurs associés à la réponse à des inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA). Les deux premiers projets consistaient en des études rétrospectives des essais cliniques SOLVD (Studies of Left Ventricular Dysfunction) qui ont établi l'efficacité de l'énalapril, un IECA, en IC. Dans le premier projet, nous avons démontré qu'une augmentation dans le temps du nombre de leucocytes, et particulièrement des neutrophiles, est associée à un risque accru d'événements cardiovasculaires, et ce, indépendamment de l'étiologie de l'IC. Toutefois, ces marqueurs inflammatoires n'étaient pas modulés par l'énalapril ou utiles dans l'identification des patients les plus susceptibles de bénéficier de cet agent. Dans le second projet, nous avons identifié des facteurs de risque de l'hyperkaliémie, un effet indésirable fréquent et potentiellement fatal de l'énalapril et des autres inhibiteurs du SRAA. Le troisième projet de cette thèse, une étude pharmacogénétique, a permis d'illustrer que le polymorphisme génétique *AGTR1* A1166C était un modulateur potentiel de l'efficacité du candésartan, un ARA, en IC. Finalement, la dernière étude de cette thèse suggère que l'allèle *CYP3A5**1 est associé à un effet néphroprotecteur contre la néphropathie induite par les inhibiteurs de la calcineurine chez des greffés cardiaques et que cet effet est indépendant des autres facteurs de risque de cet effet indésirable. En résumé, les travaux de cette thèse, qui ont porté sur diverses facettes

du traitement des patients atteints d'IC, ont mis en perspective l'importance qu'aura éventuellement une approche qui inclura l'utilisation de caractéristiques démographiques, de phénotypes, de leurs changements, ainsi que de polymorphismes génétiques dans l'individualisation de la pharmacothérapie des patients atteints d'IC.

Mots-clés : Insuffisance cardiaque, greffe cardiaque, énalapril, candésartan, cyclosporine, tacrolimus, leucocytes, hyperkaliémie, néphrotoxicité, pharmacogénétique.

Abstract

Many pharmacological treatments have been shown to reduce the risk of the mortality and morbidity associated with heart failure (HF) including angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors and angiotensin II receptor blockers (ARBs). Nonetheless, the significant interindividual variability that exists in the efficacy and tolerability of these and other drugs used in the treatment of HF makes it difficult for clinicians to predict how a given patient will respond to a drug or will affect his prognosis. The general objective of this thesis is to identify factors associated with the drug response and the prognosis of patients with HF or recipients of a heart transplant in order to explain a portion of this variability and ultimately enable a more individualized approach to patient care. Four specific projects were conducted. The first three aimed to identify factors associated with the response to renin-angiotensin-aldosterone (RAAS) inhibitors. In particular, the two first projects consisted of retrospective studies of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) which established the efficacy of the ACE inhibitor enalapril in HF. In the first sub-study, we demonstrated that a temporal increase in leucocytes, and particularly neutrophils, was associated with an increased risk of cardiovascular events, irrespective of HF etiology. These inflammatory biomarkers were not influenced by enalapril or useful to predict the efficacy. In the second study, we identified risk factors for hyperkalemia, a frequent and potentially fatal adverse drug reaction of enalapril and other RAAS inhibitors. The third project was a pharmacogenetic study which suggested that the *AGTR1* A1166C genetic polymorphism could modulate the efficacy of the ARB candesartan. Finally, the last study of this thesis was another pharmacogenetic study in which we demonstrated that the *CYP3A5**1 allele was independently associated with a nephroprotective effect against calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity in heart transplant recipients. In summary, the work presented in this thesis, which encompassed many aspects related to the treatment of HF patients, have demonstrated that an integrative approach that will include an individual's clinical characteristics, selected phenotypes, their changes, as well genetic polymorphisms may ultimately be useful in individualizing the pharmacotherapy of patients with HF.

Keywords : Heart failure, heart transplant, enalapril, candesartan, cyclosporine, tacrolimus, leucocyte, hyperkalemia, nephrotoxicity, pharmacogenetics.

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract	v
Liste des tableaux.....	xi
Liste des figures	xiii
Liste des abréviations et des acronymes	xiv
Remerciements.....	xviii
Contribution des auteurs	xix
Chapitre 1. Introduction.....	1
1 L'insuffisance cardiaque et son traitement	1
1.1 Définition	1
1.2 Épidémiologie	2
1.2.1 Classification de la sévérité des symptômes associés à l'insuffisance cardiaque	4
1.3 Pathophysiologie de l'insuffisance cardiaque.....	6
1.3.1 Généralités sur la pathophysiologie de l'insuffisance cardiaque	6
1.4 Le système rénine-angiotensine-aldostérone	12
1.4.1 Composantes classiques du système rénine-angiotensine-aldostérone.....	12
1.4.2 Le système rénine-angiotensine-aldostérone : une complexité grandissante	17
1.4.3 Le système rénine-angiotensine-aldostérone et l'insuffisance cardiaque	20
2 Le traitement de l'insuffisance cardiaque	22
2.1 Généralités.....	22
2.1.1 Le traitement pharmacologique - survol	23
2.1.2 Dispositifs implantables.....	27
2.1.3 L'inhibition du système rénine-angiotensine-aldostérone en insuffisance cardiaque.....	28
2.1.3.1 Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine	28
2.1.3.1.1 Pharmacologie.....	28
2.1.3.1.2 Efficacité clinique	31
2.1.3.2 Antagonistes des récepteurs AT1 de l'angiotensine II.....	31
2.1.3.3 Les inhibiteurs de la rénine	33

2.2	Le double blocage du système rénine-angiotensine-aldostérone.....	33
2.2.1	Problématique du ACE escape.....	33
2.2.2	Combinaison IECA-ARA.....	34
2.2.3	Combinaison IECA-antagoniste de l'aldostérone.....	36
2.2.4	Combinaison IECA ou ARA-inhibiteur de la rénine.....	38
2.2.5	Effets indésirables liés à l'inhibition du système rénine-angiotensine-aldostérone.....	39
3	Le potentiel de la pharmacogénomique en insuffisance cardiaque.....	42
3.1	Traitement pharmacologique de l'IC : un traitement « taille unique? ».....	42
3.2	Généralités sur la (pharmaco)génomique.....	43
3.2.1	L'insuffisance cardiaque et la génétique.....	45
3.3	Impact de polymorphismes génétiques sur le pronostic des patients atteints d'IC.....	48
3.3.1	Système rénine-angiotensine-aldostérone.....	48
3.3.2	Système adrénergique.....	49
3.3.3	Autres polymorphismes génétiques.....	53
3.4	Pharmacogénomique.....	53
3.4.1	Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.....	53
3.4.2	Spironolactone.....	54
3.4.3	Bêta-bloqueurs.....	55
3.4.3.1	Pharmacocinétique des bêta-bloqueurs.....	55
3.4.3.2	Pharmacodynamie des bêta-bloqueurs.....	56
3.4.4	Pharmacogénétique des autres médicaments utilisés en insuffisance cardiaque.....	57
4	De l'insuffisance cardiaque terminale à la greffe cardiaque.....	58
4.1	Les inhibiteurs de la calcineurine.....	60
4.1.1	Mécanisme d'action.....	60
4.1.2	Pharmacocinétique.....	61
4.2	Profil d'innocuité des inhibiteurs de la calcineurine.....	62
4.3	La néphrotoxicité : une complication fréquente et sérieuse des inhibiteurs de la calcineurine.....	63
4.3.1	Néphropathie aiguë.....	64

4.3.2	Néphropathie chronique.....	64
4.3.2.1	Rôles potentiels de la P-glycoprotéine et du cytochrome P450 3A5 dans la néphrotoxicité chronique induite par les inhibiteurs de la calcineurine.....	66
4.3.2.2	Impact des polymorphismes de l' <i>ABCB1</i> et du <i>CYP3A5</i> sur la pharmacocinétique des inhibiteurs de la calcineurine.....	68
4.3.2.3	Impact des polymorphismes de l' <i>ABCB1</i> et du <i>CYP3A5</i> sur la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine.	70
5	Résumé de l'état des connaissances et objectifs de la thèse.	70
Chapitre 2. Une évaluation de l'association entre la variation de certains biomarqueurs inflammatoires couramment mesurés et le pronostic de patients atteints d'IC.....		
	Chapitre 2. Une évaluation de l'association entre la variation de certains biomarqueurs inflammatoires couramment mesurés et le pronostic de patients atteints d'IC.....	73
1.	Introduction.....	73
2.	Publication N° 1 (Publiée dans J Card Fail. 2006;12:353-9.).....	76
	Temporal Increases in Subclinical Levels of Inflammation Are Associated with Adverse Clinical Outcomes in Patients with Left Ventricular Dysfunction.	76
3.	Discussion.....	99
Chapitre 3. Identification de facteurs associés au risque d'hyperkaliémie chez des patients atteints d'IC.		
	Chapitre 3. Identification de facteurs associés au risque d'hyperkaliémie chez des patients atteints d'IC.	102
1.	Introduction.....	102
2.	Publication N° 2 (Publiée dans: Am Heart J 2006;152:705-12).....	105
3.	Discussion.....	130
Chapitre 4. Une évaluation de l'impact de gènes candidats sur les effets hémodynamiques, neuromodulateurs et anti-inflammatoires du candésartan en IC.		
	Chapitre 4. Une évaluation de l'impact de gènes candidats sur les effets hémodynamiques, neuromodulateurs et anti-inflammatoires du candésartan en IC.	133
1.	Introduction.....	133
2.	Publication N° 3 (Publiée dans Ann Pharmacother 2008;42:925-932.).....	137
3.	Discussion.....	158
Chapitre 5. Une étude pharmacogénétique portant sur la néphrotoxicité induite par les inhibiteurs de la calcineurine.....		
	Chapitre 5. Une étude pharmacogénétique portant sur la néphrotoxicité induite par les inhibiteurs de la calcineurine.....	160
1.	Introduction.....	160
2.	Publication N° 4 (Soumise).....	163
3.	Discussion.....	187

Chapitre 6. Discussion générale	191
1. Résumé de l'avancement des connaissances découlant des travaux présentés.....	191
2. Connaissances conceptuelles acquises.....	192
3. Défis pour le futur	196
4. Recherche en cours et directions futures.....	200
5. Commentaires finaux	201
Références	202
Annexe 1. Essais cliniques majeurs portant sur l'inhibition du SRAA en IC.....	xxi
Annexe 2. La génétique et la pharmacogénétique du système rénine angiotensine-aldostérone en insuffisance cardiaque.....	xxv
Annexe 3. La génétique et la pharmacogénétique du système adrénergique en insuffisance cardiaque	xxviii

Liste des tableaux

Tableau I : Comparaison de l'IC systolique et de l'IC diastolique ou avec fraction d'éjection ventriculaire gauche préservée.....	2
Tableau II Principaux facteurs de risque de l'IC	3
Tableau III. Classification fonctionnelle de la New York Heart Association.....	5
Tableau IV. Stages de l'IC (Classification de l'AHA/ACC).....	6
Tableau V. Évolution des concepts impliqués dans la pathophysiologie de l'insuffisance cardiaque.	7
Tableau VI. Exemples sélectionnés des effets de l'angiotensine II.....	15
Tableau VII. Résumé des effets délétères de l'aldostérone en IC.....	16
Tableau VIII. Résumé des effets des nouvelles composantes du SRAA et de leurs effets physiologiques	20
Tableau IX. Mesures non pharmacologiques recommandées dans le traitement de l'insuffisance cardiaque.	23
Tableau X. Études cliniques randomisées majeures avec groupe placebo ayant évalué l'impact des bêta-bloqueurs en insuffisance cardiaque.....	25
Tableau XI. Indications pour l'utilisation de dispositifs implantables dans le traitement de l'insuffisance cardiaque.	28
Tableau XII. Effets indésirables des inhibiteurs du SRAA rapportés dans les publications des grands essais cliniques en insuffisance cardiaque.	40
Tableau XIII. Termes clés en génétique clinique.....	44
Tableau XIV. Tableau comparatif de paramètres pharmacologiques sélectionnés des principaux bêta-bloqueurs étudiés en insuffisance cardiaque.....	56
Tableau XV. Indications pour la greffe cardiaque selon la Société canadienne de cardiologie.....	59
Tableau XVI. Résumé des principaux paramètres pharmacocinétiques des inhibiteurs de la calcineurine.	61
Tableau XVII. Concentrations (creux) recommandées dans le suivi de la cyclosporine.....	62
Tableau XVIII. Concentrations (creux) recommandées dans le suivi du tacolimus.....	62
Tableau XIX. Fréquence relative des effets indésirables des inhibiteurs de la calcineurine.	63

Tableau XX. Impact de polymorphismes candidats sur la pharmacocinétique de la cyclosporine et du tacrolimus chez les greffés cardiaques.....	69
Tableau XXI. Exemples sélectionnés de biobanques recrutant présentement des participants.....	159
Tableau XXII Tableau. Impact de polymorphismes génétiques de l'ABCB1 et du CYP3A5 sur le risque de néphrotoxicité induite par les inhibiteurs de la calcineurine chez différents groupes de patients greffés.....	189

Liste des figures

Figure 1. L'évolution de l'IC de son diagnostic au décès du patient.....	4
Figure 2. Résumé de l'implication de l'activation neurohormonale en IC.....	9
Figure 3. Modèle proposé de la pathophysiologie de l'insuffisance cardiaque.....	12
Figure 4. Le système rénine-angiotensine-aldostérone.....	13
Figure 5. Formation d'angiotensine II chez des patients atteints d'insuffisance cardiaque ischémique, de cardiomyopathie dilatée et chez des sujets contrôles.....	21
Figure 6. Le traitement de l'insuffisance cardiaque.....	24
Figure 7. Risque d'hyperkaliémie en fonction de la dose utilisée dans l'étude pilote de RALES.....	37
Figure 8. Principaux gènes impliqués dans les cardiomyopathies dilatées et hypertrophiques.....	46
Figure 9. Mécanismes impliqués dans le développement de la néphrotoxicité chronique induite par les inhibiteurs de la calcineurine.....	65
Figure 10. Bénéfices du candésartan dans CHARM.....	134
Figure 11. Nombre d'individus ayant reçu une greffe de cœur ou cœur-poumons et en attente de ces greffes au Canada de 1996 à 2007.....	161

Liste des abréviations et des acronymes

- ACC: American College of Cardiology
- ADN : acide désoxyribonucléique
- Ag : angiotensine
- A-HeFT : African-American Heart Failure Trial
- AHA: American Heart Association
- ANP : Peptide natriurétique de type A
- ARA : Antagonistes des récepteurs AT1 de l'angiotensine II
- BEST : Beta-Blocker Evaluation of Survival Trial
- BNP : Peptide natriurétique de type B
- CaMKII : kinases Ca / calmoduline dépendante
- CANDIID : Effect of ACE inhibitor alone versus ACE inhibitor plus high dose
- CANdesartan on BNP, Immune markers, Inflammatory status and urinary kinins in patients with symptomatic left ventricular systolic Dysfunction
- CARE-HF : Cardia Resynchronisation – Heart Failure
- CHARM : Candesartan in Heart Failure-Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity
- CIBIS II : Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II
- CLARITY-TIMI-28 : CLopidogrel as Adjunctive Reperfusion Therapy-thrombolysis in myocardial infarction
- CNP : Peptide natriurétique de type C
- CONSENSUS : Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study
- COPERNICUS : Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival Study Group
- CORONA : Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure
- CRP : protéine-C réactive
- CYP : Cytochrome P450
- DAG : diacylglycérol
- DIG : Digitalis Investigation Group
- ECA : Enzyme de conversion de l'angiotensine
- ELITE : Evaluation of Losartan in the Elderly Study

EMPHASIS : Eplerenone in Mild Patients Hospitalization and Survival Study in Heart Failure

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

EPOGH : European Project On Genes in Hypertension

ERK : extracellular signal-regulated kinase

FEVG : Fraction d'éjection ventriculaire gauche

GISSI-HF : Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Insufficienza cardiaca

GRACE: Global Registry of Acute Coronary Events

IC : Insuffisance cardiaque

ICAM-1 : intracellular adhesion molecule

IECA : Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I

IL: interleukine

IP3 : inositol-1,4,5 triphosphate

IRAP : insulin-regulated amino peptidase receptor

LIPID : Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease

MCP-1 : monocyte chemoattractant protein-1

MERIT-HF : Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure

NF- κ B : nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

NFAT : Nuclear Factor of Activated T cells

NYHA: New York Heart Association

NNH : Number needed to harm

OPTIMAAL : Optimal Trial in Myocardial Infarction with Angiotensin II Antagonist Losartan

PAI-1 : plasminogen activator inhibitor-1

PGP : P-glycoprotéine

PLC β : Phospholipase C, bêta

PIP2 : phosphatidylinositol 4,5-diphosphate

PKCs : protéines kinases.

PPAR- γ : peroxisome proliferator-activated receptor

PURSUIT : Platelet glycoprotein IIb/IIIa in Unstable angina: Receptor Suppression Using Integrilin Therapy

RALES : Randomized Aldactone Evaluation Study

RESOLVD : Randomized Evaluation of Strategies for Left Ventricular Dysfunction

SOLVD : Studies of Left Ventricular Dysfunction

SNP : Single nucleotide polymorphism

SRAA : Système rénine-angiotensine-aldostérone

TGF- β 1 : Transforming Growth Factor-beta 1

TIMI : Thrombolysis in Myocardial Infarction

TNF- α : Tumour necrosis factor alpha

Val-HeFT : Valsartan Heart Failure Trial

VALIANT : Valsartan In Acute Myocardial Infarction

VCAM : vascular adhesion molecules

V-HeFT : Vasodilator-Heart Failure Trial

WTCCC : Wellcome Trust Case Control Consortium

Je dédie cette thèse à mon épouse Marie-
Hélène pour sa patience et son soutien à
travers le parcours tortueux et imprévisible
des dix dernières années qui a mené à la
rédaction de cette thèse.

« *Prediction is very difficult, especially about the future.* »

Niels Bohr, physicien danois.

« *The future ain't what it used to be.* »

Yogi Berra, joueur et entraîneur au baseball majeur.

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier d'une façon particulière mon directeur, le Dr Michel White, pour m'avoir fourni les opportunités et l'encadrement nécessaires à la réalisation de cette thèse. Au cours des six dernières années, le Dr White fût d'une disponibilité et d'un support sans égal. Ses nombreux conseils, tant scientifiques que philosophiques (« *Il faut manger son éléphant une bouchée à la fois!* »), ont constitué et continuent d'être des atouts importants dans mon développement comme chercheur. Je remercie toute l'équipe du Groupe de recherche en insuffisance cardiaque de l'Institut de cardiologie de Montréal pour leur appui et leur bonne humeur durant l'exécution de mes travaux. Je tiens particulièrement à remercier madame Lucette Whittom pour m'avoir fait bénéficier de son expérience dans l'élaboration et l'exécution de mes projets cliniques.

Je veux également témoigner de ma reconnaissance à mon co-directeur, le Dr Jacques Turgeon, pour son support dans la réalisation de ces travaux, ses précieux commentaires dans la rédaction des articles, ainsi que pour les conseils prodigués au fil des années. Ces remerciements vont aussi aux membres de son équipe qui ont participé à ces projets, soient Marcin Zakrzewski-Jakubiak et François Bélanger.

Les études présentées dans cette thèse sont le fruit d'un travail d'équipe. Je ne peux donc pas passer sous silence la contribution de tous les collaborateurs ayant contribué à ceux-ci. Je tiens à remercier tout particulièrement les Dres Marie-Hélène Leblanc et Marie-Pierre Dubé, ainsi que madame Sylvie Lévesque. Je tiens aussi à souligner la collaboration de la Faculté de Pharmacie et le Centre de recherche de l'Institut de cardiologie de Montréal pour avoir créé un contexte me permettant de bénéficier de l'excellence de ces deux institutions.

Enfin, je veux remercier mon épouse Marie-Hélène pour son soutien continu durant la poursuite de mes (longues!) études. Je tiens également à remercier mes parents, Céline et Jean, pour les encouragements prodigués et leur soutien inconditionnel depuis toujours.

Contribution des auteurs

Chapitre 2.

de Denus S, White M, Tardif, JC, Bourassa M, Racine N, Lévesque S, Ducharme A. Temporal increases in subclinical levels of inflammation are associated with adverse clinical outcomes in patients with left ventricular dysfunction. *J Card Fail.* 2006;12(5):353-9.

Je suis à l'origine de ce projet et des hypothèses à vérifier. J'ai développé le plan d'analyse avec le Dr White, le Dre Ducharme et madame Lévesque. Madame Lévesque a effectué les analyses statistiques. J'ai interprété les résultats avec le Dr White. J'ai rédigé environ 90% du manuscrit puis j'ai intégré les commentaires faits par les autres auteurs. **J'ai reçu le Prix Jean-Louis Lévesque remis pour la meilleure présentation orale en recherche clinique dans le cadre de la VII^e Journée de la recherche de l'Institut de cardiologie de Montréal pour ces travaux.**

Chapitre 3.

de Denus S, Tardif, JC, White M, Bourassa M, Racine N, Lévesque S, Ducharme A. Quantification of the risk and predictors of hyperkalemia in patients with left ventricular dysfunction: a retrospective analysis of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) trials. *Am Heart J* 2006;152:705-12.

Suite à une revue exhaustive de la littérature, j'ai développé le plan de ce projet et les hypothèses à tester. J'ai développé le plan d'analyse avec les Drs Ducharme et White et madame Lévesque. Madame Lévesque a effectué les analyses statistiques. J'ai interprété les résultats avec le Dr Ducharme. J'ai rédigé 85% de l'article puis intégré les commentaires des autres auteurs.

Chapitre 4.

de Denus S, Zakrzewski-Jakubiak M, Dubé MP, Bélanger F, Lepage S, Leblanc MH, Gossard D, Ducharme A, Racine N, Whittom L, Lavoie J, Touyz RM, Turgeon J, White M. Effects of AGTR1 A1166C gene polymorphism in heart failure patients treated with Candesartan. *Ann Pharmacother* 2008;42:925-932.

J'ai émis l'idée de cette sous-étude pharmacogénétique et les hypothèses à tester. J'ai rédigé une première ébauche du protocole de la sous-étude qui a été finalisé avec madame Whittom et les Drs White et Turgeon. Le recrutement des patients dans l'étude principale a été effectué par les Drs White, Lepage, Leblanc, Gossard, Ducharme et Racine. J'ai sélectionné les polymorphismes génétiques candidats à inclure dans l'étude avec la collaboration du Dr Turgeon. L'extraction de l'ADN et le génotypage ont été effectués par messieurs Zakrzewski-Jakubiak et Bélanger, sous la supervision du Dr Turgeon. J'ai développé le plan d'analyse statistique en collaboration avec les Drs Turgeon, White et Dubé. Cette dernière a effectué l'analyse statistique. J'ai interprété les résultats et rédigé environ 90% de l'article. J'ai par la suite intégré les commentaires des auteurs. **J'ai reçu le 1^{er} prix pour ma présentation par affiche (Recherche clinique) pour ces travaux lors de la IX^e Journée de la recherche de l'Institut de cardiologie de Montréal.**

Chapitre 5.

de Denus S, Marcin Zakrzewski Z, Barhdadi A, Leblanc MH, Racine N, Bélanger F, Carrier M, Ducharme A, Dubé MP, Turgeon J, White M. *CYP3A5*1* is associated with a nephroprotective effect in heart transplant recipients treated with calcineurin inhibitors (Soumis).

Je suis à l'origine de ce projet et des hypothèses à vérifier. J'ai écrit la version initiale du protocole de l'étude qui a été finalisé en collaboration avec les Drs White et Turgeon. J'ai fait la collecte de toutes les données cliniques manquantes des patients de l'Institut de cardiologie de Montréal. Le Dr Leblanc a fait de même avec les patients de l'Hôpital Laval. J'ai compilé ces données avec les données électroniques du RETEB et de la clinique de greffe de l'Institut de cardiologie de Montréal. L'extraction de l'ADN et le génotypage ont été effectués par messieurs Zakrzewski-Jakubiak et Bélanger, sous la supervision du Dr Turgeon. J'ai élaboré le plan d'analyse avec les Drs White, Turgeon et Barhdadi. J'ai effectué les analyses statistiques descriptives de l'étude. Madame Barhdadi a complété les autres analyses statistiques sous la supervision du Dre Dubé. J'ai écrit environ 85% de la première version du manuscrit. J'ai par la suite intégré les commentaires des autres auteurs. **J'ai été finaliste pour le Jay N. Cohn New Investigator Clinical/Integrative Physiology Award de la Heart Failure Society of America pour ces travaux.**

Chapitre 1. Introduction

1 L'insuffisance cardiaque et son traitement

1.1 Définition

L'insuffisance cardiaque (IC) est un syndrome complexe pouvant être causé par diverses atteintes structurelles ou fonctionnelles cardiaques qui compromettent la capacité des ventricules à se remplir ou à éjecter le sang et qui entraînent une incapacité pour le cœur de répondre aux besoins métaboliques des tissus et des organes périphériques. Les principales manifestations de l'IC sont la dyspnée, la fatigue, une tolérance à l'effort réduite et une hypervolémie qui mène à de l'œdème pulmonaire ou périphérique.¹

Bien que plusieurs approches aient été proposées pour subdiviser les patients atteints d'IC en sous-populations (basées sur des paramètres hémodynamiques, le type de dysfonction myocardique ou le ventricule atteint), les lignes directrices actuelles¹⁻³ subdivisent principalement ces patients sur la base de leur fraction d'éjection ventriculaire gauche (FEVG). Plus spécifiquement, on utilise le terme « IC systolique » pour faire référence à l'IC attribuable à une FEVG diminuée (< 40-45%), et les termes « IC diastolique » ou « IC avec FEVG préservée » chez les patients présentant de l'IC avec une FEVG normale ou presque (>40-50 %).⁴⁻⁶ Les principales caractéristiques de ces deux populations sont détaillées au tableau I. Les signes et les symptômes présents chez ces patients sont similaires et ne permettent pas de distinguer entre ces populations.⁷⁻¹⁰ Il existe beaucoup de variabilité dans la définition de l'IC diastolique ou avec FEVG préservée dans la littérature.^{1-3, 11-13} Bien que la majorité des essais cliniques aient été effectués chez les patients atteints d'IC systolique, on se doit de souligner que de 30 à 50% des insuffisants cardiaques ont un diagnostic d'IC diastolique ou avec FEVG préservée.⁴⁻⁶ Par ailleurs, l'IC est dite « chronique » durant les périodes où les symptômes du patient sont stables, tandis qu'on la qualifie de « décompensée » ou « aiguë » lors d'épisodes caractérisés par l'exacerbation ou l'apparition de nouveaux signes ou symptômes d'IC menant à une hospitalisation ou une visite non prévue à une clinique.

Puisque nos travaux se sont limités à l'IC systolique gauche chronique, nous limiterons la discussion de cette thèse à ce groupe. Ainsi, le terme « insuffisance cardiaque » référera spécifiquement à ce groupe de patients dans l'ensemble de cette thèse.

Tableau I : Comparaison de l'IC systolique et de l'IC diastolique ou avec fraction d'éjection ventriculaire gauche préservée.^{7, 12, 14}

Type	Systolique	Diastolique ou avec FEVG préservée.
Principale caractéristique	Problème de contractilité ventriculaire	Anomalie de relaxation ou compliance ventriculaire.
Âge	De tous les âges (surtout 50-70 ans)	Patients âgés
Sexe	Hommes > Femmes	Femmes > Hommes
Fraction d'éjection ventriculaire gauche	Diminuée (< 40-45%)	Normale ou ↑ (>40-50%)
Volume ventriculaire gauche	↑ (dilatation ventriculaire)	Normal ou diminué, souvent accompagné d'hypertrophie ventriculaire
Maladies associées		
Maladie coronarienne	+++	++
Hypertension	++	+++
Diabète	++	++

1.2 Épidémiologie

Dans le monde, on évalue qu'entre 1 et 2 % de la population adulte est atteinte d'IC, et que 6 à 10% des individus âgés de 65 ans et plus en sont atteints.^{6, 15} Au Canada, 350 000 individus souffrent de cette maladie.¹⁶ Chaque année, l'IC cause le décès d'environ 4 500 Canadiens,¹⁶ en plus de provoquer 100 000 hospitalisations.¹⁷ Les projections actuelles

suggèrent une croissance de ces nombres au cours des vingt prochaines années étant donné le vieillissement de la population et l'augmentation de la prévalence de plusieurs des facteurs de risque de l'IC (Tableau II).¹⁶

Tableau II Principaux facteurs de risque de l'IC^{1,6}

Hypertension
Diabète
Âge
Obésité
Dyslipidémies
Tabac
Maladie coronarienne athérosclérotique
Maladies valvulaires
Médicaments et substances cardiotoxiques

Les données épidémiologiques actuelles suggèrent une mortalité d'environ 20% dans l'année qui suit un diagnostic d'IC.⁶ La mortalité atteindrait jusqu'à 70 à 80% 8 ans après le diagnostic.⁶ La mortalité annuelle diffère énormément selon la sévérité de l'IC, variant de 5 à 50% selon la gravité des symptômes des patients.^{3, 18, 19} Ces décès sont principalement provoqués par une progression de l'IC vers de l'IC terminale ou des morts subites (voir Figure 1).^{20, 21} L'IC terminale est caractérisée par une progression de la dysfonction systolique et une aggravation progressive de la capacité fonctionnelle des patients menant à la présence de symptômes d'IC même au repos. Les cas de morts subites sont en majorité provoqués par des arythmies ventriculaires ou des infarctus du myocarde massifs.²² Les patients atteints d'IC sont de 6 à 9 fois plus susceptibles d'être victimes d'un décès par mort subite que la population en générale.⁶

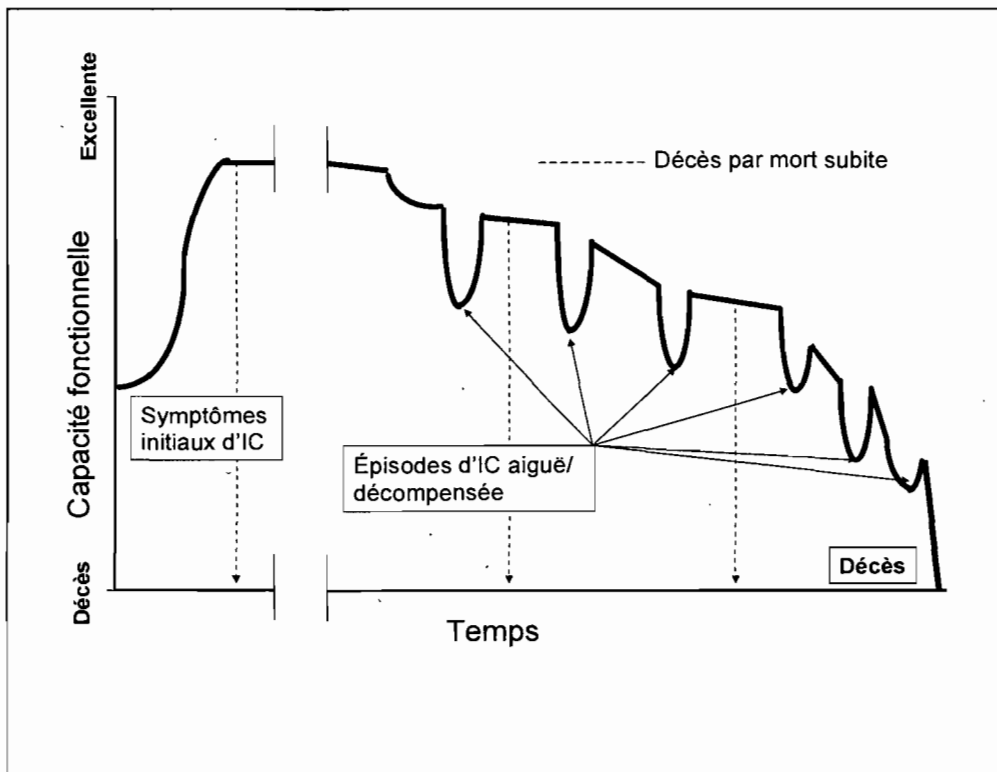


Figure 1. L'évolution de l'IC de son diagnostic au décès du patient.

La progression de l'IC est caractérisée par des épisodes d'IC aiguë ou décompensée divisés par des plateaux de stabilité relative. Durant cette progression vers l'IC terminale, la mort subite peut survenir à tout moment. Adapté de Goodlin et collaborateurs avec permission.²³

Une amélioration significative du pronostic a été observée chez les patients atteints d'IC systolique au cours des deux dernières décennies,²⁴ illustrant bien les progrès significatifs effectués dans le traitement pharmacologique^{8, 20, 25-33} et non pharmacologique³⁴⁻³⁸ de ces patients. Historiquement, l'IC avec une FEVG préservée était associée à un pronostic moins sombre que l'IC systolique.³⁹⁻⁴¹ Toutefois, l'amélioration concrète du pronostic des patients avec IC systolique²⁴ et l'absence d'avancées thérapeutiques dans le traitement de l'IC avec FEVG préservée confèrent maintenant à ces deux groupes de patients des pronostics davantage similaires.^{5, 24, 42}

1.2.1 Classification de la sévérité des symptômes associés à l'insuffisance cardiaque

Indépendamment de l'anomalie sous-jacente à l'IC, la classification de la New York Heart Association (NYHA) est utilisée depuis des décennies pour décrire la capacité fonctionnelle des individus atteints d'IC et la sévérité de leurs symptômes dans leurs activités

quotidiennes (Tableau III). Cette classification demeure un outil pronostic important^{18, 19, 43} et son utilisation est répandue en recherche clinique.

Tableau III. Classification fonctionnelle de la New York Heart Association

Classe fonctionnelle	Description
I	Aucune restriction de l'activité physique. L'exercice physique ordinaire ne cause pas de fatigue indue, de dyspnée, ni de palpitations.
II	Légère restriction de l'activité physique. Pas de symptômes au repos, mais l'activité ordinaire entraîne de la fatigue, des palpitations ou de la dyspnée.
III	Restriction marquée de l'activité physique. Pas de symptômes au repos, mais une activité physique légère entraîne des symptômes.
IV	Incapable d'effectuer une activité physique sans éprouver de sensation d'inconfort. Les symptômes d'IC sont présents même au repos.

En 2001, l'American Heart Association (AHA) et l'American College of Cardiology (ACC) ont proposé une classification additionnelle afin de mettre davantage d'emphasis sur la prévention de l'IC et un traitement plus agressif de ses facteurs de risque (Tableau IV).⁴⁴ Ces organismes ont proposé un continuum allant du patient à risque de développer de l'IC (Stage A), au patient ayant des anomalies structurelles cardiaques, mais ne présentant pas et n'ayant jamais présenté de symptômes (Stage B), au patient chez lequel ces anomalies provoquent des symptômes (Stage C), au patient présentant de l'IC avancée ou réfractaire (Stage D).² Ces groupes ont respectivement une survie à 5 ans de 97%, 96%, 75% et 20%,⁴⁵ illustrant l'importance du changement de paradigme promu par l'AHA et l'ACC. Cette nouvelle classification est utilisée en complément à la classification de la NYHA.

Tableau IV. Stages de l'IC (Classification de l'AHA/ACC)

Stage	Description	Exemples
A	Patients à haut risque de développer de l'IC puisqu'ils présentent des morbidités associées au développement de l'IC. Ne présentent aucune anomalie structurale du cœur ou de symptômes d'IC.	Hypertension, athérosclérose, diabète, abus d'alcool, obésité, traitement par un médicament cardiotoxique.
B	Patients ayant des anomalies structurales du cœur, mais en absence de symptômes d'IC.	Hypertrophie cardiaque, dilatation ventriculaire gauche, maladies valvulaires asymptomatiques, antécédent d'infarctus du myocarde.
C	Patients qui ont ou avaient des symptômes d'IC associés à une anomalie structurale cardiaque	Patients atteints d'IC systolique avec dyspnée à l'effort.
D	Patients avec IC avancée, présentant des symptômes au repos malgré un traitement médical maximum et nécessitant certaines interventions ou traitements spécialisés.	Patients avec hospitalisations répétées et ne pouvant pas retourner à domicile, patients en attente de greffe cardiaque, patients traités avec des inotropes positifs intraveineux à la maison, soins palliatifs.

1.3 Pathophysiologie de l'insuffisance cardiaque

1.3.1 Généralités sur la pathophysiologie de l'insuffisance cardiaque

Au cours des dernières décennies, la compréhension des mécanismes impliqués dans la pathophysiologie de l'IC a grandement évolué.^{46,47} En effet, celle-ci, essentiellement décrite il y a plus de 50 ans comme un désordre de l'homéostasie rénale provoquant une rétention liquidienne (modèle cardiorénal), a par la suite évolué vers un modèle cardiocirculatoire hémodynamique (Tableau V). Cette évolution a lentement mené au

modèle actuel qui implique divers systèmes et des interactions complexes entre ceux-ci. Globalement, ces différents facteurs contribuent à la progression de la dysfonction cardiaque à partir d'une atteinte myocardique initiale vers les stages plus avancés de la maladie.⁴⁸

Tableau V. Évolution des concepts impliqués dans la pathophysiologie de l'insuffisance cardiaque.^{46, 48}

Période	Concept	Description sommaire du concept	Percées thérapeutiques associées
Milieu des années 60-milieu des années 70.	Surcharge volémique/rénale	L'IC est caractérisée par une rétention hydrosodique secondaire à des anomalies de flot sanguin au niveau rénal.	Furosémide (et autres diurétiques)
Milieu des années 70-1990	Hémodynamie	L'IC est également caractérisée par une réduction du débit cardiaque et une vasoconstriction périphérique excessive.	Inotropes positifs et vasodilatateurs
Fin des années 80- début des années 2000	Neurohormonal	Élévation des concentrations de diverses neurohormones (rénine, angiotensine, aldostérone, norépinéphrine, endothéline, vasopressine, peptides natriurétiques) en IC.	IECA, bêta-bloqueurs, ARA, antagonistes de l'aldostérone.
Début des années 2000-aujourd'hui	Biomécanique	Anomalies de conduction et asynchronisme cardiaque.	Resynchronisation cardiaque.
Début des années 2000-aujourd'hui/futur	Diversité génétique	Projet du génome humain	Futur : Pharmacogénomique, protéomique.

IC : insuffisance cardiaque IECA : inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I, ARA : Antagonistes des récepteurs AT1 de l'angiotensine II

Le modèle actuel implique une atteinte myocardique, qui peut être abrupte (par exemple, un infarctus du myocarde), ou plus insidieuse (IC secondaire à l'hypertension ou à une cardiomyopathie familiale),⁴⁸ qui provoque une réduction du débit cardiaque.⁴⁹ Cette réduction du débit cardiaque est perçue au niveau des barorécepteurs carotidiens, aortiques et ventriculaires et des mécanorécepteurs ventriculaires, carotidiens, aortiques et rénaux comme une baisse du volume effectif circulant.⁴⁹ En réponse à cette atteinte, on observe une activation de divers systèmes biologiques comme le système adrénergique et le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA). Cette activation vise à pallier pour la baisse perçue du volume effectif et à maintenir une perfusion adéquate aux organes cibles.⁴⁹ La figure 2 résume les conséquences physiologiques de l'activation de ces systèmes.

L'activation du SRAA, et dans une moindre mesure du système adrénergique, provoque d'une part une rétention hydro-sodée.⁴⁹ Celle-ci contribue à la conservation de l'intégrité de la perfusion au niveau des organes cibles en menant à une augmentation de la précharge, laquelle provoque, tel que décrit par la loi de Frank-Starling, à une augmentation du débit cardiaque.⁴⁹ La loi de Frank-Starling est un énoncé combinant les observations de Frank (1895) et de Starling (1918) qui stipule qu'à l'intérieur de limites physiologiquement possibles, plus le volume myocardique augmente en diastole, plus la contraction myocardique (et donc le débit cardiaque) sera importante.⁵⁰

La vasoconstriction périphérique induite par ces neurohormones contribue également au maintien de la tension artérielle et ainsi de la perfusion aux organes cibles.⁴⁸ Toutefois, elle provoque aussi une augmentation de la précharge et de la postcharge.⁴⁸ Finalement, l'activation adrénergique induit une augmentation de l'inotropie et de la chronotropie cardiaque qui contribuent au maintien du débit cardiaque.⁴⁹ Cette activation neurohormonale est accompagnée d'une augmentation de diverses autres neurohormones (vasopressine, endothéline) et cytokines, dont certaines participent également à un rétablissement hémodynamique à court terme.⁴⁸ Globalement, ces phénomènes de régulation de l'homéostasie hémodynamique font en sorte que la capacité fonctionnelle du patient est maintenue ou réduite minimalement.⁴⁸ Toutefois, le tout s'effectue à un certain

coût, puisque ces mécanismes entraînent une augmentation de la demande myocardique en oxygène, ce qui favorise l'apparition d'ischémie myocardique,⁵¹ souvent non cliniquement apparente, et de tachyarythmies potentiellement fatales.⁴⁹ À long terme, la majorité de ces mécanismes ont des effets néfastes sur le myocarde (hypertrophie, fibrose, nécrose, apoptose).^{48, 49, 52} Ceci mène à un cercle vicieux où la progression de la maladie provoque une activation additionnelle de ces systèmes, lesquels aggravent davantage la dysfonction myocardique et accélèrent la progression de la maladie.⁵³

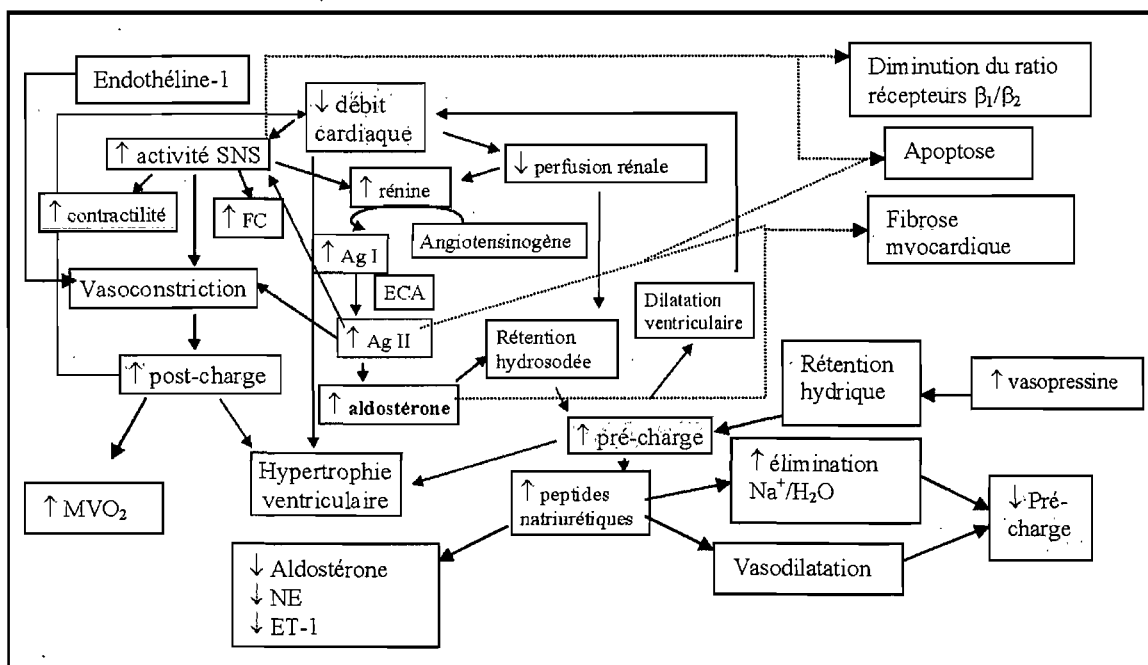


Figure 2. Résumé de l'implication de l'activation neurohormonale en IC.

La réduction du débit cardiaque provoquée par une atteinte myocardique entraîne une activation de divers systèmes biologiques dont le SRAA et le système adrénergique. Bien que ces mécanismes compensatoires soient hémodynamiquement bénéfiques à court terme, ils provoquent également des effets néfastes aux niveaux myocardique et périphérique qui contribuent à long terme à la progression de l'IC et à l'apparition d'arythmies. Ag : angiotensine ET-1 : Endothéline-1; FC : fréquence cardiaque; MVO₂ : demande myocardique en oxygène; NE : norépinéphrine.^{54, 55}

On utilise le terme « remodelage ventriculaire » pour décrire le processus évolutif des modifications de la masse, de la géométrie et de la composition myocardique résultant des diverses altérations hémodynamiques, mécaniques, neurohormonales et génétiques caractérisant l'IC.⁴⁸ En IC, on décrit deux principales formes de remodelage :

l'hypertrophie concentrique et l'hypertrophie excentrique. L'hypertrophie concentrique,

secondaire à une augmentation du nombre de sarcomères et à un élargissement des myocytes, est rencontrée dans les pathologies où prédomine une surcharge de pression comme en hypertension.⁵⁶ À l'opposé, l'hypertrophie excentrique, qu'on rencontre dans les cardiomyopathies dilatées,⁵⁶ est caractérisée par une réplification en série des sarcomères et une élongation des myocytes qui mènent à une dilatation et à un amincissement du ventricule, ainsi qu'à une altération géométrique du ventricule vers une forme plus sphérique.⁴⁸

Le remodelage cardiaque implique non seulement les myocytes,⁴⁸ mais également de nombreuses autres composantes du cœur. Mentionnons premièrement la matrice extracellulaire et les enzymes régulant son homéostasie (métalloprotéinases et leurs inhibiteurs).⁵⁷ La matrice extracellulaire joue un rôle clé sur la géométrie et la fonction cardiaque.⁵⁷ Une atteinte de l'équilibre entre les enzymes régulant son homéostasie peut mener à des changements au niveau de la structure (fibrose avec déposition accrue de collagène vs dilatation/sphéricité accrue avec dégradation excessive du collagène), de la fonction myocardique (diastolique ou systolique) et de la conduction cardiaque (asynchronisme cardiaque, arythmies).⁵⁶ Par ailleurs, l'accroissement de la sphéricité contribuerait à l'apparition de régurgitation mitrale en provoquant un éloignement des muscles papillaires qui provoque une coaptation inadéquate des feuillets valvulaires.⁴⁸ Cette anomalie valvulaire contribuerait à aggraver la sévérité de l'IC puisqu'elle provoque une réduction additionnelle du débit cardiaque et une augmentation de la précharge.⁵² Les études ayant démontré que les bénéfices cliniques des antagonistes pharmacologiques du SRAA (IECA, ARA, antagonistes de l'aldostérone) et du système adrénergique (bêta-bloqueurs) étaient associés à un ralentissement ou un renversement du processus de remodelage ventriculaire ont contribué dramatiquement à établir l'importance de l'activation neurohormonale et du remodelage ventriculaire en IC.⁵⁸⁻⁶⁰

Bien qu'une description détaillée des différents systèmes impliqués en IC dépasse le cadre de cette thèse, nous ferons mention des plus importants afin d'illustrer la complexité de cette maladie. D'un point de vue neurohormonal, en plus des facteurs mentionnés ci-haut, mentionnons les peptides natriurétiques, et particulièrement le peptide natriurétique de type B (BNP). Cette neurohormone est sécrétée par les ventricules en réponse en une

augmentation de leur volume ou leurs pressions de remplissage^{55, 61, 62} et possède des propriétés vasodilatatrices et natriurétiques.⁵⁵ Les peptides natriurétiques constituent un groupe de neurohormones (les autres étant les peptides natriurétiques de type A [ANP] et C [CNP]) dont les effets physiologiques sont opposés aux neurohormones vasoconstrictrices (norépinéphrine, épinéphrine, vasopressine, endothéline).

De plus, le modèle actuel de la pathophysiologie de l'IC implique un déséquilibre entre la production et l'élimination de radicaux libres (stress oxydatif)⁵⁶ et de l'altération de l'expression ou de la fonction des protéines impliquées dans la contraction myocardique (par exemple la phospholamban).⁴⁸ Au cours des dernières années, de nombreuses données ont pointé vers l'implication d'un processus inflammatoire en IC. De nombreuses cytokines (interleukine-6,⁶³ *tumour necrosis factor- α* [TNF- α])⁶⁴ et cellules inflammatoires (neutrophiles, lymphocytes)⁶⁵⁻⁶⁷ pourraient jouer un rôle dans la pathophysiologie de la maladie. **Des données émergentes suggèrent que certaines de celles-ci⁶⁵⁻⁷⁰ et d'autres marqueurs inflammatoires⁷¹⁻⁷³ pourraient représenter des biomarqueurs pronostiques en IC.**

Le modèle actuel de l'IC inclut non seulement l'interaction entre ces différents systèmes biologiques, mais également leurs conséquences électrophysiologiques et mécaniques (Tableau V).⁴⁸ En effet, similairement au reste du myocarde, le système de conduction est susceptible de subir de la fibrose, ce qui peut mener à divers troubles de conduction. On estime qu'environ 30% des insuffisants cardiaques présentent un trouble de conduction qui mène à un asynchronisme au niveau de la dépolarisation des ventricules qui provoque une contraction ventriculaire non optimale et une réduction de la FEVG et du débit cardiaque.⁷⁴ Les bénéfices associés à la correction de l'asynchronisme cardiaque avec un stimulateur cardiaque biventriculaire illustrent bien l'importance de ces anomalies de conduction dans la pathophysiologie de l'IC.^{35, 36, 38, 74, 75}

Finalement, le modèle contemporain de l'IC implique non seulement le cœur et les reins, mais également de nombreux autres organes (poumons, muscles, autres; voir Figure 3). La pathophysiologie de ce syndrome est d'autant plus complexe puisqu'elle est influencée par divers facteurs comme les changements des saisons,⁷⁶ l'alimentation,⁷⁷ et diverses

morbidités comme l'anémie.⁷⁸ Un résumé des interactions entre ces différents systèmes est illustré au niveau de la Figure 3.

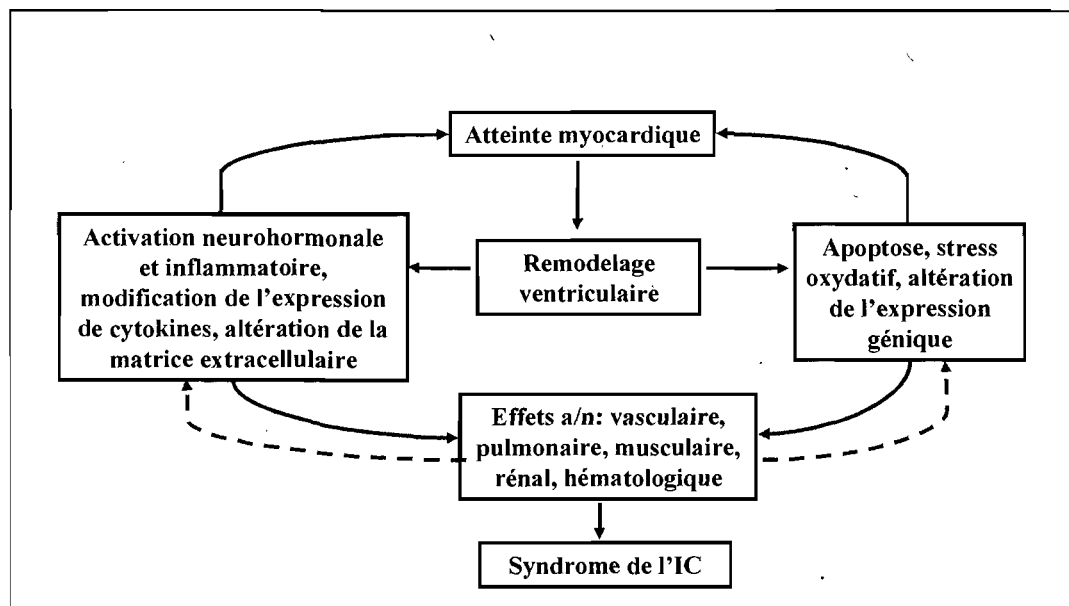


Figure 3. Modèle proposé de la pathophysiologie de l'insuffisance cardiaque.

Le modèle actuel de l'IC implique des interrelations complexes entre divers systèmes et organes qui contribuent à la progression de l'atteinte myocardique et à l'aggravation des signes et symptômes que présentent les patients. Adapté de McMurray et Pfeffer avec permission.¹⁵

Puisque la modulation du SRAA par différentes classes pharmacologiques sera abordée en détail dans le cadre de cette thèse, je décrirai avec plus de détails l'activation de ce système en IC dans les sections qui suivent.

1.4 Le système rénine-angiotensine-aldostérone

1.4.1 Composantes classiques du système rénine-angiotensine-aldostérone

L'importance du SRAA dans la pathophysiologie de l'IC est maintenant établie depuis près de deux décennies. Les principaux acteurs de ce système sont illustrés à la Figure 4.

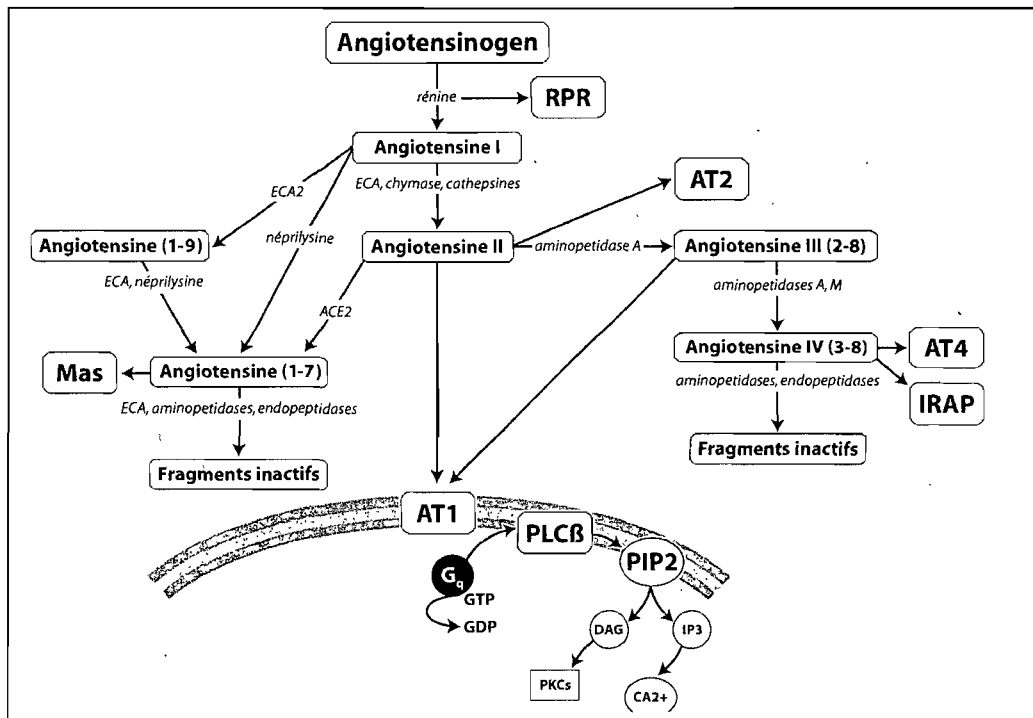


Figure 4. Le système rénine-angiotensine-aldostérone.⁷⁹⁻⁸¹

AT : Récepteur de l'angiotensine; CaMKII : kinases Ca / calmoduline dépendante DAG : diacylglycérol; ECA : enzyme de conversion de l'angiotensine; IP3 : inositol-1,4,5 triphosphate; IRAP : insulin-regulated amino peptidase receptor; PLC β : Phospholipase C, bêta PIP2 : phosphatidylinositol 4,5-diphosphate; PKCs : protéines kinases.

Dans le modèle endocrinien classique du SRAA, l'angiotensinogène est produit principalement par le foie.⁸² Ce dernier est clivé en angiotensine I, un décapeptide, par la rénine, une protéase synthétisée, emmagasinée et sécrétée dans la circulation artérielle rénale par les cellules juxtaglomérulaires des artéioles afférentes rénales.^{82, 83} La sécrétion de la rénine est influencée par un nombre substantiel de facteurs endogènes (les concentrations en sodium et en chlore au niveau de la macula densa, la tension artérielle au niveau des barorécepteurs rénaux, l'activation des récepteurs bêta₁-adrénergiques au niveau des cellules juxtaglomérulaires) et exogènes (quantité de sodium dans la diète et divers médicaments [vasodilatateurs, modulateurs des systèmes adrénergiques et RAA, diurétiques et anti-inflammatoires non-stéroïdiens]).

L'angiotensine I, dont l'activité biologique est limitée (environ 1% de l'angiotensine II), est clivée en angiotensine II, biologiquement active, par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA).⁸³ L'ECA métabolise en plus la bradykinine, ce qui explique

pourquoi elle porte également le nom de kininase II.⁸⁴ L'ECA est un enzyme situé principalement au niveau de l'endothélium des vaisseaux pulmonaires.⁸⁴ Il existe deux types d'ECA chez l'humain, une forme de haut poids moléculaire (170 kDa), qu'on retrouve libre dans le plasma (< 10% de l'ECA total⁸⁴) ou lié aux membranes de divers tissus et une forme de faible poids moléculaire, qu'on retrouve uniquement dans les cellules germinales.⁸⁴ Les effets de l'angiotensine II sont médiés principalement par la stimulation des récepteurs AT1 et AT2, deux récepteurs couplés à des protéines G (G_q , $G_{12/13}$, et G_i pour l'AT1 et G_i pour l'AT2).^{83, 85, 86} L'angiotensine II est responsable de la majorité des effets biologiques connus du SRAA, dont la synthèse de l'aldostérone.⁸³ Bien que traditionnellement l'AT1 ait été décrit comme produisant les effets néfastes de l'angiotensine II et l'AT2 les effets bénéfiques, la compréhension de la physiologie de l'AT2 demeure incomplète.⁸³ Les effets physiologiques de l'angiotensine II sont détaillés au tableau VI, ceux de l'aldostérone au tableau VII.

Il est maintenant acquis que la description endocrinienne classique du SRAA s'avère incomplète et que ses effets cardiovasculaires dépassent ce modèle.^{79, 82, 87} En effet, divers tissus, incluant les tissus adipeux, le cœur et les vaisseaux sanguins produisent localement de la rénine, de l'angiotensinogène, de l'angiotensine I, II, l'ECA, le récepteur AT1 et l'aldostérone, faisant du SRAA un système avec une activité non seulement endocrine, mais paracrine.^{79, 87-90} Les concentrations plasmatiques de l'angiotensinogène, de la rénine, de l'ECA et de l'aldostérone sont augmentées chez les patients obèses,⁹⁰ contribuant potentiellement à expliquer pourquoi l'obésité est un facteur de risque de l'hypertension et de l'IC.^{88, 90, 91} Au niveau myocardique, l'expression de l'ECA et des autres composantes du SRAA est relativement faible chez des sujets sains. Toutefois, une activation marquée apparaît en IC et dans d'autres modèles d'atteinte myocardique.⁸⁴ Une discussion plus détaillée de ces effets en IC suivra dans la section 1.4.1. Finalement, plusieurs voies enzymatiques non reliées à la rénine ou l'ECA, comme les chymases, la cathepsine ou la tonine, peuvent produire de l'angiotensine I et II.⁹² Celles-ci pourraient donc jouer un rôle important en IC.

Tableau VI. Exemples sélectionnés des effets de l'angiotensine II^{79, 81-83, 93}

Récepteur AT1	Récepteur AT2
<p><u>Hémodynamique et rénal</u> Vasoconstriction périphérique et rénale Réabsorption sodique</p>	Production de bradykinine Production d'oxyde nitrique Vasodilatation Inhibition de la croissance cellulaire Activité antiproliférative Apoptose
<p><u>Remodelage tissulaire</u> Hypertrophie myocardique et vasculaire Fibrose myocardique et vasculaire par une activation de la synthèse du collagène et activation de métalloprotéinases Apoptose</p>	
<p><u>Neurohumoral</u> Augmentation de la synthèse et sécrétion d'aldostérone, de la vasopressine et de l'endothéline Augmentation de la norépinéphrine</p>	
<p><u>Inflammation</u> Augmentation de NF-κB, de certaines molécules d'adhésion (VCAM-1, ICAM-1), de chémokines (MCP-1), et cytokines inflammatoires (IL-6, TNF-α).</p>	
<p><u>Fonction endothéliale</u> Réduction de l'oxyde nitrique Stimulation de la production de PAI-1</p>	
<p><u>Stress oxydatif</u> Production d'anion superoxyde et de l'activité de la NAD(P)H oxydase</p>	
<p><u>Métabolique</u> Fibrose et apoptose des cellules β du pancréas Réduction des concentrations d'adiponectine Réduction de l'expression des récepteurs PPAR-γ Augmentation de la production des triglycérides au niveau du foie</p>	

ICAM-1 : *intracellular adhesion molecule*; IL-6 : *interleukine 6*; MCP-1 : *monocyte chemoattractant protein-1*; NF- κ B : *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*; VCAM : *vascular adhesion molecules*; PAI-1 : *plasminogen activator inhibitor-1*; TNF- α : *tumor necrosis factor α*

Tableau VII. Résumé des effets délétères de l'aldostérone en IC⁹⁴⁻⁹⁸

- Rétention sodique
- Perte de magnésium et de potassium
- Augmentation de la tension artérielle
- Activation sympathique
- Inhibition parasympathique
- Fibrose vasculaire et myocardique
- Hypertrophie myocardique
- Réduction de la compliance artérielle
- Dysfonction endothéliale
- Réduction de l'oxyde nitrique
- Inflammation vasculaire
- Réduction de la sensibilité des barorécepteurs

L'angiotensine II, par une stimulation du récepteur AT1,^{82,83} et l'aldostérone, par une stimulation du récepteur minéralocorticoïde et potentiellement d'autres voies non reliées au récepteur minéralocorticoïde, provoquent des effets physiologiques cardiovasculaires délétères sur différents organes (cœur, vaisseaux, reins). Au niveau vasculaire, l'angiotensine II induit une vasoconstriction tant artérielle que veineuse, augmentant ainsi la précharge et la postcharge.^{82,93} Par ailleurs, l'angiotensine II stimule également la libération ou la production de nombreuses autres neurohormones vasoconstrictrices comme la norépinéphrine, l'endothéline et la vasopressine.⁸³ La vasopressine favorisant en plus une rétention hydrique au niveau rénal.⁸²

Au niveau rénal, l'angiotensine II (au niveau du tubule proximal) et surtout l'aldostérone (tubule distal) favorisent la réabsorption sodique, ce qui contribue à augmenter la précharge.⁹³ L'aldostérone favorise l'excrétion de potassium et de magnésium.⁹⁵

L'hypokaliémie et l'hypomagnésémie favoriseraient l'apparition d'arythmies fatales.⁹⁹ La prévention de ces désordres électrolytiques expliquerait, en partie, la réduction du risque de mort subite observée avec les antagonistes de l'aldostérone.⁹⁵ Cette modulation de la

réabsorption sodique et de l'excrétion potassique par l'aldostérone n'est pas exclusivement confinée aux reins, mais est également présente au niveau du côlon, des glandes salivaires et sudoripares, lesquels expriment le récepteur minéralcorticoïde.¹⁰⁰

L'angiotensine II favoriserait également l'apparition de dysfonction endothéliale, secondaire à une réduction d'oxyde nitrique, en plus d'augmenter la croissance musculaire lisse vasculaire ainsi que certaines molécules d'adhésion et certaines cytokines (Tableau VI).^{82, 83, 93} L'augmentation de stress oxydatif secondaire à une activation de la NAD(P)H oxydase serait responsable d'une partie importante des effets vasculaires délétères de l'angiotensine II.⁸³ Finalement, l'angiotensine II possède un effet prothrombotique en stimulant la synthèse de PAI-1 et une activation de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaire.⁹³ Globalement, ces phénomènes vasculaires expliqueraient l'importance de cette neurohormone dans le développement de l'athérosclérose et de ses complications comme l'infarctus du myocarde.⁸³

L'angiotensine II et l'aldostérone participent à la fibrose vasculaire et myocardique en modulant la synthèse de collagène par les fibroblastes ainsi que l'expression de diverses métalloprotéinases impliquées dans la dégradation du collagène.^{83, 101} Cette fibrose accentuerait la réduction de la compliance artérielle et la dysfonction diastolique présentement en IC.^{83, 94, 101} L'angiotensine II aggraverait également la dysfonction diastolique en induisant de l'hypertrophie myocardique.^{82, 83} Malgré des études échocardiographiques démontrant les bénéfices des IECA, des ARA et des antagonistes de l'aldostérone sur l'hypertrophie myocardique et la compliance ventriculaire, les bénéfices cliniques des inhibiteurs du SRAA se sont toutefois avérés décevants dans le traitement de l'IC avec FEVG préservée.^{10, 102, 103} Les raisons sous-jacentes à cette absence d'efficacité demeurent pour l'instant obscures, mais celle-ci pourrait refléter la grande hétérogénéité de cette population.

1.4.2 Le système rénine-angiotensine-aldostérone : une complexité grandissante

Au cours des dernières années, la complexité du SRAA est devenue encore plus appréciable. Ainsi, il existerait dans certaines cellules, dont les myocytes, un SRAA intracellulaire. Le SRAA serait donc également un système intracrine.¹⁰⁴ La chymase serait

le principal enzyme responsable de la conversion de l'angiotensine I intracellulaire en angiotensine II, du moins dans des conditions d'hyperglycémie.^{81, 105} Une partie importante des effets intracrines de l'angiotensine II apparaissent comme indépendants des récepteurs AT1 et AT2.¹⁰⁴ Ceux-ci seraient le résultat d'une liaison de l'angiotensine II à la chromatine nucléaire et une modulation directe de certains gènes.¹⁰⁴ L'angiotensine II intracellulaire pourrait contribuer à l'apparition de l'hypertrophie cardiaque.⁸¹ Les implications physiologiques du SRAA intracellulaire demeurent à définir. Étant donné qu'une partie importante des effets de l'angiotensine II intracellulaires ne sont pas médiés par le récepteur AT1, donc non inhibés par les ARA, et l'importance potentielle de la chymase dans la synthèse de l'angiotensine II intracellulaire, non inhibée par les IECA, une inhibition de la rénine intracellulaire par un agent comme l'aliskiren, pourrait représenter une avenue thérapeutique avantageuse. Ces hypothèses restent toutefois à confirmer.

En plus des substances classiquement associées au SRAA, de plus récents travaux ont identifié de nouveaux acteurs dans ce système: le récepteur de la prorénine et de la rénine ([pro]rénine),¹⁰⁶ l'ECA2, l'angiotensine III (ou angiotensine [2-8]), l'angiotensine IV (3-8), l'angiotensine (1-7), les récepteurs AT3, AT4 et Mas.^{79, 83, 84, 107} Le tableau VIII résume les actions physiologiques de ces nouvelles composantes du SRAA.

Le récepteur de la (pro)rénine, surtout abondant au niveau cardiaque, cérébral et placentaire,⁸¹ mène à l'activation de certaines kinases (*extracellular signal-regulated kinase* [ERK] 1/2) qui résultent dans l'expression de certains gènes favorisant la fibrose et l'hypertrophie cardiaque (transforming Growth Factor-beta 1 [TGF-β1], PAI-1, collagène).⁸¹ Ces récepteurs participeraient également à la synthèse de l'angiotensine II tissulaire en activant la prorénine en rénine lorsque celle-ci se lie à ce récepteur. Ainsi, le blocage du récepteur de la (pro)rénine, pourrait représenter une nouvelle avenue thérapeutique intéressante. Des données chez des souris diabétiques supportent une telle hypothèse, le blocage de ce récepteur étant efficace pour prévenir la progression de la néphropathie diabétique dans ce modèle.^{108, 109} Étant donné que tous les inhibiteurs du SRAA entraînent une augmentation des concentrations de la rénine et de la prorénine,¹¹⁰ l'utilisation d'un antagoniste du récepteur de la (pro)rénine pourrait être bénéfique même en présence de ces agents.¹¹¹

L'angiotensine III possède des effets qui seraient semblables à l'angiotensine II sur la tension artérielle et l'excrétion sodique.¹¹² Dans une étude effectuée chez des chiens, ces effets étaient complètement bloqués par l'administration du candésartan, suggérant un rôle déterminant du récepteur AT1 dans la signalisation des effets délétères de l'angiotensine III.¹¹²

L'angiotensine IV (ou angiotensine [3-8]) provient d'une conversion de l'angiotensine III par l'aminopeptidase M. Elle contribue à promouvoir de l'hypertrophie vasculaire et cardiaque et des effets pro-inflammatoires induits par une activation du facteur de transcription NF- κ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*). Les récepteurs IRAP (insulin-regulated amino peptidase receptors) et AT4 représentent les deux récepteurs de l'angiotensine IV.^{79, 81} Puisque les effets délétères de cette neurohormone ne sont pas associés à la stimulation du récepteur AT1, les IECA et les inhibiteurs de la rénine seraient théoriquement plus efficaces afin de contrer les effets de l'angiotensine IV.¹¹⁰

L'angiotensine (1-7), aurait quant à elle des propriétés cardiovasculaires protectrices dont des effets vasodilatateurs, antihypertrophiques et antifibrotiques.^{79, 83, 107, 113} Les effets de l'angiotensine (1-7) découleraient de la stimulation du récepteur Mas.⁸¹ Les effets vasodilatateurs seraient provoqués spécifiquement par une libération de bradykinine et de NO. L'angiotensine (1-7) est produite principalement par l'ECA2 par un métabolisme de l'angiotensine II.⁸⁰ Toutefois, elle est également produite par d'autres voies illustrées à la figure 4.⁸⁰ D'autres voies de synthèses ont également été proposées.⁸⁰ On retrouve l'ECA2 principalement au niveau de l'endothélium vasculaire rénal, cardiaque, hypothalamique et aortique.⁸⁰ Ni les IECA, ni les ARA n'inhibent son activité. Ceux-ci semblent plutôt augmenter son expression. Globalement, le duo angiotensine (1-7)/ECA2 semble avoir comme rôle de contrebalancer les effets du duo angiotensine II/ECA. D'un point de vue pharmacologique, des activateurs de l'ECA2 ou des analogues de l'angiotensine (1-7) sont donc devenus des cibles thérapeutiques d'intérêt au cours des dernières années.¹¹¹

Tableau VIII. Résumé des effets des nouvelles composantes du SRAA et de leurs effets physiologiques⁸¹

Peptide	Récepteurs	Effets physiologiques
Angiotensine III (2-8)	AT1	Vasoconstriction Activation adrénergique Libération de vasopressine et d'aldostérone Hypertrophie Fibrose Stress oxydatif
Angiotensine IV (3-8)	IRAP, AT4	Activation du NF- κ B Augmentation de MCP-1, IL-6, TNF- α , ICAM-1, PAI-1. Hypertrophie vasculaire et cardiaque
Angiotensine (1-7)	Mas	Vasodilatation Antifibrotique Antihypertrophique Antithrombotique Amélioration de la fonction endothéliale
(pro) Rénine	(pro)rénine	Effet inotrope positif Hypertrophie Fibrose Apoptose

AT : récepteur de l'angiotensine; ICAM-1 : *intracellular adhesion molecule*; IL-6 : interleuline 6; IRAP : insulin-regulated amino peptidase receptor; MCP-1 : *monocyte chemoattractant protein-1*; NF- κ B : *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*; PAI-1 : *plasminogen activator inhibitor-1*; TNF- α : *tumor necrosis factor α*

1.4.3 Le système rénine-angiotensine-aldostérone et l'insuffisance cardiaque

L'IC est caractérisée par une augmentation des concentrations de la rénine, de l'ECA, de l'angiotensine II, de l'aldostérone synthase et de l'aldostérone au niveau plasmatique¹¹⁴ et myocardique.¹¹⁵⁻¹²⁰ Chez les patients atteints d'IC, les concentrations myocardiques des composantes du SRAA sont proportionnelles à la sévérité des symptômes (voir Figure 5

pour production myocardique d'angiotensine II) et aux volumes ventriculaires.^{117, 118} De plus, elles influenceraient l'évolution du processus de remodelage ventriculaire.^{117, 118} Dans le cas spécifique de l'ECA, l'augmentation de cette expression serait présente tant au niveau vasculaire, qu'au niveau des fibroblastes et des myocytes.⁸⁴ Bien que les données relatives à ce sujet s'avèrent contradictoires, cette augmentation locale des concentrations en angiotensine II et en aldostérone semble accompagnée d'une réduction de l'expression des récepteurs AT1 au niveau myocardique.^{117, 118, 121, 122} Par ailleurs, de plus en plus de données font ressortir l'importance d'autres enzymes dans la synthèse de l'angiotensine II et de l'aldostérone (chymases, cathepsine) qu'on retrouve au niveau cardiaque en IC. Ces enzymes proviendraient de cellules non cardiaques comme les macrophages, les mastocytes et les neutrophiles.⁸⁴ Les nombreux effets physiologiques préalablement discutés (hémodynamiques, vasculaires, inflammatoires, neurohormonaux) peuvent expliquer l'impact délétère de l'angiotensine II et l'aldostérone la pathophysiologie de l'IC.⁸⁴

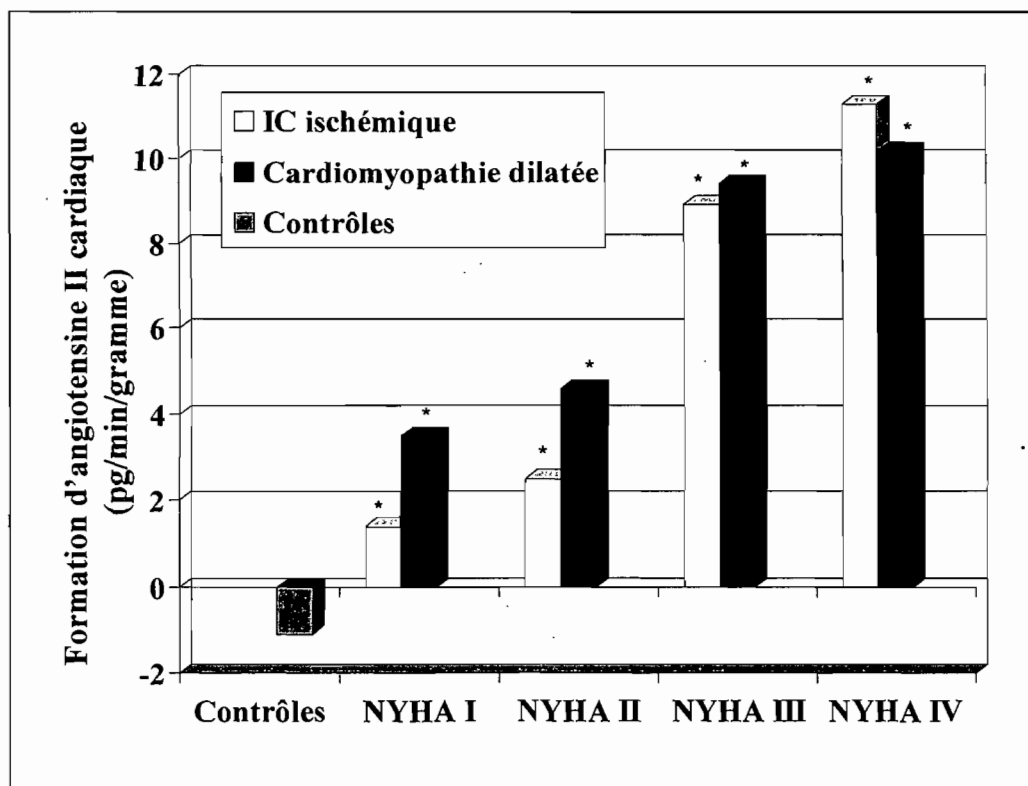


Figure 5. Formation d'angiotensine II chez des patients atteints d'insuffisance cardiaque ischémique, de cardiomyopathie dilatée et chez des sujets contrôles.

La formation d'angiotensine II correspond au gradient d'angiotensine II entre l'aorte et le sinus coronarien indexé pour le flot sanguin coronarien et la masse cardiaque. * $p < 0,05$ vs contrôles.¹¹⁸

Des données émergentes suggèrent que l'ECA2 serait particulièrement importante dans la pathophysiologie de l'IC. En effet, celle-ci apparait essentielle au maintien de l'équilibre entre l'angiotensine II et l'angiotensine (1-7) au niveau cardiaque, l'absence de son expression menant en une dysfonction cardiaque sévère.¹²³ Chez l'humain, les données concernant l'implication de ces protéines en IC sont relativement limitées. De façon générale, une augmentation de l'expression myocardique de l'ECA2 a été observée chez ces patients.^{124, 125} Récemment, d'autres rapportaient une augmentation des concentrations plasmatiques de l'ECA2 en IC.¹²⁶ Ces concentrations étaient proportionnelles à la sévérité de la classe fonctionnelle NYHA, et inversement proportionnelles à la FEVG. Ceci suggère que l'augmentation de l'expression de cet enzyme en IC apparait pour compenser l'activation délétère des autres composantes du SRAA.¹²⁶

Il est important de noter que malgré le rôle définitif de l'activation du SRAA dans la pathophysiologie de l'IC et des bénéfices cliniques découlant de son inhibition, la mesure des concentrations sanguines des différents acteurs de ce système s'est révélée d'une valeur pronostique variable chez les patients atteints d'IC.¹²⁷⁻¹³¹ Des données plus récentes suggèrent que la mesure simultanée du cortisol sérique avec l'aldostérone augmenterait la valeur pronostique de l'aldostérone.¹²⁸ Toutefois, la valeur pronostique de ces biomarqueurs est de loin inférieure à celle du BNP.^{129, 130} La valeur prédictive de ces biomarqueurs serait particulièrement limitée dans le contexte où des modulateurs du SRAA sont utilisés,^{127, 129, 130} contrairement au BNP.^{55, 129} Ces marqueurs sont d'une utilité limitée pour identifier les individus les plus susceptibles de bénéficier d'inhibiteurs du SRAA.^{127, 129-132}

2 Le traitement de l'insuffisance cardiaque

2.1 Généralités

Le traitement de l'IC repose sur la combinaison de diverses mesures non pharmacologiques (voir Tableau IX), pharmacologiques et sur l'utilisation de dispositifs implantables (défibrillateurs, thérapie de resynchronisation avec stimulateurs cardiaques). La figure 6 résume le traitement recommandé chez ces patients.

Les objectifs de traitement de l'IC sont :

- Traiter les facteurs de risque
- Prévenir la progression de la maladie
- Améliorer les symptômes, la tolérance à l'effort et la qualité de vie
- Réduire le risque de mortalité et de morbidité.

Une autre facette importante du traitement de ces patients est d'éviter les facteurs pouvant précipiter des épisodes d'IC décompensée (ex : des infections) et certains médicaments.

Plus spécifiquement, on devrait éviter l'utilisation de médicaments provoquant de la rétention hydrosodée (ex : les anti-inflammatoires non-stéroïdiens),¹³³ ayant des effets inotropes négatifs (ex : le diltiazem),¹³⁴ proarythmiques (ex : antidépresseurs tricycliques) ou cardiotoxiques (ex : anthracyclines).¹³⁵

Tableau IX. Mesures non pharmacologiques recommandées dans le traitement de l'insuffisance cardiaque.

Maîtrise des facteurs de risque

Consommation d'alcool avec modération (éviter complètement si cardiomyopathie alcoolique)

Restriction sodée (< 2-3 g de sodium/jour)

Restriction liquidienne (1,5- 2 L/jour) chez patients avec hyponatrémie ou rétention liquidienne qui n'est pas facilement contrôlée par diurétiques et restriction sodique.

Prise de poids quotidienne

Vaccination vs influenza et pneumocoque

2.1.1 Le traitement pharmacologique - survol

La pierre angulaire du traitement pharmacologique chez tous les patients présentant une FEVG \leq 40% est la combinaison d'un IECA et d'un bêta-bloqueur (voir Figure 6).^{1, 2, 136}

Cette recommandation se base sur de nombreux essais cliniques en IC et en IC post-infarctus qui ont démontré une réduction du risque de mortalité et de morbidité avec ces agents.^{20, 25-27, 29, 31-33, 137-140} Les bénéfices des IECA en IC seront discutés en détail dans des sections subséquentes. En ce qui concerne les bêta-bloqueurs, le carvedilol,³¹⁻³³ le bisoprolol²⁹ et le métoprolol succinate (non disponible au Canada)²⁰ réduisent les risques de

décès et de mortalité chez les patients présentant de l'IC systolique de classes fonctionnelles NYHA de II à IV. Les grands essais cliniques ayant démontré les bénéfices cliniques des bêta-bloqueurs en IC sont décrits au tableau X. Des bénéfices sur la mortalité et la morbidité ont également été observés chez les patients présentant de l'IC post infarctus avec le carvedilol.¹⁴¹ Une partie des effets pharmacologiques bénéfiques des bêta-bloqueurs en IC pourrait découler d'une réduction de la synthèse de rénine découlant du blocage des récepteurs bêta₁-adrénergiques au niveau des cellules juxtaglomérulaires.^{142, 143} Parmi les bêta-bloqueurs étudiés dans de grands essais cliniques, seul le bucindolol¹⁴⁴ (non disponible au Canada) n'a pas démontré d'impact bénéfique significatif.

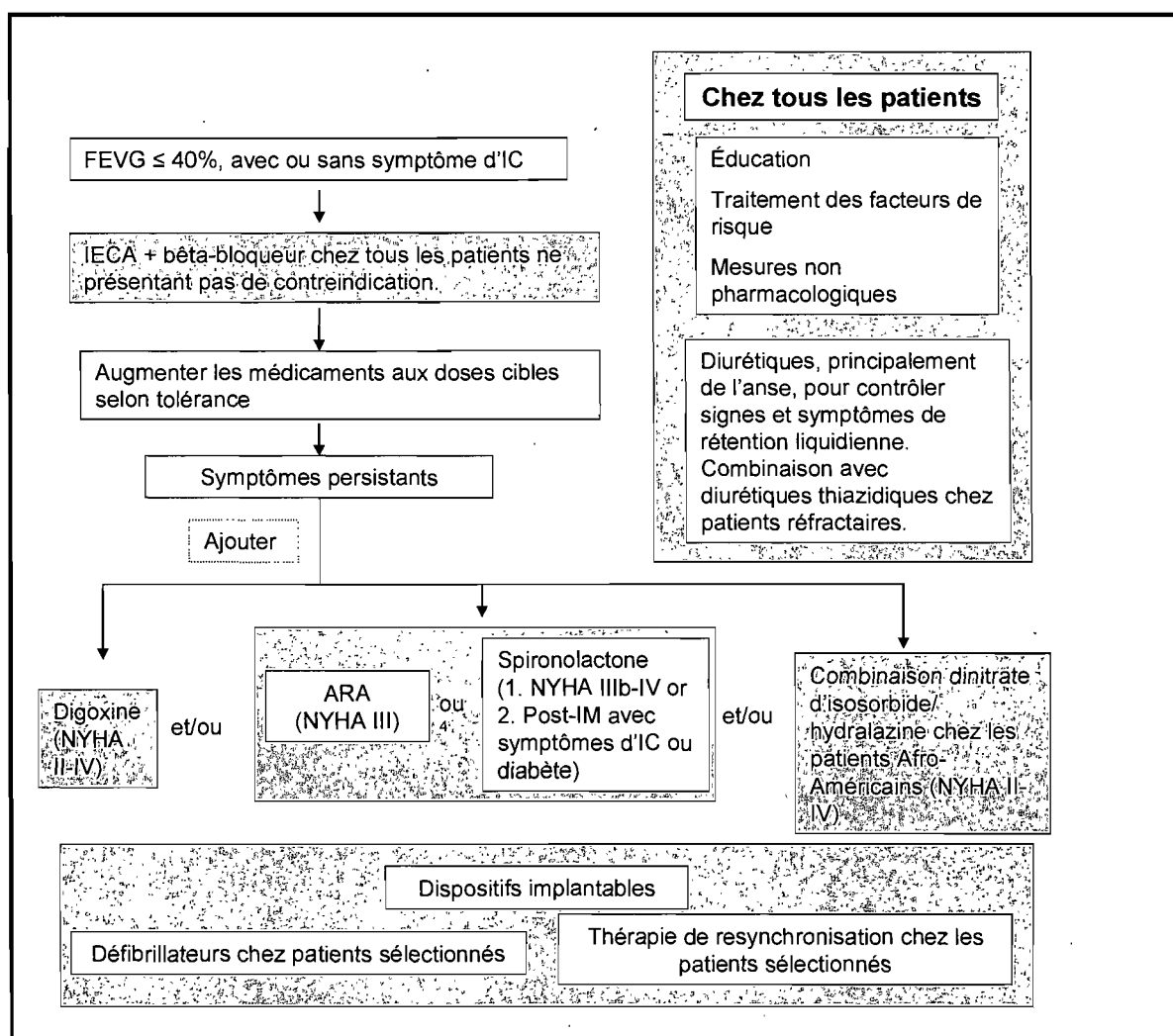


Figure 6. Le traitement de l'insuffisance cardiaque.

Le traitement pharmacologique de base de l'IC repose sur la combinaison d'un IECA et d'un bêta-bloqueur à des doses optimales. Les diurétiques sont utilisés afin de minimiser les signes et symptômes d'hypervolémie. Chez les patients qui demeurent symptomatiques, la digoxine, les ARA, les antagonistes de l'aldostérone et la combinaison dinitrate

d'isosorbide/hydralazine sont utilisés chez des patients sélectionnés. Les dispositifs implantables, défibrillateurs et thérapie de resynchronisation, sont également utilisés chez des patients sélectionnés.

Tableau X. Études cliniques randomisées majeures avec groupe placebo ayant évalué l'impact des bêta-bloqueurs en insuffisance cardiaque.

Étude	Sommaire de l'étude	Point d'aboutissement	Bêta-bloqueur	Placebo	p
U.S carvedilol ³³	1094 patients, NYHA II-III, FEVG moyenne 23%	Mortalité*	3,2%	7,8%	< 0,001
		Hospitalisations	14,1%	19,6%	0,036
COPERNICUS ³¹	2289 patients, symptômes au repos ou effort minimal, cliniquement euvolémique - FEVG moyenne 19,8%	Mortalité totale*	11,2%	16,7%	0,0001
		Mortalité ou hospitalisations	36,7%	44,7%	< 0,001
MERIT-HF ²⁰	3991 patients, NYHA II-III, FEVG moyenne 28%	Mortalité*	7,2%	11,0%	< 0,001
		Hospitalisations	29,1%	33,3%	0,004
CIBIS-II ²⁹	2647 patients, NYHA III-IV, FEVG moyenne 28%	Mortalité*	11,8%	17,3%	< 0,001
		Hospit pour IC	12%	18%	0,0001
BEST ¹⁴⁴	2708 patients, NYHA III-IV, FEVG moyenne 23%	Mortalité*	30%	33%	0,10
		Hospitalisations	61%	65%	0,08

*Point d'aboutissement primaire

BEST : Beta-Blocker Evaluation of Survival Trial; CIBIS II : Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II; COPERNICUS : Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival Study Group; MERIT-HF : Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure

Chez les patients symptomatiques, les diurétiques, particulièrement les diurétiques de l'anse comme le furosémide, sont utilisés afin de minimiser les symptômes de surcharge volémique.¹⁴⁵ Bien qu'aucune étude de grande envergure n'ait évalué l'impact de cette classe pharmacologique sur le risque d'évènements cardiovasculaires, les données disponibles suggèrent une amélioration de la tolérance à l'effort et une réduction du risque d'hospitalisation et de décès avec ces agents.^{146, 147} Toutefois, l'administration de diurétiques de l'anse, particulièrement à des doses élevées, entraîne une activation du

SRAA et du système adrénérgerique,¹⁴⁸ ce qui pourrait avoir des conséquences délétères sur le pronostic des patients.¹⁴⁹ La recherche d'alternatives aux diurétiques de l'anse constitue donc un domaine de recherche extrêmement actif en IC.¹⁵⁰⁻¹⁵⁴ Malgré ces limites, il ne fait aucun doute que cette classe de médicament joue un rôle important chez ces patients.

Les ARA, les antagonistes de l'aldostérone, la digoxine et la combinaison de dinitrate d'isosorbide et d'hydralazine sont utilisés chez certains patients sélectionnés. Une discussion plus approfondie des bénéfices et des risques des ARA et de la spironolactone suivra dans les prochaines pages. Brièvement, on recommande d'utiliser la spironolactone chez les patients présentant des symptômes sévères étant donné la réduction du risque de décès et d'hospitalisation observée dans l'étude RALES (Randomized Aldactone Evaluation Study).³⁰ Quant aux ARA, leurs bénéfices sont clairement établis chez les patients intolérants aux IECA à cause d'une toux.⁹ Par ailleurs, l'addition d'un ARA, et plus particulièrement du candésartan, chez des patients prenant un IECA réduit le risque d'événements cardiovasculaires.⁸ L'utilisation routinière de la combinaison IECA-ARA-spironolactone n'est présentement pas recommandée étant donné son bénéfice incertain et le risque accru d'hyperkaliémie avec cette combinaison.

L'utilisation de la digoxine est limitée aux patients demeurant symptomatiques malgré une combinaison IECA-bêta-bloqueurs, ou afin de contrôler la réponse ventriculaire chez les patients également atteints de fibrillation auriculaire.¹ L'utilisation de la digitale, qui remonte à plus de deux cents ans, reposait autrefois sur ses propriétés inotropes positives résultant de son inhibition de la pompe Na⁺/K⁺-ATPase.¹⁵⁵ On attribue aujourd'hui davantage ses bénéfices cliniques (amélioration de la capacité fonctionnelle et des symptômes d'IC, réduction des hospitalisations)²⁸ à une potentialisation du système parasympathique, à son inhibition du SRAA et système adrénérgerique et à son amélioration de la sensibilité des barorécepteurs.¹⁵⁵ En fait, la digoxine est le seul inotrope positif n'augmentant pas la mortalité lorsqu'utilisée de façon chronique chez les patients atteints d'IC.²⁸ Une analyse rétrospective de DIG (Digitalis Investigation Group), la plus grande étude prospective ayant évalué l'impact clinique de cet agent en IC, a suggéré une réduction du risque de décès avec l'utilisation de faibles concentrations sériques de digoxine.¹⁵⁶ À l'opposé, une augmentation de ce risque était observée chez les patients

présentant des concentrations plus élevées.¹⁵⁶ Ces résultats, comme ceux d'autres auteurs,¹⁵⁷ supportent l'utilisation de concentrations de 0,6-1.2 nmol/L chez les patients atteints d'IC systolique.²

La combinaison dinitrate d'isosorbide/d'hydralazine occupe quant à elle une place plus limitée dans l'arsenal thérapeutique de l'IC. Étant donné l'infériorité de cette combinaison par rapport aux IECA et la complexité de son schéma posologique,¹³⁷ elle est réservée aux patients qui ne peuvent tolérer un IECA ou un ARA à cause d'un angioedème, d'insuffisance rénale ou d'hyperkaliémie. Chez les patients d'origine afro-américaine, l'ajout de cette combinaison à une thérapie standard, incluant un IECA et un bêta-bloqueur, a toutefois démontré des bénéfices chez les patients symptomatiques, justifiant ainsi une utilisation plus étendue dans cette population.¹⁵⁸

2.1.2 Dispositifs implantables

Deux types de dispositifs implantables sont utilisés chez les patients avec IC : les défibrillateurs implantables et la thérapie de resynchronisation cardiaque à l'aide de stimulateurs cardiaques biventriculaires. Cette utilisation se base sur les résultats de nombreuses études qui ont démontré que les défibrillateurs implantables réduisent le risque de décès, tandis que la thérapie de resynchronisation cardiaque améliore les symptômes d'IC, réduit le risque d'hospitalisation et améliore la survie des patients présentant de l'asynchronisme cardiaque et des symptômes modérés à sévères.^{34, 35, 37, 38, 75} Un résumé des indications de ces modalités thérapeutiques est présenté dans le tableau XI.

Tableau XI. Indications pour l'utilisation de dispositifs implantables dans le traitement de l'insuffisance cardiaque.¹⁵⁹

Dispositif	Indication
Défibrillateurs implantables	<ul style="list-style-type: none"> • Patients avec un antécédent de fibrillation ventriculaire ou de tachycardie ventriculaire soutenue hémodynamiquement instable en l'absence de facteurs réversibles • Chez les patients cliniquement stables, ayant un pronostic favorable, recevant une thérapie pharmacologique optimale, une FEVG < 30%, classes NYHA II-III (et NYHA I si IC ischémique), l'utilisation d'un défibrillateur implantable est recommandée. L'utilisation devrait être considérée si FEVG 31-35%. • Patients avec maladie coronarienne et un antécédent d'infarctus du myocarde présentant de la tachycardie ventriculaire non soutenue et une FEVG de 31-35% devrait être considérés pour une étude électrophysiologique. Si une tachycardie ventriculaire est induite durant l'étude électrophysiologique, l'utilisation d'un défibrillateur implantable devrait être considérée.
Thérapie de resynchronisation cardiaque	<ul style="list-style-type: none"> • Devrait être considérée chez les patients de classes NYHA III ou IV, en rythme sinusal, présentant une FEVG <35% et un QRS ≥ 120 mmsec

FEVG : Fraction d'éjection ventriculaire gauche NYHA : New York Heart Association

2.1.3 L'inhibition du système rénine-angiotensine-aldostérone en insuffisance cardiaque.

2.1.3.1 Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

2.1.3.1.1 Pharmacologie

Les IECA sont des inhibiteurs spécifiques de l'ECA.¹⁶⁰ Ils bloquent la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II, réduisant ainsi les effets physiologiques de celle-ci

(Tableau VI). Puisque le traitement de l'IC se basait principalement sur des considérations hémodynamiques au début des années 80, l'évaluation de l'efficacité des IECA en IC s'appuyait initialement sur leurs effets vasodilatateurs.¹⁶⁰ Les bénéfices hémodynamiques escomptés ont été confirmés dans de nombreuses études. En effet, ces agents produisent une réduction des résistances vasculaires périphériques (la postcharge), de la pression capillaire pulmonaire bloquée (la précharge), de la résistance vasculaire pulmonaire tout en augmentant le débit/index cardiaque et le volume d'éjection systolique.¹⁶¹⁻¹⁶⁷ La réduction de la précharge pourrait également résulter en partie d'un effet natriurétique modeste, attribuable à une réduction de la réabsorption sodique induite par l'angiotensine II au niveau du tubule proximal et de l'inhibition de la production d'aldostérone.¹⁶⁸ L'inhibition de la production d'aldostérone réduit également l'excrétion de potassium et le risque d'hypokaliémie associé.¹⁶⁷ Ces améliorations hémodynamiques, contrairement à ce qui est observé avec d'autres vasodilatateurs, ne sont pas accompagnées d'une augmentation de la fréquence cardiaque.¹³⁷ Ceci résulte vraisemblablement d'une amélioration de la sensibilité des barorécepteurs¹⁶⁹ et d'une réduction de la libération de la norépinéphrine¹³⁰ par les IECA. La réduction de la libération de norépinéphrine serait attribuable à une réduction de la stimulation par l'angiotensine II des récepteurs AT1 présents au niveau présynaptique adrénergique.^{160, 169} Finalement, ces effets hémodynamiques sont accompagnés d'une réduction de la tension artérielle.¹⁶¹⁻¹⁶⁷

Au niveau cardiaque, les IECA entraînent des effets bénéfiques sur le processus de remodelage cardiaque.¹³⁸ Plus spécifiquement, les IECA réduisent les volumes ventriculaires et favorisent un retour à sa forme elliptique.^{138, 170} Bien que les effets hémodynamiques des IECA contribuent à cette amélioration, l'inhibition de la production d'angiotensine II et d'aldostérone myocardiques et vasculaires contribuerait également de façon importante à ces effets,¹⁰¹ étant donné que moins de 10% de l'ECA est retrouvé dans le plasma.¹⁷¹ L'importance potentielle de ces effets locaux a poussé certains à émettre l'hypothèse que les IECA ayant une meilleure inhibition tissulaire de l'ECA seraient supérieurs aux autres IECA. Cette meilleure inhibition de l'ECA tissulaire serait attribuable principalement à une meilleure pénétration tissulaire ou une plus grande affinité pour l'ECA. Cette hypothèse reste à confirmer,⁸⁴ particulièrement puisque de nombreux IECA ayant une faible inhibition tissulaire (captopril, énalapril et lisinopril)⁸⁴ ont clairement

démontré leurs bénéfices dans des essais cliniques de grande envergure.^{26, 27, 172-175} À l'opposé, les deux grands essais cliniques ayant étudié le quinapril, l'IECA ayant la meilleure inhibition de l'ECA tissulaire, se sont soldés par une absence de bénéfice dans des populations de patients atteints d'une maladie coronarienne athérosclérotique.^{176, 177} Cette absence de bénéfice pourrait par contre être attribuable au faible risque des populations étudiées dans ces essais cliniques.

De nombreuses études ont démontré que les IECA améliorent la fonction endothéliale vasculaire¹⁷⁸⁻¹⁸¹ et l'équilibre entre des facteurs prothrombotiques et antithrombotiques.^{182, 183} Ces effets seraient en partie responsables de la réduction du risque d'infarctus du myocarde observée avec ces agents.¹⁸⁴⁻¹⁸⁷ Finalement, de nombreuses études indiquent que les IECA et les ARA réduisent le risque de diabète, un facteur de risque important de l'athérosclérose.¹⁸⁷⁻¹⁹¹ Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer ce bénéfice : une augmentation de la sensibilité à l'insuline secondaire à une meilleure perfusion des muscles squelettiques, une augmentation de la perfusion au pancréas ou un impact direct celui-ci comme une réduction de la fibrose des cellules β .^{79, 188} Finalement, une augmentation de l'expression et des concentrations d'adiponectine¹⁹²⁻¹⁹⁹ ou une augmentation de l'expression des récepteurs PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor)- γ ¹⁹⁸ pourraient également contribuer à ces effets. Globalement, ces données illustrent que les IECA sont efficaces pour minimiser l'ampleur des effets délétères de l'angiotensine II (Tableau VI).

L'ECA n'étant pas un enzyme spécifique à l'angiotensine I, son inhibition entraîne également une inhibition de la dégradation de certaines autres substances, comme la bradykinine, et leur accumulation.⁸² L'accumulation de bradykinine contribuerait aux bénéfices des IECA. En effet, la bradykinine aurait des propriétés antiprolifératives, antifibrotiques, vasodilatatrices, provoquerait une augmentation d'autres substances vasodilatatrices comme des prostaglandines et l'oxyde nitrique, en plus d'exercer des effets antithrombotiques et antiplaquettaires.^{84, 95, 200-205} L'importance de la bradykinine dans les effets physiologiques des IECA a été illustrée dans une étude chez le rat qui a démontré que l'administration d'un bloqueur du récepteur B2 de la bradykinine réduit l'impact positif des IECA sur le remodelage cardiaque.²⁰⁶ Les IECA sembleraient aussi augmenter les effets

vasculaires protecteurs de l'angiotensine (1-7)⁸⁰ en potentialisant ses effets sur la bradykinine, le NO et les prostaglandines ou par une augmentation de l'expression de l'ECA2.⁸⁰

2.1.3.1.2 Efficacité clinique

L'efficacité des IECA, et en particulier de l'énalapril, dans le traitement de l'IC systolique a été établie dans quatre essais cliniques de grande envergure : SOLVD ([Studies of left ventricular dysfunction] Prevention²⁷ et Treatment²⁶), CONSENSUS (Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study)²⁵ et V-HeFT (Vasodilator-Heart Failure Trial) II.¹³⁷ Ces études ont clairement établi les bénéfices de l'énalapril chez des patients atteints de dysfonction ventriculaire gauche systolique d'étiologies diverses et présentant un large éventail de symptômes allant de patients minimalement symptomatiques (SOLVD prevention),²⁷ à des patients ayant des symptômes modérés (SOLVD treatment²⁶ et V-HeFT II), à des patients présentant des symptômes au repos (CONSENSUS).²⁵ Concrètement, ces études ont démontré que l'utilisation de l'énalapril améliore la survie,^{25, 26} réduit le risque d'hospitalisation^{25, 26} et ralentit la progression de la maladie chez les patients initialement asymptomatiques.²⁷ Ces bénéfices persistent à long terme.^{207, 208} Un résumé de ces études est présenté à l'annexe 1. Les bénéfices des IECA ne se limitent pas à une réduction des événements cardiovasculaires, puisque ceux-ci améliorent la qualité de vie, la tolérance à l'effort et la classe fonctionnelle NYHA.^{25, 209}

2.1.3.2 Antagonistes des récepteurs AT1 de l'angiotensine II

Les ARA sont des bloqueurs compétitifs de l'angiotensine II au niveau du récepteur AT1 et sont approximativement 10,000 fois plus sélectifs pour le récepteur AT1 que le récepteur AT2.²¹⁰ Ainsi, ces agents bloquent la plupart des effets physiologiques reliés à la stimulation du récepteur AT1 par l'angiotensine II (Tableau VI).⁵⁴ Une augmentation de l'expression de l'ECA2, et donc de la production de l'angiotensine (1-7), contribuerait également à expliquer les effets cardiovasculaires bénéfiques de ces agents.⁸⁰

Historiquement, plusieurs croyaient que les ARA seraient supérieurs aux IECA chez les patients atteints d'IC, étant donné que les IECA bloquent uniquement les effets de l'angiotensine II produite par l'ECA, tandis que les ARA bloquent directement les effets de

l'angiotensine II, peu importe sa voie de synthèse, au niveau du récepteur AT1.²¹¹ Toutefois, les travaux attribuant des effets bénéfiques à l'accumulation de la bradykinine, combinés à l'incertitude face à l'impact d'une surstimulation de l'AT2, ont contribué à l'incertitude par rapport la valeur thérapeutique relative de ces classes pharmacologiques.^{212,213} Les études majeures ayant comparé les ARA aux IECA en IC sont décrites dans l'annexe 1.

L'étude ELITE (Evaluation of Losartan in the Elderly Study), une étude de taille relativement modeste (n = 722) dont l'objectif principal était de comparer l'impact du losartan à celui du captopril sur la fonction rénale,²¹¹ a suggéré que les considérations théoriques discutées précédemment pouvaient effectivement avoir un impact clinique significatif. En effet, dans cette étude, le losartan a réduit de façon significative la mortalité par rapport au captopril chez des patients présentant de l'IC symptomatique (4,8% vs 8,7%; p = 0,035).²¹¹ Aucune différence sur le risque d'aggravation de la fonction rénale n'avait été observée. La taille d'échantillon relativement faible de cette étude rendait nécessaire toutefois une validation de ces bénéfices. L'étude ELITE II a donc été initiée.²¹⁴ Étant donné les résultats extrêmement prometteurs d'ELITE, les résultats d'ELITE II ont été très décevants, puisqu'une tendance vers une mortalité supérieure a été observée dans le groupe de patients traités avec le losartan (17,7% vs 15,9%; p = 0,16).²¹⁴ Les détails relatifs à ces études sont disponibles à l'annexe 1. Cette infériorité du losartan par rapport au captopril a été confirmée dans une étude d'IC post infarctus du myocarde, l'étude OPTIMAAL (Optimal Trial in Myocardial Infarction with Angiotensin II Antagonist Losartan) dont les résultats démontraient également une tendance vers une augmentation de la mortalité totale (18,2% vs 16,4%, p = 0,07), mais également une augmentation significative du risque de mortalité cardiovasculaire (15,3% vs 13,3%, p=0,03).²¹⁵ Ces résultats décevants reflètent probablement en partie que la dose de losartan utilisée dans ces études (50 mg die) était trop faible.^{211,214,215} Cette hypothèse est supportée par des données démontrant une réduction additionnelle de la tension artérielle avec l'utilisation des doses quotidiennes supérieures à 50 mg.²¹⁶ Les bénéfices d'une dose supérieure de losartan (150 mg/jour) par rapport à la dose utilisée dans les études ELITE et OPTIMAAL chez les patients atteints d'IC et intolérants aux IECA sont présentement évalués (Code d'identification sur ClinicalTrials.gov : NCT00090259).

Bien qu'aucune autre étude de grande envergure n'ait comparé ces deux classes d'agents dans le traitement de l'IC chronique, l'étude VALIANT (Valsartan In Acute Myocardial Infarction) a démontré une équivalence entre le valsartan (160 mg po bid) et le captopril à la dose étudiée dans ELITE I, ELITE II et OPTIMAAL (50 mg po tid) chez des patients développant de l'IC suite à un infarctus du myocarde.¹⁷³ L'étude CHARM (Candesartan in Heart Failure-Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity)-Alternative a confirmé les bénéfices des ARA en IC en faisant ressortir une réduction du risque de mortalité cardiovasculaire et d'hospitalisation pour IC avec le candésartan par rapport au placebo chez des patients intolérants aux IECA, majoritairement à cause d'une toux (voir l'annexe 1).⁹ Des bénéfices similaires avaient été suggérés dans le sous-groupe de patients ne prenant pas d'IECA dans l'étude Val-HeFT (Valsartan Heart Failure Trial) qui sera abordée plus loin.^{61, 217} Globalement, ces résultats démontraient l'efficacité du valsartan et du candésartan en IC et confirmaient l'utilité des ARA comme alternative aux IECA chez les patients ne les tolérant pas à cause de toux et possiblement d'angioedème.

2.1.3.3 Les inhibiteurs de la rénine

Les inhibiteurs de la rénine représentent la plus récente classe pharmacologique d'inhibiteurs du SRAA. Ceux-ci présentent l'avantage théorique de bloquer l'étape limitante de la cascade du SRAA. Par ailleurs, puisque la rénine n'a qu'un seul substrat connu, l'angiotensinogène, ceci limite théoriquement le risque d'effets indésirables attribuables à la modulation d'autres substances (par exemple la bradykinine et la toux induite par les IECA). L'aliskiren est le seul inhibiteur de la rénine disponible. Une étude pilote (n = 27) a étudié l'impact de l'aliskiren en IC.²¹⁸ Cette étude a suggéré que l'aliskiren réduisait le BNP de façon comparable au ramipril.²¹⁸

2.2 Le double blocage du système rénine-angiotensine-aldostérone.

2.2.1 Problématique du ACE escape

Malgré les bénéfices cliniques des IECA dans le traitement de l'IC, l'efficacité de ces agents pour inhiber la synthèse de l'angiotensine II et de l'aldostérone est extrêmement variable entre les individus et diminue dans le temps suite à leur initiation.^{87, 94, 219-221}

Certains ont suggéré que ce processus était associé à une augmentation du risque d'événements cardiovasculaires.²²⁰ Ce processus d'échappement de l'ECA, ou *ACE escape*,

a très bien été illustré par Farquharson et Struthers.²²¹ Dans une étude de 28 patients traités avec une dose fixe de lisinopril, ils ont démontré que la réduction du flot sanguin brachial suite à l'administration d'angiotensine I augmentait après 9 et 18 mois de traitement, malgré le maintien du lisinopril à une dose constante, suggérant ainsi une augmentation de la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II.²²¹ Par ailleurs, ces auteurs démontraient que cette vasoconstriction accrue n'était pas secondaire à une augmentation de la sensibilité à l'angiotensine II, puisque la réponse vasomotrice n'était pas modifiée après l'administration d'angiotensine II.²²¹

Ces observations, combinées à la connaissance de nombreuses voies de synthèses de l'angiotensine II,⁴⁷ ont poussé plusieurs à émettre l'hypothèse qu'une combinaison d'inhibiteurs du SRAA puisse être bénéfique en IC. D'une part, l'utilisation d'un IECA permettrait de bénéficier des effets physiologiques de l'accumulation de la bradykinine, comme ses effets vasodilatateurs, antimitotiques et antithrombotiques. D'autre part, un blocage plus complet des effets de l'angiotensine II, soit par un blocage du récepteur AT1 par un ARA ou par un blocage d'aldostérone par un antagoniste de l'aldostérone, permettrait de maximiser les bénéfices reliés au blocage de cet axe neurohormonal.

2.2.2 Combinaison IECA-ARA

L'utilisation d'une combinaison IECA-ARA a été évaluée dans de nombreuses petites études. Ces études ont démontré des améliorations hémodynamiques, de la tolérance à l'effort, de la classe fonctionnelle ainsi que du profil d'activation neurohormonale par rapport à une monothérapie avec un IECA.²²²⁻²²⁶ L'étude RESOLVD ([Randomized Evaluation of Strategies fOr Left Ventricular Dysfunction] n = 768) a été une étape importante dans l'évaluation des bénéfices reliés à la combinaison IECA-ARA.²²⁷ Dans cette étude, l'addition du candésartan à faible dose (4 - 8 mg die) à une dose optimale d'énalapril de 10 mg deux fois par jour a réduit les volumes télésystolique et télédiastolique par rapport à l'utilisation d'énalapril 10 mg deux fois par jour ou du candésartan à une dose quotidienne de 4 à 16 mg par jour, sans toutefois avoir un impact significatif sur la FEVG. Par ailleurs, cette combinaison a réduit les concentrations de BNP après 17 et 43 semaines de traitement et d'aldostérone après 17 semaines de traitement.²²⁷ Toutefois, ces bénéfices ont été observés avec une très faible utilisation de bêta-bloqueurs (15%).²²⁷

Ces études ont mené à deux essais cliniques de grande envergure, les études Val-HeFT⁶¹ et CHARM-Added.⁸ Dans la première, le valsartan a été ajouté à une thérapie standard qui comprenait, chez 93% des patients, un IECA, et chez 35% des patients, un bêta-bloqueur.⁶¹ Les résultats de cette étude ont démontré des bénéfices relativement modestes. En effet, aucun impact sur la mortalité n'a été détecté avec le valsartan, bien qu'une faible réduction de la morbidité a été décrite (voir l'annexe 1 pour les détails).⁶¹ Une amélioration de la qualité de vie a également été rapportée.²²⁸

Les résultats de l'étude CHARM-Added ont été plus convaincants (Annexe 1).⁸ En effet, dans cette étude, qui a inclus une population de patients traités par un IECA (99,9%) et majoritairement par un bêta-bloqueur (55%), l'addition du candésartan à une haute dose (32 mg die) a réduit le risque combiné de mortalité cardiovasculaire ou d'hospitalisation pour IC (point d'aboutissement primaire). Le risque de mortalité cardiovasculaire était spécifiquement réduit,⁸ tout comme le risque d'infarctus du myocarde.²²⁹ L'ampleur des bénéfices pour le point d'aboutissement primaire ne différait pas en fonction de la dose d'IECA utilisée ou la prise d'un bêta-bloqueur.²³⁰ Les bénéfices du candésartan semblent donc présents même chez les patients recevant une thérapie optimale. Finalement, en plus de cette réduction des événements cardiovasculaires, l'addition du candésartan chez ces patients améliorait de façon significative la classe fonctionnelle NYHA.²³¹

Les raisons sous-jacentes à la différence des bénéfices décrits dans Val-HeFT et CHARM-Added sont incertaines, mais celle-ci incite à la prudence quant à la généralisation des effets du candésartan en IC aux autres ARA. Les données actuelles indiquent que les bénéfices liés à une telle combinaison sont limités aux patients atteints d'IC chronique stable, puisqu'aucun bénéfice n'a été observé chez des patients développant de l'IC suite à un infarctus du myocarde¹⁷³ ou chez des patients présentant de l'athérosclérose stable.²³² **Il est toutefois présentement impossible pour les cliniciens d'identifier les patients les plus susceptibles de bénéficier de cette pharmacothérapie dans cette population d'individus.**

Par ailleurs, de nombreuses sous-études mécanistiques de Val-HeFT ont permis d'élucider certains mécanismes sous-jacents aux effets des ARA en IC. Plus spécifiquement, ces sous-études ont démontré une réduction de nombreuses neurohormones (BNP,²³³ norépinéphrine²³³ et aldostérone²³⁴), de la protéine-C réactive ultrasensible (CRP)⁷³ et une amélioration de la FEVG et du volume télédiastolique.²³⁵ Malheureusement, aucune étude de ce type n'a été effectuée dans CHARM-added. Toutefois, des réductions des concentrations de NT-proBNP et de CRP ont été observées avec le candésartan dans une population similaire à celle de CHARM-added dans l'étude CANDIID (Effect of ACE inhibitor alone versus ACE inhibitor plus high dose Candesartan on BNP, Immune markers, Inflammatory status and urinary kinins in patients with symptomatic left ventricular systolic Dysfunction). Cette étude a été menée par le docteur Michel White à l'Institut de cardiologie de Montréal.²³⁶

D'autres effets bénéfiques ont été observés dans ces études. On a assisté à une réduction du risque de fibrillation auriculaire dans Val-HeFT²³⁷ et une tendance non significative dans CHARM-added.²³⁸ Cet réduction était significative lorsque les trois études du programme CHARM étaient combinées.²³⁸ Ces études s'ajoutent à plusieurs autres indiquant que les inhibiteurs du SRAA réduisent le risque de fibrillation auriculaire.²³⁹⁻²⁴¹ De plus, bien qu'une réduction du risque de diabète a été observée dans CHARM-alternative et CHARM-preserved, corroborant ainsi plusieurs autres études,^{188, 189, 191, 242, 243} cet effet semblait absent dans CHARM-Added.¹⁸⁸ À l'opposé, dans l'étude CANDIID, nous avons observé une réduction du glucose plasmatique chez les patients diabétiques.²³⁶ Des études additionnelles s'avèrent donc nécessaires afin de déterminer l'impact de cette double suppression sur l'homéostasie glycémique des diabétiques atteints d'IC. Aucun résultat quant à l'impact du valsartan sur le risque de diabète dans l'étude Val-HeFT n'a été publié.

2.2.3 Combinaison IECA-antagoniste de l'aldostérone

La seconde avenue thérapeutique étudiée impliquant un blocage plus complet du SRAA est l'addition d'un antagoniste de l'aldostérone. Le seul agent de cette classe au Canada est la spironolactone. L'éplérénone, dont le principal avantage consiste en une absence de la modulation des effets physiologiques des androgènes et de l'estrogène, devrait être

commercialisée au Canada sous peu.¹¹³ Contrairement à la spironolactone, l'éplérénone ne provoque pas de gynécomastie.

L'utilisation de la spironolactone en IC repose principalement sur l'étude RALES.³⁰ Celle-ci avait été précédée d'une étude pilote dont l'objectif était d'établir la dose optimale de spironolactone à utiliser dans RALES.²⁴⁴ L'étude pilote avait révélé que la spironolactone à des doses de 12,5 à 25 mg réduisait les concentrations d'ANP chez les patients atteints d'IC sévère, et qu'une légère diminution additionnelle était observée avec des doses de 50 mg et 75 mg par jour. Toutefois, ces doses étaient associées à un risque d'hyperkaliémie beaucoup plus important (Figure 7).²⁴⁴

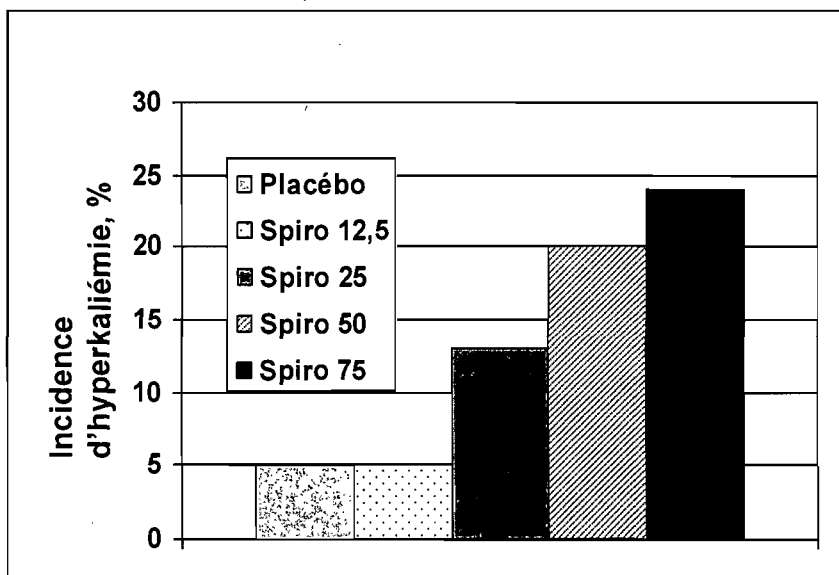


Figure 7. Risque d'hyperkaliémie en fonction de la dose utilisée dans l'étude pilote de RALES.

L'hyperkaliémie était définie comme un potassium sérique $\geq 5,5$ mmol/L. Valeurs tirées de.²⁴⁴

Dans RALES, la spironolactone (dose moyenne de 26 mg/jour) a réduit le risque de mortalité de patients atteints d'IC systolique sévère, en plus de réduire le risque d'hospitalisation et d'améliorer la classe fonctionnelle de la NYHA (Annexe 1).³⁰ La spironolactone réduisait non seulement le risque de décès secondaire à la progression de l'IC, mais également de mort subite. Des bénéfices similaires ont été observés avec l'éplérénone des patients ayant subi un infarctus du myocarde compliqué d'IC dans l'étude EPHEBUS (Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and

Survival Study).²⁴⁵ L'impact des antagonistes de l'aldostérone chez des patients présentant des symptômes légers à modérés est présentement évalué dans l'étude EMPHASIS (Eplerenone in Mild Patients Hospitalization and Survival Study in Heart Failure).

Les mécanismes responsables des bénéfices des antagonistes de l'aldostérone seraient multiples. D'une part, la spironolactone améliore la FEVG et réduit les volumes ventriculaires.²⁴⁶⁻²⁵⁰ Ces bénéfices au niveau de la géométrie ventriculaire sont par ailleurs reflétés par une réduction du BNP.^{246, 248, 250, 251} Parmi les autres mécanismes proposés, mentionnons une amélioration de la variabilité de la fréquence cardiaque, un indice de l'équilibre sympatho-vagal au niveau myocardique,²⁵² une amélioration de la fonction endothéliale,²⁵³ une inhibition de la conversion d'angiotensine I en angiotensine II,²⁵³ une réduction de l'hypertrophie ventriculaire gauche²⁵⁴ et des effets antifibrotiques myocardiques et vasculaires.^{250, 255-258}

2.2.4 Combinaison IECA ou ARA-inhibiteur de la rénine

Théoriquement, l'addition d'un inhibiteur de la rénine à un IECA ou un ARA permettrait de contrer l'augmentation compensatoire de rénine résultant de l'utilisation de ces agents¹¹⁰ qui peut mener à la synthèse d'angiotensines I, II, III et IV par des voies enzymatiques alternatives.¹¹⁰ La combinaison IECA-inhibiteur de la rénine apparaît particulièrement avantageuse, puisqu'elle permettrait de bénéficier des effets physiologiques de l'accumulation de la bradykinine, tout en permettant un blocage plus complet du SRAA. À ce jour, seule l'étude ALOFT (Aliskiren Observation of Heart Failure Treatment)²⁵⁹ a évalué l'impact de combiner un inhibiteur de la rénine, l'aliskiren, à un IECA ou un ARA. Au moment de la randomisation, 94% des patients recevaient un IECA (ou un ARA) et un bêta-bloqueur et 33% recevaient également un antagoniste de l'aldostérone. Dans cette étude mécanistique (n = 302), malgré l'utilisation d'une thérapie apparemment optimale, l'aliskiren a réduit de façon significative les concentrations plasmatiques du BNP et du NT-proBNP. Toutefois, les concentrations plasmatiques de la rénine ont augmenté de façon significative à la fin de l'étude dans le groupe aliskiren. Étant donné l'incertitude quant aux conséquences à long terme d'une telle augmentation et de la stimulation du récepteur (pro)rénine associée, il s'avère nécessaire d'attendre les résultats de l'étude ATMOSPHERE (Aliskiren Trial to Mediate Outcome Prevention in Heart Failure),

numéro d'identification de ClinicalTrials.gov : NCT00853658) qui comparera l'aliskiren à l'énalapril et à la combinaison aliskiren-énalapril afin de pouvoir statuer sur la valeur thérapeutique de cette nouvelle stratégie neuromodulatoire du SRAA en IC.

2.2.5 Effets indésirables reliés à l'inhibition du système rénine-angiotensine-aldostérone.

Plusieurs effets indésirables ont été associés aux inhibiteurs du SRAA. L'incidence de ces effets indésirables dans les grands essais cliniques en IC est rapportée dans le tableau XII. Certains de ces effets indésirables sont reliés à l'inhibition du SRAA (hypotension, insuffisance rénale, hyperkaliémie).²⁶⁰ L'hyperkaliémie induite par ces agents a retenu beaucoup d'attention au cours des dernières années et nous discuterons en détail de celle-ci au chapitre 3. Ces effets indésirables sont attribuables à l'inhibition des effets de l'angiotensine II aux niveaux vasculaire et rénal, de l'inhibition de la synthèse de l'aldostérone ou du blocage des effets de cette dernière au niveau du récepteur minéralocorticoïde. Un suivi étroit de la tension artérielle, de la fonction rénale et de la kaliémie est recommandé afin de prévenir ces effets indésirables.^{1, 2, 136} Par ailleurs, une attention particulière doit être portée lorsque ces agents sont utilisés en combinaison, puisque le risque d'effets indésirables apparait additif.^{8, 30, 245, 254}

D'autres effets indésirables sont spécifiques aux différentes classes et n'impliquent pas le SRAA. Dans le cas des IECA, ces effets indésirables incluent la toux et^{261, 262} l'angioedème.^{261, 263-265} Le groupement sulfhydryl du captopril lui conférerait certains effets indésirables particuliers dont la dysgueusie, la neutropénie, un syndrome néphrotique et un risque d'éruption cutanée.^{160, 260} Les ARA ne causent pas de toux et représentent donc une alternative efficace chez les patients ne pouvant tolérer un IECA suite à l'apparition de cet effet indésirable. Bien que les ARA présentent un risque beaucoup plus faible d'angioedème, ce risque existe, particulièrement chez les patients ayant subi un angioedème induit par un IECA.^{9, 264, 266-268} Finalement, la gynécomastie est spécifique à la spironolactone et serait le résultat d'une compétition entre la spironolactone et les androgènes au niveau du récepteur de l'androgène, d'une réduction de la synthèse de testostérone et d'une augmentation de la conversion de la testostérone en estradiol.^{269, 270 271}

Tableau XII. Effets indésirables des inhibiteurs du SRAA rapportés dans les publications des grands essais cliniques en insuffisance cardiaque.

E2	SOLVD-P ²⁷		SOLVD-T ²⁶		CONSENSUS ²⁵		ELITE II ²¹⁴		ValHeFT ⁶¹		CHARM-alternative ⁹		CHARM-added ⁸		RALES ³⁰	
	E	P	E	P	E	P	L	Cap	V	P	C	P	C	P	S	P
Hypotension/ étourdissements	45,8	39,2	57	50	0	5,5 ¹	Pas de différence entre les groupes sur la TA durant l'étude.		1,3 ¹	0,8	3,7 ¹	0,9	4,5 ¹	3,1	Pas de différence entre les groupes sur la TA durant l'étude.	
Aggravation de la fonction rénale/ Augmentation de la créatinine sérique	Créatinine moyenne supérieure de 3,5 µmol/L dans le groupe E		10,7	7,7	4,7 ²	3,2			1,1 ¹	0,2	5,5 ⁴	1,6%	7% ⁴	6%	Augmentation de variant de 4 à 9 µmol/L dans le groupe S (p < 0,001)	
Hyperkaliémie	Potassium supérieur de		6,4	2,5	7,1 ⁵	4,0			Augmentation du		3 ⁶	1,3	3 ⁶	1	2 ⁷	1

	0,1 mmol/L vs. Placebo.									potassium moyen de 0,12 mmol/L vs 0,07 mmol (p < 0,001)						
Toux	33,8	27,3	37	31			0,3	2,7			0,2 ¹	0,4			13	14
Rash					0,8	0,8 ¹										
Angioedème	1,4	1,4	3,8	4,1							0,03	0	0,2	0,2		
Dysgeusie																

C : Candésartan; Cap : Captopril; E : énalapril; L : losartan; P : Placébo; S : spironolactone; V : valsartan ¹ Nécessitant la cessation du traitement ² Potassium élevé, pas de valeur spécifique de potassium ³ Augmentation de créatinine sérique > 26.5 µmol/L persistante ⁴ Créatinine basale doublée ⁵ Aucune définition ⁶ potassium ≥6 mmol/L ⁷ Hyperkaliémie sévère, pas de valeur spécifique de potassium ⁸ potassium >5,5 mmol/L

3 Le potentiel de la pharmacogénomique en insuffisance cardiaque

3.1 Traitement pharmacologique de l'IC : un traitement « taille unique? »

L'utilisation actuelle des inhibiteurs du SRAA en IC^{9, 25-27, 30} est basée sur la démonstration de leur efficacité et de leur innocuité dans des populations sélectionnées. Il est présentement impossible d'identifier les individus les plus susceptibles de bénéficier de ces traitements ou nécessitant un dosage particulier. En d'autres mots, les cliniciens traitent les patients en se basant principalement sur l'efficacité et l'innocuité de ces traitements dans **la population**, et de façon minimale sur les bénéfices et les risques spécifiques du traitement **chez l'individu**. En IC, cette approche « taille unique » ou « *one size fits all* » est généralement individualisée *a posteriori* uniquement en se basant base de l'apparition ou de la prévention de certains effets indésirables, puisqu'aucun phénotype intermédiaire d'efficacité des médicaments n'est présentement disponible pour évaluer l'efficacité du traitement comme c'est le cas, par exemple, dans le traitement de l'hypertension ou des dyslipidémies (tension artérielle et bilan lipidique, respectivement).

L'absence d'outils permettant d'identifier les patients les plus susceptibles de bénéficier des modulateurs neurohormonaux en IC ne serait évidemment pas problématique si l'ensemble des patients répondait de façon uniforme à ces traitements. Toutefois, ce n'est pas le cas. Par exemple, une importante variation interindividuelle existe sur l'amélioration des paramètres échocardiographiques produite par ces agents.^{227, 235, 272-275} Les résultats de Kasama et collaborateurs font bien ressortir l'hétérogénéité de ces bénéfices sur le remodelage cardiaque.²⁴⁹ En effet, ce groupe rapportait une amélioration de la FEVG variant de -2% à +18% (moyenne +6%) après 6 mois de traitement avec la spironolactone.²⁴⁹ Cette énorme hétérogénéité illustre le besoin criant d'identifier des marqueurs prédisant la réponse aux agents utilisés en IC. Cette hétérogénéité est également bien illustrée par l'importante variabilité des doses tolérées par les patients dans ces différentes études, dont CANDIID.²³⁶

Les caractéristiques démographiques (âge, sexe, morbidités) des patients ne sont pas des marqueurs fiables pour prédire l'efficacité de ces médicaments. L'ethnicité a été suggérée comme un marqueur de l'efficacité des IECA en IC. Les patients afro-américains bénéficieraient potentiellement moins de ces agents.^{276, 277} Des données subséquentes ont

toutefois illustré les limites de ce phénotype pour prédire la réponse aux IECA en IC.^{278, 279} Par ailleurs, certaines données ont révélé que, bien qu'une différence existe quant à l'activation du SRAA entre les Afro-Américains et les Caucasiens, un chevauchement important persiste.²⁷⁶ Ceci reflète, entre autres, l'importante diversité que l'on retrouve à l'intérieur même d'une population.²⁸⁰⁻²⁸²

3.2 Généralités sur la (pharmaco)génomique

Des percées importantes au niveau technologique ont permis le séquençage du génome humain^{283, 284} et à la réalisation du projet HapMap.²⁸⁵ Ces travaux ont permis l'identification de millions de variations génétiques. La complexité génétique de l'être humain est impressionnante : 23 paires de chromosomes (22 paires d'autosomes et 1 paire de chromosomes sexuels), 20 000 à 25 000 gènes codant pour 100 000 protéines, 3 164 700 000 paires de base.^{286, 287} Environ 1% de la séquence d'ADN (acide désoxyribonucléique) du génome humain est constituée d'exons, 24% d'introns et 75% d'ADN intergénique. Bien que 99,9% du code génétique des individus soit identique, on note qu'il existe approximativement une base différente à chaque 300 à 500 paires de bases. Ces variations génétiques sont à l'origine de la diversité de la race humaine. Les variations génétiques les plus fréquentes (>90%) sont les polymorphismes nucléotidiques simples, communément appelés SNPs, de l'abréviation de langue anglaise de *Single Polymorphism Nucleotide*. Bien qu'environ 10 millions de SNPs avec une fréquence allélique > 5% ont été identifiés, leur impact, ainsi que celui d'autres types de variations génétiques (insertions, délétions, nombre variable de répétitions en tandem), demeure inconnu pour la majorité. Ces termes, et d'autres termes qui seront utilisés dans les pages qui suivent sont inclus au tableau XIII.

Tableau XIII. Termes clés en génétique clinique. ²⁸⁶⁻²⁹²

Terme	Définition
Phénotype	Expression de traits spécifiques influencés par des facteurs génétiques et environnementaux.
Gène	Unité de base de la génétique. Défini comme une région contigüe d'ADN qui inclus un nombre défini d'exons et d'introns
Locus	Un locus est la position unique d'un gène ou d'une séquence d'ADN sur un chromosome.
Allèle	Lorsque la séquence d'ADN varie à un locus donné, chacune des différentes formes d'un gène constitue un allèle. Un allèle est hérité de chaque parent.
Homozygote	Un individu est dit homozygote lorsque les deux allèles à un locus donné sont les mêmes.
Hétérozygote	Un individu est dit hétérozygote lorsque les deux allèles à un locus donné sont différents.
Exon	Segment d'un gène représenté dans l'ARNm mature et inclus dans la séquence codant pour la protéine.
Intron	Séquence d'ADN non codante qui sépare les exons d'un gène.
Mutation	Variation dans la séquence d'ADN à un locus donné présente avec une fréquence allélique de moins de 1% dans une population
Polymorphisme	Variation dans la séquence d'ADN présente avec une fréquence allélique de 1% ou plus dans une population
Polymorphisme nucléotidique simple (PNS ou SNP)	Variation génétique résultant de la substitution d'un nucléotide pour un autre. Représente le type de variations génétique le plus fréquent dans le génome; présents à environ quelques centaines ou milliers de paires de bases dépendamment le gène.
Non sens	Réfère à une variation génétique menant à l'apparition d'un codon stop qui met fin de façon prématurée à la séquence d'acides aminés
Faux sens	Réfère à une variation génétique menant au changement d'un acide aminé pour une autre ayant des propriétés différentes
Sens/synonyme	Réfère à une variation génétique ne produisant pas de substitution d'acide aminé, mais pouvant quand même affecter l'épissage.
Anomalies d'épissage	Réfère à une variation génétique menant à une modification des motifs d'épissage produisant ainsi différents ARNm matures aboutissant souvent à l'absence d'une protéine active.
Génotype	Paire d'allèles à un site particulier.
Pénétrance	Probabilité qu'un phénotype particulier soit exprimé chez un individu avec un génotype donné.
Épistasie	Interaction entre deux ou plusieurs variations génétiques.
Déséquilibre de liaison	Association entre des allèles situés à deux ou plusieurs locus sur un même chromosome chez une population qu'on retrouve plus souvent que si elles n'étaient liées. C'est une mesure de co-ségrégation d'allèles dans une population.
Haplotype	Combinaison d'allèles à différents sites sur un chromosome.
Équilibre d'Hardy-Weinberg	Distribution binomiale des génotypes d'une population, de façon à ce que les génotypes AA, Aa et aa soient égale à $p^2 + 2pq + q^2$, où p est la fréquence de l'allèle A et q la fréquence de l'allèle a.

3.2.1 L'insuffisance cardiaque et la génétique

Au cours des dernières années, les chercheurs se sont tournés vers la génomique et la pharmacogénomique afin de découvrir des marqueurs permettant l'identification des patients les plus susceptibles de développer une maladie ou d'en modifier l'évolution, ou encore, de bénéficier ou de développer un effet indésirable à un médicament. Des milliers de polymorphismes génétiques pouvant potentiellement influencer la réponse au traitement ou la progression de l'IC ont été identifiés.

Bien que l'importance des divers facteurs de risque génétiques de l'IC ne sera pas discutée en détail dans cette thèse, les prochaines pages se veulent un survol de l'état actuel des connaissances à ce sujet. Il existe de nombreuses étiologies à l'IC.¹ Une minorité de cas sont des maladies monogéniques ou dites mendéliennes.²⁹³ De ce groupe, la cardiomyopathie hypertrophique constitue la cardiomyopathie la plus fréquente (1 personne sur 500 de la population)²⁹⁴ et pour laquelle le plus de mutations causales ont été identifiées (>400 sur au moins 17 gènes).²⁹⁵ La majorité des mutations identifiées sont situées au niveau de gènes codant pour des protéines sarcomériques cardiaques.²⁹⁵ Puisque parmi celles-ci plus de 80% se situent sur deux gènes, le *MYH7* (codant pour la chaîne lourde bêta de la myosine) et le *MYBPC3* (protéine C cardiaque de liaison à la myosine), il serait possible d'identifier, à un coût raisonnable, la mutation responsable chez une majorité de patients atteints d'une cardiomyopathie hypertrophique dans le but de procéder à un dépistage génétique des membres de sa famille à risque de développer la cardiomyopathie et nécessitant un suivi médical.²⁹⁵⁻²⁹⁷ Bien que la nomenclature actuelle identifie la cardiomyopathie hypertrophique comme une cardiomyopathie monogénique,²⁹³ il est probable que la diversité phénotypique observée chez ces patients résulte de l'interaction entre certains gènes²⁹⁸ ou facteurs environnementaux.²⁹⁴

On estime que de 20 à 35% des cas de cardiomyopathies dilatées sont d'origine familiale et donc causés par la présence de mutations au niveau de gènes spécifiques.^{294, 295} À ce jour, des mutations dans plus de 25 gènes ont été associées à la cardiomyopathie dilatée. Bien que la majorité des gènes impliqués dans les cardiomyopathies hypertrophiques sont également impliqués dans les cardiomyopathies dilatées monogéniques, beaucoup plus de gènes ont été associés à la cardiomyopathie dilatée (voir figure 8). Les raisons expliquant

pourquoi des mutations sur un même gène mènent à un de ces phénotypes plutôt qu'à un autre demeurent incertaines.^{295, 297} Par ailleurs, étant donné la proportion relativement faible des cas de cardiomyopathie dilatée dont l'origine est génétique et le nombre important de gènes reliés à ce type de cardiomyopathie, le dépistage génétique chez ces patients n'est présentement pas applicable.

Finalement, il est important de souligner qu'il existe de nombreuses autres cardiomyopathies familiales primaires rares (≤ 1 par 5000 individus),^{293, 295} lesquelles ne seront pas discutées en détail ici. Mentionnons tout de même les plus fréquentes : la dysplasie ou cardiomyopathie arythmogénique du ventricule droit, caractérisée par le remplacement du myocarde du ventricule droit par du tissu adipeux et fibreux et associé à un risque élevé de mort subite, et la cardiomyopathie avec ventricule gauche non compacté, une cardiomyopathie caractérisée par un ventricule gauche à l'apparence spongieuse et un risque élevé d'arythmies et de thromboembolies.²⁹⁹

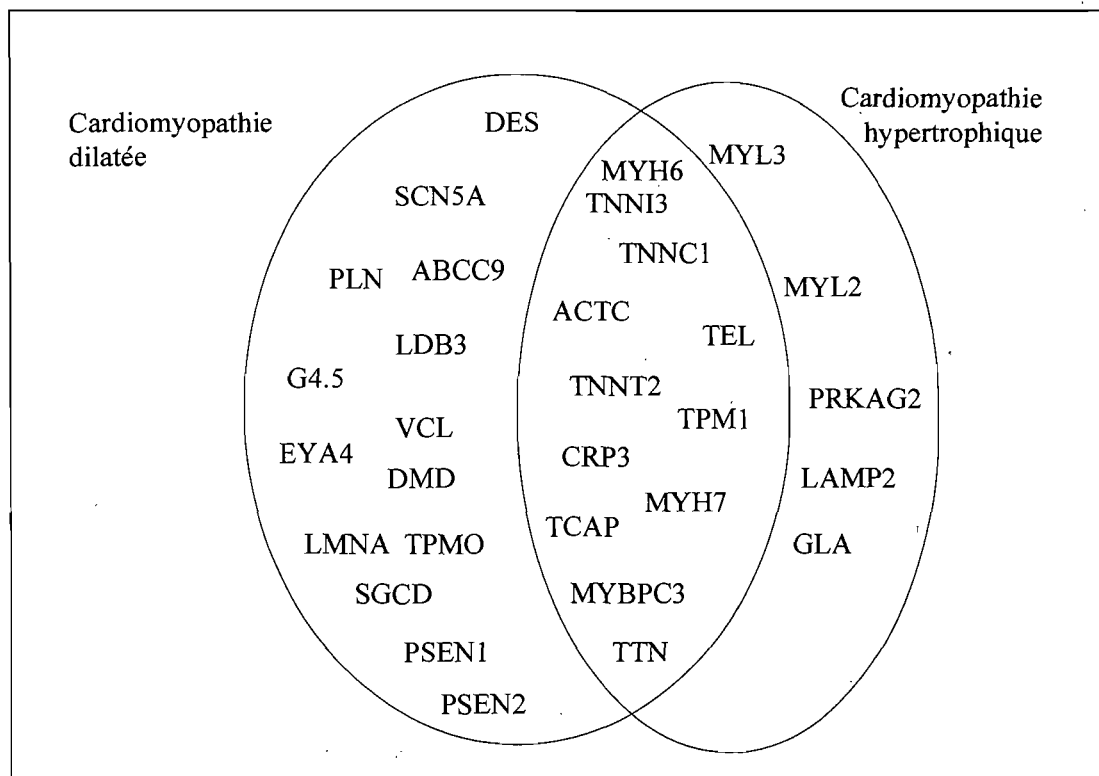


Figure 8. Principaux gènes impliqués dans les cardiomyopathies dilatées et hypertrophiques.^{296, 297}

ABCC9 : *ATP-binding cassette, sub-family C member 9*; ACTC : actine cardiaque alpha; CRP3 : muscle LIM protéine; DES: desmine; DMD : dystrophine; EYA4 : eyes absent 4;

G4.5 : tafazzine; GLA : alpha-galactosidase; LAMP2 : protéine membranaire associée au lysosome 2; LDB3 : Cypher/protéine ZASP; LMNA : lamines A/C MYBPC3 : protéine C cardiaque de liaison à la myosine; MYH6 : chaîne lourde alpha de la myosine; MYH7 : chaîne lourde bêta de la myosine ; MYL2 : chaîne légère régulatrice ventriculaire de la myosine; MYL3 : chaîne légère essentielle ventriculaire de la myosine; PLN : phospholamban; PRKAG2 : protéine kinase activé par l'AMP; SGCD : δ -sarcoglycane; TCAP : téléthonine; TEL : téléthonine; TMP : thymopoïétine; TNNC1 : troponine C; TNNI3 : troponine I ; TNNT2 : troponine T; TPM1 : α -tropomyosine, TTN : titine, VCL : métavinculine; SCN5A : sous-unité alpha du canal sodique.

En Amérique du Nord, les causes les plus fréquentes d'IC demeurent l'hypertension et la maladie coronarienne athérosclérotique.¹ Ainsi, dans la majorité des cas, l'IC est considérée comme une maladie complexe. Contrairement aux cardiomyopathies monogéniques qui sont le résultat de mutations rares, mais ayant une forte pénétrance,²⁹⁴ l'hypothèse de la « maladie commune : variation génétique commune » veut que les formes les plus fréquentes de l'IC soient la conséquence de plusieurs polymorphismes génétiques communs ayant une pénétrance très modeste et de certains facteurs environnementaux comme l'alimentation et l'(in)activité physique.^{1,300} L'implication potentielle de facteurs génétiques dans l'étiologie de cette maladie est fortement supportée par le risque accru d'IC chez la descendance d'individus atteints d'IC³⁰¹ et l'importance de l'hérédité dans le degré d'activation de nombreuses neurohormones impliquées dans la physiopathologie de l'IC comme l'ECA, l'ECA2, de la néprilysine (endopeptidase neutre) et de l'aldostérone.^{302,303}

Ainsi, de nombreux gènes candidats ont été suggérés comme ayant un rôle potentiel dans l'étiologie de l'IC d'origine ischémique. Étant donné leur importance dans la physiopathologie de l'IC, la majorité de ces études portait sur le SRAA ou le système adrénergique.^{304,305} Notre groupe a d'ailleurs démontré que les polymorphismes M235T et T174M du gène *AGT* (situé au locus 1q42-q43), codant pour l'angiotensinogène, sont des facteurs de risque génétiques potentiels de l'IC chez une population ayant de l'IC majoritairement d'origine ischémique.³⁰⁶ Plus spécifiquement, ces travaux ont démontré que l'allèle *AGT* 235T et *AGT* 174M étaient plus fréquentes chez les défailants cardiaques que chez une population de jeunes individus (48,2% vs 31.5%, $p = 0,0025$ et 18,1% vs 10,4%, $p = 0,045$), tout comme l'haplotype formé de ces deux allèles (18,1% vs 8,4%, $p = 0,0069$). Ces deux polymorphismes avaient préalablement été associés aux concentrations plasmatiques d'angiotensinogène³⁰⁷⁻³⁰⁹ et à l'hypertension.³⁰⁹⁻³¹² Étant donné l'importance

de l'activation du SRAA dans l'étiologie de l'hypertension,⁸⁴ de l'athérosclérose⁸⁴ et de l'IC³¹³ et des bénéfices reliés à l'inhibition de ce système chez les patients atteints de ces maladies,^{138, 175, 186, 187, 232, 314-316} ces polymorphismes génétiques demeurent des candidats potentiels dans la physiopathologie de l'IC. Ces résultats devront être validés dans de plus grandes cohortes.

3.3 Impact de polymorphismes génétiques sur le pronostic des patients atteints d'IC

3.3.1 Système rénine-angiotensine-aldostérone

La majorité des études ayant évalué l'impact de polymorphismes génétiques candidats sur le pronostic des patients atteints d'IC ont porté sur les gènes du SRAA et du système adrénergique. Le polymorphisme le plus étudié du SRAA est le polymorphisme d'insertion/délétion (I/D) du gène *ACE* (situé au locus 17q23.3) qui code pour l'ECA. Ce polymorphisme consiste en la présence (allèle I) ou l'absence (allèle D) d'une séquence de 287 paires de bases dans l'intron 16 du gène. Il explique approximativement 50% de la variabilité de l'activité de l'ECA.³⁰³ Plus spécifiquement, l'allèle D est associé à une activité plasmatique^{303, 317, 318} et cardiaque³¹⁹ de l'ECA plus élevée. Cet allèle a aussi été associé à des concentrations plus élevées d'angiotensine II³¹⁷ et d'aldostérone^{318, 320} ainsi qu'en une réduction de la capacité à l'effort chez les patients atteints d'IC.³¹⁷ De nombreuses études ont évalué son impact sur le pronostic des patients atteints d'IC. L'annexe 2 décrit les études ayant étudié l'impact de ce polymorphisme et des autres polymorphismes reliés au SRAA en IC.

Dans la plus grande cohorte publiée à ce jour chez les patients atteints d'IC, McNamara a démontré que l'allèle D est associé à un pronostic sombre.³²¹ Plus précisément, les homozygotes D/D présentent le pire pronostic, les homozygotes I/I le pronostic le plus favorable, tandis que les hétérozygotes I/D affichent un pronostic intermédiaire.²⁶ D'autres cohortes de moindre envergure ont rapporté des résultats similaires,^{322, 323} tandis que certains n'ont décelé aucun impact de ce polymorphisme sur le pronostic des patients atteints d'IC.³²⁴⁻³²⁶ Ainsi, bien que ces résultats suggèrent que le polymorphisme *ACE* I/D pourrait devenir un marqueur génétique pronostique important, ces résultats devront, encore une fois, être reproduits dans des cohortes de plus grande envergure.

Les autres gènes reliés au SRAA ayant été associés au pronostic des patients atteints d'IC comprennent les gènes codant pour l'angiotensinogène, l'*AGT*, le récepteur AT1 de l'angiotensine II, l'*AGTRI* (locus 3q21-q25), et l'aldostérone synthétase, le *CYP11B2* (locus 8q21-q22). Dans l'étude de la plus grande cohorte de patients atteints d'IC (N= 451) ayant évalué l'impact des deux polymorphismes faux sens M235T et T174M de l'*AGT*, Pilbrow et ses collaborateurs³²⁷ ont démontré que les porteurs des génotypes 235TT et 174M ou 174MM comportaient une mortalité accrue par rapport aux autres patients (RR : 2,00; IC95% : 1.32-3.03, p = 0,001). Ces résultats corroboraient donc les travaux de notre groupe suggérant un effet délétère de ces allèles.³⁰⁶ Deux études de taille plus modeste ont révélé des résultats plus équivoques.^{325, 326} Une sous-étude de l'étude A-HeFT (African-American Heart Failure Trial) a quant à elle associé le polymorphisme C344T, présent au niveau du promoteur du gène *CYP11B2*, au risque de décès chez des patients afro-américains.³²⁸ Les porteurs de l'allèle C présenteraient un risque de décès le plus élevé (TT : 1,8%, TC : 3,5%, CC 18,2%; p = 0.001).

Finalement, l'impact du polymorphisme *AGTRI* A1166C, un polymorphisme situé dans la région 3' non traduite du gène de ce récepteur³²⁵ a été évalué dans quelques petites cohortes de patients. L'allèle C du polymorphisme a préalablement été associé à une sensibilité accrue à l'angiotensine II,³²⁹ une réponse accrue à l'angiotensine II,³³⁰ au risque d'infarctus du myocarde,³³¹ d'hypertension,³³² d'hypertrophie ventriculaire gauche³³³ et de détérioration de la fonction rénale³³⁴ chez des hypertendus. De plus, il a été associé à des niveaux accrus de stress oxydatif chez des patients atteints d'IC.³³⁵ Toutefois, les études portant sur l'IC, qui comptaient au plus 227 patients, n'ont révélé aucun impact sur le risque de décès.^{326, 336} Une étude a toutefois suggéré un impact potentiel sur le risque de morbidité.³²⁵ La faible taille d'échantillon de toutes ces études limite grandement la portée des conclusions pouvant être tirées quant à l'impact du polymorphisme *AGTRI* A1166C sur le pronostic des patients atteints d'IC.

3.3.2 Système adrénergique

L'hyperactivation adrénergique a de multiples effets en IC. En plus des effets discutés dans la section 1.3, celle-ci produit une réduction du nombre de récepteurs myocardiques bêta₁-adrénergiques,³³⁷ modifiant ainsi le ratio des récepteurs bêta₁ et bêta₂ qui est de 80%/20%

dans le myocarde normal, à 60%/ 40 % chez les défaillants cardiaques.³³⁷ Cette activation adrénergique accrue provoquerait aussi une désensibilisation des récepteurs adrénergiques via une réduction de la signalisation intracellulaire.^{337, 338} Ultimement, ces changements contribueraient à la réduction de la contractilité myocardique observée en IC.³³⁸ Certaines données suggèrent que l'ampleur de ces réductions des récepteurs bêta₁ et de la signalisation adrénergique pourraient être influencées par des facteurs génétiques.^{339, 340} Par ailleurs, l'hyperactivation adrénergique contribue significativement à l'apparition d'arythmies ventriculaires fatales et à potentialiser de l'activation du SRAA par une stimulation des récepteurs bêta₁-adrénergiques des cellules juxtaglomérulaires rénales.⁵⁴

Étant donné l'importance du système adrénergique en IC, un intérêt considérable a également été porté à l'étude des polymorphismes génétiques de ce système. Les trois gènes les plus étudiés sont le gène codant pour le récepteur β₁-adrénergique, l'*ADRB1* (locus 10q24-q26), le gène codant pour le récepteur β₂-adrénergique, l'*ADBR2* (locus 5q31-q32), et le gène codant pour le récepteur présynaptique α_{2C}, l'*ADR2C* (locus 4p16.1), qui module la libération présynaptique de la norépinéphrine.

Le récepteur bêta₁-adrénergique est un récepteur couplé à la protéine G_{αs}.⁸⁵ Il est responsable de nombreux effets délétères reliés à l'hyperactivité adrénergique caractérisant l'IC : augmentation de la demande myocardique en oxygène, nécrose myocardique, apoptose et arythmogénèse.^{337, 338} Les polymorphismes génétiques les plus étudiés sont deux polymorphismes faux sens, l'Arg389Gly et le Ser49Gly. De nombreuses études chez l'animal et l'humain ont démontré que l'allèle 389Arg est associé à une production d'AMPc basale accrue par rapport à l'allèle 389Gly.³⁴⁰⁻³⁴² L'augmentation d'AMPc produite par l'administration d'un agoniste bêta est également supérieure chez les porteurs de cet allèle.³⁴⁰⁻³⁴² Physiologiquement, cette augmentation dans la signalisation provoque une augmentation de la contractilité myocardique,³⁴⁰⁻³⁴² laquelle se traduirait par une tolérance à l'effort accrue chez les patients atteints d'IC.³⁴³ Toutefois, comme c'est le cas avec les agonistes bêta₁-adrénergiques,^{344, 345} l'hyperactivité associée à l'allèle *ADRB1* 389Arg se traduirait potentiellement également en un effet proarythmique.^{346, 347} Une seule étude³⁴⁷ a suggéré un impact de ce polymorphisme sur le pronostic des patients atteints d'IC, les autres études publiées à ce jour n'en observant aucun.^{326, 339, 341, 348, 349}

Cette absence d'impact sur le pronostic n'exclut toutefois pas un effet modulateur sur les effets des bêta-bloqueurs, lequel sera discuté dans une section subséquente. L'annexe 2 décrit les études ayant évalué l'impact de ce polymorphisme génétique et d'autres polymorphismes génétiques reliés au système adrénergique en IC.

Des études *in vitro* ont démontré que les cellules exprimant l'allèle Gly49 du polymorphisme *ADRB1* Ser49Gly ont une production d'AMPc supérieure par rapport aux cellules portant l'allèle Ser49.^{350, 351} Par ailleurs, l'allèle Gly49 est associé à une désensibilisation et à une régulation à la baisse de l'expression des récepteurs bêta₁ plus importante en présence de catécholamines que l'allèle Ser49.^{350, 351} La désensibilisation et la régulation à la baisse de l'expression des récepteurs associées à ce polymorphisme prévaudraient à long terme.³⁵⁰ Ce processus de régulation devrait théoriquement conférer un avantage sur la survie aux patients atteints d'IC porteurs de cet allèle.^{350, 351} Un tel effet protecteur a été observé dans une cohorte incluant environ 200 patients,³⁵² tandis que d'autres ne décelaient aucun impact significatif.^{339, 341, 347, 348}

Les polymorphismes faux sens *ADRB2* Arg16Gly, Gln27Glu et Thr164Ile sont les seuls polymorphismes étudiés du gène codant pour le récepteur adrénergique bêta₂ en IC. Les homozygotes pour les allèles Arg16 et Gln27 ont une régulation à la baisse de l'expression des récepteurs suite à une stimulation par des agonistes^{353, 354} ce qui pourrait encore une fois moduler la réponse aux catécholamines endogènes.³⁵⁵ Chez les patients atteints d'IC, la désensibilisation associée à l'allèle Arg16 se traduirait, entre autres, par une réduction de la fonction pulmonaire³⁵⁶ et de la tolérance à l'effort.³⁵⁷ Certains ont rapporté un effet opposé sur la tolérance à l'effort.³⁵⁸ L'impact de ces deux polymorphismes sur le pronostic des patients atteints d'IC demeure toutefois incertain puisque des associations contradictoires ont été rapportées,^{326, 348} tandis que d'autres études ne relevaient aucun impact de ces polymorphismes génétiques.³⁵⁹

Le polymorphisme *ADRB2* Thr164Ile implique le remplacement d'une thréonine par une isoleucine au niveau du quatrième domaine transmembranaire³⁵⁹ et provoque une réduction significative du couplage du récepteur bêta₂ pour la protéine G_s et de l'adényl cyclase.³⁵⁴ L'allèle Ile164 est présent chez environ 3-4% de la population caucasienne. L'impact de ce

polymorphisme a été suggéré dans de multiples modèles, ainsi que chez des sujets sains et chez des insuffisants cardiaques.^{343, 353, 354, 360, 361} Les porteurs de l'allèle Ile164 ont une réponse chronotrope, inotrope et vasomotrice réduite à l'état basal et lors de l'administration d'agonistes bêta-adrénergiques.^{343, 353, 354, 360, 361} Les patients porteurs de cet allèle ont également une mauvaise tolérance à l'effort comparativement aux patients porteurs du génotype Thr164Thr.³⁵⁸ À ce jour, aucun homozygote Ile164 n'a été identifié, suggérant que ce génotype est fatal pour les porteurs. La présence de l'allèle Ile164 a été associée à un pronostic sombre dans deux cohortes,^{359, 360} tandis que deux autres ne relevaient aucun impact.^{348, 362} L'interprétation de ces études est compliquée par le très faible nombre de porteurs de l'allèle Ile164 inclus dans ces études.

Le polymorphisme *ADR2C* 322-325 ins/del du gène codant pour le récepteur adrénergique α_{2c} mène à la délétion de 4 acides aminés (322-325) dans la troisième boucle intracellulaire du récepteur laquelle provoquerait une réduction du couplage du récepteur à la protéine $G_{\alpha i}$ et une réduction de l'inhibition présynaptique de la libération de norépinéphrine³⁶³ prédisposant à une surstimulation adrénergique.³⁶⁴ Cette délétion a été associée à des symptômes d'IC plus sévères, une FEVG réduite et une réduction de la contractilité par un groupe d'investigateurs.³⁶⁵ Toutefois, ces derniers l'ont associé à une réduction du risque de décès dans une autre étude.³⁶⁶ D'autres n'ont révélé aucun impact sur le pronostic des patients.³²⁶ Les données relatives à l'impact de ce polymorphisme sur le risque de développer de l'IC sont également contradictoires,^{304, 367-369} limitant ainsi les conclusions pouvant être tirées par rapport à ce polymorphisme.

Finalement, des données plus récentes ont démontré qu'un polymorphisme du *GRK5*, qui code une kinase associée aux récepteurs couplés aux protéines G, pouvait moduler l'évolution de l'IC et la réponse aux bêta-bloqueurs.³⁷⁰ Liggett et collaborateurs ont démontré que l'allèle *GRK5* 41Glu du polymorphisme génétique Gln41Glu, extrêmement rare chez les caucasiens (1-2%), mais plus fréquent chez les afro-américains (23-28%), conférerait une protection cardiovasculaire similaire à celle d'un bêta-bloqueur dans une cohorte de défaillants cardiaques afro-américains. En effet, les porteurs Glu41 non traités par un bêta-bloqueur auraient un pronostic similaire aux homozygotes Gly41 traités par un bêta-bloqueur. Qui plus est, dans cette cohorte, seuls les homozygotes *GRK5* Gln41, qui

présentaient un risque accru de décès ou de greffe, bénéficiaient des bêta-bloqueurs ($p_{\text{int}} = 0,004$). Globalement, cette étude suggère que l'allèle *GRK5* 41Glu agit comme un « bêta-bloqueur génétique » qui réduit le risque cardiovasculaire et qui rendrait l'utilisation des bêta-bloqueurs non nécessaires chez les porteurs de cet allèle.

3.3.3 Autres polymorphismes génétiques

Parmi les polymorphismes génétiques étudiés non reliés au SRAA ou au système adrénergique, le polymorphisme le plus étudié en IC est l'*AMPD1* C34T. L'*AMPD1* est le gène codant pour l'adénosine monophosphate déaminase 1, l'enzyme responsable de la déamination de l'adénosine monophosphate en inosine monophosphate dans les muscles squelettiques et cardiaques.^{371, 372} La présence de l'allèle 34T provoque une mutation non sens au niveau de l'exon 2 et produit un enzyme inactif³⁷³ ce qui fait que l'AMP est principalement transformée en adénosine, qui posséderait un potentiel cardioprotecteur (vasodilatateur,³⁷⁴ antiarythmique, anti-inflammatoire^{375, 376}). L'impact de ce polymorphisme sur le pronostic des patients atteints d'IC a été évalué dans 6 cohortes. L'allèle 34T a été associé à un effet cardioprotecteur dans trois petites cohortes.³⁷⁶⁻³⁷⁸ Toutefois, des cohortes de plus grande envergure n'ont révélé aucun impact de ce polymorphisme sur le pronostic des patients.^{371, 379, 380} Finalement, notons qu'un polymorphisme des gènes *NOS3* (Glu298Asp),³⁸¹ *TNF* (G308A),³⁸² *EDNRA* (H323H),³⁸³ *MMP3* (1171 5A/6A),³⁸⁴ *MMP9* (C1562T)³⁸⁴ et *VEGF* (C405G)³⁸⁵ ont tous été associés au pronostic des patients atteints d'IC systolique dans une cohorte de patients. La réplication de ces résultats dans des cohortes additionnelles sera primordiale afin de statuer sur l'impact réel de ces polymorphismes génétiques en IC.

3.4 Pharmacogénomique

3.4.1 Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

La majorité des études de pharmacogénétique en IC ont porté sur les IECA et les bêta-bloqueurs. Ces études sont détaillées dans les annexes 2 et 3. En ce qui concerne les IECA, bien que plusieurs petites études aient révélé des résultats parfois équivoques ou contradictoires, la plus grande de ces cohortes a indiqué que la dose d'IECA reçue par les patients pourrait avoir un impact majeur sur la modulation du risque associé à l'allèle D du polymorphisme génétique *ACE* I/D.³²¹ En effet, McNammara et collaborateurs ont observé

que les patients qui recevaient une faible dose d'IECA demeuraient à haut risque de décès ou de greffe cardiaque lorsqu'ils portent un ou deux allèles D. À l'opposé, l'utilisation de hautes doses d'IECA minimiserait l'impact pronostic néfaste de cet allèle. Des résultats similaires ont été obtenus dans une analyse exploratoire du groupe d'Andersson.³²²

McNamara et collaborateurs ont également observé que le risque associé à la présence de l'allèle D était fortement diminué par l'utilisation des bêta-bloqueurs. Ces résultats n'ont toutefois pas été observés dans une étude comportant moins de patients.³⁸⁶ Globalement, ceci suggère que le risque potentiellement associé à l'allèle D pourrait être minimisé avec l'utilisation d'une pharmacothérapie optimale et que les bénéfices associés à l'utilisation des hautes doses d'IECA¹⁷⁴ ou d'un bêta-bloqueur sont plus importants chez les patients porteurs d'une ou deux allèles D. L'intégration de ce marqueur en clinique nécessite d'abord une validation dans d'autres cohortes d'individus.

Bien que ne portant pas exclusivement sur des patients avec IC, plusieurs études ont évalué l'impact de gènes (*ACE*, *BDKRB2*, *CMAI*) sur le risque de toux induite par les IECA, mais ces études de taille limitée ont cependant produit des résultats contradictoires.³⁸⁷⁻³⁹³ Par ailleurs, le polymorphisme C2399A du gène *XPNPEP2*, qui code pour l'aminopeptidase A, et qui réduirait l'activité de cet enzyme participant au métabolisme des kinines, a été associé au risque d'angioedème induit par les IECA.³⁹⁴ Ce polymorphisme génétique pourrait devenir un outil extrêmement utile afin d'identifier les patients les plus susceptibles de développer cet effet indésirable potentiellement fatal.³⁹⁵

3.4.2 Spironolactone

Une seule étude portant sur la pharmacogénétique de la spironolactone en IC a été effectuée.³⁹⁶ Cette étude a, encore une fois, évalué l'impact du polymorphisme génétique *ACE I/D* et incluait 47 patients issus d'une étude randomisée qui ont reçu la spironolactone à une dose moyenne de $31,1 \pm 15,6$ mg, une dose similaire à la dose moyenne dans RALES.³⁰ Les résultats de cette petite étude ont indiqué qu'uniquement les porteurs de l'allèle I démontrent une augmentation significative de la FEVG et une réduction des volumes télésystolique et télédiastolique suite à un traitement avec de la spironolactone. Les patients porteurs du polymorphisme DD n'ont obtenu aucune amélioration de ces paramètres. Ces améliorations au niveau de la fonction ventriculaire suggèrent une

amélioration du pronostic de ce groupe de patients.⁵⁸⁻⁶⁰ Ces résultats semblent opposés aux travaux antérieurs associant l'allèle D à des niveaux élevés d'aldostérone chez les défaillants cardiaques traités avec un IECA.³²⁰ On aurait en effet anticipé une réponse plus importante chez ces patients. Ces résultats pourraient en fait signifier que seulement les porteurs de l'allèle I répondent de façon favorable à de petites doses de spironolactone et que les homozygotes pour l'allèle D bénéficieraient de doses plus élevées de spironolactone. Ces hypothèses restent à confirmer.

3.4.3 Bêta-bloqueurs

3.4.3.1 Pharmacocinétique des bêta-bloqueurs

De nombreuses études pharmacogénétiques portant sur la pharmacocinétique des bêta-bloqueurs chez des patients atteints d'IC et des individus sains ont été effectuées.³⁹⁷⁻⁴⁰³

Celles-ci ont démontré un impact définitif du *CYP2D6* sur la pharmacocinétique du carvédilol et du métoprolol, les métaboliseurs lents ayant une aire sous la courbe supérieure par rapport aux métaboliseurs rapides et ultrarapides.³⁹⁷⁻⁴⁰³ Toutefois, malgré ces effets significatifs au niveau de la pharmacocinétique de ces agents, l'impact des polymorphismes du *CYP2D6* sur l'efficacité et l'innocuité de ces agents reste à établir.^{402, 404} Notre groupe étudie présentement l'impact de polymorphismes du gène *CYP2D6* (*1, *3, *4, *5, *6, *7, *8) sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamie du carvédilol chez 60 patients atteints d'IC systolique finement phénotypés, ce qui devrait permettre de mieux définir l'impact hémodynamique de ces variations génétiques.

Le *UGT2B7*, gène codant pour UDP-glucuronosyltransférase 2B7, l'enzyme responsable de la glucuronidation du carvédilol en son principal métabolite (G1), pourrait également un impact significatif sur la pharmacocinétique du carvédilol.⁴⁰⁰ Dans une étude, les individus porteurs du *UGT2B7*3* présentaient une élimination 37% inférieure aux patients ne portant pas cet allèle.⁴⁰⁰ Cet effet était additif et indépendant de ceux associés aux polymorphismes génétiques du *CYP2D6*.⁴⁰⁰ Toutefois, aucun impact n'a été identifié par un autre groupe de chercheurs.³⁹⁸ Ainsi, l'impact de ce polymorphisme reste à démontrer.

3.4.3.2 Pharmacodynamie des bêta-bloqueurs

L'importance des polymorphismes des récepteurs bêta-adrénrgiques sur les effets des agonistes et des antagonistes adrénrgiques a été suggérée dans de nombreux modèles expérimentaux.^{340, 350, 405} Les données actuelles suggèrent que le polymorphisme Arg389Gly de l'*ADRB1* a un impact significatif sur les effets des bêta-bloqueurs adrénrgiques. Dans la plus grande cohorte publiée (n = 1040),³⁴¹ une sous-étude de l'étude BEST,¹⁴⁴ Liggett et collaborateurs ont observé que les homozygotes pour l'allèle Arg389, qui présentent une activité d'AMP cyclase accrue, bénéficient de façon significative du bucindolol, alors qu'aucun bénéfice n'était apparent chez les porteurs de l'allèle Gly389. Plus spécifiquement, uniquement les homozygotes pour l'allèle Arg389 ont affiché une réduction significative du risque de mortalité et d'hospitalisation. Étant donné les propriétés particulières du bucindolol, c'est-à-dire des effets sympatholytiques puissants et le fait que le bucindolol n'a pas réduit la mortalité dans l'étude BEST,¹⁴⁴ il est incertain si ces résultats sont extrapolables aux autres bêta-bloqueurs. En effet, les bêta-bloqueurs constituent une classe pharmacologique extrêmement hétérogène (voir le tableau XIV).

Tableau XIV. Tableau comparatif de paramètres pharmacologiques sélectionnés des principaux bêta-bloqueurs étudiés en insuffisance cardiaque.^{341, 406-409}

	Bisoprolol	Bucindolol	Carvédilol	Métoprolol
Sélectivité bêta ₁ vs bêta ₂	bêta ₁ >> bêta ₂	bêta ₁ = bêta ₂	bêta ₁ = bêta ₂	bêta ₁ >> bêta ₂
Activité sympathomimétique intrinsèque	0	0/+	0	0
Agoniste inverse	+	+++	++	+
Effet sympatholytique central	0	++	0	0
Alpha ₁ bloqueur	0	0/+	+	0
Liposolubilité	Modérée	Modérée	Élevée	Modérée
Métabolisme/élimination	Hépatique/rénale (50%/50%)	Hépatique	Hépatique	Hépatique

Des études chez des patients traités par le carvedilol^{340, 347, 410} et le métoprolol^{347, 411} ont aussi associé l'allèle 389Arg à des bénéfices supérieurs, cette fois sur la FEVG ou les volumes ventriculaires (Voir annexe 3 pour détails). D'autres auteurs ont rapporté des tendances statistiques allant dans le même sens.³³⁹ Finalement, d'autres chercheurs n'ont rapporté aucun impact de ces polymorphismes sur l'amélioration de ces phénotypes.^{349, 404, 412-414} Ainsi, bien que le polymorphisme *ADRB1* Arg389Gly pourrait éventuellement permettre d'identifier les insuffisants cardiaques les plus susceptibles de bénéficier d'un bêta-bloqueur, cette association devra être confirmée avant que celui-ci puisse être utilisé en pratique clinique.

L'impact de l'*ADRB1* Ser49Gly a également été évalué dans plusieurs études d'IC. Des résultats du groupe d'Andersson^{339, 352, 409} ont suggéré que l'utilisation des bêta-bloqueurs, particulièrement à de fortes doses, atténuait l'impact pronostic néfaste de l'allèle Ser49.³³⁹ Toutefois, d'autres,^{347, 410, 411, 413} dont la sous-étude de BEST,⁴⁰⁵ n'ont pas démontré d'impact significatif de ce polymorphisme sur la réponse aux bêta-bloqueurs.

Bien que les polymorphismes de l'*ADRB1* aient constitué le centre d'attention principal des études de pharmacogénétiques portant sur les bêta-bloqueurs en IC, d'autres polymorphismes ont également été étudiés. Ainsi, Kaye⁴¹⁵ a suggéré que l'allèle Glu du polymorphisme *ADRB2* Glu27Gln était associé à une amélioration de la FEVG lors d'un traitement avec le carvedilol. Toutefois, Terra a rapporté des résultats opposés avec le métoprolol succinate,⁴¹¹ tandis que Chen ne rapportait aucun impact chez des patients traités avec le carvedilol.⁴¹⁰ Le polymorphisme *ADRB2* Arg16Gly n'exerçait aucun impact sur la réponse aux bêta-bloqueurs dans ces études. Le polymorphisme *GRK5* Gln41Leu pourrait également être un modulateur important de l'efficacité chez les patients afro-américains.³⁷⁰ Finalement, des polymorphismes des gènes l'*ADR2C*,⁴¹⁶ *NET*⁴⁰⁴ et *ADRA1D*⁴⁰⁴ ont été associés à l'amélioration de la fonction ventriculaire gauche dans de petites études pilotes.

3.4.4 Pharmacogénétique des autres médicaments utilisés en insuffisance cardiaque

Présentement, très peu de données sont disponibles afin de déterminer si certains polymorphismes génétiques peuvent prédire les effets des autres médicaments utilisés dans

le traitement de l'IC. Bien que certaines données suggèrent que le gène *ABCB1* qui code pour la P-glycoprotéine (PGP), un transporteur de la famille des ABC (ATP binding cassette), a un impact sur la pharmacocinétique de la digoxine,⁴¹⁷⁻⁴²¹ l'impact des polymorphismes de l'*ABCB1* dans ces études s'est souvent avéré contradictoire. Une méta-analyse de ces études (N= 121) a d'ailleurs conclu que le polymorphisme *ABCB1* C3435T n'avait aucun impact significatif sur la pharmacocinétique de la digoxine.⁴²² À l'opposé, une étude plus récente de 132 participants de la *Rotterdam Study* a indiqué que chaque allèle T des polymorphismes C1236T, G2677T/A et C3435T était associé à des concentrations plus élevées de digoxine.⁴²³

L'impact de gènes candidats sur les effets de la combinaison hydralazine-dinitrate d'isosorbide se limitent présentent à une sous-étude pharmacogénétique d'un nombre limité de patients ayant participé à l'étude A-HeFT.¹⁵⁸ Cette sous-étude a suggéré une amélioration accrue de la qualité de vie chez les porteurs du génotype *CYP11B2* 344TT.³²⁸

Par ailleurs, aucune étude de pharmacogénétique portant sur les diurétiques n'a été effectuée en IC. Il est intéressant de noter, par contre, que certaines études ont suggéré que le gène *ADD1*, codant pour l'alpha-adducine, influençait la réduction de la tension artérielle produite par des diurétiques thiazidiques en hypertension.^{424, 425} Encore une fois, toutefois, plusieurs études ont suggéré des effets plus modestes.^{426, 427}

Finalement, aucune étude n'a étudié l'impact des polymorphismes génétiques sur la réponse aux ARA en IC. Toutefois, certains gènes ont été associés aux effets de ces agents dans le traitement de l'hypertension.⁴²⁸⁻⁴³⁶ **Étant donné les bénéfices modestes de la combinaison IECA-ARA,^{8, 61} l'identification de marqueurs génétiques permettant d'identifier les patients les plus susceptibles de profiter de cette combinaison représenterait une avancée importante.**

4 De l'insuffisance cardiaque terminale à la greffe cardiaque

Au cours des trente dernières années, la greffe cardiaque a émergé comme la modalité de traitement de choix chez les patients atteints d'IC terminale réfractaire au traitement médical.^{437, 438} L'incorporation de la cyclosporine dans l'arsenal immunosuppresseur il y a

plus de vingt ans a été capitale dans l'atteinte des succès thérapeutiques actuels chez les greffés cardiaques.⁴³⁹

Au Canada, environ 160 à 180 greffes cardiaques sont effectuées chaque année.⁴³⁷ La survie des greffés cardiaques s'est grandement améliorée au cours des vingt dernières années et atteint maintenant 90% un an après la greffe et 70% cinq ans après la greffe.⁴³⁹ Ce taux de survie est de loin supérieur à celui anticipé chez ces patients en absence de greffe cardiaque.⁴⁴⁰ Les indications pour une greffe cardiaque de la Société canadienne de cardiologie (SCC) sont énoncées au tableau XV.⁴³⁷ Des recommandations similaires ont été émises en 2006 par l'*International Society for Heart and Lung Transplantation* avec comme principale différence de prendre en considération la prise de bêta-bloqueurs dans la valeur de VO₂ max d'éligibilité (≤ 14 ml/kg/min chez patients ne prenant pas de bêta-bloqueurs et ≤ 12 ml/kg/min chez patients recevant un bêta-bloqueur).⁴³⁸

Tableau XV. Indications pour la greffe cardiaque selon la Société canadienne de cardiologie.⁴³⁷

Indications
1. Classe fonctionnelle avancée (Classes NYHA III ou IV)
2. Faible espérance de vie à 1 an : VO ₂ max < 15 mm/kg/min ou 50% de la valeur prédite pour l'âge ou de le sexe; VO ₂ max de 15-18 mm/kg/min chez patients avec angine réfractaire ou arythmie potentiellement fatale.
3. Échec au traitement médical
4. Absence d'alternative médicale ou chirurgicale
5. Absence de contre-indication
6. Potentiel de réhabilitation post-greffe

NYHA : New York Heart Association; VO₂ max: Consommation maximale en oxygène lors d'une épreuve d'effort.

Le traitement immunosuppresseur présentement recommandé par la SCC pour prévenir le rejet de la greffe cardiaque comprend un inhibiteur de la calcineurine, soit la cyclosporine ou le tacrolimus, le mycophenolate mofétille un corticostéroïde. La cyclosporine et le tacrolimus semblent avoir une efficacité similaire pour prévenir les décès après la greffe.

⁴⁴¹⁻⁴⁴⁵ Toutefois, le taux de réjection aiguë apparaît plus faible avec le tacrolimus.^{441, 443-445} Le mycophenolate mofétil est l'analogue purinique privilégié étant donné qu'il réduit le risque de rejet et de mortalité par rapport à l'azathioprine chez les greffés cardiaques.^{442, 445}

Au Canada,⁴³⁷ comme partout à travers le monde,⁴³⁹ un important écart existe entre la demande et la disponibilité d'organes transplantables.⁴³⁷ Malgré l'utilisation de critères extrêmement stricts, près de la moitié des patients décèderont en attente d'une greffe cardiaque.⁴³⁷ Ainsi, la découverte de marqueurs permettant l'identification des patients les plus susceptibles de bénéficier à long terme d'une greffe ou d'individualiser le traitement immunosuppresseur de ces patients est d'un intérêt certain. **Toutefois, les données permettant une approche personnalisée demeurent largement limitées.**

4.1 Les inhibiteurs de la calcineurine

4.1.1 Mécanisme d'action

Bien que structurellement distincts, le tacrolimus et la cyclosporine agissent en inhibant la calcineurine, un enzyme clé de la signalisation intracellulaire des lymphocytes T.⁴⁴⁶ Ces inhibitions s'effectuent par une liaison à deux différentes immunophylines. Le tacrolimus se lie à la *FK-506 binding protein 12*, tandis que la cyclosporine se lie à une cyclophyline.^{446, 447} La calcineurine est responsable de la déphosphorylation de multiples molécules incluant le NFAT (Nuclear Factor of Activated T cells).⁴⁴⁶⁻⁴⁴⁸ La déphosphorylation du NFAT permet sa translocation dans le noyau de la cellule, où il se lit au promoteur du gène de multiples cytokines sécrétées par les lymphocytes T, incluant l'IL-2.⁴⁴⁶ L'IL-2 est un facteur de croissance essentiel à l'activation et la prolifération des lymphocytes T.⁴⁴⁶ L'inhibition de la production d'IL-2 par les inhibiteurs de la calcineurine constitue le principal mécanisme par lequel ces agents préviennent le rejet.^{447, 449} La liaison à différentes cibles fait en sorte toutefois que certaines différences existent entre ces agents au niveau pharmacologique. Entre autres, le tacrolimus produirait une inhibition de la production d'interleukine-10, ce qui mènerait à une inhibition de l'infiltration de cellules cytotoxiques lors de la phase aiguë de rejet. Ce mécanisme expliquerait la réduction du risque de rejet aigu avec le tacrolimus par rapport à la cyclosporine.^{441, 443-445} Par ailleurs, la cyclosporine semble produire une augmentation de l'expression de la PGP à des

concentrations thérapeutiques ce qui pourrait avoir comme conséquence son extrusion de certains tissus, y compris ses cibles thérapeutiques.⁴⁵⁰

4.1.2 Pharmacocinétique

Les principales caractéristiques pharmacocinétiques de ces deux inhibiteurs de la calcineurine sont décrites dans le tableau XVI. Ces agents affichent plusieurs similitudes à ce niveau. La cyclosporine et le tacrolimus, deux médicaments avec une faible solubilité aqueuse, présentent une faible absorption caractérisée par une importante variabilité intra- et interindividuelle.⁴⁴⁹ De plus, ces deux agents sont distribués de façon significative dans les érythrocytes,⁴³⁷ ce qui explique que les concentrations sanguines et non plasmatiques de ces agents sont mesurées en pratique.⁴³⁷ Ces deux agents sont presque complètement métabolisés par des isoenzymes de la famille des CYP3A. Finalement, ces deux agents sont des substrats de la PGP, dont l'importance sera discutée plus loin.

Tableau XVI. Résumé des principaux paramètres pharmacocinétiques des inhibiteurs de la calcineurine.^{448, 449, 451-453}

Paramètre	Cyclosporine microémulsion (formulation standard)	Tacrolimus
Solubilité aqueuse	Très faible	Très faible
Biodisponibilité	Variable 35%, 20-50%, (très variable, 1-89%, en moyenne 30%)	25%, très variable 5-93%
Tmax, heures	1,5-2,0 (3-4)	1-3
Volume de distribution, L/kg	3-5	1,0-1,5
Liaison protéique, %	85-90	99
Temps de demi-vie, heures	19	12-14
Excrétion	Bile et fèces (90-95%) et urine (5-10%)	Bile et fèces (99%) et urine (<1%)
Métabolisme	Principalement CYP3A au niveau hépatique, gastro- intestinal.	Principalement CYP3A au niveau intestinal et hépatique.
Substrat des protéines de transports.	P-glycoprotéine	P-glycoprotéine
Dose initiale recommandée	3-5 mg/kg/jour	0,075-0,1 mg/kg/jour

Compte tenu des nombreux facteurs environnementaux et génétiques pouvant affecter la pharmacocinétique de ces médicaments (interactions médicamenteuses, alimentation, expression intestinale et hépatique des CYP3A ou de la PGP)^{449, 452-454} et leur index thérapeutique étroit, on recommande de faire un suivi des concentrations sanguines de la cyclosporine et du tacrolimus chez les greffés. Les concentrations recommandées⁴³⁷ chez les greffés cardiaques pour la cyclosporine et le tacrolimus sont décrites dans les tableaux XVII et XVIII, respectivement. Contrairement au tacrolimus,⁴⁵² la concentration mesurée juste avant la prise de la dose subséquente (creux, C_0) de la cyclosporine corrèle de façon limitée avec l'air sous la courbe.⁴⁵⁵⁻⁴⁵⁹ Certains ont suggéré le remplacement de cette mesure par la concentration au Tmax (2 heures post dose, C_2).^{456, 460-462} Toutefois, les résultats d'une revue systématique de la littérature a suggéré que les données supportant une telle approche sont limitées et de faible qualité.⁴⁵⁴

Tableau XVII. Concentrations (creux) recommandées dans le suivi de la cyclosporine.⁴³⁷

Temps après la greffe	0-3 mois	3-6 mois	6-12 mois	>12 mois
Concentration, ng/ml	300-400	200-300	150-250	100-150

Tableau XVIII. Concentrations (creux) recommandées dans le suivi du tacrolimus⁴³⁷

Temps après la greffe	0-3 mois	> 6 mois
Concentration, ng/ml	10-20	5-15

4.2 Profil d'innocuité des inhibiteurs de la calcineurine

La cyclosporine et le tacrolimus peuvent provoquer des effets indésirables importants. En effet, leur utilisation est associée à un risque de dyslipidémies, d'infections, d'hypertension, de diabète, de neurotoxicité, d'hyperplasie gingivale, d'hypertrichose et finalement la néphrotoxicité.^{441, 442, 445, 463, 464} La fréquence relative de ces effets indésirables avec la cyclosporine et le tacrolimus est décrite dans le tableau XIX.

Tableau XIX. Fréquence relative des effets indésirables des inhibiteurs de la calcineurine. ^{441-443, 445, 463-465}

Effet indésirable	Fréquence relative
Alopécie	tacrolimus > >cyclosporine
Diabète	tacrolimus ≥ cyclosporine
Dyslipidémie	cyclosporine > tacrolimus
Hirsutisme	cyclosporine >>> tacrolimus
Hypomagnésémie	cyclosporine = tacrolimus
Hyperkaliémie	cyclosporine = tacrolimus
Hyperplasie gingivale	cyclosporine >> tacrolimus
Hypertension	cyclosporine > tacrolimus
Infections	cyclosporine = tacrolimus
Intolérance gastro-intestinale	tacrolimus > cyclosporine
Néphrotoxicité	cyclosporine = tacrolimus
Neurotoxicité	tacrolimus > cyclosporine

4.3 La néphrotoxicité : une complication fréquente et sérieuse des inhibiteurs de la calcineurine

La néphrotoxicité induite par les inhibiteurs de la calcineurine est l'un de leurs effets indésirables les plus importants. Deux types de néphropathie induite par les inhibiteurs de la calcineurine ont été décrits : une néphrotoxicité fonctionnelle ou aiguë et une néphropathie structurale ou chronique.⁴⁴⁷ La néphrotoxicité aiguë est un processus principalement hémodynamique, caractérisée par l'absence de lésion permanente aux reins.⁴⁴⁷ À l'opposé, la néphrotoxicité chronique est un processus lent et insidieux qui progresse pendant plusieurs mois et qui mène à une atteinte rénale pouvant éventuellement mener à de l'insuffisance rénale sévère et irréversible.⁴⁴⁷

Environ 5 à 10% des patients recevant un inhibiteur de la calcineurine développent de l'insuffisance rénale dans les 5 ans suivant une greffe cardiaque, tandis que ce nombre grimperait à 20% après 10 ans.⁴⁶⁶⁻⁴⁶⁸ Les facteurs de risque établis de cette néphrotoxicité chronique incluent l'âge,^{439, 466, 469, 470} le sexe féminin,^{466, 470} un diagnostic de diabète^{439, 466, 469, 470} ou d'hypertension^{439, 469, 470} avant la greffe et la fonction rénale pré-greffe.^{466, 469, 470}

L'impact des concentrations sanguines des inhibiteurs de la calcineurine est incertain,^{466, 470} reflétant potentiellement la variabilité de la corrélation entre l'air sous la courbe des concentrations de ces médicaments dans le temps suite à leur administration et leur concentration à C_0 . La néphrotoxicité est un problème clinique majeur qui est associée à un risque de mortalité doublé à quadruplé.^{467, 470} Certains l'ont même qualifiée de talon d'Achille de l'immunosuppression en greffe.⁴⁷¹

4.3.1 Néphropathie aiguë

De nombreux facteurs sont impliqués dans le développement de la néphropathie aiguë. Ce désordre hémodynamique est principalement caractérisé par une vasoconstriction des artérioles afférentes rénales qui provoque une réduction du flot sanguin rénal et, ultimement, une réduction de la filtration glomérulaire.^{447, 472} Ces effets sont dose-dépendants et disparaissent généralement avec la cessation de l'inhibiteur de la calcineurine.⁴⁴⁷ Les données actuelles suggèrent qu'un déséquilibre entre divers vasoconstricteurs (angiotensine II, endothéline, norépinéphrine, vasopressine) et vasodilatateurs (oxyde nitrique, prostaglandines, bradykinine, peptides natriurétiques) endogènes serait responsable de cette atteinte hémodynamique.⁴⁴⁷ Malheureusement, la modulation de cet équilibre par des agents pharmacologiques ne semble pas avoir un impact significatif sur le risque de néphrotoxicité aiguë.^{473, 474} Une augmentation de la production des radicaux libres a aussi été suggérée. Les bénéfices d'un traitement antioxydant, dont la vitamine E, ont été avancés dans certains modèles expérimentaux.⁴⁷⁵ Toutefois, les données cliniques supportant un tel bénéfice sont limitées. Dans le cas de la vitamine E, des études chez l'humain suggèrent que l'amélioration de la fonction rénale découle d'une interaction médicamenteuse entre la vitamine E et la cyclosporine qui provoquerait une réduction des concentrations de l'inhibiteur de la calcineurine et compromettrait l'efficacité du traitement immunosuppresseur.^{476, 477}

4.3.2 Néphropathie chronique

La néphropathie chronique ou structurelle, qui se développe suite à une exposition prolongée aux inhibiteurs de la calcineurine, est caractérisée par une fibrose tubulointerstitielle irréversible, une artériopathie hyaline et une dégénérescence des tubules rénaux.^{472, 478} En plus de leur impact sur l'hémodynamie rénale et de leur potentiel à induire

de l'ischémie rénale, l'angiotensine II, l'endothéline et l'aldostérone semblent jouer un rôle déterminant dans le développement de la fibrose rénale, par une activation des fibroblastes et de la synthèse du collagène.^{478, 479} Une augmentation de la production du TGF β 1, un modulateur important des collagénases et des métalloprotéinase rénales, jouerait aussi rôle important dans l'apparition de la fibrose rénale.⁴⁷⁸⁻⁴⁸⁰ Les inhibiteurs de la calcineurine contribueraient également au processus de fibrose tubulointerstitielle en augmentant la synthèse du collagène, en inhibant les MMP-2 et -9 et en augmentant la production du *insulin-like growth factor*.⁴⁸¹ De plus, l'angiotensine II jouerait également un rôle important dans le recrutement et l'activation des macrophages, lesquels, par une production de nombreuses cytokines et médiateurs inflammatoires, contribueraient à la promotion de la fibrose rénale.^{478, 479} Des données pré-cliniques ont suggéré que le blocage du SRAA avec des IECA, des ARA ou la spironolactone pourrait avoir un impact bénéfique sur le risque de néphrotoxicité induite par les inhibiteurs de la calcineurine.⁴⁸²⁻⁴⁸⁴ Toutefois, aucun effet néphroprotecteur n'a été démontré de façon convaincante dans des études cliniques.^{468, 485-489} La figure 9 résume les processus impliqués dans la néphrotoxicité induite par les inhibiteurs de la calcineurine.

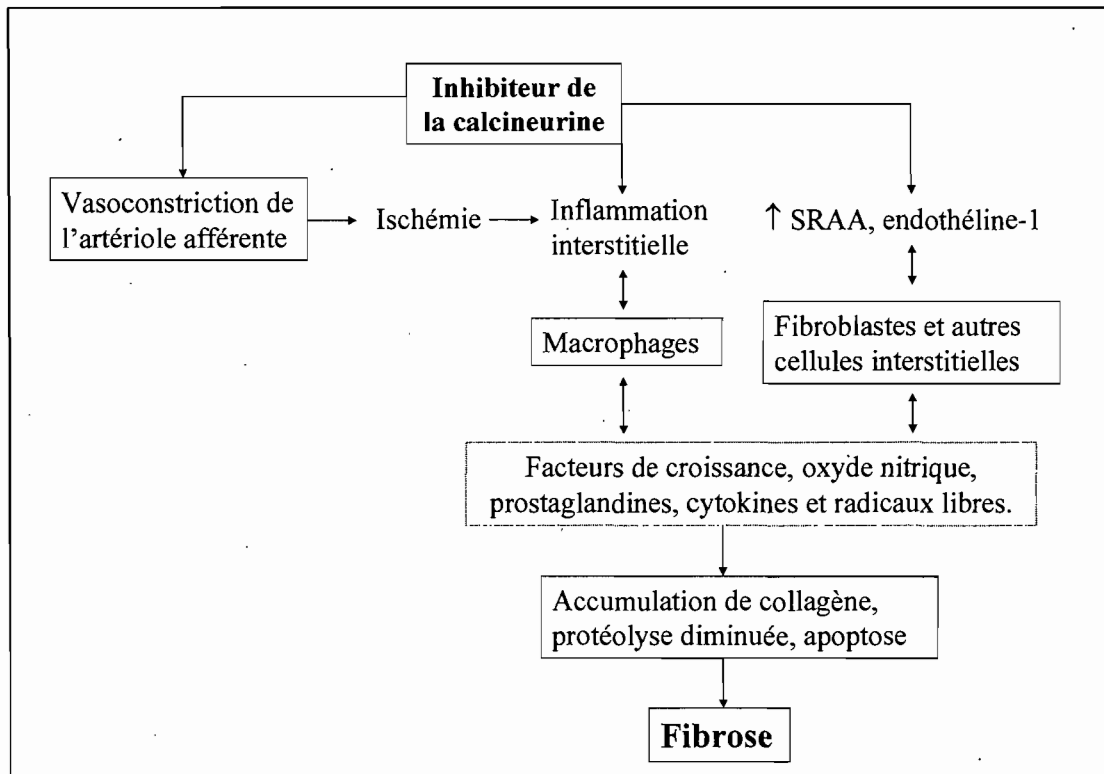


Figure 9. Mécanismes impliqués dans le développement de la néphrotoxicité chronique induite par les inhibiteurs de la calcineurine.^{447, 472, 480}

4.3.2.1 Rôles potentiels de la P-glycoprotéine et du cytochrome P450 3A5 dans la néphrotoxicité chronique induite par les inhibiteurs de la calcineurine.

Il est présentement extrêmement difficile d'identifier les patients les plus à risque de développer une néphropathie chronique induite par les inhibiteurs de la calcineurine. Ainsi, la découverte de marqueurs associés à cet effet indésirable constituerait un outil clinique important.

L'implication de la PGP, qui appartient à la super famille des transporteurs ABC (*ATP binding cassette*), et du cytochrome P450 3A5 (*CYP3A5*) dans la néphropathie induite par les inhibiteurs de la calcineurine a été suggérée par plusieurs.^{478, 490-492} La PGP, qui est codée par le gène *ATP binding cassette B1 (ABCB1)* situé au locus 7q21.1,⁴⁵¹ possède de nombreux substrats incluant la cyclosporine et le tacrolimus.^{451, 493} La PGP est présente, entre autres, au niveau de l'intestin (protéine de transport la plus exprimée dans l'iléum et seconde en importance au niveau du duodénum),⁴⁹⁴ de la membrane biliaire des hépatocytes,⁴⁹⁵ des tubules proximaux des reins,^{478, 496} du placenta,⁴⁹⁷⁻⁴⁹⁹ du cerveau^{500, 501} et du cœur.^{502, 503} La PGP joue un rôle de « barrière à l'absorption » en prévenant l'absorption de plusieurs substances au niveau de l'intestin, en plus de favoriser leur excrétion rénale et biliaire et de réduire leur distribution dans les tissus l'exprimant.⁴⁵³

L'importance de l'expression de la PGP sur l'absorption, la distribution et l'élimination des inhibiteurs de la calcineurine s'appuie sur de nombreuses évidences de modèles animaux.^{492, 504} Chez l'humain, l'expression intestinale de la PGP constitue un déterminant majeur de l'absorption de la cyclosporine⁵⁰⁵ et du tacrolimus,^{506, 507} en plus d'influencer les succès de l'immunosuppression chez les greffés.^{506, 508, 509}

L'expression rénale de la PGP pourrait avoir un impact significatif sur le risque de néphrotoxicité. Par exemple, une étude chez la souris a démontré que les souris n'exprimant pas la PGP avaient des concentrations plus élevées de cyclosporine au niveau de plusieurs organes, incluant le rein.⁴⁹² L'implication de la PGP dans la néphropathie induite par la cyclosporine a été soulignée dans des travaux qui ont démontré que l'expression de la PGP était inversement proportionnelle au degré de sévérité de l'accumulation d'angiotensine II, de l'artériopathie hyaline, de la fibrose péri tubulaire et

périglomérulaire chez des rats traités chroniquement avec de la cyclosporine.^{478, 491} De plus, une étude histopathologique menée par Koziolk a démontré que les néphropathies aiguë et chronique induites par la cyclosporine chez des greffés rénaux étaient associées à une expression rénale réduite de la PGP.⁴⁹⁶ Ces observations ont été confirmées par d'autres.⁴⁹⁰ D'un point de vue pratique, la mesure intrarénale de l'expression de la PGP est impossible de façon routinière en clinique. Ainsi, l'identification de polymorphismes génétiques affectant l'expression ou l'activité de la PGP pourrait être utile afin d'identifier les individus les plus à risque de développer de la néphrotoxicité induite par les inhibiteurs de la calcineurine.

De nombreux polymorphismes génétiques du gène *ABCB1* ont été identifiés.⁴⁹⁴ Les deux polymorphismes les plus étudiés sont le G2677T/A et le C3435T. Le polymorphisme faux sens G2677T/A de l'exon 21 provoque une modification de la séquence des acides aminés (changement d'une alanine [allèle G] en position 393 pour une sérine [allèle T] ou d'une thréonine [allèle A]).^{420, 510} L'impact de ce polymorphisme génétique sur l'activité du transporteur demeure incertain.^{420, 510} Le polymorphisme C3435T, une mutation sens au niveau de l'exon 26, aurait potentiellement un impact sur le degré d'expression de la PGP au niveau du rein,⁵¹¹ du foie,^{495, 512} de l'intestin⁴⁹⁴ et du placenta.⁴⁹⁷ En somme, ces variations génétiques de l'*ABCB1* pourraient contribuer à la variabilité interindividuelle de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamie des inhibiteurs de la calcineurine.⁴⁵³

La sous-famille CYP3A est impliquée dans le métabolisme de phase I de 50% des médicaments disponibles sur le marché. Le CYP3A5 peut représenter jusqu'à 50% du contenu hépatique en CYP3A chez les patients exprimant cet isoenzyme.⁵¹³ D'autre part, il constitue le CYP3A majoritaire au niveau rénal,^{514, 515} en plus d'être également exprimé au niveau de l'intestin.⁴⁵¹ Le CYP3A5 est responsable du métabolisme de plusieurs xénobiotiques incluant la cyclosporine et le tacrolimus.⁴⁵¹ De nombreux polymorphismes ont également été identifiés au niveau du *CYP3A5* (position 7q22.1).⁴⁵¹ De ces derniers, le polymorphisme *CYP3A5**3, dont l'allèle *3 est présent chez 80 à 90% des Caucasiens,⁵⁰⁹ a été identifié comme un déterminant majeur de l'expression de cet isoenzyme au niveau du foie,^{516, 517} de l'intestin^{517, 518} et du rein.⁵¹⁵ Ce polymorphisme de l'intron 3 (6986 A>G) provoque un épissage alternatif résultant en un codon stop prématuré et la terminaison de la

transcription à l'acide aminé 109 de la protéine. Ceci résulte en une non expression du CYP3A5 chez les homozygotes *3.^{513, 515, 518} Par ailleurs, Dai et ses collaborateurs ont démontré que le métabolisme rénal de la cyclosporine était supérieur chez les patients exprimant le CYP3A5 (porteurs d'au moins un allèle *CYP3A5*1*) suggérant ainsi un rôle potentiel de ce polymorphisme dans le processus de la néphrotoxicité induite par la cyclosporine.⁵¹⁵ Cette hypothèse est également supportée par des données démontrant que les greffés développant de la néphrotoxicité aux inhibiteurs de la calcineurine ont une plus faible expression rénale du CYP3A5 par rapport à un groupe contrôle.⁵¹⁹

4.3.2.2 Impact des polymorphismes de l'*ABCB1* et du *CYP3A5* sur la pharmacocinétique des inhibiteurs de la calcineurine.

Étant donné l'importance potentielle de la PGP et du CYP3A5 sur la pharmacocinétique de la cyclosporine et du tacrolimus, plusieurs chercheurs ont évalué l'impact de polymorphismes des gènes *ABCB1* et *CYP3A5* sur la pharmacocinétique de ces agents dans diverses populations de greffés.^{515, 516, 518, 520-531} Il est important de noter que la majorité de ces études ont porté sur des receveurs d'une greffe rénale ou hépatique et que, à de rares exceptions,^{516, 518} seulement les génotypes des greffés étaient connus et les génotypes des greffons n'ont pas été évalués. En d'autres mots, dans ces études, les génotypes d'un des deux principaux organes impliqués dans le métabolisme et l'élimination de ces agents étaient inconnus. Ceci pourrait expliquer le manque de concordance et la très grande variabilité des résultats observés dans ces études.

La population des greffés cardiaques n'est évidemment pas assujettie à un tel facteur confondant, l'organe greffé n'étant pas impliqué dans l'absorption, le métabolisme ou l'élimination de ces agents. Les données étaient toutefois limitées quant à l'impact des polymorphismes de ces gènes sur la pharmacocinétique de la cyclosporine et du tacrolimus dans cette population avant le début de notre étude (Tableau XX). Bien que Chowbay ait étudié l'impact de plusieurs polymorphismes sur la pharmacocinétique de la cyclosporine, aucun n'exerçait un impact significatif, en grande partie puisque cette étude comptait seulement 14 patients.^{532, 533} Toutefois, Zheng a observé, chez 65 greffés cardiaques pédiatriques, que le polymorphisme *CYP3A5*3* ainsi que les polymorphismes G2677T et C3435T de l'*ABCB1* avaient un impact sur le ratio concentration:dose du tacrolimus. Plus

précisément, les patients porteurs de l'allèle *CYP3A5*3* avaient un ratio de concentration/dose/kg plus élevé que les homozygotes *CYP3A5*1* 3, 6 et 12 mois après la greffe.⁵³⁴ Ceci signifie donc que les patients porteurs de l'allèle *3 nécessitaient des doses plus faibles pour maintenir une même concentration sanguine. De telles observations avaient également été faites chez les porteurs des allèles T2677 et T3435 6 et 12 mois après la greffe dans la même étude. Il est important que ces observations soient confirmées dans de plus grandes cohortes avant que ces marqueurs puissent être utilisés en clinique. Ce besoin a été très bien illustré par une méta-analyse de Chowbay⁴²² qui a démontré que l'impact de l'*ABCB1* C3435T observé initialement par Hoffmeyer⁴⁹⁴ sur la pharmacocinétique de la digoxine et sur l'expression intestinale de la PGP n'avait pas été observé de façon concluante dans des études subséquentes.⁴²² Plus spécifiquement, Chowbay rapportait que l'impact de ce polymorphisme sur la pharmacocinétique de la digoxine et l'expression de la PGP est potentiellement inexistant.⁴²² Cette méta-analyse a également mis en relief l'important biais de publication actuel qui prévaut en pharmacogénétique.⁴²²

Tableau XX. Impact de polymorphismes candidats sur la pharmacocinétique de la cyclosporine et du tacrolimus chez les greffés cardiaques.

Référence	Patients	Polymorphisme génétique	Résultats
Chowbay B, et collaborateurs. ^{532, 533}	14 greffés cardiaques stables recevant de la cyclosporine	<i>ABCB1</i> C1236T, G2677T, C3435T <i>CYP3A4</i> (polymorphismes non spécifiés).	Aucun impact sur la pharmacocinétique de la cyclosporine.
Zheng HX, et collaborateurs. ⁵³⁴	65 greffés cardiaques pédiatriques traités par tacrolimus	<i>ABCB1</i> G2677T, C3435T <i>CYP3A5*3</i>	Porteurs de l'allèle <i>CYP3A5*1</i> ont un ratio concentration/dose/kg plus faible 3, 6 et 12 mois post greffe ($p < 0,05$ à chaque moment). Ratio également plus faible chez porteurs de GG2677 et CC3435 a 6 et 12 mois ($p < 0,05$).

4.3.2.3 Impact des polymorphismes de l'*ABCB1* et du *CYP3A5* sur la néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine.

Préalablement à l'initiation de notre étude, Hebert avait publié une étude cas-témoins chez 120 greffés hépatiques évaluant l'impact des polymorphismes *ABCB1* G2677T et C3435T des greffés sur le risque de néphropathie.⁵³⁵ Leurs résultats ont suggéré que les porteurs de l'allèle T2677 comportaient un risque plus faible de néphropathie et n'avaient recensé aucun impact du polymorphisme C3435T. L'allèle T de ce polymorphisme génétique avait été préalablement associé à une activité augmentée du transporteur par Schaefer.⁵¹⁰ Ainsi, les résultats d'Hebert étaient congruents avec ceux de Schaefer puisque le polymorphisme associé à une activité accrue de la PGP au niveau rénal (TT2677) devait théoriquement être associé à un risque réduit de néphrotoxicité étant donné le rôle de la PGP dans le transport et l'élimination de la cyclosporine et du tacrolimus hors du rein.⁵³⁵ Néanmoins, les conséquences des différents génotypes de l'*ABCB1* et du *CYP3A5* demeuraient grandement inconnues avant le début de nos travaux.

5 Résumé de l'état des connaissances et objectifs généraux de la thèse.

L'IC représente un problème de santé majeur. Des décennies de recherche ont permis d'établir que le SRAA joue un rôle déterminant dans la physiopathologie de cette maladie. Cet important constat a mené à la tenue de grands essais cliniques qui ont permis d'établir que l'inhibition de ce système, d'abord avec les IECA, puis avec les ARA et les antagonistes de l'aldostérone, ralentit la progression de la dysfonction ventriculaire, améliore la symptomatologie des individus traités et réduit leur risque d'hospitalisation et de décès.

Il est maintenant évident que la réponse aux inhibiteurs du SRAA, tant que pour leur efficacité que pour leur innocuité, est très variable d'un individu à l'autre. Étant donné les conséquences potentielles de l'inefficacité thérapeutique,⁵³⁶ la recherche d'outils permettant l'identification des individus les plus susceptibles de bénéficier de ces traitements apparaît donc essentielle. On se doit de souligner encore une fois que l'IC est particulière puisqu'aucun phénotype intermédiaire de la maladie n'est disponible pour faire le suivi de l'efficacité des traitements recommandés. Ainsi, il n'est pas possible de faire un suivi de l'efficacité de la pharmacothérapie outre que de constater, à moyen ou à long terme, une

aggravation, une stabilisation ou une progression de la maladie. Ainsi, il apparaît particulièrement important de pouvoir identifier dans cette population des biomarqueurs ou des caractéristiques, qu'elles soient démographiques, anthropométriques ou génétiques, permettant d'identifier *a priori* les patients les plus susceptibles de bénéficier d'un traitement ou du moins, un paramètre de suivi permettant de quantifier l'efficacité de ces médicaments chez un individu. À cet effet, étant donné les données émergentes suggérant l'implication d'un processus inflammatoire en IC et le fait que de nombreuses études ont rapporté une réduction de ce processus inflammatoire suite à l'administration d'antagonistes du SRAA, les variations temporelles d'un biomarqueur inflammatoire pourraient s'avérer utiles dans le suivi de l'efficacité de ces agents.

Il est maintenant accepté que les effets indésirables aux médicaments sont non seulement associés à des coûts importants,^{537, 538} mais également à des risques de morbidité⁵³⁹ et de mortalité considérables (représenterait au moins la 6^e cause de décès la plus fréquente aux États-Unis).⁵³⁹ Au cours des dernières années, un effet indésirable induit par les antagonistes du SRAA a suscité énormément d'intérêt, l'hyperkaliémie. En effet, de nombreuses études ont rapporté une augmentation fulgurante de cet effet indésirable et des conséquences dévastatrices.^{540, 541} Avant que nous débutions nos travaux, aucune évaluation approfondie des facteurs de risque de cet effet indésirable n'avait été effectuée chez les patients atteints d'IC. La découverte de tels facteurs permettrait potentiellement de cibler les individus chez qui on doit faire un suivi plus rigoureux, ou chez qui une dose initiale plus faible des antagonistes du SRAA serait plus appropriée.

L'identification de marqueurs prédisant la réponse aux antagonistes du SRAA apparaît d'autant plus importante dans le contexte où ces agents sont maintenant utilisés en combinaison, ce qui réduit les bénéfices absolus de ces classes pharmacologiques additionnelles, tout en potentialisant les risques d'effets indésirables. Étant donné l'importante héritabilité du SRAA, l'utilisation de marqueurs génétiques pourrait s'avérer particulièrement efficace afin d'identifier le groupe restreint d'individus les plus susceptibles de bénéficier d'une telle combinaison thérapeutique.

L'IC demeure une maladie incurable qui mène invariablement au décès. Comme mentionné précédemment, chez un groupe extrêmement limité d'individus, la greffe cardiaque est une avenue thérapeutique qui peut se traduire par une augmentation significative de la survie et de la qualité de vie. Toutefois, puisque la disponibilité des greffons cardiaques est extrêmement limitée, la sélection judicieuse des receveurs est primordiale afin de maximiser l'utilisation de cette ressource. La découverte de facteurs permettant l'identification des individus les moins susceptibles de rejeter le greffon ou de tolérer les immunosuppresseurs apparaît donc comme une priorité.

Globalement, les pages précédentes ont permis d'établir qu'il est présentement difficile de prédire le pronostic, la réponse à un traitement ou même d'identifier les patients bénéficiant d'un traitement suite à son initiation chez des individus atteints d'IC ou chez des greffés cardiaques.

Les objectifs généraux de cette thèse sont :

- D'identifier la valeur de certaines caractéristiques cliniques, de biomarqueurs sélectionnés et leur variation afin de prédire le pronostic de patients atteints d'IC ou leur réponse à des traitements pharmacologiques spécifiques.
- D'évaluer l'association entre des polymorphismes génétiques candidats et l'efficacité et l'innocuité d'agents pharmacologiques sélectionnés chez des patients atteints d'IC et chez des greffés cardiaques.

Pour atteindre ces objectifs, quatre projets différents ont été menés dans le cadre de mon doctorat et seront détaillés dans les chapitres suivants.

Chapitre 2. Une évaluation de l'association entre la variation de certains biomarqueurs inflammatoires couramment mesurés et le pronostic de patients atteints d'IC.

1. Introduction

Le rôle de l'inflammation dans la physiopathologie de l'athérosclérose est établi.^{542, 543} Au cours des dernières années, des études précliniques et cliniques, dont certaines effectuées à l'Institut de cardiologie de Montréal,⁵⁴⁴ ont également suggéré l'existence d'un processus inflammatoire en IC.^{64, 68, 71-73, 545-556} Plus spécifiquement, des augmentations du TNF α ,^{64, 544, 546, 550-555} de certaines interleukines^{544-546, 550-552, 555, 556} de molécules d'adhésion et de la CRP^{71-73, 544} ont été rapportées en IC. Dans certains cas, les concentrations de ces marqueurs étaient associées au pronostic des patients.^{71-73, 545, 551} Toutefois, outre la CRP, aucun de ces marqueurs n'est couramment mesuré en clinique. Puisque la surexpression de plusieurs de ces cytokines (TNF α , IL-1, IL-6) a été démontrée comme délétère sur la fonction myocardique et sur la progression de l'IC dans certains modèles expérimentaux,⁵⁵⁷⁻⁵⁵⁹ ces marqueurs pourraient directement influencer la progression de la maladie chez l'humain plutôt que de simplement refléter la présence d'une maladie sous-jacente plus sévère.

La valeur pronostique du nombre de leucocytes, couramment mesurés en clinique, a par ailleurs été démontrée dans diverses populations de patients atteints de maladies cardiovasculaires.⁵⁶⁰⁻⁵⁶⁵ Certains ont même démontré que des concentrations élevées des neutrophiles ou des leucocytes permettaient d'identifier les patients les plus à risque de développer de l'IC suite à un syndrome coronarien aigu.^{563, 566-568} Toutefois, la valeur pronostique de ces cellules inflammatoires n'a été étudiée que de façon limitée en IC,^{65-67, 70} malgré l'existence d'évidences supportant leur implication potentielle dans la physiopathologie de l'IC (augmentation du stress oxydatif, de certaines IL, du TNF α , activation de certaines métalloprotéinases, promotion de la dysfonction endothéliale et myocardique).^{68, 548, 549, 553, 569-573}

Une analyse précédente de SOLVD a démontré que des concentrations élevées de leucocytes et de neutrophiles au début de l'étude étaient associées à un risque accru de décès de toutes causes et de causes cardiaques.⁷⁰ Toutefois, cette association était présente seulement chez les patients atteints d'IC ischémique. Puisque les investigateurs de cette sous-étude s'étaient limités uniquement à ces deux points d'aboutissement, il demeurerait incertain si ces biomarqueurs pouvaient prédire plus spécifiquement les deux principales causes de décès chez cette population : la mort subite et l'IC terminale.²⁰ De plus, ces auteurs n'avaient pas étudié l'impact des variations de ces marqueurs dans le temps. À cet égard, un projet pilote par Shehab a suggéré qu'une augmentation des neutrophiles dans le temps pouvait être un excellent marqueur pronostique chez les patients atteints d'IC.⁶⁹ D'autres auteurs ont rapporté qu'une augmentation des leucocytes dans les 24 heures suivant un infarctus du myocarde était associée à un plus haut risque de décès et d'IC dans les 90 jours suivants.⁵⁷⁴

Il existe plusieurs liens entre le SRAA et les leucocytes. Tel que discuté dans l'introduction de cette thèse, l'angiotensine II stimule la production de nombreuses molécules d'adhésion, de cytokines et de chémokines impliquées dans le chémotaxisme et l'adhésion des leucocytes.^{543, 570} Par ailleurs, il est intéressant de noter que parmi les substances inflammatoires dont les concentrations sont réduites suite à l'administration d'un antagoniste du SRAA,^{73, 236, 575-579} plusieurs sont produites par les leucocytes (TNF α , IL-6, IL-1 β) ou impliquées dans leur recrutement, leur activation ou leur infiltration à travers l'endothélium (ICAM-1, VCAM-1, MCP1). De plus, on retrouve le récepteur AT1 et l'ECA au niveau des monocytes,⁵⁷⁷ tandis que les neutrophiles expriment la cathepsine G qui peut générer de l'angiotensine II.⁵⁸⁰ Finalement, certaines études *in vitro* et *in vivo* ont suggéré un impact des IECA sur la fonction des neutrophiles à des concentrations supratherapeutiques.⁵⁸¹⁻⁵⁸³

Étant donné les rôles potentiellement néfastes des neutrophiles et autres leucocytes sur l'homéostasie cardiovasculaire,^{68, 548, 549, 569-571} nous avons émis l'hypothèse qu'une augmentation dans le temps des concentrations des leucocytes et des différents sous-types de ce groupe cellulaire mesurés dans SOLVD (neutrophiles, lymphocytes) pourrait prédire

les évènements cardiovasculaires chez les patients atteints d'IC. Puisque l'inhibition du SRAA en IC semble provoquer des effets anti-inflammatoires,^{73, 236, 578, 584} nous avons également émis l'hypothèse que l'énalapril réduirait ces marqueurs inflammatoires. Dans le cas où ces deux hypothèses s'avèreraient positives, nous pourrions alors évaluer si la réduction temporelle de ces marqueurs suite à l'initiation de l'énalapril pouvait être utile afin d'identifier les patients bénéficiant de ce traitement. Finalement, nous voulions évaluer si la relation entre les variations des marqueurs inflammatoires et le risque d'évènements cardiovasculaires était indépendante de l'étiologie de l'IC.

2. **Publication N° 1 (Publiée dans J Card Fail. 2006;12:353-9.)**

Temporal Increases in Subclinical Levels of Inflammation Are Associated with Adverse Clinical Outcomes in Patients with Left Ventricular Dysfunction.

Simon de Denus, B. Pharm, MSc,^{1,2} Michel White, MD,³ Jean-Claude Tardif, MD,³ Martial G. Bourassa, MD,³ Normand Racine, MD,³ Sylvie Levesque, MSc,⁴ Anique Ducharme, MD, MSc³

Short Title: Inflammation variations and outcome in HF

Word Count (text): 3164

Word count (abstract): 197

¹Faculty of Pharmacy, University of Montreal, Montreal, Canada.

Departments of ²Pharmacy, ³Medicine and ⁴Biostatistics, Montreal Heart Institute, Montreal, Canada.

Address for correspondence

Michel White, MD, Montreal Heart Institute,

5000 Belanger Street East, Montreal, Quebec, Canada, HIT 1C8. Fax: 514-593-2575,

Phone: 514-376-3330 ext.3962, E-mail: [REDACTED]

Acknowledgments

Drs Ducharme and White were supported by the Fonds de recherche en santé du Québec.

Dr Tardif holds a Pfizer and Canadian Institutes of Health Research chair.

We have no conflict of interest.

Abstract

Background. The implication of various cytokines in a subclinical inflammatory process has been documented in heart failure (HF). The role of temporal changes of more conventional markers of inflammation, such as the white blood cell (WBC) count, on clinical outcomes remains largely unknown.

Methods and Results. We performed a retrospective analysis of patients included in the Studies Of Left Ventricular Dysfunction that had documented eligibility at the baseline visit, a documented WBC count at baseline and at least one measurement during follow-up. We evaluated the association between variations in WBC count, WBC subfractions and mortality and non-fatal events. An increase in WBC count during follow-up compared with baseline was associated with a significantly higher risk of all-cause and cardiovascular (CV) mortality, HF mortality and arrhythmic death (all $p < 0.05$). A relative increase in the neutrophil count was associated with higher risk of all-cause and CV mortality, HF mortality and cardiac ischemic events (all $p < 0.05$). No significant interaction was present in regards to the etiology of HF.

Conclusions. Temporal increases in WBC and neutrophil counts are associated with increased risks of death and CV events. This relationship appears to be independent of HF etiology.

Key words: heart failure, white blood cell, neutrophil.

Introduction

The pivotal role of inflammation in the genesis, evolution and complications of coronary artery disease is well established.¹ In recent years, data supporting an inflammatory process in the pathophysiology of heart failure (HF) have emerged, particularly regarding possible implication of tumor necrosis factor (TNF)-alpha, some interleukins (IL), such as IL-1 and IL-6, and high sensitivity C-reactive protein.²⁻⁴ Furthermore, circulating concentrations of these specific markers are predictors of outcome in patients with established HF.²⁻⁶

The clinical implications and/or the potential prognostic value of levels and variations over time of inflammatory markers more routinely measured in clinical practice, such as white blood cells (WBC) count, have not been as well studied in patients with HF. In a previous analysis of the Studies Of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD), baseline WBC and neutrophil counts were associated with all-cause and cardiovascular (CV) mortality. This relationship was only apparent in patients with ischemic HF.⁷ In that analysis, the authors limited their CV-related end points to all-cause and CV mortality. It remains unknown if an association exists between these inflammatory markers and specific causes of death, as well as the risk for any hospitalization, or ischemic events. Furthermore, the possible association between variations in these inflammatory markers during follow-up and clinical outcome was not evaluated. In this regard, data from a recent pilot study has suggested that increases in neutrophil count could predict CV outcomes in patients with HF.⁸

In order to investigate the association between these markers and clinical outcomes, we performed a retrospective analysis of the SOLVD and evaluated the relationship between variations in WBC, neutrophil and lymphocyte counts as time-dependent variables and clinical end points. Accordingly, the objective of this study was to evaluate the association between variations in WBC and their subfractions and mortality and non-fatal events in patients randomized into the SOLVD prevention and treatment trials.

Methods

We conducted a retrospective analysis of patients included in the SOLVD trials that had documented eligibility at the baseline visit, available WBC count at baseline and at least one measurement during follow-up. The methods of these trials have been reported

elsewhere.⁹⁻¹¹ Briefly, the SOLVD trials were multicenter, randomized, double-blinded, placebo-controlled trials evaluating the clinical benefit of enalapril in patients with documented left ventricular dysfunction (left ventricular ejection fraction $\leq 35\%$) aged 21 to 80 years. Patients without a history of overt HF were enrolled in the SOLVD prevention trial,¹¹ while patients with a history of overt HF were included in the SOLVD treatment trial.¹⁰ Exclusion criteria relevant to the current analysis, because of their potential confounding impact on inflammation markers, included myocardial infarction in the 30 days preceding enrolment, malignancies (except for surgically cured skin cancer, carcinoma-in-situ, or 5-year remission after the diagnosis of a solid tumor), requirement for immunosuppressive therapy (except the use of steroids for non-life-threatening disease such as arthritis), collagen vascular diseases other than rheumatoid arthritis, and active myocarditis.⁹ We calculated the absolute neutrophil and lymphocyte counts at baseline and for each value measured during follow-up by multiplying the percentage of these WBC subtypes in the differential by the total WBC count.¹² As part of SOLVD, patients were seen at two weeks, six weeks, four months and then every four months after randomization. Laboratory monitoring was performed at two weeks and six weeks after randomization and annually. Data could be recorded at the subsequent follow-up visits when available.

Endpoints

We assessed the association between the variations in WBC, neutrophil and lymphocyte counts as time-dependent variables in separate models on the following end points: all-cause mortality, CV mortality, death from HF (pump failure or arrhythmia with worsening HF), death from arrhythmias without worsening HF, hospitalizations for new or worsening HF, and cardiac ischemic events (fatal and non fatal myocardial infarction [MI] and hospitalizations for new or worsening angina). The relative variations of these inflammatory markers were calculated as follows: (Follow-up count - baseline count) / baseline count. All WBC values were measured at outpatient follow-up visits. No measurement was reported during any of the hospitalizations.

Statistical analysis

Continuous data are presented as mean \pm SD and categorical variables are presented as number of patients and percentages. In order to assess the independent prognostic value of

WBC, neutrophil and lymphocyte variations during follow-up, a univariate analysis was first performed for all end points with the following baseline variables: age, gender, ethnicity, history of atrial fibrillation, angina pectoris, myocardial infarction, hypertension, diabetes, cerebrovascular events, current smoker, primary cause of left ventricular dysfunction, baseline left ventricular ejection fraction, functional capacity (New York Heart Association [NYHA] class), randomization to enalapril, use of medications (antiplatelets, beta blockers, potassium sparing diuretics, loop diuretics, thiazide diuretics, digitalis), systolic and diastolic blood pressure, hematocrit, serum sodium concentration and renal function. Renal function was estimated by the creatinine clearance using the Cockcroft-Gault equation¹³: $([140 - \text{age}] \times \text{weight in kg} / 72 \times \text{creatinine in mg/dL}) \times 0.85$ for females. Patients with NYHA class IV symptoms at baseline were combined with NYHA III patients in the various models because of their limited numbers. The baseline values of each of the inflammatory markers could not be included separately in the multivariate models because they are already included as part of the calculations for the variations in the inflammatory markers. All variables with a p value ≤ 0.25 on univariate analysis were entered in a multivariate Cox regression model. Hazard ratios and 95% confidence interval (CI) were calculated for each variable. In addition, for all end points, we tested for a possible interaction between HF etiology (ischemic vs. non-ischemic) and the predictive value of the inflammatory marker evaluated.

In order to illustrate the changes in WBC count leading to a fatal event, we performed descriptive statistics of the baseline and up to four last follow-up visits preceding the event in all survivor and non survivors.⁸ A similar analysis was also performed after dividing patients according to the etiology of HF. Differences in total WBC and neutrophils counts in the placebo group and enalapril group at each visit were compared with a two-way ANOVA with one repeated measure. A p < 0.05 was considered statistically significant. Data analysis was performed using SAS version 8.2 (Cary, North Carolina).

Results

A total of 6,532 patients were included in this study. The clinical characteristics and selected information on total WBC and subfractions are presented in table 1. Mean absolute values of WBC, neutrophil and lymphocyte counts were within normal range. The mean

follow-up was 2.7 ± 1.2 years. During this period, an average of 5.0 ± 2.8 blood samples per patient was available for WBC count.

During follow-up, a total of 1,508 patients (23.1%) died. Of these, 1,334 (20.4%) died of CV reasons, mainly from pump failure (626 patients [9.6%]) or from an arrhythmic event (396 patients [6.1%]). In addition, 312 (4.8%) died of other CV causes. Finally, 1,200 patients (18.4%) were hospitalized for HF and 1,354 (20.7%) had a cardiac ischemic event.

Association between WBC, neutrophil and lymphocyte count variations during follow-up and clinical outcomes.

An increase in the WBC count during follow-up compared to baseline was associated with a significantly higher risk of all-cause mortality after adjusting for independent predictors for this outcome (HR: 1.044; 95%CI: 1.029-1.060; $p < 0.0001$, for a relative increase of 20% in WBC count). The relationship between changes in total WBC count in the entire cohort and all-cause mortality is presented in figure 1. Patients who died, not only exhibited a higher baseline WBC, but also presented an increase in total WBC count at the last outpatient visit prior to the fatal event. This contrasts with patients who were still alive at the end of follow-up, in which WBC count remained constant during the entire follow-up period. In patients who died, the mean time between the last WBC measurement and death was 198 ± 200 days.

No significant interaction was found in regards to the etiology of HF, indicating that for patients with both ischemic and non-ischemic HF, an increase in total WBC was associated with an increased risk of mortality. The relationship between changes in total WBC count and all-cause mortality according to HF etiology is presented in figure 2. Patients with non-ischemic HF who died did not have a higher WBC count at baseline as compared to patients who did not experience a fatal event. Only patients with ischemic HF who died had an elevated WBC count at baseline compared to patients who were alive at the end of the study. Nonetheless, both patients with ischemic and non-ischemic HF who died presented an increase in their WBC count at the last outpatient follow-up visit prior to the fatal event.

An increase in the WBC count during the trial was also associated with CV mortality (HR: 1.041; 95%CI: 1.023-1.059; $p < 0.0001$, for a relative increase of 20% in WBC count), pump failure death (HR: 1.041; 95%CI: 1.016-1.066; $p = 0.001$, for a relative increase of 20%), and arrhythmic death (HR: 1.045; 95%CI: 1.011-1.080; $p = 0.009$, for a relative increase of 20%), after adjusting for the independent predictors for these specific outcomes (Table 2). No significant interaction was observed between any of the models and the etiology of HF.

The relationship between increases in the neutrophil count during follow-up and clinical end points are presented in table 3. Increases in the neutrophil count were associated with a significantly higher risk of all-cause mortality (HR :1.042; 95%CI :1.028-1.057; $p < 0.0001$), CV mortality (HR :1.041; 95%CI :1.025-1.057; $p < 0.0001$), pump failure death (HR :1.044; 95%CI :1.022-1.066; $p < 0.0001$), and cardiac ischemic events (HR :1.025; 95%CI :1.004-1.047; $p = 0.02$) (Table 3). No significant interaction was observed between any of the models and the etiology of HF. The relationship between variations in lymphocytes and clinical end points are presented in table 4. The predictive value of variation in lymphocytes was limited to hospitalizations for HF (HR :0.967; 95%CI : 0.944-0.990; $p = 0.005$) and pump failure death in patients with ischemic HF (p value for interaction = 0.004).

Impact of enalapril on WBC and neutrophil counts

Because of the relationship between WBC, neutrophil counts and clinical outcomes, we further investigated whether the chronic administration of enalapril had any impact on these two parameters. There was no difference in regards to either total WBC (Figure 3) or neutrophil (data not shown) between the enalapril and the placebo treated groups during follow-up.

Discussion

Our results provide several important findings regarding the possible implication of subclinical inflammation in the progression of HF. First, these observations expand on the previous results from SOLVD⁷ regarding the association between all-cause and CV

mortality and WBC and neutrophil counts, by demonstrating, for the first time in a large population of HF patients, that temporal increases in inflammatory markers are associated with a higher risk of experiencing major CV events. These results are consistent with a recent pilot study by Shehab et al (n = 34) showing that increases in neutrophil count during follow-up were associated with HF death and sudden unexpected death.⁸ Consequently, this study provides the first convincing evidence from a large cohort of patients that increases in these inflammatory markers are associated with increased risk for specific mode of death such as death from pump failure (WBC and neutrophils) and arrhythmic death (WBC only). We have also demonstrated that increases in the neutrophil count are associated with a higher risk of ischemic cardiac events in patients with stable HF. This latter data is consistent with previous data suggesting that the neutrophil count and other WBC subfractions predict the risk of developing coronary disease and experiencing CV events in patients without established heart disease.^{14, 15} Finally, our results suggest that the relationship between variations in these inflammatory markers and outcomes is present, regardless of HF etiology.

In contrast to the report from Cooper et al,⁷ we did not observe any significant interaction between the etiology of HF and the prognostic value of variations in both WBC and neutrophil counts over time. Our results show that both ischemic and non-ischemic HF patients exhibited an increase of their last outpatient WBC count prior to the fatal event. Interestingly, as opposed to patients with ischemic HF who experienced a fatal event, patients with non-ischemic HF who died did not have a higher WBC count at baseline compared with survivors. This could explain the lack of association between baseline WBC and neutrophil counts and outcomes in the report by Cooper et al.⁷ These findings also suggest that the temporal variations of simple proinflammatory markers such as the WBC count may provide a more accurate clinical tool to predict prognosis than a single observation. In this study, we failed to observe a significant correlation between total WBC or neutrophil count and the risk of HF hospitalizations. A possible explanation for such observation is that HF exacerbations are frequently precipitated by non CV causes (non compliance to drug treatment or diet, use of inappropriate medications, non cardiac disorders) or other cardiac illnesses¹⁶ which are not associated with the progressive deterioration of the failing heart.

As reported by Cooper et al,⁷ the lymphocyte count provided little prognostic information. The association between temporal increases in absolute lymphocyte count was limited to a decreased risk of HF hospitalization and HF mortality in patients with ischemic HF. Previously published cohort studies of patients with varying severity of LV dysfunction suggested that relative lymphocyte count had an independent relationship with outcome, with patients having a lower relative count being at higher risk of adverse outcome.¹⁷⁻²⁰ These authors attributed this shift in leukocyte differential count to an increase in cortisol levels related to stress response. However, this specific parameter was not measured in these studies. These earlier observations may not be in disagreement with our findings. In fact, we speculate that the relationship between low lymphocyte relative count and increased mortality may in fact reflect high absolute neutrophil counts. As absolute neutrophil concentrations increase, the relative percentage of all other cell types, including lymphocytes, decreases.¹² Accordingly, we believe that the relationship observed in these previous studies between low relative lymphocyte counts and an increase risk of mortality, may in fact reflect the significant relationship between high absolute neutrophil counts and outcome. Similarly, data from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES I) Epidemiologic Follow-up Study²¹ suggested a limited association between lymphocytes count and both all-cause and cardiovascular mortality compared to total WBC and neutrophil counts in patients without a prior history of cardiovascular disease.

The mechanism involved with the adverse prognosis and increases in WBC remains unknown. Nevertheless, increases of these inflammatory markers before a fatal event likely reflect an imbalance between the pro- and anti-inflammatory pathways implicated in HF. This also suggests that inflammation may contribute to the disease progression rather than being an incidental finding. Elevated or increasing levels of WBCs, particularly neutrophils, may play a functional role in the evolution of HF. Data regarding the participation of neutrophils in the pathophysiology of HF is somewhat limited, but previous investigations suggest that they may be involved in this setting.^{22, 23} Interestingly, the possible detrimental effects of neutrophils on the myocardium have been documented in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury,²⁴ a phenomenon characterized by myocyte damage following reperfusion of an ischemic area. Because patients with severe

chronic HF, irrespective of its etiology, likely experience intermittent periods of silent myocardial ischemia secondary to myocardial hypoperfusion and increased demand, a similar phenomena to those observed during myocardial reperfusion injury could potentially occur.²⁵⁻²⁸ Furthermore, many of the substances implicated in neutrophil activation during reperfusion injury are also chronically increased in HF (IL-1, IL-6, TNF-alpha).²⁴ Because the O₂⁻-generating capacity of neutrophils is increased in HF patients compared to controls,²⁹ neutrophils could potentially increase oxidative stress.³⁰ An increase in oxidative stress has been associated with the development and progression of HF.³¹⁻³³ This increase in oxidative stress could also promote endothelial dysfunction by impairing endothelial nitric oxide synthase (eNOS) or by inactivating NO, which may precipitate an acute coronary syndrome.³⁴ Such hypothesis would also support our observations that an increase in the neutrophil count was indeed associated with an increased risk of cardiac ischemic events. Finally, neutrophils could also adversely affect cardiac integrity through the generation of matrix metalloproteinase (MMP)-8 and MMP-9.^{30,35} Overexpression of MMPs and increased collagen turnover contribute to ventricular dilatation in the post-MI and HF settings^{36,37} and are likely associated with a worse outcome in patients with HF.^{38,39}

The association between a rise in WBC and arrhythmic death are consistent with previous publications suggesting an association between inflammation and arrhythmias.⁴⁰⁻⁴² Furthermore, recent observations by Sajadieh et al in subjects without heart disease demonstrated that the WBC count was independently associated with a decreased heart-rate variability, a marker of sympatho-vagal imbalance and a risk factor for sudden cardiac death in high-risk individuals and in patients with HF.⁴³ Another possible explanation behind this relationship between total WBC and arrhythmic death is that some deaths may reflect an increase in fatal MIs. In fact, a previous study clearly outline that a significant number of sudden deaths may be caused by acute coronary syndrome.⁴⁴

Limitations

Because the SOLVD trials were conducted more than a decade ago, the pharmacological and non pharmacological treatment of these patients may not reflect current clinical

practice. Furthermore, despite the fact that multivariate analyses included a large number of demographic, clinical, laboratory and treatment-related variables, it is possible that some residual confounders may persist. In addition, although the presence of many inflammatory comorbidities prevented inclusion in SOLVD, we could not control for some subtle inflammatory conditions (e.g. rheumatoid arthritis) that did not constitute exclusion criteria and for which no data were collected. However, given the large sample size, number of events and the strong relationship between the temporal increases in WBC and neutrophil counts and the various clinical end points, the presence and/or progression of other underlying inflammatory conditions are unlikely to have played a significant role in these observations. In addition, we could not determine whether these relationships were associated with other known markers of adverse outcome such as brain natriuretic peptide, norepinephrine, or other inflammatory markers. Finally, it should be highlighted that despite being highly statistically significant, and supporting an association between inflammation and the progression of HF, the clinical risk associated with these variations was somewhat modest (a 4.4% relative increase in the risk of total mortality, for a 20% increase in WBC count), making the routine measurement of these markers as a clinical tool to assess prognosis premature at the moment.

In conclusion, temporal increases in white blood cell and neutrophil counts are associated with an increased risk of death and CV events. Contrary to previous observations regarding the use of a single baseline value,⁷ this relationship appears to be independent of HF etiology. The observations that fatal events are preceded by increases in the WBC count strongly suggests a significant role for subclinical inflammation in the progression of HF in humans. Additional investigations are required to determine whether these inflammatory markers directly affect disease progression, or whether they reflect other underlying physiologic processes associated with HF.

References

1. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499-511.
2. Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C, Oral H, Young JB, Mann DL. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol* 1996;27:1201-6.
3. Mann DL. Recent insights into the role of tumor necrosis factor in the failing heart. *Heart Fail Rev* 2001;6:71-80.
4. Wollert KC, Drexler H. The role of interleukin-6 in the failing heart. *Heart Fail Rev* 2001;6:95-103.
5. Yin WH, Chen JW, Jen HL, Chiang MC, Huang WP, Feng AN, et al. Independent prognostic value of elevated high-sensitivity C-reactive protein in chronic heart failure. *Am Heart J* 2004;147:931-8.
6. Alonso-Martinez JL, Llorente-Diez B, Echegaray-Agara M, Olaz-Preciado F, Urbieto-Echezarreta M, Gonzalez-Arencibia C. C-reactive protein as a predictor of improvement and readmission in heart failure. *Eur J Heart Fail* 2002;4:331-6.
7. Cooper HA, Exner DV, Waclawiw MA, Domanski MJ. White blood cell count and mortality in patients with ischemic and nonischemic left ventricular systolic dysfunction (an analysis of the Studies Of Left Ventricular Dysfunction [SOLVD]). *Am J Cardiol* 1999;84:252-7.
8. Shehab AM, MacFadyen RJ, McLaren M, Tavendale R, Belch JJ, Struthers AD. Sudden unexpected death in heart failure may be preceded by short term, intraindividual increases in inflammation and in autonomic dysfunction: a pilot study. *Heart* 2004;90:1263-8.
9. The SOLVD Investigators. Studies of left ventricular dysfunction (SOLVD)--rationale, design and methods: two trials that evaluate the effect of enalapril in patients with reduced ejection fraction. *Am J Cardiol* 1990;66:315-22.

10. The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. The SOLVD Investigators. *N Engl J Med* 1991;325:293-302.
11. The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. *N Engl J Med* 1992;327:685-91.
12. Jordan MR. Hematology: red and white blood cell tests. In: Traub SL, editor. *Basic skills in interpreting laboratory data*. Bethesda: American Society of Health-System Pharmacists; 1996. p. 297-320.
13. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16:31-41.
14. Wheeler JG, Mussolino ME, Gillum RF, Danesh J. Associations between differential leucocyte count and incident coronary heart disease: 1764 incident cases from seven prospective studies of 30,374 individuals. *Eur Heart J* 2004;25:1287-92.
15. Madjid M, Awan I, Willerson JT, Casscells SW. Leukocyte count and coronary heart disease: implications for risk assessment. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1945-56.
16. Tsuyuki RT, McKelvie RS, Arnold JM, Avezum A, Jr., Barretto AC, Carvalho AC, et al. Acute precipitants of congestive heart failure exacerbations. *Arch Intern Med* 2001;161:2337-42.
17. Ommen SR, Hammill SC, Gibbons RJ. The relative lymphocyte count predicts death in patients receiving implantable cardioverter defibrillators. *Pacing Clin Electrophysiol* 2002;25(10):1424-8.
18. Ommen SR, Hodge DO, Rodeheffer RJ, McGregor CG, Thomson SP, Gibbons RJ. Predictive power of the relative lymphocyte concentration in patients with advanced heart failure. *Circulation* 1998;97:19-22.
19. Sakatani T, Hadase M, Kawasaki T, Kamitani T, Kawasaki S, Sugihara H. Usefulness of the percentage of plasma lymphocytes as a prognostic marker in patients with congestive heart failure. *Jpn Heart J* 2004;45:275-84.
20. Acanfora D, Gheorghide M, Trojano L, Furgi G, Pasini E, Picone C, et al. Relative lymphocyte count: a prognostic indicator of mortality in elderly patients with congestive heart failure. *Am Heart J* 2001;142:167-73.

21. Gillum RF, Mussolino ME, Madans JH. Counts of neutrophils, lymphocytes, and monocytes, cause-specific mortality and coronary heart disease: the NHANES-I epidemiologic follow-up study. *Ann Epidemiol* 2005;15:266-71.
22. Prasad K, Kalra J, Massey KL, Bharadwaj B. Increased production of oxygen free radicals by polymorphonuclear leukocytes in heart failure due to aortic stenosis. *Angiology* 1989;40:472-8.
23. Prasad K, Kalra J, Bharadwaj B. Increased chemiluminescence of polymorphonuclear leucocytes in dogs with volume overload heart failure. *Br J Exp Pathol* 1989;70:463-8.
24. Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2004;61:481-97.
25. White M, Rouleau JL, Ruddy TD, De Marco T, Moher D, Chatterjee K. Decreased coronary sinus oxygen content: a predictor of adverse prognosis in patients with severe congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1991;18:1631-7.
26. Parodi O, De Maria R, Oltrona L, Testa R, Sambuceti G, Roghi A, et al. Myocardial blood flow distribution in patients with ischemic heart disease or dilated cardiomyopathy undergoing heart transplantation. *Circulation* 1993;88:509-22.
27. Neglia D, Parodi O, Gallopini M, Sambuceti G, Giorgetti A, Pratali L, et al. Myocardial blood flow response to pacing tachycardia and to dipyridamole infusion in patients with dilated cardiomyopathy without overt heart failure. A quantitative assessment by positron emission tomography. *Circulation* 1995;92:796-804.
28. Neglia D, Michelassi C, Trivieri MG, Sambuceti G, Giorgetti A, Pratali L, et al. Prognostic role of myocardial blood flow impairment in idiopathic left ventricular dysfunction. *Circulation* 2002;105:186-93.
29. Ellis GR, Anderson RA, Lang D, Blackman DJ, Morris RH, Morris-Thurgood J, et al. Neutrophil superoxide anion--generating capacity, endothelial function and oxidative stress in chronic heart failure: effects of short- and long-term vitamin C therapy. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1474-82.
30. Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab Invest* 2000;80:617-53.

31. Moskowitz R, Kukin M. Oxidative stress and congestive heart failure. *Congest Heart Fail* 1999;5:153-163.
32. Mak S, Newton GE. The oxidative stress hypothesis of congestive heart failure: radical thoughts. *Chest* 2001;120:2035-46.
33. Siwik DA, Pagano PJ, Colucci WS. Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280:C53-60.
34. Sugano R, Matsuoka H, Haramaki N, Umei H, Murase E, Fukami K, et al. Polymorphonuclear leukocytes may impair endothelial function: results of crossover randomized study of lipid-lowering therapies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1262-7.
35. Kawakami R, Saito Y, Kishimoto I, Harada M, Kuwahara K, Takahashi N, et al. Overexpression of brain natriuretic peptide facilitates neutrophil infiltration and cardiac matrix metalloproteinase-9 expression after acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;110:3306-12.
36. Lindsey ML. MMP induction and inhibition in myocardial infarction. *Heart Fail Rev* 2004;9:7-19.
37. Janicki JS, Brower GL, Gardner JD, Chancey AL, Stewart JA, Jr. The dynamic interaction between matrix metalloproteinase activity and adverse myocardial remodeling. *Heart Fail Rev* 2004;9:33-42.
38. Poulsen SH, Host NB, Jensen SE, Egstrup K. Relationship between serum amino-terminal propeptide of type III procollagen and changes of left ventricular function after acute myocardial infarction. *Circulation* 2000;101:1527-32.
39. Zannad F, Alla F, Dousset B, Perez A, Pitt B. Limitation of excessive extracellular matrix turnover may contribute to survival benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure: insights from the randomized aldactone evaluation study (RALES). Rales Investigators. *Circulation* 2000;102:2700-6.
40. Abdelhadi RH, Gurm HS, Van Wagoner DR, Chung MK. Relation of an exaggerated rise in white blood cells after coronary bypass or cardiac valve surgery to development of atrial fibrillation postoperatively. *Am J Cardiol* 2004;93:1176-8.

41. Chung MK, Martin DO, Sprecher D, Wazni O, Kanderian A, Carnes CA, et al. C-reactive protein elevation in patients with atrial arrhythmias: inflammatory mechanisms and persistence of atrial fibrillation. *Circulation* 2001;104:2886-91.
42. Korantzopoulos P, Kolettis T, Siogas K, Goudevenos J. Atrial fibrillation and electrical remodeling: the potential role of inflammation and oxidative stress. *Med Sci Monit* 2003;9:225-9.
43. Sajadieh A, Nielsen OW, Rasmussen V, Hein HO, Abedini S, Hansen JF. Increased heart rate and reduced heart-rate variability are associated with subclinical inflammation in middle-aged and elderly subjects with no apparent heart disease. *Eur Heart J* 2004;25:363-70.
44. Uretsky BF, Thygesen K, Armstrong PW, Cleland JG, Horowitz JD, Massie BM, et al. Acute coronary findings at autopsy in heart failure patients with sudden death: results from the assessment of treatment with lisinopril and survival (ATLAS) trial. *Circulation* 2000;102:611-6.

Figures

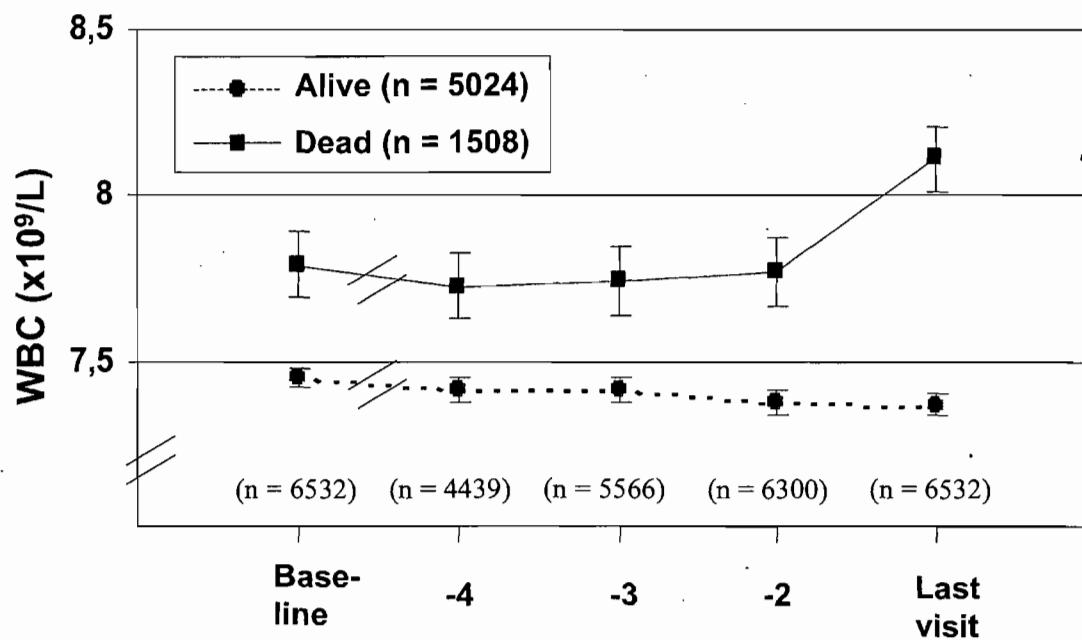


Figure 1. Changes in white blood cell (WBC) count from baseline to the last four outpatient visits preceding death or end of study (alive group). Baseline: baseline WBC count; Last visit: Last WBC count measured during an outpatient visit for a given patient; -2, -3, -4: Second, third and fourth to last WBC count measured during an outpatient visit for a given patient. Data are expressed as mean \pm SEM.

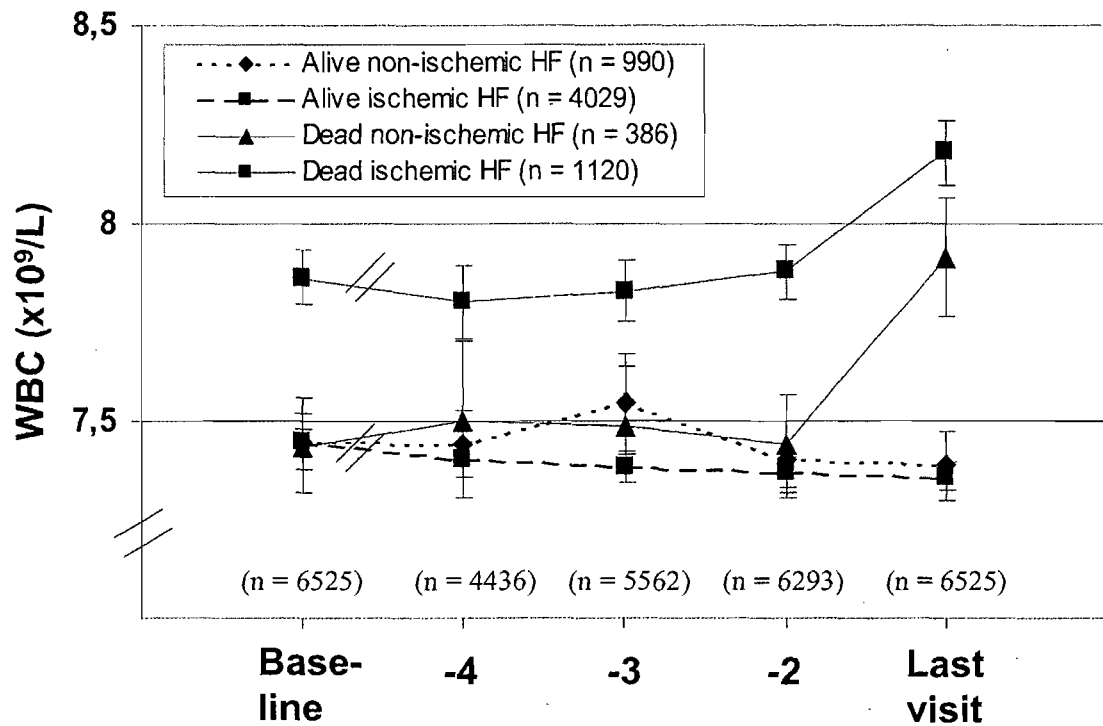


Figure 2. Changes in white blood cell (WBC) count from baseline to the last four outpatient visits preceding death or end of study (alive group) according to heart failure etiology. Etiology was missing for seven patients. Baseline: baseline WBC count; Last visit: Last WBC count measured during an outpatient visit for a given patient; -2, -3, -4: Second, third and fourth to last WBC count measured during an outpatient visit for a given patient. Data are expressed as mean \pm SEM.

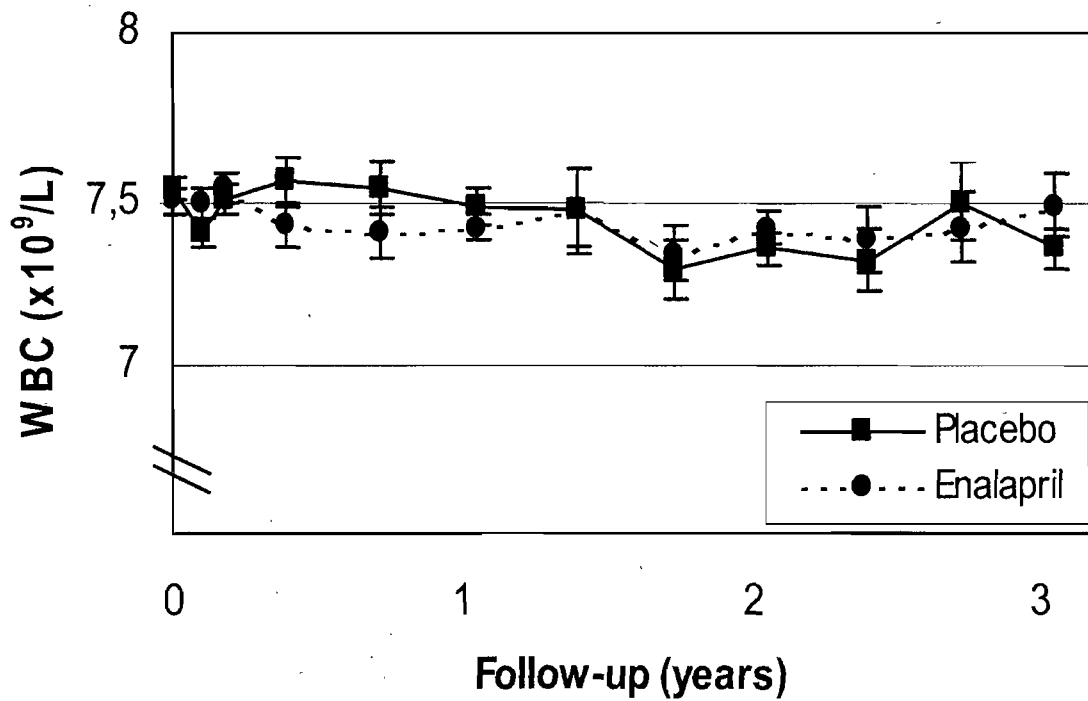


Figure 3. Variations in white blood cell (WBC) count over time according to treatment allocation during follow-up. Bars identify SEM.

Tables

Table 1. Baseline characteristics of the study population

	Placebo (n = 3,276)	Enalapril (n = 3,256)
Age, years	59.9±10.2	59.8±10.3
Gender, n (%)		
Male	2806 (85.7)	2800 (86.0)
Female	470 (14.3)	456 (14.0)
Caucasians, n (%)	2780 (84.9)	2732 (84.0)
Ischemic etiology, n (%)	2589 (79.1)	2560 (78.7)
LVEF, %	26.9±6.3	27.0±6.3
NYHA functional class, n (%)		
I	1508 (46.0)	1492 (45.8)
II	1368 (41.8)	1378 (42.3)
III or IV	400 (12.2)	385 (11.8)
Hypertension, n (%)	1270 (38.8)	1268 (39.0)
Diabetes, n (%)	637 (19.4)	606 (18.6)
Smoking, n (%)	753 (23.0)	742 (22.8)
WBC, x 10 ⁹ /L	7.5±2.1	7.5±2.1
Neutrophils, x 10 ⁹ /L	4.8±1.7	4.7±1.7
Lymphocytes, x 10 ⁹ /L	2.1±0.9	2.1±0.9

LVEF: left ventricular ejection fraction; NYHA: New York Heart Association; WBC: white blood cell. Data are presented as mean ± SD.

Table 2. Hazard Ratios (HR) for specific end points and variations in the total white blood cell count*

	HR	95%CI	P
All-cause death	1.044	1.029-1.060	<0.0001
CV death	1.041	1.023-1.059	<0.0001
Death from HF	1.041	1.016-1.066	0.001
Death from arrhythmias	1.045	1.011-1.080	0.009
HF hospitalizations	0.997	0.965-1.029	0.83
Cardiac ischemic events	1.020	0.993-1.049	0.14

* Hazard ratio presented for every 20% relative increase in WBC

CV: cardiovascular, HF: heart failure.

Table 3. Hazard Ratios (HR) for specific end points and variations in the neutrophil count*

	HR	95%CI	p
All-cause death	1.042	1.028-1.057	<0.0001
CV death	1.041	1.025-1.057	<0.0001
Death from HF	1.044	1.022-1.066	<0.0001
Death from arrhythmias	1.028	0.992-1.065	0.12
HF hospitalizations	0.992	0.966-1.019	0.57
Cardiac ischemic events	1.025	1.004-1.047	0.02

* Hazard ratio presented for every 20% relative increase in neutrophils

CV: cardiovascular, HF: heart failure.

Table 4. Hazard ratios (HR) for specific end points and variations in the lymphocyte count*

	HR	95%CI	p
All-cause death	0.997	0.984-1.011	0.67
CV death	0.997	0.983-1.012	0.71
Death from HF [†]			
Ischemic HF	0.930	0.885-0.978	0.005
Non-ischemic HF	1.003	0.989-1.017	0.65
Death from arrhythmias	1.002	0.984-1.020	0.86
HF hospitalizations	0.967	0.944-0.990	0.005
Cardiac ischemic events	0.997	0.982-1.013	0.74

*Hazard ratio presented for every 20% increase in lymphocytes

[†] p value for interaction = 0.004

CV: cardiovascular, HF: heart failure

3. Discussion

Le premier projet de cette thèse nous a donc permis de confirmer les observations préliminaires du projet pilote mené par Shehab⁶⁹ voulant qu'une augmentation dans le temps du nombre de globules blancs, et en particulier des neutrophiles, précède les décès et les événements ischémiques en IC, et ce, indépendamment de son étiologie. Tel que souligné par d'autres,⁵⁸⁵⁻⁵⁸⁷ nos travaux supportent la présence d'un processus inflammatoire subclinique actif dans la physiopathologie de l'IC. Parallèlement et suite à la publication de nos résultats, de nombreuses autres études chez différentes populations ont confirmé la valeur pronostique des globules blancs et particulièrement des neutrophiles.^{567, 588-590}

Suite à la publication de nos résultats, Tang et collaborateurs ont publié une étude expliquant potentiellement le mécanisme derrière l'association que nous avons observée.⁵⁸⁶ Chez 140 patients atteints d'IC systolique, ils ont démontré que l'augmentation des concentrations plasmatiques de myéloperoxydase, un enzyme libéré lors de la dégranulation des neutrophiles et des monocytes, est associée au risque de décès chez ces individus et ce, indépendamment d'autres facteurs pronostiques établis. La myéloperoxydase est impliquée dans la synthèse de l'acide hypochloreux et d'autres substances réactives oxydatives qui mènent à la peroxydation des lipides, l'activation de certaines métalloprotéinases et la transformation du NO en peroxydinitrite.⁵⁶⁷ Par ailleurs, similairement à nous, ils ont observé que cette association était indépendante de l'étiologie de l'IC. Plusieurs autres groupes ont récemment suggéré que la myéloperoxydase constituait un nouveau biomarqueur pronostique potentiel en IC et dans le syndrome coronarien aigu.^{567, 591-594}

Bien que notre étude et plusieurs autres illustrent une association entre une activité inflammatoire accrue et un mauvais pronostic en IC, il est important de souligner que cette association ne permet pas d'établir un lien définitif de cause à effet. Trois auteurs citant notre étude ont émis des constats similaires.⁵⁸⁵⁻⁵⁸⁷ L'un⁵⁸⁵ d'eux indiquait que la démonstration d'un bénéfice d'une thérapie anti-inflammatoire chez l'humain représentait la pièce manquante permettant de confirmer cette implication. En effet, bien qu'une quantité impressionnante d'évidences aient supporté les bénéfices potentiels de diverses

thérapies anti-inflammatoires en IC,^{63, 64, 550, 595, 596} les différents agents pharmacologiques anti-inflammatoires évalués en IC n'ont pas amélioré le pronostic de ces patients (ex : l'étanercept⁵⁹⁷) ou l'ont aggravé (ex : l'infliximab⁵⁹⁸). Les études GISSI HF (Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Insufficienza cardiaca)⁵⁹⁹ et CORONA (Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure)⁶⁰⁰ ont été particulièrement décevantes puisque celles-ci n'ont pas démontré une réduction des événements cardiovasculaires avec la rosuvastatine. Pourtant, cette dernière,⁶⁰¹ tout comme de nombreuses autres statines,⁶⁰²⁻⁶⁰⁶ a démontré son efficacité pour réduire le risque d'évènements cardiovasculaires dans d'autres populations. Ceci laisse donc planer le doute que l'association entre ce processus inflammatoire et un pronostic plus sombre en IC n'est que le reflet d'une maladie plus avancée, plutôt que celui d'un processus indépendant contribuant activement à l'évolution de l'IC.

Dans cette étude, nous n'avons observé aucun impact de l'énalapril sur les concentrations des leucocytes. En plus des résultats publiés, nous avons également évalué si la concentration des leucocytes et des neutrophiles au début de l'étude pouvait prédire l'efficacité de l'énalapril. En effet, des données des études CLARITY-TIMI 28 (CLopidogrel as Adjunctive ReperfuSIon TherapY-thrombolysis in myocardial infarction)⁵⁶⁷ et LIPID (Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease)⁶⁰⁷ ont suggéré que celles-ci étaient associées à l'efficacité du clopidogrel et de la pravastatine, respectivement. Nous avons divisé la population selon les quartiles des concentrations de ces cellules inflammatoires au début de l'étude et testé l'interaction avec l'énalapril sur le risque de décès, de décès cardiovasculaires, de décès secondaires à l'IC et d'évènements cardiaques ischémiques. Aucune interaction significative n'a été notée, indiquant encore une fois que les concentrations de ces biomarqueurs inflammatoires ne sont pas utiles pour prédire l'efficacité de l'énalapril.

Globalement, nos travaux indiquent que bien que les variations de ces marqueurs inflammatoires ont une valeur pronostique prédictive modeste, elles ne permettent pas d'identifier les patients bénéficiant de l'énalapril. Ainsi, bien qu'Athyros⁵⁷⁶ ait récemment suggéré que les leucocytes pourraient éventuellement être utiles dans le suivi des

modulateurs du SRAA dans diverses populations, nos résultats, suggèrent qu'une telle approche ne serait pas appropriée chez des patients atteints d'IC.

Dans la foulée des travaux que nous avons entrepris en 2004, un sujet d'actualité relié à l'inhibition du SRAA ne concernait toutefois pas l'efficacité de ces agents, mais leur innocuité. En effet, de nombreuses études avaient rapporté une augmentation fulgurante de l'incidence d'hyperkaliémie chez les patients atteints d'IC suite à l'addition de la spironolactone dans l'arsenal thérapeutique de l'IC.^{540, 608, 609} Ainsi, les travaux présentés au Chapitre 3 de ma thèse s'intéressent à l'identification des facteurs de risque d'hyperkaliémie chez les patients des études SOLVD.

Chapitre 3. Identification de facteurs associés au risque d'hyperkaliémie chez des patients atteints d'IC.

1. Introduction

L'utilisation des inhibiteurs du SRAA, particulièrement en combinaison, est associée à un risque significatif d'hyperkaliémie.^{540, 608, 610-616} L'hyperkaliémie représente un effet indésirable particulièrement préoccupant puisqu'elle peut mener à des arythmies fatales.^{617, 618} On classifie généralement l'hyperkaliémie selon qu'elle est attribuable à :

- 1) une augmentation du transfert du potassium intracellulaire vers l'espace extracellulaire (par exemple en cas de déficit en insuline chez les diabétiques de type 1)
- 2) une augmentation de l'apport en potassium (par exemple supplémentation excessive en potassium)
- 3) une réduction de l'excrétion (par exemple, en cas d'insuffisance rénale).

L'hyperkaliémie induite par les IECA, les ARA et les antagonistes de l'aldostérone est secondaire à une réduction de l'excrétion du potassium. Celle-ci est le résultat d'une augmentation de la réabsorption du potassium au niveau du tubule distal laquelle est provoquée par une réduction des concentrations d'aldostérone (IECA et ARA) ou par un antagonisme compétitif au niveau du récepteur minéralocorticoïde du tubule distal (antagonistes de l'aldostérone).⁶¹⁹

L'incidence d'hyperkaliémie a particulièrement augmenté depuis la publication de l'étude RALES.^{608, 609, 613, 614, 616, 620} Le très faible taux d'hyperkaliémie rapporté dans RALES dans le groupe spironolactone (2%) a sans aucun doute contribué à ce phénomène. Cette dernière donnée est sans aucun doute trompeuse puisque seulement les cas d'hyperkaliémie sévère étaient rapportés dans RALES et qu'aucune définition n'existait pour les définir. Par ailleurs, ce taux était beaucoup plus faible que les 13% rapportés dans l'étude pilote de RALES avec la dose de 25 mg/jour (voir Figure 7), une dose similaire à la dose moyenne

dans RALES (26 mg/jour).²⁴⁴ Dans l'étude pilote, un épisode d'hyperkaliémie était défini par un potassium sérique $\geq 5,5$ mmol/L.

Une analyse des grands essais cliniques démontre une absence de constance dans la définition de l'hyperkaliémie (Tableau XII). Dans certaines études, aucune définition d'hyperkaliémie n'est utilisée ou rapportée,^{25, 30, 61} tandis que dans d'autres, le risque d'hyperkaliémie n'est tout simplement pas décrit.^{27, 214} Ceci a contribué à créer un faux sentiment de sécurité par rapport à l'utilisation des inhibiteurs du SRAA dans la pratique. Les conséquences d'utiliser l'une ou l'autre des définitions sur l'incidence de cet effet indésirable sont incertaines. **Il apparaît donc nécessaire d'évaluer l'impact que peut avoir l'utilisation de différentes définitions d'hyperkaliémie dans l'évaluation de l'innocuité d'un agent pharmacologique.**

Plusieurs ont souligné le besoin d'identifier les facteurs de risque d'hyperkaliémie afin de permettre un suivi plus étroit des patients les plus susceptibles de développer cet effet indésirable.^{612, 614, 615, 620} Bien que de nombreux facteurs aient été associés au risque d'hyperkaliémie dans diverses populations,^{617, 618, 621, 622} des données spécifiques à la population atteinte d'IC sont relativement limitées. En plus de l'utilisation des IECA, des ARA et des diurétiques épargneurs de potassium,²⁴⁴ certains ont suggéré que la fonction rénale et le diabète étaient des facteurs de risque potentiellement importants chez ces patients.^{244, 609, 612, 620, 623, 624} Dans une sous-étude de SOLVD évaluant l'impact de l'énalapril sur le potassium sérique durant la période précédant la randomisation où tous les patients recevaient de l'énalapril à simple insu, la classe fonctionnelle de la NYHA, l'hématocrite, les globules blancs et le sodium étaient associés aux changements en potassium.⁶²⁵ Certaines de ces associations étaient difficilement explicables (l'hématocrite, les globules blancs) et pouvaient refléter le fait que d'autres facteurs (fonction rénale, diabète) n'avaient pas été pris en considération dans cette analyse. D'autres ont finalement suggéré que l'âge et le sexe pouvaient également avoir un impact sur le risque d'hyperkaliémie.⁶²⁶ Toutefois, avant notre étude, aucune évaluation systématique des caractéristiques rendant les patients à haut risque d'hyperkaliémie n'avait été effectuée chez les patients atteints d'IC. **Une telle évaluation permettrait évidemment de mieux cibler les patients nécessitant un suivi étroit lorsqu'ils reçoivent des agents pouvant**

provoquer de l'hyperkaliémie, particulièrement lorsque ces derniers sont utilisés en combinaison.

Étant donné les conséquences possibles d'un épisode d'hyperkaliémie lors d'un traitement avec des inhibiteurs du SRAA^{608, 609, 613-616, 620, 623, 624, 627, 628} et l'absence d'une étude systématique des facteurs de risque de cet effet indésirable chez les patients atteints d'IC, nous avons entrepris d'identifier dans les études SOLVD des facteurs associés à cet effet indésirable. Par ailleurs, étant donné la grande hétérogénéité des définitions d'hyperkaliémie dans les essais cliniques,^{8, 9, 25-27, 30, 61, 211, 214} nous avons également évalué l'impact de deux définitions d'hyperkaliémie dans l'évaluation de l'innocuité de l'énalapril dans ces études.

2. Publication N° 2 (Publiée dans: Am Heart J 2006;152:705-12)

Quantification of the Risk and Predictors of Hyperkalemia in Patients With Left Ventricular Dysfunction.

A Retrospective Analysis of the SOLVD Trials –

Simon de Denus, B. Pharm, MSc,^{1,2} Jean-Claude Tardif, MD,³ Michel White, MD,³
Martial G. Bourassa, MD,³ Normand Racine, MD,³ Sylvie Levesque, MSc,⁴
Anique Ducharme, MD, MSc³

Short Title: Hyperkalemia in Heart Failure

Word Count: 4584

¹Faculty of Pharmacy, University of Montreal, Montreal, Canada.

Departments of ²Pharmacy, ³Medicine and ⁴Biostatistics, Montreal Heart Institute,
Montreal, Canada.

Correspondence to Anique Ducharme, MD, MSc, Montreal Heart Institute,

5000 Belanger Street East, Montreal, Quebec, Canada, HIT 1C8. Fax: 514-593-2575,

Phone: 514-376-3330 ext.3927, E-mail: [REDACTED]

or Jean-Claude Tardif, MD, Montreal Heart Institute, 5000 Belanger Street East, Montreal,

Quebec, Canada, HIT 1C8. Fax: 514-593-2500, Phone: 514-376-3330 ext.3612, E-mail:
[REDACTED]

Acknowledgements: Drs Ducharme and White were supported by the Fonds de recherche en santé du Québec. Dr Tardif holds the Pfizer and Canadian Institutes of Health Research chair in atherosclerosis.

Abstract

Background. Limited data is available to predict the occurrence of hyperkalemia. Risk assessment is complicated by the lack of consistency of definition between trials.

Methods. We conducted a retrospective analysis of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) to evaluate the incidence of hyperkalemia and the value of several baseline characteristics as predictors of hyperkalemia in patients with LV dysfunction.

Results. The incidence of hyperkalemia was 6.0% and 1.1% using a definition of ≥ 5.5 mmol/L and ≥ 6.0 mmol/L, respectively. Independent predictors of hyperkalemia (≥ 5.5 mmol/L) were randomization to enalapril, baseline serum creatinine, serum potassium, NYHA functional class III or IV, a history of diabetes, atrial fibrillation (AF) (all $p < 0.05$). The use of loop diuretics was also associated with an increased risk of hyperkalemia, but only in patients included in the SOLVD prevention trial. Similar results were obtained when renal function was evaluated using the estimated creatinine clearance.

Conclusions. The definition of hyperkalemia is important when evaluating its incidence in clinical trials. Renal dysfunction, baseline serum potassium, diabetes, AF, NYHA functional class and treatment with an ACE inhibitor are factors associated with the development of hyperkalemia in patients with left ventricular dysfunction. More specifically, our results suggests that before initiating drugs that can cause hyperkalemia in patients with heart failure, a strong consideration should be given to calculate creatinine clearance and that patients with a creatinine clearance < 60 ml/min should undergo a close monitoring of their serum potassium to prevent the development of hyperkalemia.

Introduction

Landmark clinical trials have demonstrated that angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors reduce mortality and morbidity in patients with mild to severe heart failure (HF).¹⁻³ Although these agents have an excellent safety profile, ACE inhibition can nonetheless induce some adverse effects requiring intervention, such as hyperkalemia. Although great efforts have been put forward to predict prognosis in patients with HF, limited data is available to predict the occurrence of adverse drug reactions. In the case of electrolyte abnormalities, such as hyperkalemia, risk assessment is complicated by the lack of consistency of definition between trials.³⁻⁷ To identify the factors associated with the development of hyperkalemia and to evaluate the impact of the definition of hyperkalemia on its incidence, we conducted a retrospective analysis of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD).^{2,3}

Methods

The methods of SOLVD have been described elsewhere.⁸ Briefly, SOLVD was a multicenter, randomized, double-blinded, placebo-controlled trial that evaluated the clinical benefit of enalapril in patients aged between 21 and 80 years, with a left ventricular ejection fraction (LVEF) $\leq 35\%$. Patients enrolled in the SOLVD prevention trial^{2,8} had LV dysfunction without overt HF that did not require treatment with diuretics, digoxin or vasodilators, while patients included in the SOLVD treatment trial^{3,8} had symptomatic HF requiring treatment. Major exclusion criteria included a baseline serum creatinine higher than 2.5 mg/dL. Eligible patients were assigned to receive enalapril 2.5 mg bid for 2 to 7 days followed by placebo for 14 to 17 days, to assess tolerance and adherence to treatment regimen.⁸ A total of 7,487 patients entered this challenge phase. Of these, 6,797 were included in the SOLVD trials, 649 patients were not randomized because of side effects, self-initiated withdrawal or non-compliance.⁹ Only one patient experienced hyperkalemia preventing randomization.⁹ For the current analysis, patients with a baseline potassium ≥ 5.5 mmol/L were excluded. We first evaluated the incidence of hyperkalemia according to two definitions: potassium ≥ 5.5 mmol/L³ and ≥ 6.0 mmol/L.⁵ We then evaluated the value of several baseline characteristics as predictors of hyperkalemia. As part of SOLVD, potassium levels were reported at baseline and during follow-up visits, but no serum potassium were collected during hospitalizations.

Statistical Analysis

Continuous data are presented as mean \pm standard deviation and categorical variables are presented in percentages. We first performed univariate analyses using a Cox regression model with baseline variables of interest: gender, age, ethnicity, treatment (antiplatelet agents, beta blockers, potassium sparing diuretics, loop diuretics, thiazide diuretics, metolazone, potassium supplements, digoxin), previous medical history (atrial fibrillation (AF), angina, myocardial infarction, hypertension, diabetes, cerebrovascular event, smoking), etiology of HF, New York Heart Association (NYHA) functional class, LVEF, blood pressure, renal function (see below), serum potassium, serum sodium, hematocrit, white blood cell count. Because of the possibility that predictors of hyperkalemia may vary between patients included in the SOLVD prevention and the SOLVD treatment studies, we further tested for the presence of an interaction between study assignment (prevention vs. treatment). Variables with a p value < 0.2 were then included in a multivariate Cox regression model. Because of the very low incidence of hyperkalemia using a definition of ≥ 6.0 mmol/L, such analyses were done only to predict hyperkalemia according to a definition of ≥ 5.5 mmol/L. These analyses were performed using two approaches. In the first model, renal function was evaluated using the baseline serum creatinine. In the second model, the estimated creatinine clearance was calculated using the Cockcroft-Gault equation: $([140 - \text{age}] \times \text{weight in kg} / 72 \times \text{creatinine in mg/dL}) \times 0.85$ for females.¹⁰ Logistic regression was used to compare categorical data. A p value < 0.05 was considered statistically significant. All statistical analyses were performed using SAS version 8.2 (Cary, North Carolina).

Results

Baseline characteristics of patients included in our analysis are presented in Table 1. The majority of the patients was Caucasian males with severe LV dysfunction (mean LVEF=27%) of ischemic etiology. Baseline serum potassium was 4.3 ± 0.4 mmol/L. The mean follow-up was 2.7 ± 1.2 years. Serum potassium was measured a mean of 5.2 ± 2.9 times in each patients during this period.

The incidence of hyperkalemia was 6.0% when using a definition of ≥ 5.5 mmol/L and 1.1% when using a cutoff value of ≥ 6.0 mmol/L (Figure 1A). Hyperkalemia was statistically more frequent in the enalapril group compared to placebo, whether hyperkalemia was defined as potassium ≥ 5.5 mmol/L (7.8% vs. 4.2%, $p < 0.0001$) or ≥ 6.0 mmol/L (1.4% vs. 0.8%, $p < 0.05$) (Figure 1B). The number of patients needed to treat to induce 1 case of hyperkalemia with enalapril compared to placebo was markedly different between thresholds: 28 patients using a definition of ≥ 5.5 mmol/L compared to 167 patients when using ≥ 6.0 mmol/L. The mean time to the first episode of hyperkalemia (≥ 5.5 mmol/L) was 1.0 ± 1.2 years (median: 0.67 year). The peak incidence of hyperkalemia was greatest in the first six months (Figure 2). At the time of hyperkalemia (≥ 5.5 mmol/L), patients in the enalapril group were receiving a mean dose of enalapril of 15.7 ± 6.3 mg/day (median: 20 mg/day). The majority of cases of hyperkalemia occurred once patients had been titrated to the target dose of enalapril (20 mg/day: 66.5%), while a more limited number occurred at lower daily doses (2.5 mg/day: 4.9%; 5 mg/day: 11.0%; 10 mg/day: 17.5%).

Results for univariate and multivariate analyses to identify predictors of hyperkalemia defined as potassium ≥ 5.5 mmol/L are included in Tables 2 and 3 respectively. In the first multivariate model, using serum creatinine levels to estimate renal function, predictors of hyperkalemia included randomization to enalapril, baseline serum creatinine, baseline serum potassium, a history of AF, a history of diabetes, NYHA functional class III/IV and the use of loop diuretics; this last variable was only significant in patients included in the SOLVD prevention trial (p value for interaction < 0.05) (Table 3). Similar predictors were obtained when estimating creatinine clearance with the Cockcroft-Gault equation, with the exception of diabetes that did not reach statistical significance (Table 3).

In order to further explore the relationship between these predictors and the presence of hyperkalemia, the incidence of hyperkalemia was assessed according to the degree of renal dysfunction,¹¹ baseline serum potassium, presence of diabetes and NYHA functional class. Hyperkalemia was more frequent in patients with a reduced renal function (Figure 3A), in patients with a higher baseline serum potassium (Figure 3B), in diabetics (Figure 3C) and

in patients with a higher NYHA functional class (Figure 3D). No significant interaction was observed between these predictors and randomization to enalapril, thereby indicating that these differences were consistent independently of treatment assignment. In the case of renal function, the risk of hyperkalemia was significantly increased only in patients with moderate (creatinine clearance: 30-59 ml/min; $p < 0.0001$) and severe dysfunction (creatinine clearance < 30 ml/min; $p = 0.0002$) compared to patients with a normal function (creatinine clearance > 90 ml/min). Mild renal dysfunction had no impact on the risk of hyperkalemia (creatinine clearance: 60-89 ml/min; $p = 0.48$), suggesting a threshold effect for the risk of hyperkalemia development.

Discussion

Because no uniformity exists on the definition of hyperkalemia, the incidence of this drug-induced side-effect varies greatly between trials.^{3,12,13} By reporting only severe hyperkalemia (≥ 6.0 mmol/L), the true risk of developing hyperkalemia is obviously significantly underestimated (5- to 6- fold) in some clinical trials. In addition, such practice underestimates the number of patients that need to be treated with a given pharmacological agent to induce one clinically significant episode of hyperkalemia compared to placebo. Our study is the largest to assess the association of several risk factors for hyperkalemia and its development in patients with LV dysfunction. In this population, we have shown that decreased renal function, elevated baseline serum potassium, a history of diabetes or AF and the severity of the HF are all factors associated with increased risk of hyperkalemia, independently of ACE inhibitor use. In addition, the use of loop diuretic in patients with LV dysfunction but without overt HF also appears to increase the risk of hyperkalemia.

The relationship between hyperkalemia and renal dysfunction is well established, as is the risk of using ACE inhibitors in patients with renal dysfunction.^{4,12} Our results suggest that, in patients with HF, each increase of 1 mg/dL in serum creatinine nearly doubles the risk of developing hyperkalemia. Interestingly, this increased risk is only significant in patients with moderate to severe renal failure (creatinine clearance < 60 ml/min) and appear to be independent of ACE inhibitor use, which further doubles the risk of hyperkalemia. Taken together, our results highlight the importance of a careful evaluation of renal function in patients with HF, particularly before initiating agents that can induce hyperkalemia. This,

as suggested by others,^{13,14} may prove to be particularly relevant when combining agents known to be associated with the development of hyperkalemia. The Eplerenone Post-acute myocardial infarction Heart failure Efficacy and SURvival (EPHESUS) study¹³ evaluated the impact of adding eplerenone, a selective aldosterone blocker, to an ACE inhibitor in patients with LV dysfunction. The presence of hyperkalemia (potassium ≥ 6 mmol/L) was related with baseline creatinine clearance.

In our analysis, the use of potassium-sparing diuretics was not associated with an increased risk of hyperkalemia. In contrast, many recent reports¹⁴⁻¹⁷ have clearly established that the addition of potassium-sparing agents to ACE inhibitors increases the risk of hyperkalemia. One possible explanation for this apparent discrepancy is that in the SOLVD trials, potassium-sparing diuretics were used prior to initiation of enalapril in selected patients, to prevent loop diuretic-induced hypokalemia. In addition, the number of patients receiving potassium-sparing diuretics at baseline was limited, which could have also contributed to this apparent lack of association. Interestingly, we observed a paradoxical increase of hyperkalemia with loop diuretics, but only in patients included in the SOLVD prevention trial. These patients, per inclusion criteria, did not require such diuretic treatment for the treatment of their HF.² The association between hyperkalemia and loop diuretics in this subset of patients could reflect the development of renal dysfunction, secondary to volume contraction and hypovolemia, which is complicated by hyperkalemia, particularly in patients treated by enalapril. In this respect, in a previous analysis of SOLVD, the use of diuretics was associated with an increased risk of worsening renal function. This risk was particularly important in patients randomized to enalapril.¹⁸ Alternatively, the use of loop diuretics in the SOLVD prevention trial may have masked HF symptoms in some patients with more severe HF, who were therefore at a higher risk of hyperkalemia.

Not surprisingly, our results demonstrate that baseline potassium is also closely related with the development of hyperkalemia. For each increment of 0.2 mmol/L in a patient's baseline serum potassium, the risk of hyperkalemia development is increased by 26%, regardless of ACE inhibitor use. Data from the RALES pilot study (n = 214) reported similar findings, a baseline potassium ≥ 4.2 mmol/L being associated with an increased risk of developing hyperkalemia (≥ 5.5 mmol/L) to spironolactone.¹⁴

Our results also highlight the importance of some patient's characteristics in the risk assessment of hyperkalemia. According to our results, the severity of HF, as assessed by the NYHA functional classification, appears to be a valuable tool in identifying patients at increased risk of hyperkalemia. In addition, in our study, the presence of diabetes is associated with a 29% increase in the risk of hyperkalemia, independently of renal function, although this association did not reach statistical significance in one of our models. The association between hyperkalemia and diabetes has been illustrated in a number of other case series.^{4,15,19} This is because diabetic patients, including those with HF, have lower circulating concentrations of renin which can lead to hyporeninemic hypoaldosteronism, possibly secondary to an impaired secretion of renin from the juxtaglomerular apparatus or a reduction in the conversion of prorenin to renin.²⁰ This predisposes diabetics to excessive potassium retention and hyperkalemia, particularly following the inhibition of angiotensin II and/or aldosterone with pharmacological agents. Insulin deficiency and hyperosmolarity associated with hyperglycemia can also contribute to the increased risk of hyperkalemia in the diabetic population.²¹

Finally, we have shown that patients with a history of AF have a higher risk of developing hyperkalemia than patients without this arrhythmia. The underlying reasons for this apparent association are uncertain. Previous analyses of the SOLVD trials and registry have demonstrated that AF is an independent predictor of mortality in patients with LV dysfunction.^{22,23} In addition, AF prevalence increases with the severity of the disease and reaches 40% in advanced stages.^{24,25} AF may also cause patients with HF to decompensate as evidenced by a decline in cardiac index and peak oxygen consumption and worsening of functional class when AF occurs in these patients.²⁶ Thus, AF occurring in HF patients appears to be a marker of more advanced disease, and the consequently low output state may cause decreased renal perfusion and function, hence favoring the development of hyperkalemia. Finally, the use of high doses of digoxin in these patients to control ventricular rate, which we could not control for, could have contributed to the development of hyperkalemia,^{27,28} even more so in the context of toxic concentrations.²⁹ In this regard, digoxin use was higher in patients with AF in both SOLVD prevention (66.7%) and

SOLVD treatment (89.6%) compared to patients without AF (9.9% and 64.3%, respectively).

Data from the tolerability challenge phase of SOLVD suggested that NYHA class, baseline hematocrit, white blood count and serum sodium were independent predictors of changes in potassium during this phase, in which low-dose enalapril was used for a very short period (2 to 7 days).⁹ Of these factors, only NYHA class was an independent predictor of hyperkalemia development in our analyses. One possible explanation is that renal function was not included in their multivariate model, appearing here as the most important predictor of development of hyperkalemia. Another previous report from the SOLVD trials had suggested that the risk of patient-reported hyperkalemia (0.8%) was dependent on age and gender that the risk of hyperkalemia in the enalapril group was significant only in men and in patients aged 56.4 years and older compared to the placebo group,³⁰ but no multivariate analysis were performed to evaluate the independent association of these factors with patient-reported hyperkalemia. In our analyses of the same trials, although age appeared to be a predictor of hyperkalemia by univariate analysis, it was no longer significant by multivariate analysis. Nonetheless, as patients in SOLVD were relatively young, we can't exclude that age may be a relevant factor to consider in the very elderly.

Our data are in agreement with the observations from the Assessment of Treatment with Lisinopril And Survival (ATLAS) trial, which compared low-dose to high-dose of lisinopril.³¹ In this study, patients with diabetes, presence of renal dysfunction and old age, appeared to have a higher risk of developing the combined end point of renal dysfunction or hyperkalemia.³² Unfortunately, no statistical analysis was performed to compare the incidence of hyperkalemia between these different sub-groups and there was no multivariate model to evaluate the independent predictive value of these characteristics.

Limitations

First, as inherent to any observational study, although we adjusted for demographic, clinical, laboratory and treatment-related variables, we cannot exclude that some residual confounders may explain some of our results. Amongst these factors are the dosages of pharmacological agents that can influence potassium homeostasis, including the various

classes of diuretics and of digoxin. Furthermore, because the SOLVD trials were conducted more than a decade ago, it may not reflect current practice, as the treatment of HF, both pharmacological and non-pharmacological, has evolved in the past two decades.

Nevertheless, knowledge of the baseline characteristics making the patient at risk for hyperkalemia remains highly relevant, given the importance that this side effect could have on prognosis when improperly monitored.¹⁶ Finally, because potassium concentrations were not collected during hospitalizations as part of SOLVD, cases of hyperkalemia that occurred during/or led to an hospitalization could not be included as part of our analyzes.

In conclusion, our findings suggest that renal dysfunction, diabetes, NYHA class, baseline serum potassium, a history of atrial fibrillation, treatment with an ACE inhibitor, as well as treatment with a loop diuretic in patients without overt HF are factors associated with hyperkalemia development. Patients presenting any of these high-risk feature are expected to particularly benefit from being monitored according to current guidelines,^{33, 34} which suggests serum potassium assessment 1-2 weeks following the initiation^{33, 34} and titration³⁴ of ACE inhibitors and 3 to 6 months thereafter.³⁴ Our data suggests that close monitoring is particularly important in the first year following the initiation of these agents.

References

1. The CONSENSUS Trial Study Group. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). *N Engl J Med* 1987;316:1429-35.
2. The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. *N Engl J Med* 1992;327:685-91.
3. The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. *N Engl J Med* 1991;325:293-302.
4. Ahuja TS, Freeman D, Mahnken JD, et al. Predictors of the development of hyperkalemia in patients using angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Am J Nephrol* 2000;20:268-72.
5. McMurray JJ, Ostergren J, Swedberg K, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function taking angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Added trial. *Lancet* 2003;362:767-71.
6. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. *N Engl J Med* 1999;341:709-17.
7. Pfeffer MA, McMurray JJ, Velazquez EJ, et al. Valsartan, captopril, or both in myocardial infarction complicated by heart failure, left ventricular dysfunction, or both. *N Engl J Med* 2003;349:1893-906.
8. The SOLVD Investigators. Studies of left ventricular dysfunction (SOLVD)--rationale, design and methods: two trials that evaluate the effect of enalapril in patients with reduced ejection fraction. *Am J Cardiol* 1990;66:315-22.
9. Kostis JB, Shelton BJ, Yusuf S, et al. Tolerability of enalapril initiation by patients with left ventricular dysfunction: results of the medication challenge phase of the Studies of Left Ventricular Dysfunction. *Am Heart J* 1994;128:358-64.
10. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16:31-41.
11. Levey AS, Coresh J, Balk E, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med* 2003;139:137-47.

12. Reardon LC, Macpherson DS. Hyperkalemia in outpatients using angiotensin-converting enzyme inhibitors. How much should we worry? *Arch Intern Med* 1998;158:26-32.
13. Pitt B, Remme W, Zannad F, et al. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003;348:1309-21.
14. The RALES Investigators. Effectiveness of spironolactone added to an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a loop diuretic for severe chronic congestive heart failure (the Randomized Aldactone Evaluation Study [RALES]). *Am J Cardiol* 1996;78:902-7.
15. Schepkens H, Vanholder R, Billiouw JM, et al. Life-threatening hyperkalemia during combined therapy with angiotensin-converting enzyme inhibitors and spironolactone: an analysis of 25 cases. *Am J Med* 2001;110:438-41.
16. Juurlink DN, Mamdani MM, Lee DS et al. Rates of hyperkalemia after publication of the Randomized Aldactone Evaluation Study. *N Engl J Med* 2004;351:543-51.
17. Blaustein DA, Babu K, Reddy A, Schwenk MH, et al. Estimation of glomerular filtration rate to prevent life-threatening hyperkalemia due to combined therapy with spironolactone and angiotensin-converting enzyme inhibition or angiotensin receptor blockade. *Am J Cardiol* 2002;90:662-3.
18. Knight EL, Glynn RJ, McIntyre KM, et al. Predictors of decreased renal function in patients with heart failure during angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy: results from the studies of left ventricular dysfunction (SOLVD). *Am Heart J* 1999;138:849-55.
19. Jarman PR, Kehely AM, Mather HM. Hyperkalaemia in diabetes: prevalence and associations. *Postgrad Med J* 1995;71:551-2.
20. Packer M, Lee WH, Medina N, et al. Influence of diabetes mellitus on changes in left ventricular performance and renal function produced by converting enzyme inhibition in patients with severe chronic heart failure. *Am J Med* 1987;82:1119-26.
21. Sica DA, Gehr TW, Yancy C. Hyperkalemia, congestive heart failure, and aldosterone receptor antagonism. *Congest Heart Fail* 2003;9:224-9.
22. Dries DL, Exner DV, Gersh BJ, et al. Atrial fibrillation is associated with an increased risk for mortality and heart failure progression in patients with asymptomatic and symptomatic left ventricular systolic dysfunction: a retrospective analysis of the SOLVD trials. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32:695-703.

23. Bourassa MG, Gurne O, Bangdiwala SI, et al. Natural history and patterns of current practice in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:14A-19A.
24. Middlekauff HR, Stevenson WG, Stevenson LW. Prognostic significance of atrial fibrillation in advanced heart failure. A study of 390 patients. *Circulation* 1991;84:40-8.
25. Carson PE, Johnson GR, Dunkman WB, et al. The influence of atrial fibrillation on prognosis in mild to moderate heart failure. The V-HeFT Studies. *Circulation* 1993;87:VI102-10.
26. Pozzoli M, Cioffi G, Traversi E, et al. Predictors of primary atrial fibrillation and concomitant clinical and hemodynamic changes in patients with chronic heart failure: a prospective study in 344 patients with baseline sinus rhythm. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:197-204.
27. Edner M, Ponikowski P, Jogestrand T. The effect of digoxin on the serum potassium concentration. *Scand J Clin Lab Invest* 1993;53:187-9.
28. Schmidt TA, Bundgaard H, Olesen HL, et al. Digoxin affects potassium homeostasis during exercise in patients with heart failure. *Cardiovasc Res* 1995;29:506-11.
29. Antman EM, Wenger TL, Butler VP, et al. Treatment of 150 cases of life-threatening digitalis intoxication with digoxin-specific Fab antibody fragments. Final report of a multicenter study. *Circulation* 1990;81:1744-52.
30. Kostis JB, Shelton B, Gosselin G, et al. Adverse effects of enalapril in the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *Am Heart J* 1996;131:350-5.
31. Packer M, Poole-Wilson PA, Armstrong PW, et al. Comparative effects of low and high doses of the angiotensin-converting enzyme inhibitor, lisinopril, on morbidity and mortality in chronic heart failure. *Circulation* 1999;100:2312-8.
32. Massie BM, Armstrong PW, Cleland JG, et al. Tolerant of high doses of angiotensin-converting enzyme inhibitors in patients with chronic heart failure: results from the ATLAS trial. The Assessment of Treatment with Lisinopril and Survival. *Arch Intern Med* 2001;161:165-71.
33. Hunt SA, Abraham WT, Clin MH, et al. ACC/AHA 2005 guideline update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure). *J Am Coll Cardiol* 2005;46(6):e1-82.

34. Swedberg K, Cleland J, Dargie H, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005;26(11):1115-40.

Figures

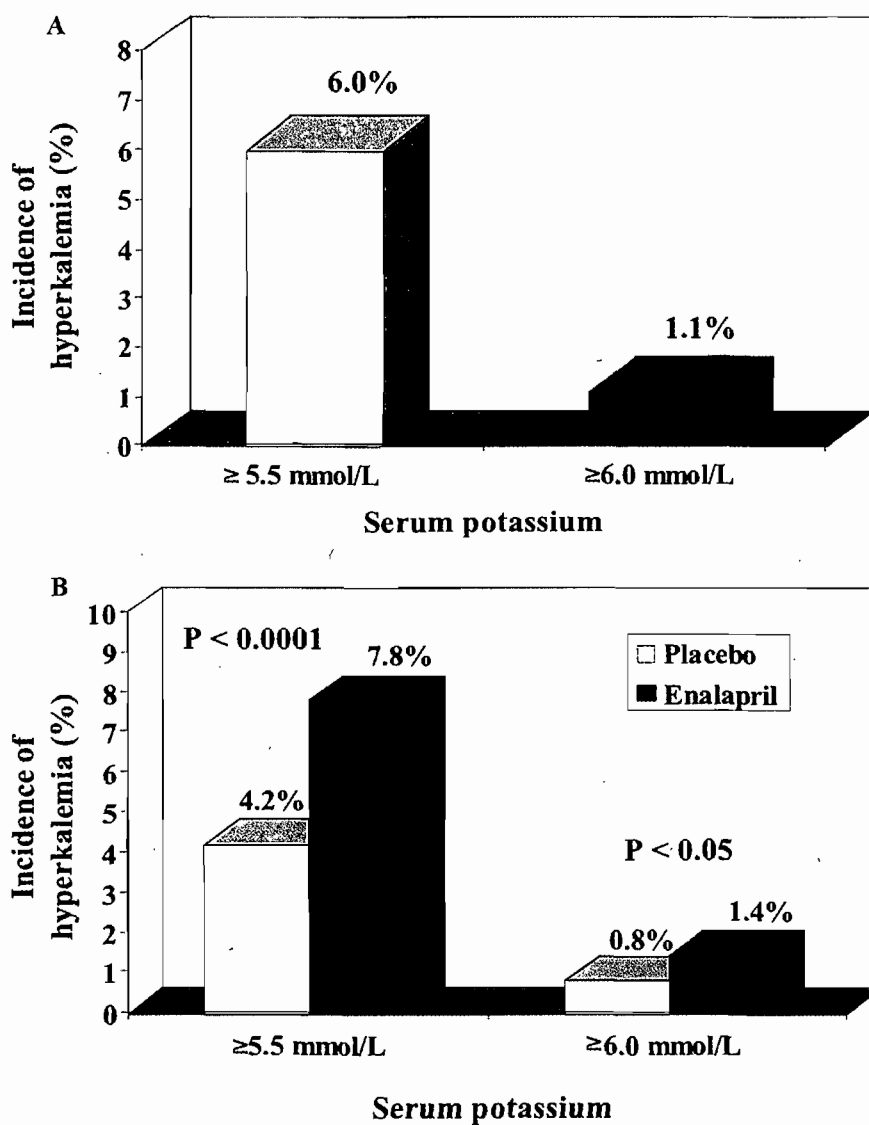


Figure 1. Incidence of hyperkalemia according to two definitions and by treatment group 1A. The incidence of hyperkalemia is considerably lower when reporting only severe hyperkalemia (≥ 6.0 mmol/L) as opposed to mild to moderate hyperkalemia (≥ 5.5 mmol/L). 1B. The risk of hyperkalemia was higher in the enalapril group compared to placebo.

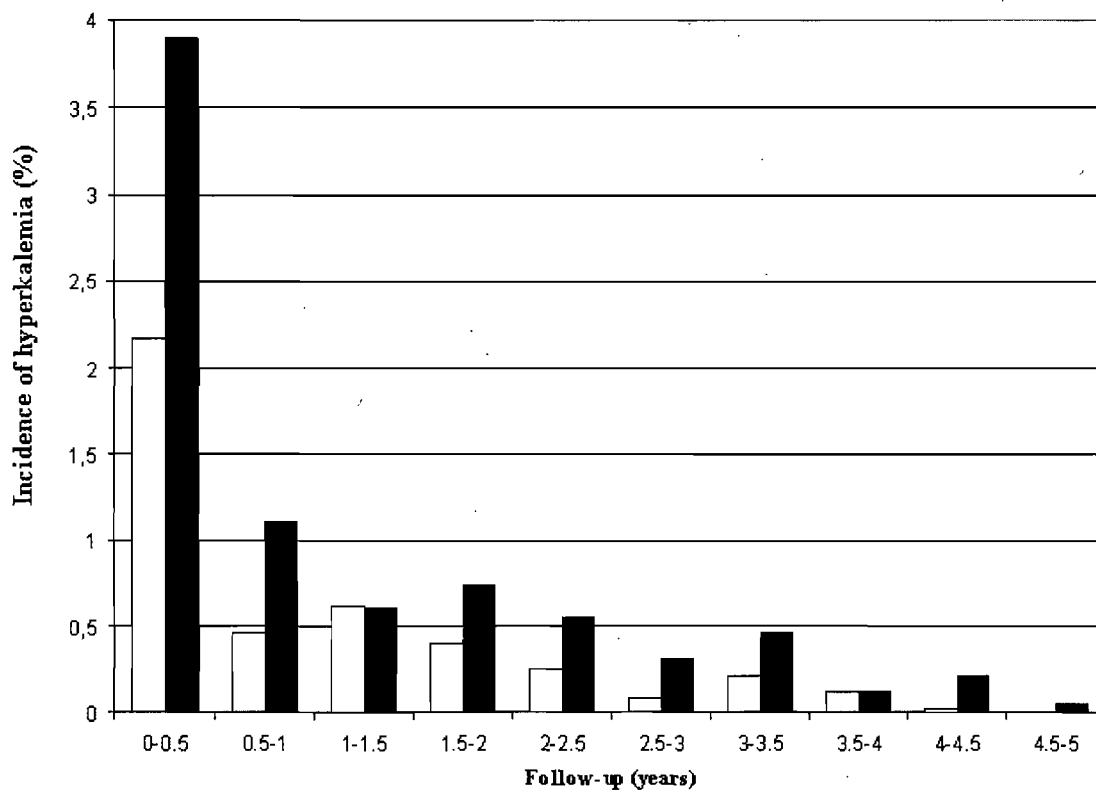


Figure 2. Incidence of hyperkalemia during follow-up

Risk of hyperkalemia in patients receiving (□) placebo and (■) enalapril during the course of the SOLVD trials.

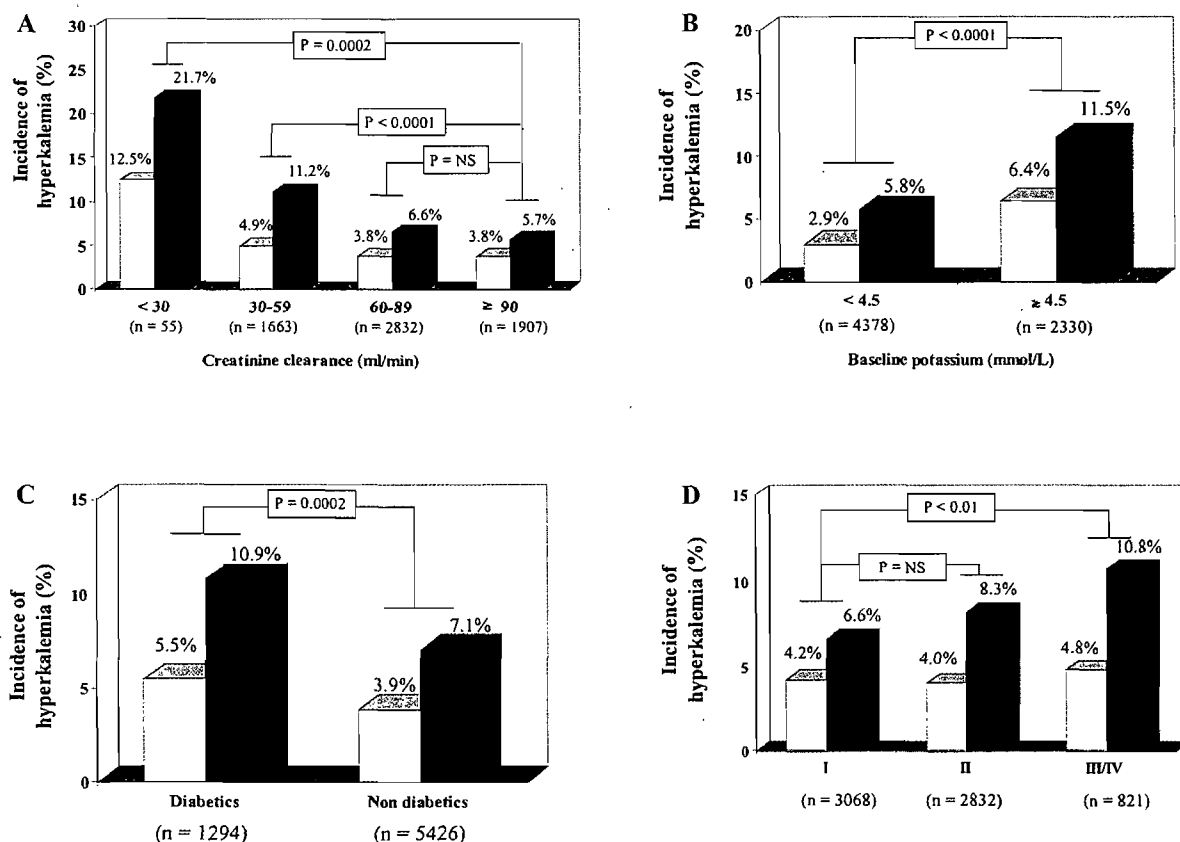


Figure 3. Incidence of hyperkalemia in selected subgroups

Incidence of hyperkalemia according to: **3A. Renal function.** Compared to patients with a normal renal function (creatinine clearance ≥ 90 ml/min, 4.8%), patients with mild renal dysfunction had no increased risk of hyperkalemia (creatinine clearance: 60-89 ml/min; 5.2%, OR: 1.10; 95%CI:0.84-1.44; $p = \text{NS}$), while patients with moderate renal dysfunction (creatinine clearance: 30-59 ml/min; 8.0%, OR: 1.75; 95%CI:1.33-2.31; $p < 0.0001$) and particularly patients with severe renal dysfunction (creatinine clearance < 30 ml/min: 16.4%, OR: 4.2; 95%CI:1.97-8.85; $p = 0.0002$) had a significantly higher risk. This suggests a threshold effect for the risk of hyperkalemia. **3B. Baseline serum potassium.** Patients with a serum potassium ≥ 4.5 mmol/L had a higher risk of hyperkalemia compared to patients with a baseline serum potassium below this threshold (8.9% vs. 4.4%, OR: 2.17; 95%CI:1.77-2.66; $p < 0.0001$). **3C. Presence of diabetes.** Diabetics had a higher risk of hyperkalemia compared to non diabetics (8.2% vs. 5.5%, OR: 1.55; 95%CI:1.23-1.95; $p = 0.0002$). **3D. NYHA class.** Compared to patients with class I functional class (5.4%), patients with NYHA III/IV functional class at baseline had a higher risk of hyperkalemia

(7.8%, OR: 1.49;95%CI:1.10-2.01; $p < 0.01$) whereas patients with a class II functional class at baseline had a similar risk (6.1%, OR: 1.14;95%CI:0.92-1.42; $p = \text{NS}$). Risk of hyperkalemia in patients receiving (□) placebo and (■) enalapril.

Table 1 Baseline Characteristics

	Enalapril (n = 3,364)	Placebo (n = 3,358)
Age, years*	59.8±10.2	59.9±10.2
Men, %	85.8	85.3
Ethnicity, %		
Caucasians	83.9	84.8
African-Americans	11.9	11.5
Others	4.3	3.8
Ischemic etiology of HF, %	78.7	79.1
Diabetes, %	19.1	19.5
LVEF, %*	27.0±6.3	26.9±6.3
NYHA class, %		
I /II /III or IV	45.5 /42.4 /12.1	45.8 /41.8 /12.4
History of atrial fibrillation†	7.2	5.7
Baseline laboratory data*		
Serum creatinine, mg/dL	1.2±0.3	1.2±0.3
Creatinine clearance, ml/min‡	79.3±28.3	79.2±28.7
Serum potassium, mmol/L	4.3±0.4	4.3±0.4
Treatment		
Antiplatelets	47.1	45.8
Beta-blockers	18.2	17.6
Digitalis	32.1	33.9
Loop diuretics	32.4	32.9
Thiazide diuretics	9.5	9.7
Metolazone	0.7	0.7
Potassium sparing diuretics	6.0	6.0

Potassium supplements	23.1	22.5
-----------------------	------	------

*Data expressed as mean \pm SD

† p = 0.017

‡ According to the Cockcroft-Gault equation

HF: heart failure LVEF: Left ventricular ejection fraction NYHA: New York Heart Association

Table 2. Univariate Analyses: Predictors of Hyperkalemia Development.

Variable	Hazard Ratio	95% confidence interval	P
Patients characteristics			
Male gender	0.91	0.70-1.20	0.513
Age (per 1 year increase)	1.01	1.00-1.03	0.005
African-American (vs. Caucasian)	1.56	1.20-2.05	0.001
Other descent (vs. Caucasian)	1.46	0.94-2.26	0.096
Medication use			
Antiplatelets	0.91	0.74-1.10	0.317
Beta blockers	0.87	0.67-1.13	0.298
Digitalis	1.22	1.00-1.50	0.052
Potassium sparing diuretics	1.02	0.68-1.51	0.939
Loop diuretics	1.48	1.22-1.81	0.0001
Thiazide diuretics	0.88	0.63-1.24	0.473
Metolazone	0.82	0.21-3.30	0.782
Potassium supplements	1.30	1.05-1.63	0.018
Past medical history			
Atrial fibrillation	1.58	1.12-2.22	0.009
Angina	0.85	0.70-1.04	0.112
Myocardial infarction	0.83	0.67-1.04	0.1
Hypertension	1.01	0.83-1.24	0.922
Diabetes	1.61	1.29-2.01	<0.0001

Cerebrovascular event	1.10	0.74-1.62	0.646
Current smoker	1.01	0.80-1.27	0.951
Primary cause of HF (ischemic Vs. non ischemic)	0.82	0.65-1.03	0.091
Baseline evaluation			
NYHA class II (vs. I)	1.15	0.93-1.42	0.202
NYHA class III-IV (vs. I)	1.61	1.21-2.15	0.001
Left ventricular ejection fraction, (per 1% increase)	1.00	0.99-1.02	0.744
Systolic blood pressure (per 1 mmHg increase)	1.01	1.00-1.01	0.025
Diastolic blood pressure (per 1 mmHg increase)	1.00	0.99-1.01	0.787
Serum sodium (per 1 mmol/L decrease)	1.06	1.02-1.09	0.0006
Serum potassium (per 0.2 mmol/L increase)	1.27	1.21-1.33	<0.0001
Hematocrit (per 1% increase)	0.98	0.96-1.00	0.046
White blood cells count (per 1×10^3 /ml increase)	1.04	1.00-1.09	0.078
Serum creatinine (per 1 md/dL increase)	2.55	1.87-3.49	<0.0001
Creatinine clearance (per 30 ml/min decrease)	1.36	1.20-1.53	<0.0001

HF: heart failure, NYHA: New York Heart Association

Table 3. Multivariate Analysis: Predictors of Hyperkalemia

Variable	Serum creatinine model			Cockcroft-Gault model		
	Hazard Ratio	95% IC	P value	Hazard Ratio	95% IC	P value
Randomization to enalapril	1.94	1.56-2.40	<0.0001	1.92	1.54-2.39	<0.0001
Renal function Baseline	1.85*	1.32-2.59	0.0003	1.30†	1.11-1.52	0.001
potassium (per 0.2 mmol/L increase)	1.26	1.20-1.33	<0.0001	1.26	1.19-1.32	<0.0001
History of atrial fibrillation	1.48	1.00-2.18	0.0497	1.53	1.04-2.26	0.033
History of diabetes	1.29	1.01-1.65	0.044	1.28	0.99-1.66	0.057
NYHA classes III/IV at baseline (vs. I)	1.60	1.08-2.36	0.018	1.52	1.02-2.26	0.039
Use of loop diuretics at baseline [‡]	Prevention 2.00	1.29-3.10	0.002	1.97	1.26-3.07	0.003
	Treatment 1.04	0.69-1.56	0.862	1.05	0.69-1.58	0.83

Other variables included in the model: age, ethnicity, use of potassium supplements and digitalis, etiology of HF, history of angina, history of MI, systolic blood pressure, serum sodium, white blood cell count and hematocrit.

*Per 1 mg/dL increase of serum creatinine

†Per 30 ml/min decrease of creatinine clearance

‡ p value for interaction for inclusion in SOLVD prevention vs. SOLVD treatment < 0.05
in both models

3. Discussion

Cette étude nous a permis de constater, dans un premier temps, que la définition d'un effet indésirable a non seulement un impact significatif sur son incidence, ce qui était prévisible, mais également sur l'interprétation de l'innocuité d'un traitement. En effet, en utilisant le calcul du *number needed to harm (NNH)*,⁶²⁹ nous avons observé que ce nombre passait de 167 avec une définition de l'hyperkaliémie de $\geq 6,0$ mmol/L à 28 avec une définition de $\geq 5,5$ mmol/L. L'importance de la définition d'hyperkaliémie dans l'évaluation de l'innocuité des inhibiteurs du SRAA a été confirmée par les investigateurs de l'étude EPHESUS suite à la publication de nos travaux. Ceux-ci ont rapporté une importante différence de l'incidence d'hyperkaliémie en utilisant les deux mêmes définitions d'hyperkaliémie que nous : $\geq 5,5$ mmol/L (placebo : 11,2% vs éplérénone : 15,6%; $p < 0,0001$) ou $\geq 6,0$ mmol/L (placebo : 3,8% vs éplérénone : 5,4%; $p = 0,002$). Similairement à nous, ils ont également observé que ces définitions affectaient de façon importante le NNH pour provoquer un épisode d'hyperkaliémie ($\geq 5,5$ mmol/L : 23 vs $\geq 6,0$ mmol/L : 63).

Dans un deuxième temps, notre étude nous a permis d'identifier des facteurs de risque d'hyperkaliémie spécifiquement chez des patients atteints d'IC. Notre étude constituait la première étude d'envergure en IC avec cet objectif. Nous avons confirmé l'importance de la fonction rénale, d'un diagnostic de diabète, du potassium sérique et de l'énalapril comme facteurs de risque d'hyperkaliémie dans cette population. Par ailleurs, nous avons identifié, pour la première fois, la classe fonctionnelle NYHA et un diagnostic de fibrillation auriculaire comme facteurs de risque potentiels de ce désordre électrolytique.

Suite à la publication de nos résultats, les investigateurs des études CHARM⁶³⁰ et EPHESUS⁶³¹ ont confirmé l'importance de plusieurs des facteurs de risque d'hyperkaliémie que nous avons identifiés. Plus spécifiquement, les investigateurs de CHARM rapportaient l'âge, la fonction rénale, le potassium sérique, la randomisation au candésartan et la prise d'IECA⁶³⁰ comme des facteurs de risque d'hyperkaliémie, tandis que les investigateurs d'EPHESUS rapportaient le diabète, la fonction rénale, le potassium sérique et la prise d'antiarythmiques.⁶³¹

Dans le premier cas, l'identification de ces facteurs de risque n'était pas surprenante, puisque les investigateurs de CHARM nous citaient dans la sélection des variables qu'ils ont étudié et ceux-ci ont limité leurs recherches à seulement 8 variables. À l'opposé, les investigateurs d'EPHESUS ont adopté une approche plus exhaustive, similaire à la nôtre, en évaluant l'impact de plus de quarante variables. Malheureusement, aucun de ces groupes n'a évalué l'impact de la classe NYHA ou d'un antécédent de fibrillation auriculaire sur le risque d'hyperkaliémie, bien que l'identification de la prise d'un antiarythmique comme un facteur de risque dans EPHESUS pourrait refléter indirectement la présence de fibrillation auriculaire.

Nos travaux ont été cités par d'autres depuis leur publication.⁶³²⁻⁶³⁵ En particulier, deux articles de synthèse exhaustifs portant sur l'hyperkaliémie⁶³⁴ et l'insuffisance rénale en IC,⁶³⁵ ont discuté de façon détaillée les résultats de notre étude tout en arrivant à des conclusions extrêmement similaires aux nôtres. Plus spécifiquement, ces deux groupes soulignaient l'importance d'une évaluation de la fonction rénale avant d'initier un inhibiteur du SRAA et d'un suivi méticuleux de la fonction rénale et du potassium après leur initiation.

L'importance d'un tel suivi semble évidente. En effet, un suivi méthodique était effectué dans les grands essais cliniques ayant établi l'efficacité des inhibiteurs du SRAA^{25-27, 30} et est explicitement recommandé dans les lignes directrices de traitement.^{1, 2} Malgré ceci, des données pour le moins perturbantes suggèrent qu'un tel suivi n'est souvent pas effectué dans la pratique. Par exemple, Shah rapportait que 34% de 840 défailants cardiaques n'ont pas reçu un suivi approprié de leur potassium ou de créatinine sérique suite à l'initiation de la spironolactone.⁶³⁶ Bozkut chiffrait cette valeur à 62% dans une cohorte de 104 patients.⁶¹³ Un autre groupe rapportait que 14% de 8217 défailants cardiaques ne recevait aucun suivi de leur créatine ou de leur potassium annuellement,⁶³⁷ tandis que cette absence de suivi se chiffrait à 11% de 790 défailants cardiaques traités avec de la spironolactone.⁶³⁸ Ces valeurs apparaissent difficiles à expliquer lorsqu'on se rappelle que l'AHA et l'ACC recommandaient déjà en 2001⁴⁴ un suivi de ces paramètres avec l'utilisation des IECA et de la spironolactone. Ultiment, ce suivi inadéquat expliquerait en partie⁶³⁶ l'incidence

beaucoup plus élevée d'hyperkaliémie en pratique que dans les essais cliniques. Plusieurs ont rapporté que ces cas d'hyperkaliémie se traduisaient par des hospitalisations et des décès.^{540, 609, 620, 623, 624} Deux études de cohorte ont révélé des résultats particulièrement troublants. Dans la première, Juurlink démontrait qu'après la publication des résultats de l'étude RALES, une importante augmentation de la prescription de la spironolactone s'est produite chez les patients atteints d'IC en Ontario et que celle-ci avait été accompagnée d'une augmentation des hospitalisations et des décès secondaires à l'hyperkaliémie, mais qu'aucune réduction du risque de décès ou d'hospitalisation pour IC dans la population n'était apparue.⁵⁴⁰ Ouzounian et collaborateurs rapportaient des résultats similaires dans une cohorte de Nouvelle-Écosse.⁶³⁹ À ce jour, aucune étude de cohorte n'a été réalisée concernant l'efficacité et l'innocuité d'une combinaison IECA-ARA en pratique.

Globalement, ces dernières études ont donc suggéré que l'utilisation des modulateurs du SRAA, particulièrement en combinaison, semble associée à une innocuité réduite dans la pratique quotidienne, ce qui se traduirait en des bénéfices réduits. En plus de souligner un besoin d'améliorer la qualité du suivi lors de l'utilisation de ces agents, ces études soulignent la nécessité de découvrir des outils ou marqueurs permettant l'identification des individus les plus susceptibles de bénéficier de ces traitements. En effet, de tels marqueurs permettraient de réduire le nombre d'individus qui sont exposés inutilement à des effets indésirables, en évitant leur utilisation chez les individus les moins susceptibles de bénéficier de ceux-ci.

Étant donné l'héritabilité considérable du SRAA,^{302, 640} il est possible que certains polymorphismes génétiques communs puissent permettre une telle individualisation de la pharmacothérapie modulant le SRAA. C'est cette hypothèse que nous avons testée dans le prochain chapitre de cette thèse.

Chapitre 4. Une évaluation de l'impact de gènes candidats sur les effets hémodynamiques, neuromodulateurs et anti-inflammatoires du candésartan en IC.

1. Introduction

Tel que discuté dans l'introduction, malgré les bénéfices cliniques établis des IECA en IC, il est devenu évident durant les années 90 que l'inhibition de la synthèse de l'angiotensine II et de l'aldostérone par les IECA diminuait dans le temps (échappement de l'ECA, ou *ACE escape*).^{87, 94, 219-221} Devant un tel constat, plusieurs ont suggéré que la combinaison d'un IECA et d'un bloqueur du SRAA plus distal (ARA ou antagoniste de l'aldostérone) produirait des dividendes cliniques additionnels. En effet, de telles combinaisons permettraient non seulement de maximiser les bénéfices liés à l'inhibition du SRAA, mais également ceux liés à l'accumulation de la bradykinine provenant de l'inhibition de l'ECA. Ces hypothèses ont été confirmées dans de nombreux essais cliniques (CHARM-added, RALES, Val-HeFT). Ces études ont été détaillées dans le chapitre 1.

Nous nous attarderons ici aux résultats de l'étude CHARM-added qui ont démontré que l'addition du candésartan à une pharmacothérapie optimale, qui incluait un IECA (100%) et un bêta-bloqueur (55%), réduisait le risque de décès cardiovasculaire ou d'hospitalisation pour IC.⁸ Une évaluation plus critique de ces résultats révèle que cette combinaison est bénéfique pour seulement une faible proportion d'individus. La figure 10 illustre bien que la proportion d'individus chez qui le candésartan réduit le risque décès cardiovasculaire ou d'hospitalisation (point d'aboutissement primaire) ou a amélioré la classe fonctionnelle était faible dans CHARM-added, bien que statistiquement significative.^{8, 231} Il est donc d'un grand intérêt de pouvoir identifier les patients les plus susceptibles de bénéficier de ce traitement. Malheureusement, aucune caractéristique ne permettait d'identifier les patients bénéficiant davantage du candésartan dans CHARM-added.⁸

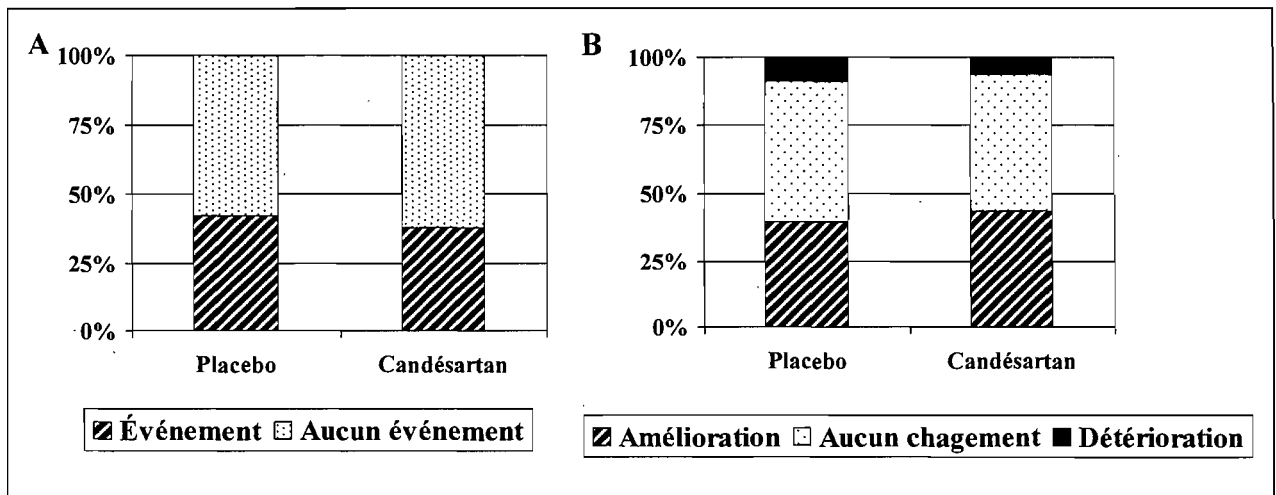


Figure 10. Bénéfices du candésartan dans CHARM.

A. Proportion de patients ayant expérimenté le point d'aboutissement primaire dans CHARM-added (décès cardiovasculaire ou hospitalisation pour IC) dans le groupe placebo et le groupe candésartan, respectivement. B. Changement de la classe NYHA des patients dans CHARM-added dans le groupe placebo et le groupe candésartan, respectivement. Données tirées de.^{8, 641}

On se doit de souligner encore une fois qu'une particularité importante de l'IC est qu'aucun phénotype intermédiaire d'efficacité relié à la pathologie n'est présentement recommandé afin d'effectuer un suivi de l'efficacité du traitement des patients. Il est donc impossible d'évaluer si un patient bénéficie de la pharmacothérapie qu'il reçoit et de la modifier en conséquence. Le BNP et sa partie N-terminale, le NT-proBNP ont été proposés comme des phénotypes utiles dans l'optimisation et l'individualisation de la pharmacothérapie des patients atteints d'IC,^{55, 58, 59, 642} mais le rôle de ces biomarqueurs comme outils de suivi clinique reste à définir clairement.⁶⁴³ Toutefois, ces peptides, tout comme la FEVG mesurée par une échocardiographie, sont fréquemment utilisés dans des études cliniques afin d'évaluer l'impact potentiel d'une pharmacothérapie en IC.

Une autre approche possible dans l'individualisation de la pharmacothérapie des patients atteints d'IC consisterait à utiliser des marqueurs permettant d'identifier les patients les plus susceptibles de bénéficier d'un traitement avant que celui-ci ne soit débuté. Puisque le degré d'activité du SRAA présente une importante héritabilité,^{302, 640, 644} il est possible que des variations génétiques influencent les effets des modulateurs du SRAA.

En 2002, une analyse rétrospective de l'étude SILVHIA (Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol)^{432, 645} suggérait qu'un polymorphisme du gène codant pour le récepteur AT1, l'*AGTR1* A1166C, influençait la régression de l'hypertrophie myocardique induite par l'irbésartan chez des hypertendus. Cette étude a suscité beaucoup d'intérêt de ma part. Puisqu'à cette époque le Dr White menait l'étude CANDIID, qui évaluait l'impact du candésartan sur le NT-proBNP et divers autres biomarqueurs dans une population de patients similaire à celle de CHARM-added, nous avons élaboré une sous-étude pharmacogénétique afin d'évaluer si ce polymorphisme génétique pouvait également moduler la réponse au candésartan chez les patients inclus dans CANDIID.

Brièvement, l'étude CANDIID²³⁶ était une étude randomisée avec groupe placebo dans laquelle 80 patients ont été randomisés à recevoir le candésartan titré à une dose cible de 32 mg/jour ou au placebo. Au début de l'étude, les patients recevaient une thérapie optimale qui incluait un IECA (100%), un bêta-bloqueur (94%) et même, pour plusieurs, de la spironolactone (34%). L'objectif principal de l'étude était d'évaluer l'impact du candésartan sur les concentrations plasmatiques du NT-proBNP après 6 mois de traitement. L'utilisation du candésartan a provoqué une réduction du NT-proBNP ($p = 0,051$), mais également de la CRP ($p = 0,046$). On a évidemment également noté une réduction de la tension artérielle et une légère détérioration de la fonction rénale, ainsi qu'une augmentation non significative du potassium. Aucun changement au niveau des autres marqueurs inflammatoires, de stress oxydatif, ou des molécules d'adhésion n'a été noté par rapport au placebo.

Il est maintenant accepté que la recherche en pharmacogénétique est un processus qui comprend de nombreuses étapes qui incluent initialement de petites études exploratoires, lesquelles mènent ultimement à des études de plus grande envergure.⁶⁴⁶ Nous avons donc effectué une étude de pharmacogénétique pilote chez des patients inclus dans l'étude CANDIID,²³⁶ afin de déterminer si les réductions de la tension artérielle, du NT-proBNP et de la CRP observées dans l'étude pouvaient être influencées par des polymorphismes génétiques.

Nous avons utilisé une approche par gènes candidats étant donné le nombre limité d'individus inclus. Cette approche a l'avantage de mettre l'accent sur un nombre restreint de polymorphismes génétiques, réduisant ainsi les coûts tout en maximisant la puissance statistique.²⁹² Cette approche s'avère particulièrement appropriée pour identifier les déterminants génétiques des maladies ou de la réponse aux médicaments pour lesquelles la physiopathologie ou la pharmacologie sont suffisamment bien connues pour établir *a priori* une liste de variations génétiques les plus susceptibles de les influencer. Bien que cette approche se limite à des systèmes qui sont déjà connus, elle présente l'avantage de pouvoir être effectuée sur un nombre relativement restreint d'individus. En effet, les contraintes statistiques associées à une approche pangénomique rendent cette approche impossible dans des études de la taille de CANDIID puisqu'elle nécessite des milliers de patients, en plus d'engendrer des coûts significatifs et souvent prohibitifs (300 000 à un 1 000 000 SNPs sont généralement testés). En fait, pour ces raisons, l'approche pangénomique a été très peu utilisée en pharmacogénétique et pharmacogénomique.^{647, 648}

Nous avons donc émis l'hypothèse que des polymorphismes génétiques candidats préalablement associés à une modulation des effets des ARA en hypertension,^{432, 434, 436} de l'activité du RAAS^{303, 649} ou de l'évolution de l'IC^{348, 381} pouvaient potentiellement moduler la réponse au candésartan.

2. Publication N° 3 (Publiée dans Ann Pharmacother 2008;42:925-932.)
Effects of AGTR1 A1166C gene polymorphism in heart failure patients treated with
Candesartan

Simon de Denus, B. Pharm, M.Sc. Marcin Zakrzewski-Jakubiak, B. Pharm, M.Sc., Marie-Pierre Dubé, PhD, François Bélanger, M.Sc., Serge Lepage, MD, Marie-Hélène Leblanc, MD, Denis Gossard, MD, Anique Ducharme, MD, MSc, Normand Racine, MD, Lucette Whittom, RN, BSc, Joel Lavoie, PhD, Rhian M. Touyz, MD, Ph D, Jacques Turgeon, PhD, Michel White, MD.

Concise title: Impact of AGTR1 A1166C on the effects of candesartan

Text: 2759 words

Abstract: 299 words

Number of references: 47

Corresponding author

Michel White, MD, Montreal Heart Institute,
5000 Belanger Street East, Montreal, Quebec, Canada, HIT 1C8. Fax: 514-593-2575,
Phone: 514-376-3330 ext.3962, E-mail: [REDACTED]

Funding: The main trial was sponsored by Astra-Zeneca Canada.

Conflict of interest: Simon de Denus and Michel White have received research funding and speaker fees from AstraZeneca.

Part of this work were presented as a poster at the 2005 Canadian Cardiovascular Society meeting

Key words: Heart failure, candesartan, angiotensin, pharmacogenetics.

Position title of academic appointment

Simon de Denus, B. Pharm, M.Sc. Assistant professor, Faculty of Pharmacy, University of Montreal/ Montreal Heart Institute.

Marcin Zakrzewski-Jakubiak, B. Pharm, M.Sc, PhD student, Faculty of Pharmacy, University of Montreal

Marie-Pierre Dubé, PhD, Assistant professor, Faculty of Medicine, University of Montreal/Montreal Heart Institute

François Bélanger, M.Sc. Laboratory coordinator, CHUM Research Centre

Serge Lepage, MD. Professor Faculty of Medicine and Health Sciences, University of Sherbrooke/ Centre Hospitalier Universitaire de Sherbrooke

Marie-Hélène Leblanc, MD, FACC, Clinical associated professor, Hôpital Laval

Denis Gossard, MD, Hôpital du Haut-Richelieu.

Anique Ducharme, MD, MSc. Director, Heart Failure Clinic, Montreal Heart Institute.

Associate professor of medicine, Department of Medicine, University of Montreal

Normand Racine, MD, Chief, Department of Medicine and Cardiology, Montreal Heart Institute/

Associate professor of medicine, Department of Medicine, University of Montreal.

Lucette Whittom, RN, BSc, Project Leader, Montreal Heart Institute

Joel Lavoie, PhD, Clinical biochemist, Director, biochemistry laboratory, Montreal Heart Institute

Rhian M Touyz, MD, PhD, Senior Scientist , Kidney Research Centre, University of Ottawa, Ottawa Health Research Institute/Professor, Department of Medicine, University of Ottawa

Jacques Turgeon, PhD, Director, CHUM Research Centre/Professor, Faculty of Pharmacy, University of Montreal

Michel White, MD. Director, Heart Failure Research Program, Montreal Heart Institute/ Professor of Medicine, Department of Medicine, University of Montreal

Abstract

Background. The benefits of angiotensin II receptor blockers (ARBs) in heart failure (HF) patients treated with standard pharmacotherapy, including an angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor, were demonstrated in two large randomized trials. It is currently impossible to determine which patient will benefit from the addition of an ARB.

Objective. To explore the impact of selected candidate genes on the hemodynamic, neurohormonal and anti-inflammatory effects of candesartan in the patients with HF already treated by an ACE inhibitor.

Methods. We investigated the impact of 10 candidate genetic polymorphisms on the effects of candesartan in patients with HF treated with an ACE inhibitor. We evaluated their impact on acute (2 weeks) and long-term (24 weeks) changes in blood pressure and N-terminal proB-type natriuretic peptide (NT-proBNP) and high sensitivity C-reactive protein (hsCRP) during treatment with candesartan.

Results. Thirty-one patients were included. Homozygotes of the AGTR1 A1166 allele (n = 13) had a greater decrease in systolic (-9.1 ± 4.7 vs. 1.1 ± 3.3 mmHg; $p = 0.04$ by ANOVA, adjusting for dose) and diastolic blood pressure (-5.1 ± 1.5 vs. 1.9 ± 1.9 mmHg; $p = 0.005$ by ANOVA, adjusting for dose) compared to C1166 allele carriers (n = 18) following two weeks of treatment. After six months of treatment, C1166 carriers experienced a greater decrease in NT-proBNP (-151.4 [-207 ; -19.8] ng/L vs. 147.3 [-61.3 ; 882.9] ng/L ; $p=0.03$) and hsCRP ($-0.8 \pm [-2.2 ; -0.03]$ mg/L vs 0.2 [-1.8 ; 5.3]mg/L; $p = 0.09$) compared to patients carrying the AA1166 genotype. No other significant association was found.

Conclusions. The results of this proof-of concept study provide the first evidence that the AGTR1 A1166C polymorphism could influence the response to candesartan in HF patients receiving ACE inhibitors. Validation of these exploratory findings in larger populations is required before the use of the AGTR1 A1166C genotype can be incorporated in clinical practice.

Background

The importance of angiotensin II in the pathophysiology of heart failure (HF) is well established.¹ Although angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors are effective in reducing angiotensin II synthesis acutely in patient with HF, concentrations eventually increase back to pre-treatment levels.² Because of this phenomenon, it has been hypothesized that a dual blockade of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) with angiotensin II receptor blockers (ARBs) and ACE inhibitors may have additional beneficial effects in HF patients. Such a strategy would also maintain the benefit of bradykinin accumulation produced by ACE inhibition.¹ These potential benefits of dual angiotensin II suppression were demonstrated in two large randomized trials.^{3,4} However, not all patients showed benefit from the addition of an ARB. It is currently difficult to predict which HF patients will benefit from pharmacotherapy with both an ACE inhibitor and an ARB.

Current data suggests an important heritability to HF.⁵ Similarly, the degree of RAAS activity also appears to be heritable.⁶ Numerous genetic polymorphisms related to the RAAS have been identified. Amongst these, many influence its activity and/or have been associated with the development and/or prognosis of HF. These genetic variations could influence the response to pharmacological modulation of the RAAS.⁷ However, pharmacogenetic studies aimed at evaluating whether these markers are potentially useful in identifying patients who are most likely to benefit from dual angiotensin II suppression with an ACE inhibitor and an ARB, such as candesartan, have not yet been published.

It is now well accepted that translational pharmacogenetic research is a multi-step process that requires initial small proof-of-concept studies that lead to larger, more definitive, validation studies.⁸ The objective of this exploratory proof-of-concept study was to evaluate whether selected genetic polymorphisms related to the RAAS could predict the hemodynamic, neurohormonal and anti-inflammatory response to candesartan in HF patients receiving an ACE inhibitor.

Methods

Study design

We conducted a pharmacogenetic sub-study of patients included in a multicenter, randomized, double-blinded, placebo-controlled trial investigating the effects of candesartan on selected biomarkers in patients with stable systolic HF treated with an ACE inhibitor.⁹

Patients enrolled in the pharmacogenetic sub-study signed an informed consent form specific to the pharmacogenetic sub-study which was approved by all participating centers, in addition to the informed consent form signed to participate in the main trial. The current report focuses strictly on patients randomized to the candesartan treatment group. Of the 33 patients who agreed to participate in this genetic sub-study and who were randomized to candesartan, two stopped candesartan before the first follow-up visit. Because no on-treatment hemodynamic follow-up data were available at the first follow-up visit for these patients, they were not included in the present analyses.

Patients

Patients included in the main trial were ≥ 18 years old, had symptomatic HF of New York Heart Association (NYHA) functional classes II-IV for ≥ 3 months prior randomization to candesartan or placebo and had a documented left ventricular ejection fraction (LVEF) $\leq 40\%$ within the previous 6 months. Patients were treated with an optimal dose of ACE inhibitor, in the opinion of the investigator, for at least one month. Patients were also required to be on a stable dose of a β -blocker, unless contraindicated or not tolerated, for at least one month prior to enrolment.

Study treatment

Candesartan (or placebo) was initiated at a dose of 4 or 8 mg once daily, at the discretion of the investigator. Both candesartan and placebo were provided by the sponsor of the main trial, Astra-Zeneca Canada. Patients underwent a forced titration every two weeks to a

target dose of 32 mg once daily over eight weeks, or the maximally tolerated dose if this target dose could not be achieved. Patients were treated for a total of twenty-four weeks.

Genetic polymorphisms

Because of the small number of patients that were expected to participate in this pharmacogenetic sub-study, we limited our study to 10 genetic polymorphisms in 8 genes with high allele frequencies. Candidate genes were selected based on their previous association with response to ARBs in hypertensive patients¹⁰⁻¹² or because of their potential contribution to RAAS activity^{13, 14} or the physiopathology of HF.^{15, 16} The following gene polymorphisms were tested: *ACE* I/D, angiotensinogen (*AGT*) Met235Thr and Thr174Met, angiotensin II type 1 receptor (*AGTR1*) A1166C, aldosterone synthase (*CYP11B2*) C344T, +9/-9 insert/deletion polymorphism of exon 1 of the bradykinin B2 receptor (*BDKRB2*), alpha-adducin (*ADD1*) Gly460Trp, endothelial nitric oxide synthase (*eNOS*) Glu298Asp and T786C and beta-2-adrenergic receptor (*ADRB2*) Gln27Glu.

Blood samples for the pharmacogenetic sub-study were obtained at anytime during the study or after the completion of the study. A blood sample (7 ml) was collected in an EDTA-containing tube and was kept at room temperature until deoxyribonucleic acid (DNA) was isolated. DNA was extracted from whole blood by the GenElute Blood Genomic DNA Kit (NA2000 Sigma, USA). Extracted DNA was stored at -20°C until genotyping was performed. The studied gene polymorphisms were amplified by polymerase chain reaction (PCR) using specific primers and processed by restriction enzymes (when needed) as previously described.¹⁷⁻²⁶ The obtained PCR products were then analyzed by electrophoresis on agarose gels and visualized by ethidium bromide staining under an UV reflective light. Because the *AGTR1* A1166C was not in Hardy-Weinberg equilibrium, all patients who had remaining DNA (25 of 31 patients) were genotyped according to an additional technique²⁷ to exclude the possibility of a recurrent genotypic error. In all cases, genotyping results were concordant.

End points

We evaluated the relationship between the 10 gene polymorphisms and the acute (2 weeks) changes in systolic and diastolic blood pressure and the long-term changes in blood pressure (24 weeks), N-terminal proB-type natriuretic peptide (NT-proBNP; the primary end point of the main trial) and high sensitivity C-reactive protein (hsCRP) during treatment with candesartan.⁹ Blood pressure was measured after sitting for at least five minutes and repeated after five minutes. The average of these two measurements was used in our analyses. Blood samples for NT-proBNP and hsCRP were taken in a fasting state after 20 to 30 minutes of rest in a calm environment after the insertion of a peripheral intravenous catheter. The samples were stored at -80°C until analyzed. Levels of NT-proBNP were measured by immunoassay using the Roche Elecsys 2010 Analytic analyzer. Levels of hsCRP were measured using the Dade Behring High Sensitivity CRP assay (Dade Behring Diagnostics, Marburg, Germany).

Statistical analysis

Continuous data are presented as mean \pm SE or median (25th;75th percentiles) where appropriate, and categorical variables are presented as percentages. Data analysis was performed using SAS version 9.1.3 (Cary, North Carolina) and NCSS statistical analysis software 2004 (Kaysville, Utah). The chi-square goodness-of-fit test was used to test markers for Hardy-Weinberg equilibrium. One-way ANOVA tests were conducted to test for genotype main effects and linear contrast. Factorial ANOVA tests were used to categorize blood pressure response between the first and second visit by genotypes and by candesartan doses using a one-way model to test for main effects and linear contrasts. Given the exploratory nature of this pharmacogenetic substudy, p values are presented as a rank order (from the lowest to the highest). In order to control for potential confounders, factorial ANOVA tests. A $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

A total of 31 patients were included in the analysis. Detailed baseline information of the study population is presented in Table 1. Patients were all Caucasians, were mainly males (93.5%) and 90.3% had HF caused by coronary artery disease. The mean age was 63.0 ± 1.5 .

Patients had either New York Heart Association (NYHA) functional class symptoms II (64.5%) or III (35.5%) with a mean LVEF of 26.8 ± 1.4 %. All patients were receiving an ACE inhibitor and a beta-blocker at baseline. Genotype frequencies for all gene polymorphisms are reported in Table 2. All gene polymorphisms were in Hardy-Weinberg equilibrium except for the AGTR1 A1166 ($p = 0.023$).

Short-term effects

Genetic polymorphisms are presented in a rank order of significance of their association with 2-week changes in BP in Table 3. Of the 10 gene polymorphisms studied, only the AGTR1 A1166C was related to the 2-week changes in BP. Compared to AC carriers, A1166 homozygotes had a significant greater decrease in systolic (-9.1 ± 4.7 vs. 1.1 ± 3.3 mmHg; $p = 0.04$ by ANOVA, adjusting for dose) and diastolic (-5.1 ± 1.5 vs. 1.9 ± 1.9 mmHg; $p = 0.005$ by ANOVA, adjusting for dose) blood pressure at two weeks. There were no differences between AC1166 carriers and AA1166 carriers at baseline in the percentage of patients receiving a beta-blocker, an ACE inhibitor, furosemide or spironolactone, baseline ACE inhibitor dosage, NTproBNP and hsCRP concentrations or DBP (all $p > 0.05$). The only differences we observed were regarding age and SBP ($p < 0.05$). After adjusting for age and for the dose of candesartan, the association between AGTR1 and changes in both systolic ($p = 0.02$) and diastolic ($p = 0.003$) remained significant. In order to adjust for differences in SBP at baseline on the 2-week changes in SBP, baseline SBP was added in this model. Following the inclusion of this variable in the multivariate model, neither AGTR1 A1166C, age, nor baseline SBP were significantly associated with 2-week change in SBP (all $p > 0.05$), possibly reflecting the limited statistical power of this multivariate model on 31 individuals with 4 variables.

Long-term effects

Twenty-seven patients completed the 24 weeks of treatment. None of the selected gene polymorphisms were significantly associated with changes in blood pressure at 24-weeks. Nevertheless, AGTR1 AA patients experienced a non-significant greater decrease in blood pressure compared to AC patients (-6.1 ± 4.2 / -4.3 ± 2.6 mmHg, vs. -2.4 ± 3.5 / -2.4 ± 2.2 mmHg; $p = 0.5$ and $p = 0.6$, respectively), despite being treated with similar doses of candesartan at

the end of the study (20.7 ± 3.6 mg vs. 17.0 ± 3.0 mg; $p = 0.44$). AC carriers experienced a significantly greater decrease in NT-proBNP compared to AA carriers (-151.4 [-207 ; -19.8]ng/L vs. 147.3 [-61.3 ; 882.9] ng/L ; $p=0.03$) (Table 4) at 24 weeks. Similarly, AC carriers exhibited a trend for a decrease in hsCRP ($-0.8 \pm [-2.2$; $-0.03]$ mg/L) while AA carriers experienced an increase (0.2 [-1.8 ; 5.3]mg/L; $p = 0.09$). There were no other significant relationships between any of the gene polymorphisms and changes in NT-proBNP or hsCRP (Table 4). When combining age and A1166C polymorphism in an ANOVA, neither was significantly related with changes in NT-proBNP.

Discussion

To our knowledge, this is the first study exploring the association between selected gene polymorphisms and the response to an ARB in patients with HF. This exploratory proof-of-concept pilot study provides many novel findings. We found that the A1166C genetic polymorphism of the AGTR1, the receptor blocked by candesartan which mediates most of the physiological effects of angiotensin II, may be associated to the response to this agent. More specifically, we observed an association between the AGTR1 A1166C gene polymorphism and short-term reductions in blood pressure and long-term reductions in NT-proBNP in response to candesartan. Our results suggests that carriers of the C allele may be less sensitive to the ATR1 antagonistic effects of low doses of candesartan, as demonstrated by the modest impact on blood pressure, but that targeting high doses of candesartan in these patients may be beneficial, as we observed a decrease in NT-proBNP in these patients, an established prognostic marker in HF patients.²⁸ Our small sample size limits the conclusions that could be drawn from multivariate analyses. Nevertheless, our results are particularly relevant in the context of the current dilemma faced by clinicians regarding the identification of patients who are most likely to benefit from the addition of an ARB once receiving an ACE inhibitor and a beta-blocker.

Of the many single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the AGTR1 identified, the A1166C variant, located in the 3'-untranslated region of the ATR1 has been the most widely studied.²⁹ Although the C allele has been associated with increased sensitivity to angiotensin II,³⁰ greater response to angiotensin II,³¹ aortic stiffness,²⁹ myocardial

infarction,³² hypertension³³ and left ventricular hypertrophy in hypertensive patients,²⁹ the physiological significance of this polymorphism remains uncertain. Because it is located in an untranslated region, this polymorphism could be in linkage disequilibrium with another, yet unidentified, functional variant of the gene.

As C carriers may be more sensitive to angiotensin II,^{30,31} they should be less likely to be affected by the rightward shift to the agonist dose-effect curves of angiotensin II induced by the competitive antagonistic effects of candesartan.³⁴ This would explain the more modest reduction in blood pressure observed in these patients following the initiation of candesartan. Our findings are consistent with recent observations from hypertensive patients on a high-salt diet³⁵ demonstrating that the CC1166 patients experienced a more modest decrease during the intravenous administration of EXP3174 (the active metabolite of losartan).³⁵ Furthermore, we found that C carriers experienced the greatest decrease in NT-proBNP, a biomarker of left ventricular remodelling.³⁶ This decrease in NT-proBNP in these patients suggests that these patients may particularly benefit from high doses of candesartan.²⁸ This is consistent with the observations from clinical investigations using irbesartan in hypertensive subjects presenting left ventricular hypertrophy.¹¹ Indeed, Kurland et al demonstrated that C carriers experienced the greatest benefit of irbesartan in regards to ventricular remodeling through a greater reduction in left ventricular mass index.¹¹ Taken together, these and our results suggest that patients carrying the C allele of the A1166C gene polymorphism experience the greatest benefit from ARBs in regards to ventricular remodeling. Interestingly, in our study, the decrease in NT-proBNP in C carriers was accompanied by a trend for a decrease in hsCRP, another established prognostic marker in HF patients.³⁷ In our study, no patients carried the AGTR1 CC1166 genotype. Whether homozygotes with HF for the C1166 allele experience greater benefit from candesartan compared to AC1166 carriers requires further investigation.

It should be emphasized that results regarding the impact of the AGTR1 A1166C on the response to ARBs in other populations, have been inconsistent. Miller et al. found that in young, healthy normotensive individuals, C carriers experienced a greater decrease in blood pressure following the administration of a single oral dose of losartan,³⁸ while two other studies using telmisartan³⁹ and irbesartan,⁴⁰ respectively in hypertensive patients failed to

show any association between the A1166C polymorphism and long term blood pressure reduction.

The reasons for these discrepancies are not well understood. RAAS activation and regulation are markedly different in HF. Indeed, HF is associated with a marked activation of the RAAS compared to healthy individuals,^{41,42} while RAAS suppression causes a more modest effect on blood pressure in HF patients³ than in hypertensive or pre-hypertensive patients.^{43,44} Furthermore, HF is associated with a local increase in cardiac angiotensin II formation which appears to be more dependent on local factors, such as end diastolic stress, rather than on the circulating concentrations of the other RAAS components.⁴⁵ In addition, in the case of the long-term studies,^{39,40} multiple antihypertensives were used concomitantly with the ARB in order to reach a target blood pressure, possibly masking any association between the genetic polymorphism and the response to the ARB. Finally, in our study, all patients received an ACE inhibitor and a beta-blocker at baseline, which also have effects on RAAS activation.^{46,47}

Strengths and Limitations

Our study has several strengths. First, we investigated a patient population with a fairly homogenous background therapy, where all patients were treated with an ACE inhibitor and a beta-blocker, the standard of care for HF patients. In addition, we did not limit the study to a single genetic polymorphism, but instead investigated ten polymorphisms related to the neurohormonal pathway blocked by candesartan. Finally, our study evaluated established prognostic markers of HF. Nonetheless, it is important to highlight that there is currently no established surrogate marker of drug efficacy in HF, such as blood pressure in hypertension.

The most important limitation of this sub-study is its small sample size. Consequently, we did not correct for multiple testing and we had limited power in for multivariate analyses. Moreover, although we did not observe a relationship between any of the other gene polymorphisms studied and the response to candesartan, we cannot exclude an effect of these gene polymorphisms on the response to candesartan.

Conclusions

In conclusion, the results of this proof-of-concept clinical investigation suggest that the variability in the response to candesartan appears to be, at least in part, attributable to genetic variations. Our results suggest that AA1166 homozygotes may be more hemodynamically sensitive to the addition of candesartan when already treated with an ACE inhibitor and a beta-blocker. Conversely, C1166 carriers may constitute a group of individuals who particularly benefit from treatment with high-dose candesartan. These novel findings require further investigation in a larger population before such strategy is implemented in clinical practice.

Table 1. Clinical characteristics of the study population

Variable	N = 31
Men, %	93.5
Age, yrs ^a	63.0±1.5
Ischemic HF, %	90.3
LVEF, % ^a	26.8±1.4
NYHA functional class II/III/IV	64.5/35.5/0
Atrial fibrillation, %	19.4
Hypertension, %	29.0
Diabetes, %	38.7
ACE inhibitor, %	100
Beta-blocker, %	100
Digitalis glycoside, %	54.8
Furosemide, %	71.0
Spirolactone, %	22.6

ACE: angiotensin-converting enzyme; HF: heart failure; LVEF: left ventricular ejection fraction; NYHA: New York Heart Association

^a*Continuous data are presented as mean ± SE.*

Table 2. Genotype frequencies in the study population

Gene	A	B	A/A	A/B	B/B	n
			n (frequency)	n (frequency)	n (frequency)	
ACE	I	D	4 (0.13)	16 (0.52)	11 (0.36)	31
AGTR1	A1166	C1166	13 (0.42)	18 (0.58)	0	31
AGT	Met235	Thr235	6 (0.19)	17 (0.55)	8 (0.26)	31
AGT	Thr174	Met174	21 (0.68)	9 (0.29)	1 (0.03)	31
eNOS	T-786	C-786	8 (0.26)	19 (0.61)	4 (0.13)	31
eNOS	Glu 298	Asp298	12 (0.40)	13 (0.43)	5 (0.17)	30
ADRB2	Gln27	Glu27	13 (0.42)	11 (0.36)	7 (0.23)	31
BDKRB2	D	I	12 (0.39)	12 (0.39)	7 (0.23)	31
CYP11B2	T-344	C-344	9 (0.29)	11 (0.36)	11 (0.36)	31
ADD1	Gly461	Trp461	21 (0.68)	10 (0.32)	0	31

All gene polymorphisms were in Hardy-Weinberg equilibrium except for the AGTR1 A1166C ($p = 0.028$)

Table 3. Association between genetic polymorphisms and changes in systolic and diastolic blood pressure after 2 weeks of treatment with candesartan presented in a rank order of significance.

Gene polymorphism	Δ Systolic BP (p value)	Gene polymorphism	Δ Diastolic BP (p value)
<i>AGTR1</i>	0.04	<i>AGTR1</i>	0.005
<i>eNOS298</i>	0.20	<i>AGT174</i>	0.15
<i>AGT174</i>	0.24	<i>BDKRB2</i>	0.18
<i>ACE</i>	0.31	<i>ADRB2</i>	0.21
<i>ADRB2</i>	0.32	<i>ADD1</i>	0.35
<i>BDKRB2</i>	0.36	<i>eNOS298</i>	0.36
<i>ADD1</i>	0.41	<i>ACE</i>	0.55
<i>eNOS786</i>	0.68	<i>CYP11B2</i>	0.71
<i>AGT235</i>	0.79	<i>eNOS786</i>	0.81
<i>CYP11B2</i>	0.99	<i>AGT235</i>	0.87

Comparisons by ANOVA controlling for dose; main effects p-values are reported (n = 31)

BP: blood pressure

Table 4. Association between selected gene polymorphisms on 24-week changes in NT-proBNP and hsCRP

Gene polymorphism	Δ NT-proBNP (p value)	Gene polymorphism	Δ hsCRP (p value)
<i>AGTR1</i>	0.03	<i>eNOS298</i>	0.06
<i>BDKRB2</i>	0.31	<i>AGTR1</i>	0.09
<i>ADD1</i>	0.54	<i>CYP11B2</i>	0.11
<i>AGT235</i>	0.63	<i>eNOS786</i>	0.17
<i>CYP11B2</i>	0.63	<i>ACE</i>	0.38
<i>AGT174</i>	0.66	<i>ADRB2</i>	0.49
<i>eNOS298</i>	0.73	<i>BDKRB2</i>	0.55
<i>eNOS786</i>	0.75	<i>AGT235</i>	0.64
<i>ADRB2</i>	0.84	<i>ADD1</i>	0.66
<i>ACE</i>	0.86	<i>AGT174</i>	0.72

Comparisons by Kruskal-Wallis one-way ANOVA; p-values are reported (n = 27)

hsCRP: high sensitivity C-reactive protein; NT-proBNP: N-terminal proB-type natriuretic peptide.

References

1. Martineau P, Goulet J. New competition in the realm of renin-angiotensin axis inhibition; the angiotensin II receptor antagonists in congestive heart failure. *Ann Pharmacother* 2001;35:71-84. DOI 10.1345/aph.19307
2. Farquharson CA, Struthers AD. Gradual reactivation over time of vascular tissue angiotensin I to angiotensin II conversion during chronic lisinopril therapy in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:767-75.
3. McMurray JJ, Ostergren J, Swedberg K, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function taking angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Added trial. *Lancet* 2003;362:767-71.
4. Cohn JN, Tognoni G. A randomized trial of the angiotensin-receptor blocker valsartan in chronic heart failure. *N Engl J Med* 2001;345(23):1667-75.
5. Lee DS, Pencina MJ, Benjamin EJ, et al. Association of parental heart failure with risk of heart failure in offspring. *N Engl J Med* 2006;355:138-47.
6. Rice GI, Jones AL, Grant PJ, Carter AM, Turner AJ, Hooper NM. Circulating activities of angiotensin-converting enzyme, its homolog, angiotensin-converting enzyme 2, and neprilysin in a family study. *Hypertension* 2006;48:914-20.
7. McNamara DM, Holubkov R, Postava L, et al. Pharmacogenetic interactions between angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy and the angiotensin-converting enzyme deletion polymorphism in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:2019-26.
8. Ozdemir V, Williams-Jones B, Cooper DM, Someya T, Godard B. Mapping translational research in personalized therapeutics: from molecular markers to health policy. *Pharmacogenomics* 2007;8:177-85.
9. White M, Lepage S, Lavoie J, et al. Effects of combined candesartan and ACE inhibitors on BNP, markers of inflammation and oxidative stress, and glucose regulation in patients with symptomatic heart failure. *J Card Fail* 2007;13:86-94.
10. Hallberg P, Lind L, Michaelsson K, et al. B2 bradykinin receptor (B2BKR) polymorphism and change in left ventricular mass in response to antihypertensive treatment: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *J Hypertens* 2003;21:621-624.

11. Kurland L, Melhus H, Karlsson J, et al. Polymorphisms in the angiotensinogen and angiotensin II type 1 receptor gene are related to change in left ventricular mass during antihypertensive treatment: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *J Hypertens* 2002;20:657-63.
12. Kurland L, Melhus H, Karlsson J, et al. Aldosterone synthase (CYP11B2) -344 C/T polymorphism is related to antihypertensive response: result from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *Am J Hypertens* 2002;15:389-93.
13. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990;86:1343-6.
14. Grant FD, Romero JR, Jeunemaitre X, et al. Low-renin hypertension, altered sodium homeostasis, and an alpha-adducin polymorphism. *Hypertension* 2002;39:191-6.
15. McNamara DM, Holubkov R, Postava L, et al. Effect of the Asp298 variant of endothelial nitric oxide synthase on survival for patients with congestive heart failure. *Circulation* 2003;107:1598-602.
16. Forleo C, Resta N, Sorrentino S, et al. Association of beta-adrenergic receptor polymorphisms and progression to heart failure in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Med* 2004;117:451-8.
17. Fernandez-Llama P, Poch E, Oriola J, Botey A, Rivera F, Revert L. Angiotensinogen gene M235T and T174M polymorphisms in essential hypertension: relation with target organ damage. *Am J Hypertens* 1998;11:439-44.
18. Kupari M, Hautanen A, Lankinen L, Koskinen P, Virolainen J, Nikkila H, et al. Associations between human aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphisms and left ventricular size, mass, and function. *Circulation* 1998;97:569-75.
19. Braun A, Kammerer S, Bohme E, Muller B, Roscher AA. Identification of polymorphic sites of the human bradykinin B2 receptor gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;211:234-40.

20. Morrison AC, Doris PA, Folsom AR, Nieto FJ, Boerwinkle E. G-protein beta3 subunit and alpha-adducin polymorphisms and risk of subclinical and clinical stroke. *Stroke* 2001;32:822-9.
21. Hibi K, Ishigami T, Tamura K, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and acute myocardial infarction. *Hypertension* 1998;32:521-6.
22. Fatini C, Sofi F, Sticchi E, Gensini F, Gori AM, Fedi S, et al. Influence of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms (G894T, 4a4b, T-786C) and hyperhomocysteinemia on the predisposition to acute coronary syndromes. *Am Heart J* 2004;147:516-21.
23. Kaye DM, Smirk B, Williams C, Jennings G, Esler M, Holst D. Beta-adrenoceptor genotype influences the response to carvedilol in patients with congestive heart failure. *Pharmacogenetics* 2003;13:379-82.
24. Shanmugam V, Sell KW, Saha BK. Mistyping ACE heterozygotes. *PCR Methods Appl* 1993;3:120-1.
25. Araujo MA, Goulart LR, Cordeiro ER, et al. Genotypic interactions of renin-angiotensin system genes in myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2005;103:27-32.
26. Hingorani AD, Brown MJ. A simple molecular assay for the C1166 variant of the angiotensin II type 1 receptor gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;213:725-9.
27. Schmidt S, Beige J, Walla-Friedel M, Michel MC, Sharma AM, Ritz E. A polymorphism in the gene for the angiotensin II type 1 receptor is not associated with hypertension. *J Hypertens* 1997;15:1385-8.
28. Anand IS, Florea VG, Fisher L. Surrogate end points in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1414-21.
29. Baudin B. Polymorphism in angiotensin II receptor genes and hypertension. *Exp Physiol* 2005;90:277-82.
30. Spiering W, Kroon AA, Fuss-Lejeune MM, Daemen MJ, de Leeuw PW. Angiotensin II sensitivity is associated with the angiotensin II type 1 receptor A(1166)C polymorphism in essential hypertensives on a high sodium diet. *Hypertension* 2000;36:411-6.

3. Discussion

Notre étude pharmacogénétique demeure, à ce jour, la seule étude publiée portant sur la pharmacogénétique des ARA en IC. Bien que nos résultats nous permettent uniquement de générer des hypothèses devant être validées, ils illustrent quand même l'importance potentielle que des polymorphismes associés à la pharmacodynamie de cet agent pourraient avoir en clinique. Étant donné la place grandissante des ARA dans le traitement de l'IC et de l'hypertension, il apparaît nécessaire que des études pharmacogénétiques additionnelles soient menées afin de permettre une meilleure sélection des individus devant recevoir ces agents. En fait, parmi les classes pharmacologiques couramment utilisées dans le traitement de l'IC ou de l'hypertension, les ARA représentent probablement l'une des classes les moins étudiées en pharmacogénétique.

Une fois ces études pharmacogénétiques complétées, il sera par ailleurs pertinent d'évaluer si la maladie pour laquelle un patient reçoit un traitement influence quels polymorphismes modulent la réponse à ces traitements ou l'ampleur de leur impact. Ce questionnement apparaît d'autant plus nécessaire quand on considère l'importante diversité existant dans la physiopathologie des maladies traitées avec ces agents et de la variabilité de l'importance du SRAA dans celles-ci. En fait, puisque l'indication pour laquelle un patient reçoit un traitement peut être un processus dynamique, il sera intéressant d'évaluer si un génotype donné modulera de façon similaire les bénéfices à un traitement pour diverses indications chez un individu. Par exemple, un patient intolérant aux IECA pourrait recevoir un ARA comme le candésartan comme antihypertenseur dans le traitement de l'hypertension,⁶⁵⁰ puis en prévention secondaire d'un infarctus du myocarde compliqué d'IC et ultimement dans le traitement de l'IC chronique. Bien que les études pharmacogénétiques actuelles soient peu susceptibles de répondre à une telle question, ces hypothèses pourraient être testées dans le cadre de l'une des importantes biobanques qui sont présentement en cours un peu partout à travers le monde. Le tableau XXI dresse une liste de certaines de ces biobanques.⁶⁵¹

Tableau XXI. Exemples sélectionnés de biobanques recrutant présentement des participants.

Biobanque	Pays	Nombre de patients qui seront recrutés
UK Biobank	Royaume-Uni	500 000
Personalized Medicine Research Project	États-Unis	20 000
Biobank Japan	Japon	300 000
Cohorte hospitalière de l'Institut de cardiologie de Montréal	Canada	30 000

Est-ce à dire que les avancées proposées dans l'individualisation du traitement des patients atteints d'IC permettront prochainement de contrer complètement les conséquences dévastatrices de l'IC chez les individus en souffrant? Malheureusement, ceci semble peu probable. En effet, dans le groupe de patients recevant le candésartan de CHARM-added, la mortalité se chiffrait à 30% après un suivi médian de seulement 41 mois, malgré une pharmacothérapie presque optimale.⁸ De façon similaire, dans l'étude CARE-HF (Cardiac Resynchronisation – Heart Failure),³⁸ qui a démontré qu'une thérapie de resynchronisation réduisait le risque de décès, le risque de décès était de 20% dans le groupe de resynchronisation cardiaque après un suivi d'à peine 29,4 mois, malgré l'utilisation d'une pharmacothérapie optimale (95% des patients traités avec un IECA, 70% avec un bêta-bloqueur). Ainsi, même en présence d'un traitement optimal, l'IC demeure une maladie avec un très mauvais pronostic. Il apparaît évident qu'un besoin pour des thérapies novatrices demeure présent. Il apparaît également évident que le nombre de candidats à une greffe cardiaque ne risque pas de diminuer au cours des prochaines années. Dans ce contexte, l'optimisation de la sélection des patients qui recevront une greffe cardiaque risque de prendre encore plus d'importance, tout comme l'individualisation de leur traitement. C'est avec cet objectif que le projet qui fait l'objet du chapitre 5 a été initié.

Chapitre 5. Une étude pharmacogénétique portant sur la néphrotoxicité induite par les inhibiteurs de la calcineurine.

1. Introduction

Les importantes percées dans le traitement de l'IC au cours des deux dernières décennies ont fait en sorte que les individus atteints de cette maladie vivent de plus en plus longtemps. La réduction du risque de mort subite avec l'utilisation des bêta-bloqueurs,^{20, 29, 31} des antagonistes de l'aldostérone³⁰ et des défibrillateurs^{34, 35, 37} a contribué de façon notable à cette amélioration. Toutefois, un effet pervers de ce bénéfice est qu'étant donné que moins de patients décèdent des suites d'une arythmie, davantage de patients progressent vers l'IC terminale réfractaire, ce qui augmente le nombre d'individus admissibles à une greffe cardiaque. En fait, les données actuelles suggèrent que le nombre de patients en attente d'une greffe cardiaque au Québec a presque doublé de 1996 à 2007, tandis que le nombre de greffes stagne (voir Figure 11). Des données américaines suggèrent des tendances similaires.⁶⁵² Face à ce besoin grandissant, l'optimisation de la sélection des patients éligibles à recevoir une greffe devient donc capitale afin de maximiser l'utilisation de cette ressource extrêmement limitée. Plus spécifiquement, il apparaît nécessaire de découvrir des facteurs ou caractéristiques permettant d'identifier les individus les moins susceptibles de rejeter l'organe greffé ou de présenter des effets indésirables aux immunosuppresseurs utilisés dans la prévention du rejet.

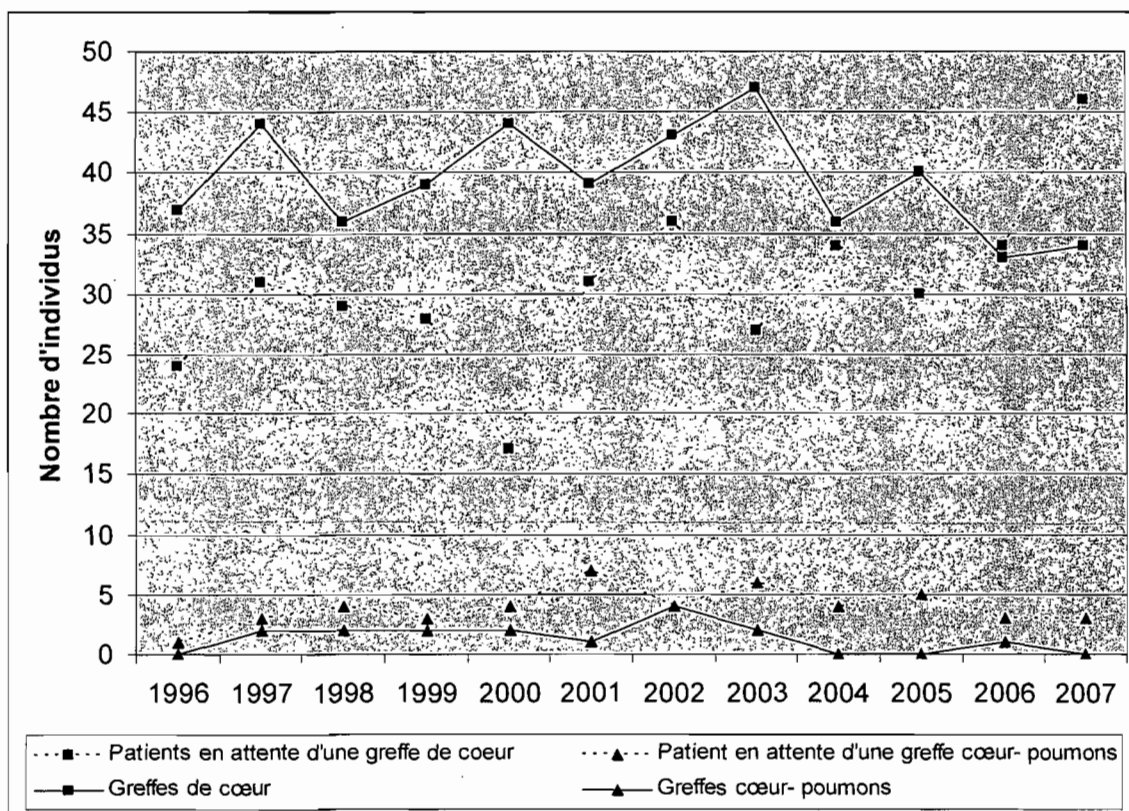


Figure 11. Nombre d'individus ayant reçu une greffe de cœur ou cœur-poumons et en attente de ces greffes au Québec de 1996 à 2007.

Source Québec-Transplant (www.quebec-transplant.qc.ca)

Tel que discuté dans l'introduction, la néphrotoxicité induite par les inhibiteurs de la calcineurine est un effet indésirable dévastateur pour les greffés cardiaques qui est associé à un risque accru de décès.^{467, 470} Bien que l'âge, le sexe, le diabète, l'hypertension, ainsi que la fonction rénale pré-greffe soient associés à cet effet indésirable,^{439, 466, 469, 470}

l'identification des patients les plus susceptibles de développer cet effet indésirable demeure difficile. Puisqu'une expression rénale réduite de la PGP et du CYP3A5 est associée à une augmentation du risque de cet effet indésirable,^{478, 490, 491, 496, 519} nous avons émis l'hypothèse que des polymorphismes des gènes codant pour ces protéines pourraient contribuer à l'identification des patients les plus susceptibles de développer cette complication. L'objectif principal de l'étude que nous avons effectuée afin de tester cette hypothèse était d'évaluer l'impact de polymorphismes génétiques de l'*ABCB1* et du *CYP3A5* sur la fonction rénale des patients recevant une greffe cardiaque suite à celle-ci.

Notre objectif secondaire était d'évaluer l'association entre ces polymorphismes et le ratio concentration/dose/kg des inhibiteurs de la calcineurine dans cette population.

2. Publication N° 4 (Soumise).***CYP3A5*1* is associated with a nephroprotective effect in heart transplant recipients treated with calcineurin inhibitors.**

Simon de Denus, B. Pharm, MSc^{1,2}, Marcin Zakrzewski, B. Pharm, MSc^{1,3}, Amina Barhdadi, PhD², Marie-Hélène Leblanc, MD⁴, Normand Racine, MD², François Bélanger, MSc³, Michel Carrier, MD², Anique Ducharme, MD, MSc², Marie-Pierre Dubé, PhD², Jacques Turgeon, PhD^{1,3} and Michel White, MD².

¹Faculty of Pharmacy/University of Montreal, Montreal, Quebec; ²Montreal Heart Institute, Montreal, Quebec, ³ Centre de recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal and ⁴ Hôpital Laval, Québec, Quebec.

Total word count: 5046

References: 47

Short title: de Denus, CYP3A5 and renal function

Journal subject codes: [109] Clinical genetics

Address for correspondence

Simon de Denus (email: [REDACTED]) or Michel White

[REDACTED] Both: Montreal Heart Institute, 5000 Bélanger, Montréal, Qc. H1T 1C8. Phone: 514-376-3330, ext 3935. Fax: 514-593-2575.

Abstract

Background. Post-transplant renal dysfunction is associated with increased morbidity and mortality. Renal expression of the cytochrome P450 3A5 (CYP3A5) isoenzyme and of the ATP-binding cassette (ABC) efflux transporter p-glycoprotein is inversely associated with calcineurin-induced nephrotoxicity. The association between polymorphisms of the genes encoding these proteins and the long-term renal function of heart transplant recipients treated with calcineurin inhibitors is unknown. **Methods and results.** Retrospective cohort study of 160 heart transplant recipients from two institutions who were discharged alive after transplant and who received a calcineurin inhibitor during follow-up. The primary endpoint of the study was to evaluate the impact of common variants of the genes encoding this isoenzyme (*CYP3A5**1 and *3) and this transporter (*ABCB1* G2677T/A and C3435T) on changes in estimated glomerular filtration rate (eGFR). The secondary endpoint was to compare the concentration/dose/kg ratio of cyclosporine and tacrolimus during follow-up in carriers of various alleles for *CYP3A5* and *ABCB1*. After adjusting for independent predictors of eGFR during follow-up, *CYP3A5* was significantly associated with eGFR following transplantation ($p = 0.0002$), with carriers of the *CYP3A5**1 allele exhibiting a higher eGFR. Moreover, *CYP3A5**1 was associated with a lower concentration/dose/kg ratio of tacrolimus ($p = 0.003$), but not cyclosporine, indicating higher dosage requirements to maintain therapeutic concentrations. No differences were noted for *ABCB1* variant alleles. **Conclusions.** The *CYP3A5**1 genetic polymorphism is a promising genetic marker to identify heart transplant recipients least likely to develop renal dysfunction during long-term treatment with a calcineurin inhibitor, in addition to guide tacrolimus dosing. **Key words:** Transplantation, kidney, pharmacogenomics, tacrolimus, cyclosporine.

Background

Cardiac transplantation is the treatment of choice for patients with terminal heart failure.^{1,2} The introduction of the calcineurin inhibitor cyclosporine in the 1980's to prevent graft rejection has resulted in a major impact on survival of patients receiving a heart transplant.³ Nonetheless, calcineurin inhibitors, cyclosporine and tacrolimus, have a narrow therapeutic index which requires careful dosing and monitoring.² Indeed, both agents produce a number of major side effects including dyslipidemia, hypertension, neurotoxicity, new onset diabetes and renal dysfunction.^{4,5} Approximately 5 to 10% of patients will develop terminal renal insufficiency in the five years following transplant⁶⁻⁸ which is associated with a doubling to quadrupling of death.^{7,9}

Current known risk factors for developing progressive renal dysfunction after a heart transplantation include age,^{3,6,9,10} sex,^{6,9} pretransplant diabetes^{3,6,9,10} and hypertension.^{3,9,10} Surprisingly, the association between concentrations of calcineurin inhibitors and post heart transplant renal dysfunction has been inconsistent.^{6,9} Considerable uncertainty remains in the identification of patients prior to transplant who are most likely to develop this adverse effect and who could possibly be candidate for calcineurin inhibitor-sparing treatment strategies.²

Previous studies have suggested that genetic polymorphisms of *ABCB1*, which codes for P-glycoprotein (P-gp), an ATP-binding cassette (ABC) efflux transporter,¹¹ and *CYP3A5*, which codes for the cytochrome P450 (CYP) 3A5 isoenzyme,¹² could influence the pharmacokinetics of calcineurin inhibitors, both substrates of these proteins.¹³⁻¹⁵ *CYP3A5* represents 50% of hepatic content of CYP3A in *CYP3A5* expressors.¹⁶ Moreover, it represents the most abundant member of CYP3A family in the kidneys.^{15,17,18} P-gp is present in many organs including the gut,¹⁹ liver,¹⁶ heart,²⁰ and kidneys.²¹ Heart (and lung) transplant recipients constitute a unique population to study the impact of selected genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of calcineurin inhibitors because these patients, contrary to gut, liver or kidney transplant recipients, are not recipients of an organ implicated in the absorption, metabolism or elimination of calcineurin inhibitors.²² They also constitute a unique population to study the impact of genetic variations on the risk of calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity, because potential discordances in genotypes

are avoided between the kidney and other organs of drug disposition, which could create mismatches in the metabolizing capacity between the kidney and other organs.²²⁻²⁴ Because the renal expression of P-gp and CYP3A5²⁵⁻²⁹ inversely correlates with the risk of calcineurin inhibitor-induced nephropathy, we conducted a study to test the hypothesis that genetic variants of these genes are associated with the risk of worsening renal function in heart transplant recipients treated with a calcineurin inhibitor.

Method

Study Patients

We conducted a retrospective cohort study of patients who received a heart transplantation at the Montreal Heart Institute and the Quebec Heart Institute between 1995 and 2003 and who had provided consent to be part of the RETEB (Réseau d'Échange de Tissus et d'Échantillons Biologiques). The RETEB is a network which collects and makes available blood and tissue samples for research purposes. Patients discharged alive and who received calcineurin inhibitors during follow-up were included in the current study. Clinical data were obtained through the RETEB data bank, clinical databases, and a retrospective chart review. Data were collected regarding patients characteristics prior to heart transplant, at hospital discharge, 3, 6, 12, 18, 24 months following heart transplant, and then every year for up to nine years. Follow-up visits during which the calcineurin inhibitor was stopped, temporarily or permanently, were not included in the analyses. This specific pharmacogenetic study was approved by the Scientific Research Committee and the Ethics Committee of the Montreal Heart Institute.

Genetic analysis

DNA was extracted from myocardial tissue obtained from the RETEB using the QIAamp DNA mini kit (Qiagen inc[®], Mississauga, Canada). Genotyping for *ABCB1* G2677T/A (rs2032582), C3435T (rs1045642) and *CYP3A5**3 (rs776746) was performed based on previously published work.^{30,31} Briefly, these polymorphisms were genotyped using the polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism (PCR/RFLP) method. The sense and the anti-sense oligonucleotide primers are included in the online supplement. PCR reactions were performed in a total volume of 25µl with 0.8µM of each primer (0.4µM for G2677T/A), 0.2µM of each dNTP (0.3µM for *CYP3A5**3), 1.5mM MgCl₂ (2mM for

G2677T/A), 1X PCR buffer (Invitrogen[®], Carlsbad, USA) and 1 UI of Taq polymerase (Invitrogen[®], Carlsbad, USA). PCR amplification consisted of an initial denaturation step for 2 min at 94°C (7 min for *CYP3A5*3*) followed by 35 cycles of denaturation at 94°C for 30 sec (1 min for *CYP3A5*3*), annealing at 60°C for 30 sec (55°C for 1 min for *CYP3A5*3*) and extension at 72°C for 1 min (30 sec for G2677T/A). The terminal elongation was carried out at 72°C for 7 min. The PCR-generated DNA fragments were thereafter digested with restriction enzymes (3 UI of BanI for G2677T, 3.5 UI of BsrI for G2677A, 1 UI of MboI for C3435T and 5 UI of SspI for *CYP3A5*3*), separated on a 2% agarose gel and visualized under UV light.

Study endpoints

The primary endpoint of the study was to evaluate the impact of three selected genetic polymorphisms on renal function in heart transplant recipients using the estimated glomerular filtration rate (eGFR) as calculated by the modification of diet in renal disease (MDRD) simplified formula.³² The secondary endpoint of the study consisted of evaluating the impact of these three genetic polymorphisms on the concentration/dose/kg ratio of cyclosporine and tacrolimus.²²

Statistical analyses

Continuous data are presented as mean \pm SD or median (25th;75th percentiles) where appropriate, and categorical variables are presented as percentages. Pretransplant and discharge eGFR were compared between genotypes using the Kruskal-Wallis one-way ANOVA. Allele and genotype frequencies were calculated for all polymorphisms and the haplotype frequencies were inferred for the *ABCB1* polymorphisms using the Expectation Maximisation Algorithm. We tested the Hardy Weinberg equilibrium for each of these polymorphism and we tested the linkage disequilibrium between them. The chi-square goodness-of-fit test was used to test markers for Hardy Weinberg equilibrium and linkage disequilibrium.

To evaluate the association between the candidate genetic polymorphisms, haplotypes and the endpoints, we used the general linear mixed model for the regression analysis of correlated data. Because of the limited number of *CYP3A5*1* homozygotes, all carriers of

the *CYP3A5**1 allele were analyzed as one group. We used the SAS mixed procedure which offers repeated measures analyses that account for within subject covariability and employs a more general covariance structure approach. We choose the autoregressive covariance structure provided by mixed procedure because the measures are equally spaced over time for each subject. We choose also the likelihood based method in Proc MIXED because the data are unbalanced by design. Factors that were associated with the endpoint of interest during a univariate analysis ($p < 0.05$) were included in the final multivariate model which included all genetic polymorphisms. For renal function, these covariates evaluated were age at discharge, sex, pre-transplant diabetes and hypertension. For the concentration/dose/kg ratio of cyclosporine and tacrolimus, we used age and sex as covariates. SAS/Genetics and NCSS were used for the statistical analyses. P values < 0.05) were considered statistically significant.

Results

A total of 160 patients were included (Table 1). Patients were mainly males (79.4%), with a median age of 53.2 (43.5; 58.2) years and were mostly Caucasians (98.1%). A total of 47.5% of patients had ischemic heart failure prior to transplant with a median left ventricular ejection fraction of 20 (15;25) %. Patients had moderate renal dysfunction prior to transplant with an estimated GFR of 56.2 (46.0; 70.1) ml/min/1.73 m². There was no significant difference in pretransplant eGFR between genotypes ($p > 0.27$). All patients were receiving standard immunosuppressive treatment (Table 1). Only one patient had his calcineurin inhibitor temporarily stopped at hospital discharge but it was reinitiated between that time and three month follow-up.

Table 2 describes the frequency of the genetic polymorphisms in the study population. No genetic polymorphism deviated from the Hardy-Weinberg equilibrium (p value > 0.05). As expected, there was a strong linkage disequilibrium between the T alleles of genetic polymorphisms from the *ABCB1* gene ($\chi^2 = 80.6$; $p < 0.0001$). Table 3 describes inferred haplotypes for the *ABCB1* gene.

The mean follow-up was 4.2 ± 2.7 years. There was no difference in follow-up duration between any of the studied genotypes. Figure 1 illustrates calcineurin inhibitor through

concentrations according to genotype during the follow-up. There was no significant difference regarding cyclosporine or tacrolimus concentrations between the different *CYP3A5* or *ABCB1* C3435T genotypes. In regards to the *ABCB1* G2677T/A polymorphism, no difference was observed regarding tacrolimus concentrations, but a significant difference was observed regarding cyclosporine concentrations ($p = 0.004$).

Predictors of renal function after transplant

On univariate analysis (Table 4), *CYP3A5* was strongly associated with post transplant eGFR ($p=0.004$). Neither of the *ABCB1* polymorphisms was associated with eGFR on univariate analysis. Among clinical variables, age ($p < 0.0001$), gender ($p = 0.02$) and a prior history of hypertension ($p = 0.0002$) were associated with post transplant eGFR. Pre-transplant diabetes was not associated with eGFR during follow-up.

After adjusting for these independent predictors of eGFR during follow-up (Table 4), *CYP3A5* genotype remained strongly associated with eGFR following transplant ($p = 0.002$, Figure 2), with carriers of the *CYP3A5*1* allele having a higher eGFR. This nephroprotective effect appeared early, with *CYP3A5*1* carriers demonstrating a higher eGFR at discharged following the heart transplantation ($p = 0.03$), and was sustained throughout follow-up. Neither *ABCB1* G2677T/A nor C3435T polymorphism were associated with post transplant renal function after adjusting for these possible confounders. Similarly, none of the *ABCB1* haplotypes was associated with eGFR during follow-up.

Concentration/dose/kg ratio of calcineurin inhibitors.

CYP3A5 ($p = 0.004$) and gender ($p = 0.002$) were associated with tacrolimus concentration/dose/kg ratio on univariate analysis, while a trend was observed for the *ABCB1* C3435T polymorphism ($p= 0.096$). On multivariate analysis, *CYP3A5* genotype remained highly significant ($p = 0.001$), with *CYP3A5*1* carriers having a lower ratio, thereby reflecting higher dosing requirement to maintain similar blood concentrations (Figure 3). A more modest ($p = 0.03$) and less definitive association was observed regarding *ABCB1* C3435T. No association was observed between the tacrolimus concentration/dose/kg ratio and the *ABCB1* G2677T/A polymorphism. None of the genetic polymorphisms studied was related to cyclosporine concentration/dose/kg ratio. None of

the *ABCB1* haplotypes was associated with the concentration/dose/kg ratio of the calcineurin inhibitors.

Discussion

Calcineurin inhibitor-induced nephropathy is a multifactorial phenomena. Acute renal dysfunction is the result of a deleterious vasoconstriction of the afferent renal arteriole secondary to an imbalance between vasodilating and vasoconstriction substances.^{33,34} Chronically, it evolves into irreversible damage characterized by interstitial fibrosis, tubular atrophy, intimal hyperplasia and arteriopathy.^{33,34} Because clinical characteristics and the concentrations of calcineurin-inhibitors do not completely account for the risk of this deadly^{7,9} adverse drug reaction, the identification of predictors of post transplant renal dysfunction could have important therapeutic implications for heart transplant recipients.

This study provides the first data of an association between *CYP3A5* genotype and renal function in a cohort of heart transplant recipients treated by calcineurin inhibitors. More specifically, we have demonstrated that the functional *CYP3A5*1* allele is nephroprotective in patients treated with calcineurin inhibitors. This effect appeared early following transplantation and was sustained during follow-up. Moreover, the impact of the *CYP3A5* polymorphism on post-transplant renal function remained after adjusting for known predictors of renal dysfunction. We hypothesize that this nephroprotective effect could be attributed to the known increases in renal *CYP3A5* activity and calcineurin inhibitor metabolism of *CYP3A5*1* carriers,¹⁵ which would lead to lower concentrations of these nephrotoxic agents in the kidneys. Oppositely, homozygotes for the *CYP3A5*3* allele, a splice variant in intron 3 (A6986G) that produces a premature stop codon and a defect in the *CYP3A5* expression in the kidney,¹⁷ would be expected to result in higher renal concentrations of these nephrotoxic agents and, as we observed, worsening renal function. Our data are consistent with a previous small study reporting a decreased renal expression of *CYP3A5* in patients with calcineurin inhibitor-induced nephropathy compared to control patients with various renal diagnoses.²⁹ Our results contrast with a recent report by Klauke, who found no association between *CYP3A5* and post transplant renal dysfunction in a case-control study (N=106).³⁵ These discrepancies could be attributed to a different study design

and the extended period time since transplant (with a mean of approximately 8.5 years) for patients included in that latter study.

Moreover, we confirmed previous findings that *CYP3A5*1* carriers require higher doses of tacrolimus to maintain similar concentrations, as illustrated by a lower concentration/dose/kg ratio.³⁶⁻⁴⁰ Hence, our results suggest that, although *CYP3A5*1* carriers require higher doses of tacrolimus to maintain recommended concentrations of tacrolimus,² the use of these high doses does not translate into an increased risk of renal dysfunction in these patients. We did not observe any significant association between *CYP3A5* and cyclosporine requirements, despite the fact that cyclosporine is also metabolized by CYP3As. This could reflect the poor correlation between the cyclosporine concentration-time area under the curve⁴¹ and pre-dose cyclosporine concentrations, which are commonly monitored and recommended in clinical practice.² In contrast, the correlation between tacrolimus trough levels and the concentration-time area under the curve is stronger, with a correlation as high as 0.9 in some reports of heart transplant patients.⁴²⁻⁴⁴ This poor correlation with cyclosporine could also contribute to the variable associations reported between *CYP3A5* genotype and other genetic polymorphisms and cyclosporine pharmacokinetics and dosing requirements. In addition, because of the retrospective nature of our study, blood samples for calcineurin inhibitor concentrations were not obtained or measured in a standardized fashion, which could have reduced our power to detect such an association.

Although an important number of *ABCB1* genetic polymorphisms have been identified,¹⁹ two have been most widely studied, the G2677T/A and C3435T. The *ABCB1* G2677T/A polymorphism in exon 21 results in a modification in amino acid sequence (Ala893Ser/Thr) and has been proposed to modulate P-gp activity.^{45,46} Although initial reports suggested that the C3435T synonymous polymorphism in exon 26 was associated with P-gp expression,¹⁹ others have challenged these observations.⁴⁷ Other studies in heart transplant recipient have also found no association between *ABCB1* G2677T and/or C3435T and post heart transplant renal dysfunction.^{11,35} The impact of these genetic variants on the pharmacokinetics of calcineurin inhibitors has been inconsistent.^{37,40}

Conclusions

The results of our study indicate that *CYP3A5* genotype is associated with renal function in a large cohort of heart transplant recipients treated with a tacrolimus or cyclosporine and with tacrolimus dose requirements. If our results are replicated by others, *CYP3A5* could become an important tool to identify patients who are least likely to develop calcineurin-inhibitor induced renal dysfunction and who should receive higher doses of tacrolimus as part of their immunosuppressive regimen. Given the consistency of data regarding the association between *CYP3A5* and tacrolimus dosing requirements, prospective genotype-based prescribing trials are warranted to determine whether the use of pharmacogenomics in these patients can improve the quality of their treatment and clinical outcomes.

Funding: This study was supported by the Montreal Heart Institute Foundation, Canadian Institutes of Health Research, Centre de recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal.

Disclosure: Dr White has received research grants from Astella Pharma Canada and Novartis Pharma Canada and has received consulting fees from Astella Pharma Canada.

References

1. Mehra MR, Kobashigawa J, Starling R, Russell S, Uber PA, Parameshwar J, Mohacsi P, Augustine S, Aaronson K, Barr M. Listing criteria for heart transplantation: International Society for Heart and Lung Transplantation guidelines for the care of cardiac transplant candidates--2006. *J Heart Lung Transplant* 2006;25:1024-1042.
2. Ross H, Hendry P, Dipchand A, Giannetti N, Hirsch G, Isaac D, Singh N, West L, White M, Ignaszewski A, Chung AM, Straatman L, Modry D, Tymchak W, Burton J, Warnica W, Azevedo JE, Kostuk W, Menkis A, Pflugfelder P, Quantz M, Davies R, Haddad H, Masters R, Cusimano R, Delgado D, Feindel C, Rao V, Cantarovich M, Cecere R, Carrier M, Pellerin M, Doyle D, LeBlanc MH, Howlett J. 2001 Canadian Cardiovascular Society Consensus Conference on cardiac transplantation. *Can j cardiol* 2003;19:620-654.
3. Taylor DO, Edwards LB, Boucek MM, Trulock EP, Aurora P, Christie J, Dobbels F, Rahmel AO, Keck BM, Hertz MI. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult heart transplant report--2007. *J Heart Lung Transplant* 2007;26:769-781.
4. Kobashigawa JA, Patel J, Furukawa H, Moriguchi JD, Yeatman L, Takemoto S, Marquez A, Shaw J, Oeser BT, Subherwal S, Wu GW, Kawano J, Laks H. Five-year results of a randomized, single-center study of tacrolimus vs microemulsion cyclosporine in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant* 2006;25:434-439.
5. White M, Haddad H, Leblanc MH, Giannetti N, Pflugfelder P, Davies R, Isaac D, Burton J, Chan M, Azevedo E, Howlett J, Ignaszewski A, Busque S, Cantarovich M, Ferguson R, Genest J, Ross H. Conversion from cyclosporine microemulsion to tacrolimus-based immunoprophylaxis improves cholesterol profile in heart transplant recipients with treated but persistent dyslipidemia: the Canadian multicentre randomized trial of tacrolimus vs cyclosporine microemulsion. *J Heart Lung Transplant* 2005;24:798-809.
6. Rubel JR, Milford EL, McKay DB, Jarcho JA. Renal insufficiency and end-stage renal disease in the heart transplant population. *J Heart Lung Transplant*. 2004;23:289-300.

7. Ojo AO, Held PJ, Port FK, Wolfe RA, Leichtman AB, Young EW, Arndorfer J, Christensen L, Merion RM. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med* 2003;349:931-940.
8. Lindenfeld J, Page RL, 2nd, Zolty R, Shakar SF, Levi M, Lowes B, Wolfel EE, Miller GG. Drug therapy in the heart transplant recipient: Part III: common medical problems. *Circulation* 2005;111:113-117.
9. van Gelder T, Balk AH, Zietse R, Hesse C, Mochtar B, Weimar W. Renal insufficiency after heart transplantation: a case-control study. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:2322-2326.
10. Vossler MR, Ni H, Toy W, Hershberger RE. Pre-operative renal function predicts development of chronic renal insufficiency after orthotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2002;21:874-881.
11. Barnard JB, Richardson S, Sheldon S, Fildes J, Pravica V, Hutchinson IV, Leonard CT, Yonan N. The MDR1/ABCB1 gene, a high-impact risk factor for cardiac transplant rejection. *Transplantation* 2006;82:1677-1682.
12. Zheng H, Webber S, Zeevi A, Schuetz E, Zhang J, Bowman P, Boyle G, Law Y, Miller S, Lamba J, Burckart GJ. Tacrolimus dosing in pediatric heart transplant patients is related to CYP3A5 and MDR1 gene polymorphisms. *Am J Transplant* 2003;3:477-483.
13. Schwab M, Eichelbaum M, Fromm MF. Genetic polymorphisms of the human MDR1 drug transporter. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2003;43:285-307.
14. Masuda S, Inui K. An up-date review on individualized dosage adjustment of calcineurin inhibitors in organ transplant patients. *Pharmacology & therapeutics* 2006;112:184-198.
15. Dai Y, Iwanaga K, Lin YS, Hebert MF, Davis CL, Huang W, Kharasch ED, Thummel KE. In vitro metabolism of cyclosporine A by human kidney CYP3A5. *Biochemical pharmacology* 2004;68:1889-1902.
16. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, Watkins PB, Daly A, Wrighton SA, Hall SD, Maurel P, Relling M, Brimer C, Yasuda K, Venkataramanan R, Strom S, Thummel K, Boguski MS, Schuetz E. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nature genetics* 2001;27:383-391.

17. Givens RC, Lin YS, Dowling AL, Thummel KE, Lamba JK, Schuetz EG, Stewart PW, Watkins PB. CYP3A5 genotype predicts renal CYP3A activity and blood pressure in healthy adults. *J Appl Physiol* 2003;95:1297-1300.
18. Haehner BD, Gorski JC, Vandenbranden M, Wrighton SA, Janardan SK, Watkins PB, Hall SD. Bimodal distribution of renal cytochrome P450 3A activity in humans. *Mol pharmacol* 1996;50:52-59.
19. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmoller J, Johné A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, Brinkmann U. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:3473-3478.
20. Couture L, Nash JA, Turgeon J. The ATP-binding cassette transporters and their implication in drug disposition: a special look at the heart. *Pharmacol rev.* 2006;58:244-258.
21. Siegsmond M, Brinkmann U, Schaffeler E, Weirich G, Schwab M, Eichelbaum M, Fritz P, Burk O, Decker J, Alken P, Rothenpieler U, Kerb R, Hoffmeyer S, Brauch H. Association of the P-glycoprotein transporter MDR1(C3435T) polymorphism with the susceptibility to renal epithelial tumors. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1847-1854.
22. Hauser IA, Schaeffeler E, Gauer S, Scheuermann EH, Wegner B, Gossmann J, Ackermann H, Seidl C, Hoher B, Zanger UM, Geiger H, Eichelbaum M, Schwab M. ABCB1 genotype of the donor but not of the recipient is a major risk factor for cyclosporine-related nephrotoxicity after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:1501-1511.
23. Hebert MF, Dowling AL, Gierwatowski C, Lin YS, Edwards KL, Davis CL, Marsh CL, Schuetz EG, Thummel KE. Association between ABCB1 (multidrug resistance transporter) genotype and post-liver transplantation renal dysfunction in patients receiving calcineurin inhibitors. *Pharmacogenetics* 2003;13:661-674.
24. Kuypers DR, de Jonge H, Naesens M, Lerut E, Verbeke K, Vanrenterghem Y. CYP3A5 and CYP3A4 but not MDR1 single-nucleotide polymorphisms determine long-term tacrolimus disposition and drug-related nephrotoxicity in renal recipients. *Clin Pharmacol Ther* 2007;82:711-725.

25. Joy MS, Nিকেleit V, Hogan SL, Thompson BD, Finn WF. Calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity and renal expression of P-glycoprotein. *Pharmacotherapy* 2005;25:779-789.
26. Koziolk MJ, Riess R, Geiger H, Thevenod F, Hauser IA. Expression of multidrug resistance P-glycoprotein in kidney allografts from cyclosporine A-treated patients. *Kidney Int* 2001;60:156-166.
27. del Moral RG, Andujar M, Ramirez C, Gomez-Morales M, Masseroli M, Aguilar M, Olmo A, Arrebola F, Guillen M, Garcia-Chicano MJ, Nogales FF, O'Valle F. Chronic cyclosporin A nephrotoxicity, P-glycoprotein overexpression, and relationships with intrarenal angiotensin II deposits. *Am J Pathol* 1997;151:1705-1714.
28. Del Moral RG, Olmo A, Osuna A, Aguilar M, Carvia R, Becerra P, Arrebola F, Guillen M, Reguero ME, Asensio C, O'Valle F. Role of P-glycoprotein in chronic cyclosporine nephrotoxicity and its relationship to intrarenal angiotensin II deposits. *Transplant Proc* 1998;30:2014-2016.
29. Joy MS, Hogan SL, Thompson BD, Finn WF, Nিকেleit V. Cytochrome P450 3A5 expression in the kidneys of patients with calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:1963-1968.
30. Cascorbi I, Gerloff T, Johne A, Meisel C, Hoffmeyer S, Schwab M, Schaeffeler E, Eichelbaum M, Brinkmann U, Roots I. Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69:169-174.
31. van Schaik RH, van der Heiden IP, van den Anker JN, Lindemans J. CYP3A5 variant allele frequencies in Dutch Caucasians. *Clin Chem* 2002;48:1668-1671.
32. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999;130:461-470.
33. Johnson DW, Saunders HJ, Johnson FJ, Huq SO, Field MJ, Pollock CA. Cyclosporin exerts a direct fibrogenic effect on human tubulointerstitial cells: roles of insulin-like growth factor I, transforming growth factor beta1, and platelet-derived growth factor. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;289:535-542.

34. Ramirez C, Olmo A, O'Valle F, Masseroli M, Aguilar M, Gomez-Morales M, Revelles F, Garcia-Chicano MJ, Arrebola F, Reguero ME, del Moral RG. Role of intrarenal endothelin 1, endothelin 3, and angiotensin II expression in chronic cyclosporin A nephrotoxicity in rats. *Exp Nephrol* 2000;8:161-172.
35. Klauke B, Wirth A, Zittermann A, Bohms B, Tenderich G, Korfer R, Milting H. No association between single nucleotide polymorphisms and the development of nephrotoxicity after orthotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2008;27:741-745.
36. Thervet E, Anglicheau D, King B, Schlageter MH, Cassinat B, Beaune P, Legendre C, Daly AK. Impact of cytochrome p450 3A5 genetic polymorphism on tacrolimus doses and concentration-to-dose ratio in renal transplant recipients. *Transplantation* 2003;76:1233-1235.
37. Tsuchiya N, Satoh S, Tada H, Li Z, Ohyama C, Sato K, Suzuki T, Habuchi T, Kato T. Influence of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients. *Transplantation* 2004;78:1182-1187.
38. Roy JN, Barama A, Poirier C, Vinet B, Roger M. Cyp3A4, Cyp3A5, and MDR-1 genetic influences on tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant recipients. *Pharmacogenet Genomics* 2006;16:659-665.
39. Uesugi M, Masuda S, Katsura T, Oike F, Takada Y, Inui K. Effect of intestinal CYP3A5 on postoperative tacrolimus trough levels in living-donor liver transplant recipients. *Pharmacogenet Genomics* 2006;16:119-127.
40. Goto M, Masuda S, Kiuchi T, Ogura Y, Oike F, Okuda M, Tanaka K, Inui K. CYP3A5*1-carrying graft liver reduces the concentration/oral dose ratio of tacrolimus in recipients of living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics* 2004;14:471-478.
41. Cantarovich M, Besner JG, Barkun JS, Elstein E, Loertscher R. Two-hour cyclosporine level determination is the appropriate tool to monitor Neoral therapy. *Clin Transplant* 1998;12:243-249.
42. Undre NA, Stevenson PJ. Pharmacokinetics of tacrolimus in heart transplantation. *Transplant Proc* 2002;34:1836-1838.

43. Aidong W, Zhenjie C, Tong L, Lei Z, Yin W, Shanqi Z, Liping T. Therapeutic drug monitoring of tacrolimus in early stage after heart transplantation. *Transplant Proc* 2004;36:2388-2389.
44. Oellerich M, Armstrong VW. The role of therapeutic drug monitoring in individualizing immunosuppressive drug therapy: recent developments. *Ther Drug Monit* 2006;28:720-725.
45. Schaefer M, Roots I, Gerloff T. In-vitro transport characteristics discriminate wild-type ABCB1 (MDR1) from ALA893SER and ALA893THR polymorphisms. *Pharmacogenet Genomics* 2006;16:855-861.
46. Kurata Y, Ieiri I, Kimura M, Morita T, Irie S, Urae A, Ohdo S, Ohtani H, Sawada Y, Higuchi S, Otsubo K. Role of human MDR1 gene polymorphism in bioavailability and interaction of digoxin, a substrate of P-glycoprotein. *Clin Pharmacol Ther.* 2002;72:209-219.
47. Chowbay B, Li H, David M, Cheung YB, Lee EJ. Meta-analysis of the influence of MDR1 C3435T polymorphism on digoxin pharmacokinetics and MDR1 gene expression. *Br J Clin Pharmacol* 2005;60:159-171.

Figures

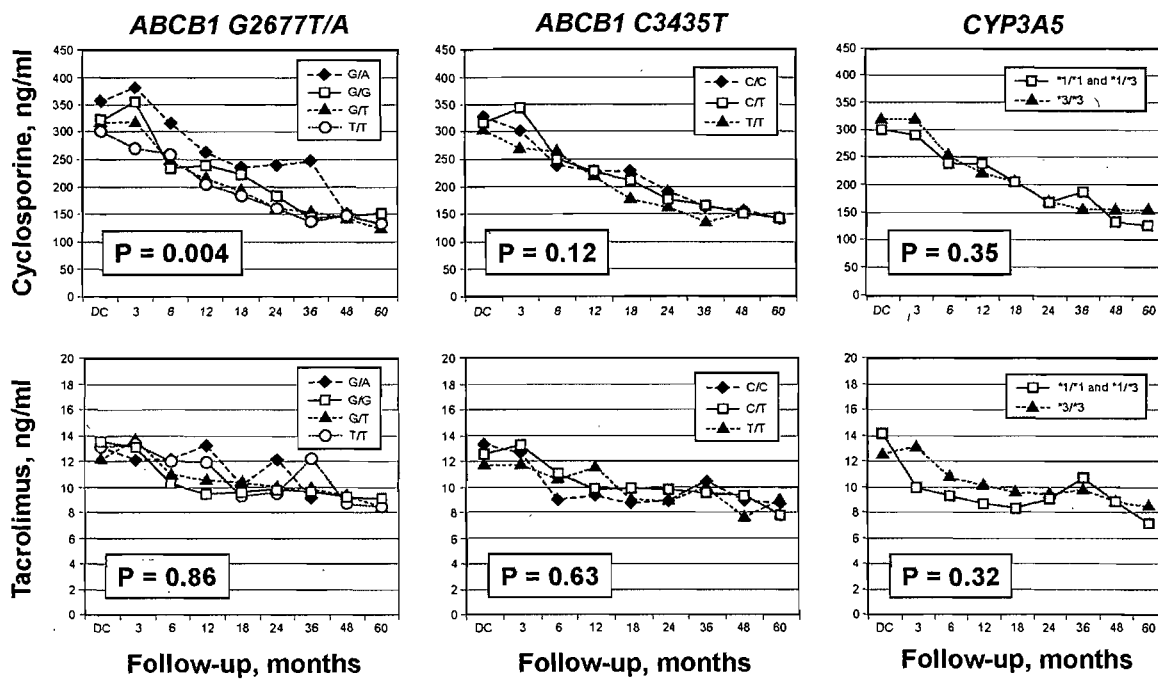


Figure 1.

Figure 1. Mean concentrations of cyclosporine and tacrolimus during follow-up for the *ABCB1* G2677T/A, *ABCB1* C3435T and *CYP3A5* genetic variants. DC: Hospital discharge after transplantation

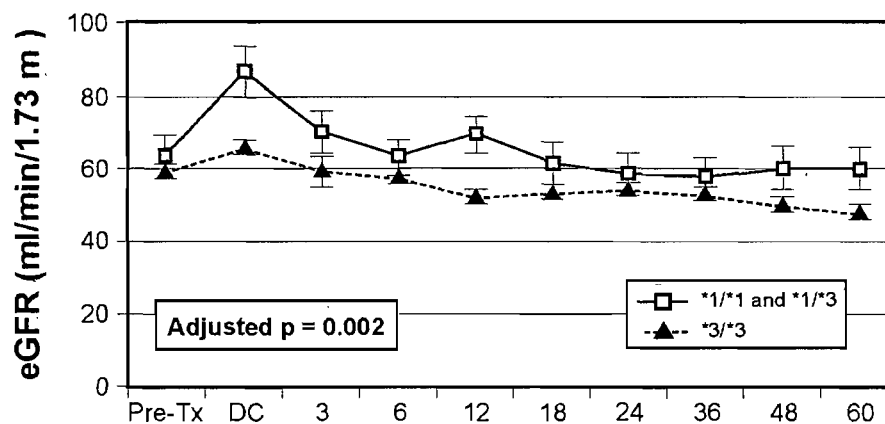


Figure 2. Estimated glomerular filtration rate before heart transplant and during follow-up for the *CYP3A5* genetic variants. Data are presented as mean \pm SEM. DC: Hospital discharge after transplantation; eGFR: estimated glomerular filtration rate; Pre-tx: pre-transplant.

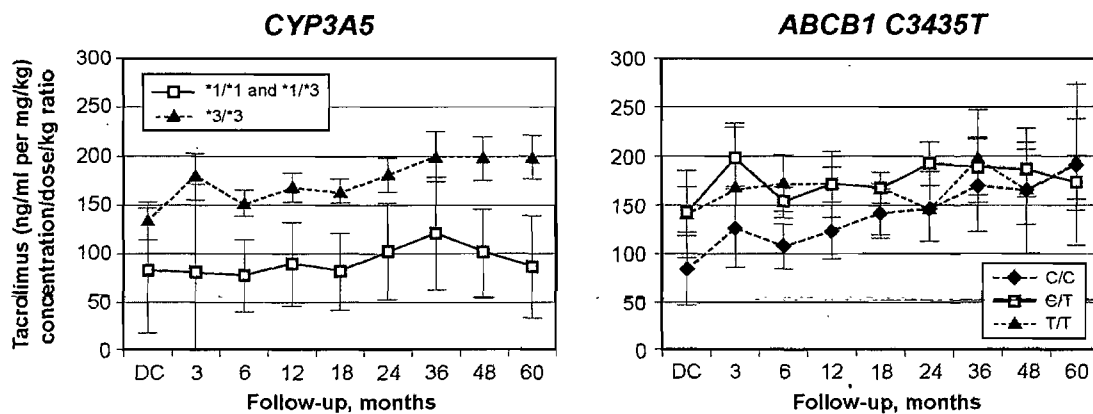


Figure 3. Tacrolimus concentration/dose/kg ratio during follow-up for the *ABCB1* C3435T and *CYP3A5* genetic variants. Data are presented as mean \pm SEM. A. *CYP3A5* genotype: $p = 0.02$, adjusted = 0.001. B. *ABCB1* C3435T genotype: $p = 0.096$, adjusted $p = 0.03$. DC: Hospital discharge after transplantation.

Table 1. Baseline characteristics

Characteristics	Population (N =160)
Gender males, n (%)	127 (79.4)
Age (years)	53.2 (43.5;58.2)
Caucasians, n (%)	157 (98.1)
Ischemic etiology, n (%)	76 (47.5)
LVEF, prior to transplantation, %	20 (15;25)
Diabetes prior to transplantation, n (%)	16 (10.0)
Hypertension prior to transplantation, n (%)	36 (22.5)
eGFR prior to transplantation, ml/min/1.73 m ²	56.2 (46.0;70.1)
Immunosuppressive regiment at hospital discharge	
Cyclosporine, n (%)	125 (78.1)
Tacrolimus, n (%)	34 (21.3)
Mycophenolate mofetil, n (%)	109 (68.1)
Azathioprine, n (%)	42 (26.3)
Prednisone, n (%)	100 (62.5)
Prednisolone, n (%)	60 (37.5)

Continuous data are presented as median (25th;75th) percentile.

LVEF: Left ventricular ejection fraction

Table 2: Genotype Frequencies

Locus	Genotype	Count	Freq
<i>ABCB1</i> G2677T/A	A/G	5	0.03
	G/G	54	0.34
	G/T	68	0.43
	T/T	33	0.21
<i>ABCB1</i> C3435T	C/C	33	0.21
	C/T	93	0.58
	T/T	34	0.21
<i>CYP3A5</i>	*1/*1	2	0.01
	*1/*3	14	0.09
	*3/*3	144	0.90

Table 3: *ABCBI* haplotype inferred frequencies

Haplotype (G2677T/A-C3435T)	Freq	95%CI
A-C*	1.17×10^{-06}	(0; 1.2×10^{-4})
A-T	0.016	(0.002;0.029)
G-C	0.462	(0.407;0.517)
G-T	0.104	(0.070;0.137)
T-C	0.035	(0.015;0.055)
T-T	0.38	(0.331;0.437)

*The frequency of haplotype A-C is almost zero, so it was not consider in the association studies.

Table 4. Predictors of eGFR during follow-up.

Variable	Univariate		Multivariate	
	F value	P value	F value	P value
<i>ABCB1</i> G2677T/A	0.66	0.58	0.96	0.41
<i>ABCB1</i> C3435T	0.19	0.83	0.10	0.91
<i>CYP3A5</i>	8.31	0.004	9.94	0.002
Age	112.09	< 0.0001	112.15	< 0.0001
Gender	5.44	0.02	11.67	0.0008
Diabetes	0.16	0.69	-	-
Hypertension	14.14	0.0002	13.42	0.0003

Online data supplement

Table. Oligonucleotide primers used

Genetic polymorphism	Oligonucleotide primers
<i>ABCB1</i> G2677T	Sense: 5' TGC AGG CTA TAG GTT CCA GG 3' Anti-sense: 5' TTT AGT TTG ACT CAC CTT CCC G 3'
<i>ABCB1</i> G2677A	Sense: 5' TGC AGG CTA TAG GTT CCA GG 3' Anti-sense: 5' GTT TGA CTC ACC TTC CCA G 3'
<i>ABCB1</i> C3435T	Sense: 5' GAT CTG TGA ACT CTT GTT TTC A 3' Anti-sense: GAA GAG AGA CTT ACA TTA GGC 3'
<i>CYP3A5</i> *3	Sense: 5' CAT CAG TTA GTA GAC AGA TGA 3' Anti-sense: 5' GGT CCA AAC AGG GAA GAA ATA 3'

3. Discussion

Cette étude nous a permis de démontrer que le génotype du *CYP3A5* pourrait éventuellement être utile afin d'identifier les patients les moins susceptibles de voir leur fonction rénale s'aggraver lorsqu'ils sont traités avec les inhibiteurs de la calcineurine. Par ailleurs, notre étude a confirmé l'impact du *CYP3A5* sur les doses de tacrolimus à administrer afin de maintenir des concentrations thérapeutiques. Ainsi, nos résultats indiquent que le génotype de ce gène permettrait éventuellement l'individualisation de l'immunosuppression chez les greffés cardiaques en permettant soit d'individualiser la dose de tacrolimus au moment de la greffe, ou d'identifier les patients chez qui une immunosuppression minimisant l'utilisation des inhibiteurs de la calcineurine devrait être favorisée. Par ailleurs, il est important de souligner que cette association était indépendante des facteurs de risque de néphrotoxicité établis, illustrant ainsi que la combinaison de caractéristiques cliniques et génétiques pourrait éventuellement permettre l'identification des patients les plus susceptibles de développer cet effet indésirable. Par contre, il est important de souligner que la contribution du *CYP3A5* était modeste (5 à 10 ml/min). Ceci n'est pas surprenant quand on considère la complexité ainsi que les multiples facteurs impliqués dans l'aggravation de la fonction rénale après la greffe.

Bien qu'une seule étude évaluant l'impact de polymorphismes génétiques l'*ABCB1* avait été publiée avant le début de nos travaux et qu'aucune n'avait évalué celui du *CYP3A5*, d'autres études ont été publiées depuis. Nous discuterons donc plus en détail celles-ci (voir Tableau XXII). En greffe cardiaque, deux études ont été publiées. Dans la première,⁶⁵³ Barnard, similairement à nous, n'a détecté aucun impact des polymorphismes G2677T ou C3435T de l'*ABCB1* sur le risque de néphropathie induite par des inhibiteurs de la calcineurine chez 170 greffés cardiaques. Similairement, dans une étude cas-témoin de 106 patients, Klauke n'a pas observé d'association entre le polymorphisme *ABCB1* C2677T et le risque d'insuffisance rénale.⁶⁵⁴ Toutefois, contrairement à nous, ces derniers n'ont pas observé d'association avec le *CYP3A5**3. Ceci pourrait s'expliquer par des différences au niveau du devis de l'étude, du temps écoulé depuis la greffe chez les patients au moment de l'étude (plus de huit ans) ou le fait que nos mesures de la fonction rénale s'échelonnaient sur plusieurs années. En fait, la différence la plus importante est probablement liée au choix du phénotype d'intérêt. En effet, nous avons évalué l'effet de ce polymorphisme sur

la clairance de la créatinine, une variable continue, et n'avons observé qu'un impact modeste sur celle-ci (5 à 10 ml/min). Les auteurs de cette étude ont quant à eux sélectionné la présence ou l'absence d'insuffisance rénale, ce qui limitait leur puissance statistique. En considérant que la fréquence de l'allèle *CYP3A5*1* était de 14% dans le groupe contrôle, ceux-ci n'auraient eu qu'une puissance de 30% pour démontrer une différence aussi importante que de 10% dans la fréquence de cet allèle (fréquence de 4% dans les patients ayant développé de la néphrotoxicité). L'avantage statistique de définir un phénotype en termes de variables continues plutôt que dichotomiques a été souligné par plusieurs.⁶⁵⁵⁻⁶⁵⁷

Trois études ont par ailleurs porté sur le risque de néphropathie induite par le tacrolimus (1 étude)⁶⁵⁸ et par la cyclosporine (2 études),^{659, 660} respectivement, chez des patients greffés rénaux. Deux de ces études cas-témoins ont étudié les polymorphismes de l'*ABCB1*. Kuypers n'a démontré aucun impact de l'*ABCB1* G2677T ou C3435T, mais il faut souligner que ces auteurs se sont limités au génotype des greffés (15 cas seulement) et que le génotype des greffons était inconnu.⁶⁵⁸ Hauser et collaborateurs n'ont pas observé d'impact des génotypes des receveurs, mais ont toutefois observé que le génotype TT3435 des donneurs, et donc des reins greffés, était associé à un risque accru de néphrotoxicité (18 cas seulement).⁶⁶⁰ Étant donné le déséquilibre de liaison important de cet allèle avec l'allèle T2677, ces résultats sont en partie opposés aux résultats qu'Hebert et collaborateurs ont publiés en 2003. En effet, ceux-ci rapportaient un risque réduit de néphrotoxicité chez les greffés hépatiques porteurs du génotype TT2677, donc avec un rein du même génotype.

Par ailleurs, Kuypers a observé que les porteurs de l'allèle *CYP3A5*1* présentaient un risque accru de néphrotoxicité.⁶⁵⁸ Ceci pourrait paraître surprenant, étant donné que ces patients expriment fortement l'isoenzyme. Toutefois, puisque seulement les greffés ont été génotypés dans cette étude, l'apparition de la néphrotoxicité chez ces patients pourrait résulter d'une discordance au niveau des génotypes du *CYP3A5* entre les greffés et les greffons. En effet, les greffés porteurs de l'allèle *CYP3A5*1*, le plus rare, qui nécessitent de très fortes doses pour maintenir des concentrations plasmatiques cibles, ont de fortes probabilités de recevoir un greffon du génotype *CYP3A5*3/*3* dont la capacité de métaboliser localement le tacrolimus est faible. Théoriquement, ceci rendrait l'organe greffé à un risque accru de néphrotoxicité.⁵¹⁹ Ces hypothèses demeurent spéculatives en

l'absence de la connaissance des polymorphismes des greffons dans cette étude. Kreutz n'a pas observé d'impact du CYP3A5 du greffé ou du donneur sur la créatinine sérique de 399 greffés rénaux traités avec de la cyclosporine,⁶⁵⁹ mais aucune analyse n'a été effectuée afin de déterminer si certaines combinaisons génotype donneur-génotype greffé était associés à la fonction rénale des individus et donc si une discordance du génotype influence l'évolution de ces patients. Globalement, ces études soulignent l'avantage d'étudier l'association entre des facteurs génétiques et le risque de néphrotoxicité chez une population des greffés cardiaques.

Tableau XXII. Impact de polymorphismes génétiques de l'ABCB1 et du CYP3A5 sur le risque de néphrotoxicité induite par les inhibiteurs de la calcineurine chez différents groupes de patients greffés.

Référence	Patients	Polymorphisme génétique	Résultats
Hebert et collaborateurs. ⁵³⁵	Étude cas-témoin de 120 greffés hépatiques recevant de la cyclosporine ou du tacrolimus (48 cas).	<i>ABCB1</i> G2677T, C3435T des receveurs seulement	Porteurs de TT2677 ont un risque plus faible de néphropathie ¹ vs GG2677 (RR : 0,31 95%IC :0,09-1,00) et vs GT, AG ou AT (0,26 95%IC : 0,09-0,77).
Kuypers et collaborateurs. ⁶⁵⁸	95 greffés rénaux traités par tacrolimus (15 cas de néphropathie).	<i>ABCB1</i> G2677T, C3435T, <i>CYP3A4</i> *1B et <i>CYP3A5</i> *1 chez greffés seulement	Porteurs de l'allèle <i>CYP3A5</i> *1 (6/15 ou 40%) ont un risque plus élevé de néphropathie ² par rapport aux homozygotes <i>CYP3A5</i> *3/*3 (9/80; p 0,005). Aucun impact des polymorphismes de l' <i>ABCB1</i> .
Keutz et collaborateurs, ⁶⁵⁹	399 greffés rénaux traités avec de la	<i>CYP3A5</i> *3 chez greffés et	Aucun impact sur la créatinine 1 an après la

	cyclosporine	donneurs	greffe.
Hauser et collaborateurs. ⁶⁶⁰	Étude cas-témoin de 97 greffés rénaux recevant de la cyclosporine (18 cas)	<i>ABCB1</i> G2677T, C3435T et <i>CYP3A5</i> *3 des donneurs et receveurs	TT 3435 des donneurs associé à un risque accru de néphropathie ³ (OR :3,2 95%CI : 1,4-7,6, p = 0,005). Aucun impact du G2677T des donneurs ou des polymorphismes des greffés.
Barnard et coll. ⁶⁵³	Étude rétrospective de 170 greffés cardiaques.	<i>ABCB1</i> G2677T, C3435T du receveur.	Aucun impact sur la clairance de la créatinine 3 et 12 mois post greffe.
Klauke et collaborateurs. ⁶⁵⁴	Étude cas-témoin de 106 greffés cardiaques (53 cas)	<i>ABCB1</i> G2677T, <i>CYP3A5</i> *3, <i>TGFB1</i> Arg25Pro et Leu10Pro	Aucun impact sur le risque d'insuffisance rénale. ⁴

¹ Créatinine sérique > 1,6 mg/dL (141 µmol/L) 3 ans post greffe, ou patients nécessitant de l'hémodialyse ou une greffe rénale dans les 3 ans après la greffe hépatique.

² Néphropathie induite par inhibiteurs de la calcineurine confirmée dans tous les cas par biopsie selon critères de Banff.⁶⁶¹

³ Définis comme 1) Créatinine élevée de façon persistante et > 1,6 mg/dL (141 µmol/L) mais < 4,5 mg/dL (398 µmol/L) pour > 3 mois et/ou une créatinine augmentant de 20% par rapport à la valeur basale 2) réduction de la créatinine sur une période d'au plus 6 mois suite à la cessation des inhibiteurs de la calcineurine 3) exclusion d'un rejet établie par biopsie et/ou jugement clinique.

⁴ Créatinine sérique ≥ 1,8 mg/dL (159 µmol/L) en trois occasions consécutives.

Chapitre 6. Discussion générale

1. Résumé de l'avancement des connaissances découlant des travaux présentés

L'IC est une maladie aux conséquences dévastatrices pour les individus en étant atteint, tant au point de vue de leur qualité de vie, que de leur espérance de vie.¹⁵ Bien que de nombreux traitements aient démontré leur efficacité dans cette maladie, il existe une importante variabilité interindividuelle au niveau de l'efficacité et de l'innocuité de ces agents. Afin d'expliquer une partie de cette variabilité, l'objectif général de cette thèse était d'identifier des caractéristiques, des marqueurs phénotypiques ou génétiques associés au pronostic ou à la réponse au traitement des patients atteints d'IC ou des greffés cardiaques. Ultiment, l'objectif de ces travaux est de permettre éventuellement une approche plus individualisée du traitement de ces patients.

Il est probablement plus adéquat de résumer l'importance de nos travaux sous deux angles. Le premier est relié aux nouvelles connaissances découlant de nos travaux. Le second est plus conceptuel et réfère à l'utilité de ces travaux dans l'élaboration et l'interprétation d'études futures qui rendront la médecine et la pharmacothérapie personnalisées une réalité.

Puisque les résultats et les nouvelles connaissances découlant de ces études ont été discutés en détail dans les chapitres précédents, nous ne ferons ici qu'un bref rappel des points clefs.

1. Une augmentation dans le temps du nombre de leucocytes, et particulièrement des neutrophiles, est associée à un risque accru d'évènements cardiovasculaires chez les patients atteints d'IC, et ce, indépendamment de l'étiologie de l'IC.
2. Les concentrations de ces marqueurs inflammatoires ne sont toutefois pas modulées par une inhibition du SRAA avec l'énalapril ou utiles dans l'identification des patients les plus susceptibles d'en bénéficier.
3. L'énalapril, la fonction rénale, le potassium sérique, le diabète, la classe fonctionnelle NYHA et un diagnostic de fibrillation auriculaire sont des facteurs significativement associés au risque d'hyperkaliémie chez des patients atteints d'IC.

4. La définition d'hyperkaliémie a un impact significatif non-seulement sur l'incidence de celle-ci, mais également sur l'évaluation de l'innocuité d'un modulateur du SRAA comme l'énalapril.
5. Chez les patients traités avec une thérapie pharmacologique optimale, incluant un IECA et un bêta-bloqueur, le polymorphisme *AGTR1* A1166C semble moduler la réduction de la tension artérielle et du NT-proBNP induite par la double suppression du SRAA avec le candésartan. Ultiment, celui-ci pourrait moduler la réduction du risque d'évènements cardiovasculaires produite par le candésartan.
6. Chez les receveurs d'une greffe cardiaque traités par un inhibiteur de la calcineurine, l'allèle *CYP3A5*1* est associé à un effet néphroprotecteur.
7. L'allèle *CYP3A5*1* permet également d'identifier les greffés cardiaques nécessitant des doses plus élevées de tacrolimus afin de maintenir des concentrations thérapeutiques visées.

Nous nous permettons toutefois de discuter plus en détail des implications conceptuelles actuelles et futures de nos travaux, des nouvelles orientations vers lesquelles ces travaux mènent, ainsi que des défis auxquels nous devons faire face au cours des prochaines années afin de faire de la thérapie individualisée une réalité.

2. Connaissances conceptuelles acquises

D'une perspective plus globale, nos travaux ont permis de souligner certains concepts qui seront applicables à l'élaboration d'études futures et leur interprétation. D'une part, l'importance de la définition d'un effet indésirable sur l'incidence de celui-ci souligne l'importance capitale que revêt l'utilisation d'une définition stricte et rigoureuse d'un phénotype donné lorsqu'on cherche à identifier les facteurs expliquant la variabilité d'un phénotype entre les individus. Une absence de définition préétablie contribue sans aucun doute à introduire beaucoup de variabilité dans la définition du phénotype d'intérêt, qu'il soit un effet indésirable, une maladie ou un évènement précis. Malheureusement, ce problème est trop souvent rencontré en génomique et en pharmacogénomique.⁶⁶²⁻⁶⁶⁵ Ultiment, cette importante variabilité complique l'identification de facteurs n'expliquant qu'une faible proportion de la variabilité d'un phénotype, comme c'est le cas avec les polymorphismes génétiques.

Parfois, même lorsqu'une définition est utilisée, celle-ci est inadéquate. Cette problématique est plus fréquente dans des études d'association cas-témoin où, malheureusement, la sélection des patients se base souvent davantage sur la disponibilité de l'ADN, que d'un phénotypage détaillé.⁶⁶⁶ L'étude d'association sur l'hypertension du Wellcome Trust Case Control Consortium (WTCCC),⁶⁶⁶ publiée en 2007, en est un bon exemple. Dans cette étude, un diagnostic d'hypertension pouvait être posé, entre autres, sur la base d'une tension artérielle unique > 150/100 mmHg, une définition manifestement inappropriée.⁶⁶⁷ Aucun SNP n'a d'ailleurs été associé au risque d'hypertension dans cette étude qui incluait 2000 cas et 3000 contrôles. Étant donnée l'hétérogénéité de cette population (la tension artérielle systolique au début de l'étude était de 172 ± 18 mmHg dans la cohorte originale d'hypertendus⁶⁶⁸), le regroupement de tous les patients en un seul groupe homogène n'apparaît également pas adéquat. Ces observations avaient d'ailleurs été faites dans l'éditorial⁶⁶⁹ accompagnant la première publication liée à cette cohorte d'hypertendus en 2003.⁶⁶⁸ L'utilisation de la tension artérielle comme une variable continue, idéalement caractérisée par de multiples mesures effectuées par un suivi ambulatoire sur une période de 24 heures aurait été beaucoup plus appropriée.⁶⁷⁰ Ce suivi ambulatoire de 24 heures aurait en plus permis de prendre en considération l'impact des variations circadiennes de la tension artérielle.⁶⁷¹ Ce manque de précision quant à la définition du phénotype d'intérêt est stupéfiant quand on considère les efforts et les coûts considérables investis dans le génotypage (plus de 500 000 SNPs par patient dans le WTCCC), le contrôle de la qualité du génotypage et le nombre d'individus recrutés dans cette étude.⁶⁶⁶

Un second concept qui ressort de nos études, comme celles de plusieurs autres,^{666, 672-679} est que les nouveaux marqueurs qui émergeront au cours des prochaines années, qu'ils soient génétiques (comme le *CYP3A5* et l'aggravation de la fonction rénale) ou des biomarqueurs (comme variation en leucocytes et les événements cardiovasculaires), auront probablement un impact individuel généralement modeste. Ainsi, dans la planification et l'interprétation de ces futures études, on devra anticiper que l'impact individuel des polymorphismes génétiques identifiés sera beaucoup moins important que des facteurs pronostiques traditionnels comme l'âge ou la FEVG,^{18, 19} ou des facteurs de risque d'un effet indésirable

comme la fonction rénale dans le cas de l'hyperkaliémie. On se doit toutefois de noter certaines exceptions où un polymorphisme génétique donné aura un impact individuel marqué comme l'association entre le *CYP3A5* et les doses de tacrolimus, le *CYP2C9* ou le *VKORC1* et les doses de warfarine,⁶⁸⁰⁻⁶⁸⁶ ou le risque d'hypersensibilité induite par l'abacavir et le *HLA-B*5701*.^{687, 688}

Cette modestie s'explique évidemment par la complexité des phénomènes étudiés. Dans le cas de la pharmacogénomique, cette complexité est flagrante quand on considère les nombreux facteurs génétiques et non génétiques modulant la pharmacocinétique et la pharmacodynamique des agents. On comprend alors mieux qu'un polymorphisme génétique ayant un impact déterminant sur l'expression d'un gène (par exemple, la non-expression du *CYP3A5* chez porteurs du *CYP3A5*3/*3*)^{513, 689} ait un impact beaucoup moins important sur un trait complexe comme la néphropathie induite par les inhibiteurs de la calcineurine qui résulte, outre les concentrations plasmatiques et rénales de ces médicaments, de l'interaction d'une multitude de neurohormones, de métalloprotéinases, de facteurs de croissance et d'autres caractéristiques du patient.^{447, 470, 472, 478, 479, 496}

La physiopathologie de l'IC est un autre trait extrêmement complexe dont la variabilité interindividuelle résulte de l'interaction entre divers systèmes qui peuvent eux-mêmes être influencés par plusieurs facteurs. Il n'est donc pas surprenant que plusieurs études génétiques précédentes portant sur le risque d'IC ou sur la pharmacothérapie de l'IC se soient soldées en échec, malgré l'étude d'un polymorphisme dont l'impact physiologique est établi comme l'*ACE I/D*.³⁰³ En effet, plusieurs de ces études étaient basées sur des hypothèses beaucoup trop « optimistes » et ont donc inclus un nombre insuffisant d'individus. À l'opposé, il est clair que d'autres petites études rapportant des résultats statistiquement significatifs sont probablement le fruit du hasard.³⁶⁹ Dans cette optique, nous demeurons modestes quant aux associations rapportées dans cette thèse et reconnaissons la nécessité que celles-ci soient répliquées avant de statuer de façon définitive sur leur importance. La seule exception réside dans l'association entre le *CYP3A5* et les doses de tacrolimus, une association qui apparaît maintenant comme définitive.^{516, 520, 525, 531, 534, 690}

Bien qu'aucun gène n'ait été associé de façon définitive à l'IC, plusieurs études d'association récentes portant sur la maladie coronarienne athérosclérotique et l'infarctus du myocarde, les principales causes d'IC, ont été effectuées chez des milliers d'individus et ont permis de quantifier le risque attribuable à certaines variations génétiques. Plus spécifiquement, ces études ont confirmé que l'impact individuel de ces facteurs de risque génétiques est en effet relativement modeste.^{675, 676, 691-696} On peut donc s'attendre à des résultats similaires en IC, ce qui correspond à un risque beaucoup plus faible que les premières études d'association en IC publiées dans des revues aussi prestigieuses que le *New England Journal of Medicine*³⁶⁹ et le *Lancet*.⁶⁹⁷ Par ailleurs, les petites études n'ayant pu démontrer un impact des polymorphismes de ces systèmes ne devraient pas être interprétées comme une preuve définitive d'absence d'effet de ces polymorphismes sur ces phénotypes, mais plutôt sur la nécessité d'effectuer des études de plus grande envergure. Cette affirmation semble d'autant plus évidente à la lumière des résultats d'études pangénomiques citées ci-haut qui ont démontré que plusieurs gènes préalablement testés sans succès dans des petites études de gènes candidats ont été associés au risque de maladie coronarienne athérosclérotique ou d'infarctus du myocarde dans ces études de plus grande envergure. Ceux-ci étaient principalement reliés à la synthèse et au métabolisme des lipides (*LPA*⁶⁹³ *LDLR*,^{691, 694} *PCSK*,^{691, 694} *APOE*,⁶⁹¹ *APOB*⁶⁹¹).

Ce constat sur la modestie de l'information que procureront ces marqueurs génétiques semble également applicable aux biomarqueurs émergents (BNP,⁶⁹⁸⁻⁷⁰⁰ CRP,^{698, 700} troponines,⁶⁹⁸ leucocytes^{70, 561, 563, 588}) dans la majorité des populations. Le BNP en IC⁷⁰¹⁻⁷⁰⁵ ou les troponines dans les syndromes coronariens aigus⁷⁰⁶⁻⁷⁰⁸ sont néanmoins des exceptions importantes. Ultimement, il semble donc qu'il sera nécessaire d'utiliser une combinaison ces multiples marqueurs afin d'améliorer substantiellement le traitement de la plupart des patients.⁶⁹⁸ Ainsi, des technologies permettant la mesure de ces marqueurs génétiques et phénotypiques à des coûts raisonnables seront nécessaires, tout comme le développement d'outils facilitant l'utilisation de cette information par les cliniciens.

Globalement, ces deux concepts nous mènent donc à émettre le constat que des cohortes de grande envergure, chez lesquelles une minutie importante sera vouée à la mesure et à la définition des phénotypes d'intérêt, seront nécessaires afin d'identifier de nouveaux

marqueurs génétiques ou phénotypiques permettant de prédire l'efficacité et l'innocuité des agents utilisés dans le traitement des maladies cardiovasculaires ou le risque de développer ces maladies.

3. Défis pour le futur

Outre l'identification de ces marqueurs génétiques ou phénotypiques, de nombreux défis devront être relevés avant d'incorporer la pharmacothérapie individualisée dans le traitement des maladies cardiovasculaires. D'une part, il sera nécessaire d'évaluer comment divers facteurs influencent l'association entre un génotype et un phénotype donné. En effet, divers facteurs dynamiques sont susceptibles d'influencer l'impact des polymorphismes génétiques d'un individu. Mentionnons par exemple la diète des individus et en particulier l'apport sodique, qui est extrêmement important dans la population d'individus qui nous intéresse et qui constitue un modulateur important du SRAA.^{709, 710} Des données des investigateurs EPOGH (European Project On Genes in Hypertension) supportent le concept d'une interaction importante entre les polymorphismes génétiques du SRAA, l'apport sodique et différents phénotypes cardiovasculaires. En effet, ces derniers ont démontré que les associations entre divers phénotypes (hypertrophie ventriculaire, variabilité de la fréquence cardiaque, autres) et des polymorphismes génétiques du SRAA étaient influencées par l'excrétion urinaire sodique sur une période de 24 heures, une mesure indirecte de l'apport sodique.⁷¹¹⁻⁷¹⁴ On pourrait donc aussi envisager que l'apport sodique pourrait avoir un impact significatif sur la réponse à des inhibiteurs du SRAA et leur pharmacogénomique. L'apport sodique a un impact important sur certains biomarqueurs étudiés en IC, incluant l'aldostérone⁷¹⁵ et le BNP.^{715, 716}

Il apparaît de plus nécessaire que ces futures études devront aussi inclure un nombre suffisant d'individus afin de définir la contribution des polymorphismes génétiques sur le risque d'évènements cardiovasculaires et non seulement sur des phénotypes intermédiaires. En effet, les études de pharmacogénomique ont dans très peu de cas évalué l'impact des polymorphismes sur la réduction du risque d'évènements cardiovasculaires. Un exemple illustrant cette nécessité nous provient du traitement des dyslipidémies avec les statines et le gène *APOE*. En effet, les patients porteurs du polymorphisme *APOE* ε2 démontrent une réduction supérieure du LDL lors d'un traitement avec les statines.⁷¹⁷⁻⁷²⁰ On pourrait donc

conclure que ces individus expérimentent ainsi la réduction la plus importante du risque d'évènements cardiovasculaires lors d'un traitement avec une statine. Toutefois, les données actuelles suggèrent que ce sont en fait les porteurs de l'allèle *APOE ε4*, un facteur de risque génétique de la maladie coronarienne associé à des concentrations plus élevées de cholestérol,⁷²¹ qui présentent la réduction de la mortalité la plus importante.^{722, 723} Ces études illustrent à quel point il sera impératif d'évaluer non seulement l'influence de polymorphismes génétiques sur les changements produits par différents agents sur des phénotypes intermédiaires, mais également sur les évènements cliniques que ces phénotypes intermédiaires reflètent.

Par ailleurs, il est actuellement incertain si une approche pangénomique est applicable, étant donné les nombreuses restrictions statistiques qu'elle implique, ou nécessaire en pharmacogénomique, puisque les acteurs les plus susceptibles de participer dans la modulation de l'efficacité ou de l'innocuité d'un agent sont souvent connus. Ceci se devra donc d'être élucidé au cours des prochaines années. À cet effet, deux études pangénomiques portant sur la warfarine n'ont identifié que les gènes *VKORC1*, *CYP2C9* et *CYP4F2* comme étant associés à la dose d'entretien de cet anticoagulant.^{647, 724} Ces associations étaient déjà connues.^{681, 682, 684, 685, 725-733} Similairement, une autre étude pangénomique a identifié un polymorphisme du gène *SLCO1B1*, qui code pour le transporteur membranaire OATP1B1, comme un modulateur important du risque de myopathie avec la simvastatine,⁷³⁴ mais l'impact de ce gène sur la pharmacocinétique des statines avait déjà été suggéré.^{735, 736} Malgré l'absence d'exemples concluants sur l'efficacité de l'approche d'analyse pangénomique en pharmacogénomique, plusieurs demeurent convaincus qu'une telle approche s'avèrera supérieure à une approche par gène candidats.⁷³⁷ Quand on analyse l'ensemble des études décrites dans les lignes précédentes ainsi que celles portant sur la maladie coronarienne athérosclérotique et l'infarctus du myocarde, il apparaît que ces méthodes devraient plutôt être considérées comme complémentaires. Plus spécifiquement, l'approche par gènes candidats devrait représenter les hypothèses principales à tester, ce qui maximise la puissance statistique dans l'évaluation de ces hypothèses, tandis que l'approche pangénomique peut être utilisée comme une approche secondaire plus exploratoire. C'est du moins cette stratégie que nous prévoyons utiliser dans certaines études que nous menons présentement.

En plus des défis rencontrés dans l'exécution des études de pharmacogénomique ou de pharmacothérapie individualisée, ce domaine fera face à des défis liés à l'application en pratique des découvertes découlant de ces études. Un premier défi déjà présent et qui risque de s'accroître est la difficulté d'évaluer l'ensemble des écrits afin de déterminer l'impact réel des multiples polymorphismes et biomarqueurs étudiés. Le cas de la pharmacogénomique apparaît particulièrement problématique. En effet, de multiples études sont régulièrement publiées sur une association donnée avec des résultats conflictuels. Toutefois, le plus grand défi par rapport à l'évaluation de la littérature réside sans aucun doute au niveau du biais de publication.^{312, 738} La mise sur pied d'un registre similaire à ceux utilisés pour répertorier les essais randomisés pourrait assurer qu'une publication complète des études menées en génomique.⁷³⁹

Un autre défi majeur sera la mise en application de ces données dans le quotidien. En effet, bien que l'impact anticipé de la pharmacothérapie et de la médecine personnalisée sera majeur, on rappellera encore une fois que de multiples génotypes ou phénotypes devront vraisemblablement être pris en considération dans le processus de prise de décision en clinique. À cet égard, plusieurs ont récemment utilisé une approche de pointage (*risk score*) afin de combiner l'information découlant de plusieurs polymorphismes,^{694, 740-742} phénotypes, traitements ou biomarqueurs.^{18, 19, 743} L'utilisation de ceux-ci par les cliniciens risque toutefois d'être un obstacle non négligeable. En effet, des études récentes suggèrent que l'adoption de divers systèmes de stratification du risque établis dans le syndrome coronarien aigu, comme le TIMI (Thrombolysis in Myocardial Infarction),⁷⁴⁴ le GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events)⁷⁴⁵ ou le PURSUIT (Platelet glycoprotein IIb/IIIa in Unstable angina: Receptor Suppression Using Integrilin Therapy)⁷⁴⁶ est limitée.^{747, 748} Ceci nous amène à poser une autre question, à savoir si les professionnels de la santé sont prêts à utiliser ces nouveaux outils, particulièrement lorsqu'il incorpore des éléments liés à la génétique. Ceci ne semble malheureusement pas être le cas.^{749, 750} Évidemment, afin de faire bénéficier les patients de la médecine et de la pharmacothérapie individualisées, ce manque se doit d'être corrigé rapidement dans la formation des différents professionnels de la santé incluant les médecins, pharmaciens et infirmières.⁷⁵¹

Une émergence des conseillers et conseillères en génétique dans les centres hospitaliers sera également essentielle pour faire face à ce défi.

Finalement, un défi important sera de convaincre les différentes instances gouvernementales, incluant les organismes subventionnaires, et l'industrie privée d'investir les ressources nécessaires pour arriver à cette noble fin que sont la médecine et la pharmacothérapie personnalisées. Lorsqu'on considère les coûts et les conséquences associées à l'inefficacité thérapeutique⁵³⁶ et aux effets indésirables aux médicaments,^{538, 752-754} on est en droit de croire que le jeu en vaut la chandelle pour la société. Toutefois, puisque l'implantation de ces nouvelles technologies nécessitera des coûts d'infrastructures initiaux importants, des coûts considérables reliés à leur utilisation (analyses, conseillers génétiques) ainsi que certaines conséquences, ces nouveaux marqueurs devront démontrer leur coût-efficacité avant d'être utilisés de façon routinière en pratique.

La question est également complexe pour l'industrie pharmaceutique. D'une part, la médecine personnalisée pourrait signifier la fin des médicaments « blockbusters » qui sont extrêmement lucratifs pour cette industrie.⁷⁵⁵ D'un autre côté, on anticipe que l'incorporation de la pharmacogénomique dans le développement de nouveaux médicaments pourrait réduire les coûts de développement des nouveaux médicaments⁷⁵⁶ qui se chiffrent à de 800 à 900 millions dollars américains par nouveau médicament.^{757, 758} Plus spécifiquement, la taille des études multicentriques de phase III, qui représentent environ 58% de ces coûts,⁷⁵⁹ pourrait potentiellement être réduite en incluant uniquement des patients qui auront été identifiés dans les études de phases II comme étant les plus susceptibles de bénéficier d'un traitement, ou du moins, d'être moins susceptibles de développer un effet indésirable.⁷⁵⁸⁻⁷⁶⁰ Par ailleurs, la pharmacogénomique pourrait également permettre l'identification des facteurs génétiques responsables des effets indésirables rares dont l'existence ne devient apparente que durant les études de phase III ou après la mise en marché des médicaments. Dans un contexte où seulement 10% des médicaments testés chez l'humain sont éventuellement mis en marché et que de nombreux médicaments sont retirés après leur commercialisation pour des raisons de toxicité,⁷⁵⁷ la vente de médicaments pour un sous-groupe d'individus défini sur la base d'un génotype ou d'un phénotype pourrait être financièrement attrayante pour l'industrie pharmaceutique.⁷⁶⁰

4. Recherche en cours et directions futures

Je propose donc au cours des prochaines années de poursuivre mes travaux relatifs à l'identification de génotypes et de phénotypes prédisant l'évolution de l'IC ou de la réponse à la thérapie de ces patients ainsi que chez les greffés cardiaques. Un premier projet constitue une étude de réplication de nos trouvailles sur la modulation des effets physiologiques du candésartan par le polymorphisme *AGTRI* A1166C. Nous effectuons à l'heure actuelle une étude multicentrique, CANDIID II (numéro d'indentification sur clinicaltrials.gov : NCT00400582), dans le but de répliquer cette association, tout en évaluant également plus de 350 SNPs du SRAA, de diverses voies de signalisation intracellulaires reliées au récepteur AT1, de divers autres systèmes potentiellement pertinents tel le système adrénergique, en plus de polymorphismes génétiques pouvant moduler la pharmacocinétique du candésartan.⁷⁶¹ Parmi les objectifs secondaires de cette étude, nous évaluerons également l'association entre l'excrétion urinaire sodique sur une période de 24 heures sur la réponse au candésartan et divers biomarqueurs dont l'aldostérone, le BNP et le NT-proBNP.

Mes travaux futurs porteront également sur l'identification des polymorphismes génétiques influençant les concentrations du BNP et du NT-proBNP. Une portion significative de la variabilité des concentrations du BNP est attribuable à des facteurs génétiques, son héritabilité étant évaluée à 35%.⁷⁶² Par ailleurs, quelques polymorphismes génétiques, dont le *NPPB* C381T du gène codant le BNP, ont été associés dans de petites cohortes aux concentrations du BNP et du NT-proBNP, chaque allèle C provoquant une augmentation de 25% des concentrations plasmatiques en BNP et NT-proBNP.⁷⁶³⁻⁷⁶⁶ Étant donné cet impact, il sera donc pertinent d'évaluer si ces polymorphismes génétiques influencent les variations de ce phénotype intermédiaire suite à un traitement avec le candésartan dans l'étude multicentrique CANDIID-II. L'identification des polymorphismes génétiques responsables pour la variabilité des peptides natriurétiques pourrait par ailleurs avoir de multiples autres retombées. Plus particulièrement, elle pourrait permettre une amélioration de l'interprétation des concentrations de ces peptides, l'identification de facteurs de risque génétiques ou la découverte de marqueurs prédictifs de l'efficacité de certains médicaments comme le nésiritide. Le nésiritide est du BNP recombinant utilisé comme vasodilatateur dans le traitement de l'IC décompensée.^{55, 767-772}

Par ailleurs, je poursuis également ma recherche sur l'identification des polymorphismes génétiques associés à la fonction rénale des greffés cardiaques en portant encore mon attention sur des polymorphismes génétiques associés au SRAA chez ce groupe de patients. En effet, l'activation du SRAA joue un rôle prépondérant dans ce phénomène.^{478, 479, 482, 483, 491, 773}

5. Commentaires finaux

Les travaux inclus dans cette thèse visaient l'identification de caractéristiques et marqueurs phénotypiques ou génétiques qui permettront éventuellement une approche plus personnalisée des patients atteints d'IC. Bien que nos travaux aient porté sur divers aspects reliés au traitement des patients atteints d'IC, ils ont permis, lorsqu'évalué dans leur ensemble, de mettre en perspective l'importance que pourra avoir une approche intégrée qui inclura l'utilisation de caractéristiques cliniques, de phénotypes, leurs changements, ainsi que de polymorphismes génétiques dans la réalisation de la médecine et de la pharmacothérapie individualisées. Le raffinement des techniques utilisées dans la mesure de ces divers paramètres, l'intégration éventuelle des diverses autres « omiques » comme la protéomique, métabolomique, contribuera à long terme à une approche plus individualisée du traitement des maladies cardiovasculaires. Étant donné la complexité importante des phénomènes étudiés, il est important de mettre en perspective que de grandes avancées en médecine et en pharmacothérapie individualisées seront vraisemblablement représentées par l'explication d'une petite proportion de la variabilité du risque de ces patients ou de la réponse au traitement. Ultimement, pour reprendre la célèbre citation de Niels Bohr, prédire le futur ne sera peut être pas toujours aussi difficile.

Références

1. Hunt SA. ACC/AHA 2005 guideline update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure). *J Am Coll Cardiol* 2005;46(6):e1-82.
2. Adams KF, Lindenfeld J, Arnold et al JM. HFSA 2006 comprehensive heart failure practice guidelines. *J Card Fail* 2006;12:e1-e122.
3. Arnold JM, Liu P, Demers C, Dorian P, Giannetti N, Haddad H, et al. Canadian Cardiovascular Society consensus conference recommendations on heart failure 2006: diagnosis and management. *Can J Cardiol* 2006;22(1):23-45.
4. Zile MR, Gaasch WH, Carroll JD, Feldman MD, Aurigemma GP, Schaer GL, et al. Heart failure with a normal ejection fraction: is measurement of diastolic function necessary to make the diagnosis of diastolic heart failure? *Circulation* 2001;104(7):779-82.
5. Bursi F, Weston SA, Redfield MM, Jacobsen SJ, Pakhomov S, Nkomo VT, et al. Systolic and diastolic heart failure in the community. *JAMA* 2006;296(18):2209-16.
6. Rosamond W, Flegal K, Furie K, Go A, Greenlund K, Haase N, et al. Heart Disease and Stroke Statistics--2008 Update: A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2008;117(4):e25-146.
7. Zile MR, Brutsaert DL. New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part I: diagnosis, prognosis, and measurements of diastolic function. *Circulation* 2002;105(11):1387-93.
8. McMurray JJ, Ostergren J, Swedberg K, Granger CB, Held P, Michelson EL, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function taking angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Added trial. *Lancet* 2003;362(9386):767-71.
9. Granger CB, McMurray JJ, Yusuf S, Held P, Michelson EL, Olofsson B, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-

- ventricular systolic function intolerant to angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Alternative trial. *Lancet* 2003;362(9386):772-6.
10. Yusuf S, Pfeffer MA, Swedberg K, Granger CB, Held P, McMurray JJ, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and preserved left-ventricular ejection fraction: the CHARM-Preserved Trial. *Lancet* 2003;362(9386):777-81.
 11. Paulus WJ, Tschope C, Sanderson JE, Rusconi C, Flachskampf FA, Rademakers FE, et al. How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007.
 12. Jessup M, Brozena S. Heart failure. *N Engl J Med* 2003;348(20):2007-18.
 13. Swedberg K, Cleland J, Dargie H, Drexler H, Follath F, Komajda M, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005;26(11):1115-40.
 14. Aurigemma GP, Gaasch WH. Diastolic heart failure. *N Engl J Med* 2004;351(11):1097-105.
 15. McMurray JJ, Pfeffer MA. Heart failure. *Lancet* 2005;365(9474):1877-89.
 16. Heart and, Stroke Foundation of Canada. The Growing Burden of Heart Disease and Stroke in Canada 2003. Ottawa; 2003.
 17. Tsuyuki RT, Shibata MC, Nilsson C, Hervas-Malo M. Contemporary burden of illness of congestive heart failure in Canada. *Can J Cardiol* 2003;19(4):436-8.
 18. Levy WC, Mozaffarian D, Linker DT, Sutradhar SC, Anker SD, Cropp AB, et al. The Seattle Heart Failure Model: prediction of survival in heart failure. *Circulation* 2006;113(11):1424-33.
 19. Mozaffarian D, Anker SD, Anand I, Linker DT, Sullivan MD, Cleland JG, et al. Prediction of mode of death in heart failure: the Seattle Heart Failure Model. *Circulation* 2007;116(4):392-8.

20. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet* 1999;353(9169):2001-7.
21. Hsia HH, Jessup ML, Marchlinski FE. Debate: Do all patients with heart failure require implantable defibrillators to prevent sudden death? *Curr Control Trials Cardiovasc Med* 2000;1(2):98-101.
22. Uretsky BF, Thygesen K, Armstrong PW, Cleland JG, Horowitz JD, Massie BM, et al. Acute coronary findings at autopsy in heart failure patients with sudden death: results from the assessment of treatment with lisinopril and survival (ATLAS) trial. *Circulation* 2000;102(6):611-6.
23. Goodlin SJ, Hauptman PJ, Arnold R, Grady K, Hershberger RE, Kutner J, et al. Consensus statement: Palliative and supportive care in advanced heart failure. *J Card Fail* 2004;10(3):200-9.
24. Owan TE, Hodge DO, Herges RM, Jacobsen SJ, Roger VL, Redfield MM. Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med* 2006;355(3):251-9.
25. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). The CONSENSUS Trial Study Group. *N Engl J Med* 1987;316(23):1429-35.
26. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. The SOLVD Investigators. *N Engl J Med* 1991;325(5):293-302.
27. Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. The SOLVD Investigators. *N Engl J Med* 1992;327(10):685-91.
28. The effect of digoxin on mortality and morbidity in patients with heart failure. The Digitalis Investigation Group. *N Engl J Med* 1997;336(8):525-33.
29. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial. *Lancet* 1999;353(9146):9-13.
30. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure.

- Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 1999;341(10):709-17.
31. Packer M, Coats AJ, Fowler MB, Katus HA, Krum H, Mohacsi P, et al. Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 2001;344(22):1651-8.
 32. Poole-Wilson PA, Swedberg K, Cleland JG, Di Lenarda A, Hanrath P, Komajda M, et al. Comparison of carvedilol and metoprolol on clinical outcomes in patients with chronic heart failure in the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET): randomised controlled trial. *Lancet* 2003;362(9377):7-13.
 33. Packer M, Bristow MR, Cohn JN, Colucci WS, Fowler MB, Gilbert EM, et al. The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. U.S. Carvedilol Heart Failure Study Group. *N Engl J Med* 1996;334(21):1349-55.
 34. Moss AJ, Zareba W, Hall WJ, Klein H, Wilber DJ, Cannom DS, et al. Prophylactic implantation of a defibrillator in patients with myocardial infarction and reduced ejection fraction. *N Engl J Med* 2002;346(12):877-83.
 35. Bristow MR, Saxon LA, Boehmer J, Krueger S, Kass DA, De Marco T, et al. Cardiac-resynchronization therapy with or without an implantable defibrillator in advanced chronic heart failure. *N Engl J Med* 2004;350(21):2140-50.
 36. Abraham WT, Fisher WG, Smith AL, Delurgio DB, Leon AR, Loh E, et al. Cardiac resynchronization in chronic heart failure. *N Engl J Med* 2002;346(24):1845-53.
 37. Bardy GH, Lee KL, Mark DB, Poole JE, Packer DL, Boineau R, et al. Amiodarone or an implantable cardioverter-defibrillator for congestive heart failure. *N Engl J Med* 2005;352(3):225-37.
 38. Cleland JG, Daubert JC, Erdmann E, Freemantle N, Gras D, Kappenberger L, et al. The effect of cardiac resynchronization on morbidity and mortality in heart failure. *N Engl J Med* 2005;352(15):1539-49.
 39. Hogg K, Swedberg K, McMurray J. Heart failure with preserved left ventricular systolic function; epidemiology, clinical characteristics, and prognosis. *J Am Coll Cardiol* 2004;43(3):317-27.
 40. Smith GL, Masoudi FA, Vaccarino V, Radford MJ, Krumholz HM. Outcomes in heart failure patients with preserved ejection fraction: mortality, readmission, and functional decline. *J Am Coll Cardiol* 2003;41(9):1510-8.

41. Vasan RS, Larson MG, Benjamin EJ, Evans JC, Reiss CK, Levy D. Congestive heart failure in subjects with normal versus reduced left ventricular ejection fraction: prevalence and mortality in a population-based cohort. *J Am Coll Cardiol* 1999;33(7):1948-55.
42. Bhatia RS, Tu JV, Lee DS, Austin PC, Fang J, Haouzi A, et al. Outcome of heart failure with preserved ejection fraction in a population-based study. *N Engl J Med* 2006;355(3):260-9.
43. Pocock SJ, Wang D, Pfeffer MA, Yusuf S, McMurray JJV, Swedberg KB, et al. Predictors of mortality and morbidity in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* 2006;27(1):65-75.
44. Hunt SA, Baker DW, Chin MH, Cinquegrani MP, Feldmanmd AM, Francis GS, et al. ACC/AHA Guidelines for the Evaluation and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: Executive Summary A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1995 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure): Developed in Collaboration With the International Society for Heart and Lung Transplantation; Endorsed by the Heart Failure Society of America. *Circulation* 2001;104(24):2996-3007.
45. Ammar KA, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Kors JA, Redfield MM, Burnett JC, Jr., et al. Prevalence and prognostic significance of heart failure stages: application of the American College of Cardiology/American Heart Association heart failure staging criteria in the community. *Circulation* 2007;115(12):1563-70.
46. Patterson JH, Adams KF, Jr. Pathophysiology of heart failure: changing perceptions. *Pharmacotherapy* 1996;16(2 Pt 2):27S-36S.
47. Bleske BE. Evolution and pathophysiology of chronic systolic heart failure. *Pharmacotherapy* 2000;20(11 Pt 2):349S-358S.
48. Mann DL, Bristow MR. Mechanisms and models in heart failure: the biomechanical model and beyond. *Circulation* 2005;111(21):2837-49.
49. Schrier RW, Abraham WT. Hormones and hemodynamics in heart failure. *N Engl J Med* 1999;341(8):577-85.
50. Hoffman EW. Basics of cardiovascular hemodynamic monitoring. *Drug Intell Clin Pharm* 1982;16(9):657-64.

51. White M, Rouleau JL, Ruddy TD, De Marco T, Moher D, Chatterjee K. Decreased coronary sinus oxygen content: a predictor of adverse prognosis in patients with severe congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1991;18(7):1631-7.
52. Latini R, Masson S, Anand IS, Missov E, Carlson M, Vago T, et al. Prognostic value of very low plasma concentrations of troponin T in patients with stable chronic heart failure. *Circulation* 2007;116(11):1242-9.
53. Khalil ME, Basher AW, Brown EJ, Jr., Alhaddad IA. A remarkable medical story: benefits of angiotensin-converting enzyme inhibitors in cardiac patients. *J Am Coll Cardiol* 2001;37(7):1757-64.
54. Terpening CM. Mediators of chronic heart failure: how drugs work. *Ann Pharmacother* 2001;35(9):1066-74.
55. de Denuis S, Pharand C, Williamson DR. Brain natriuretic peptide in the management of heart failure: the versatile neurohormone. *Chest* 2004;125(2):652-68.
56. Opie LH, Commerford PJ, Gersh BJ, Pfeffer MA. Controversies in ventricular remodelling. *Lancet* 2006;367(9507):356-67.
57. Jugdutt BI. Ventricular remodeling after infarction and the extracellular collagen matrix: when is enough enough? *Circulation* 2003;108(11):1395-403.
58. Anand IS, Florea VG, Fisher L. Surrogate end points in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(9):1414-21.
59. Lee CR, Adams KF, Jr., Patterson JH. Surrogate end points in heart failure. *Ann Pharmacother* 2002;36(3):479-88.
60. Konstam MA, Udelson JE, Anand IS, Cohn JN. Ventricular remodeling in heart failure: a credible surrogate endpoint. *J Card Fail* 2003;9(5):350-3.
61. Cohn JN, Tognoni G. A randomized trial of the angiotensin-receptor blocker valsartan in chronic heart failure. *N Engl J Med* 2001;345(23):1667-75.
62. Masson S, Latini R, Anand IS, Vago T, Angelici L, Barlera S, et al. Direct Comparison of B-Type Natriuretic Peptide (BNP) and Amino-Terminal proBNP in a Large Population of Patients with Chronic and Symptomatic Heart Failure: The Valsartan Heart Failure (Val-HeFT) Data. *Clin Chem* 2006;52(8):1528-38.
63. Wollert KC, Drexler H. The role of interleukin-6 in the failing heart. *Heart Fail Rev* 2001;6(2):95-103.

64. Mann DL. Recent insights into the role of tumor necrosis factor in the failing heart. *Heart Fail Rev* 2001;6(2):71-80.
65. Ommen SR, Hodge DO, Rodeheffer RJ, McGregor CG, Thomson SP, Gibbons RJ. Predictive power of the relative lymphocyte concentration in patients with advanced heart failure. *Circulation* 1998;97(1):19-22.
66. Sakatani T, Hadase M, Kawasaki T, Kamitani T, Kawasaki S, Sugihara H. Usefulness of the percentage of plasma lymphocytes as a prognostic marker in patients with congestive heart failure. *Jpn Heart J* 2004;45(2):275-84.
67. Acanfora D, Gheorghide M, Trojano L, Furgi G, Pasini E, Picone C, et al. Relative lymphocyte count: a prognostic indicator of mortality in elderly patients with congestive heart failure. *Am Heart J* 2001;142(1):167-73.
68. Prasad K, Kalra J, Massey KL, Bharadwaj B. Increased production of oxygen free radicals by polymorphonuclear leukocytes in heart failure due to aortic stenosis. *Angiology* 1989;40(5):472-8.
69. Shehab AM, MacFadyen RJ, McLaren M, Tavendale R, Belch JJ, Struthers AD. Sudden unexpected death in heart failure may be preceded by short term, intraindividual increases in inflammation and in autonomic dysfunction: a pilot study. *Heart* 2004;90(11):1263-8.
70. Cooper HA, Exner DV, Waclawiw MA, Domanski MJ. White blood cell count and mortality in patients with ischemic and nonischemic left ventricular systolic dysfunction (an analysis of the Studies Of Left Ventricular Dysfunction [SOLVD]). *Am J Cardiol* 1999;84(3):252-7.
71. Yin WH, Chen JW, Jen HL, Chiang MC, Huang WP, Feng AN, et al. Independent prognostic value of elevated high-sensitivity C-reactive protein in chronic heart failure. *Am Heart J* 2004;147(5):931-8.
72. Alonso-Martinez JL, Llorente-Diez B, Echegaray-Agara M, Olaz-Preciado F, Urbieto-Echezarreta M, Gonzalez-Arencibia C. C-reactive protein as a predictor of improvement and readmission in heart failure. *Eur J Heart Fail* 2002;4(3):331-6.
73. Anand IS, Latini R, Florea VG, Kuskowski MA, Rector T, Masson S, et al. C-reactive protein in heart failure: prognostic value and the effect of valsartan. *Circulation* 2005;112(10):1428-34.
74. Jarcho JA. Biventricular pacing. *N Engl J Med* 2006;355(3):288-94.

75. Bradley DJ, Bradley EA, Baughman KL, Berger RD, Calkins H, Goodman SN, et al. Cardiac resynchronization and death from progressive heart failure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 2003;289(6):730-40.
76. Feldman DE, Platt R, Dery V, Kapetanakis C, Lamontagne D, Ducharme A, et al. Seasonal congestive heart failure mortality and hospitalisation trends, Quebec 1990-1998. *J Epidemiol Community Health* 2004;58(2):129-30.
77. Dickinson BD, Havas S. Reducing the population burden of cardiovascular disease by reducing sodium intake: a report of the Council on Science and Public Health. *Arch Intern Med* 2007;167(14):1460-8.
78. Horwich TB, Fonarow GC, Hamilton MA, MacLellan WR, Borenstein J. Anemia is associated with worse symptoms, greater impairment in functional capacity and a significant increase in mortality in patients with advanced heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(11):1780-6.
79. Schmieder RE, Hilgers KF, Schlaich MP, Schmidt BM. Renin-angiotensin system and cardiovascular risk. *Lancet* 2007;369(9568):1208-19.
80. Varagic J, Trask AJ, Jessup JA, Chappell MC, Ferrario CM. New angiotensins. *J Mol Med* 2008;86(6):663-71.
81. Fyhrquist F, Saijonmaa O. Renin-angiotensin system revisited. *J Intern Med* 2008;264(3):224-36.
82. Unger T. The role of the renin-angiotensin system in the development of cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2002;89(2A):3A-9A; discussion 10A.
83. Mehta PK, Griendling KK. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007;292(1):C82-97.
84. Dzau VJ, Bernstein K, Celermajer D, Cohen J, Dahlof B, Deanfield J, et al. The relevance of tissue angiotensin-converting enzyme: manifestations in mechanistic and endpoint data. *Am J Cardiol* 2001;88(9A):1L-20L.
85. Salazar NC, Chen J, Rockman HA. Cardiac GPCRs: GPCR signaling in healthy and failing hearts. *Biochim Biophys Acta* 2007;1768(4):1006-18.
86. Hubbard KB, Hepler JR. Cell signalling diversity of the Gqalpha family of heterotrimeric G proteins. *Cell Signal* 2006;18(2):135-50.

87. Lapointe N, Rouleau JL. Activation of vascular tissue angiotensin-converting enzyme (ACE) in heart failure. Effects of ACE inhibitors. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(5):776-9.
88. Goralski KB, Sinal CJ. Type 2 diabetes and cardiovascular disease: getting to the fat of the matter. *Can J Physiol Pharmacol* 2007;85(1):113-32.
89. Lu H, Boustany-Kari CM, Daugherty A, Cassis LA. Angiotensin II increases adipose angiotensinogen expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;292(5):E1280-7.
90. Engeli S, Bohnke J, Gorzelniak K, Janke J, Schling P, Bader M, et al. Weight loss and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Hypertension* 2005;45(3):356-62.
91. Kim S, Soltani-Bejnood M, Quignard-Boulangé A, Massiera F, Teboul M, Ailhaud G, et al. The adipose Renin-Angiotensin system modulates systemic markers of insulin sensitivity and activates the intrarenal Renin-Angiotensin system. *J Biomed Biotechnol* 2006;2006(5):27012.
92. Rodgers JE, Patterson JH. The role of the renin-angiotensin-aldosterone system in the management of heart failure. *Pharmacotherapy* 2000;20(11 Pt 2):368S-378S.
93. Dzau VJ. Theodore Cooper Lecture: Tissue angiotensin and pathobiology of vascular disease: a unifying hypothesis. *Hypertension* 2001;37(4):1047-52.
94. Struthers AD. The clinical implications of aldosterone escape in congestive heart failure. *Eur J Heart Fail* 2004;6(5):539-45.
95. Adams KF, Jr. Pathophysiologic role of the renin-angiotensin-aldosterone and sympathetic nervous systems in heart failure. *Am J Health Syst Pharm* 2004;61 Suppl 2:S4-13.
96. Weber KT, Villarreal D. Aldosterone and antialdosterone therapy in congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1993;71(3):3A-11A.
97. Cha AJ, Malecha SE, Judge KW. Aldosterone, a new appreciation of its role in heart failure. *Pharmacotherapy* 2000;20(9):1107-15.
98. Weber KT. Aldosterone in congestive heart failure. *N Engl J Med* 2001;345(23):1689-97.
99. Macdonald JE, Struthers AD. What is the optimal serum potassium level in cardiovascular patients? *J Am Coll Cardiol* 2004;43(2):155-61.

100. Selektor Y, Weber KT. The salt-avid state of congestive heart failure revisited. *Am J Med Sci* 2008;335(3):209-18.
101. Weber KT. Targeting pathological remodeling: concepts of cardioprotection and reparation. *Circulation* 2000;102(12):1342-5.
102. Massie BM, Carson PE, McMurray JJ, Komajda M, McKelvie R, Zile MR, et al. Irbesartan in Patients with Heart Failure and Preserved Ejection Fraction. *N Engl J Med* 2008.
103. Cleland JG, Tendera M, Adamus J, Freemantle N, Polonski L, Taylor J. The perindopril in elderly people with chronic heart failure (PEP-CHF) study. *Eur Heart J* 2006;27(19):2338-45.
104. Kumar R, Singh VP, Baker KM. The intracellular renin-angiotensin system: a new paradigm. *Trends Endocrinol Metab* 2007;18(5):208-14.
105. Singh VP, Le B, Khode R, Baker KM, Kumar R. Intracellular angiotensin II production in diabetic rats is correlated with cardiomyocyte apoptosis, oxidative stress, and cardiac fibrosis. *Diabetes* 2008;57(12):3297-306.
106. Nguyen G, Delarue F, Burckle C, Bouzahir L, Giller T, Sraer JD. Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. *J Clin Invest* 2002;109(11):1417-27.
107. Raizada MK, Ferreira AJ. ACE2: a new target for cardiovascular disease therapeutics. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007;50(2):112-9.
108. Takahashi H, Ichihara A, Kaneshiro Y, Inomata K, Sakoda M, Takemitsu T, et al. Regression of nephropathy developed in diabetes by (Pro)renin receptor blockade. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(7):2054-61.
109. Ichihara A, Suzuki F, Nakagawa T, Kaneshiro Y, Takemitsu T, Sakoda M, et al. Prorenin receptor blockade inhibits development of glomerulosclerosis in diabetic angiotensin II type 1a receptor-deficient mice. *J Am Soc Nephrol* 2006;17(7):1950-61.
110. Messerli FH, Re RN. Do we need yet another blocker of the renin-angiotensin system? *J Am Coll Cardiol* 2007;49(11):1164-5.
111. Ferreira AJ, Raizada MK. Are we poised to target ACE2 for the next generation of antihypertensives? *J Mol Med* 2008;86(6):685-90.

112. Gammelgaard I, Wamberg S, Bie P. Systemic effects of angiotensin III in conscious dogs during acute double blockade of the renin-angiotensin-aldosterone-system. *Acta Physiol (Oxf)* 2006;188(2):129-38.
113. Kalidindi SR, Tang WH, Francis GS. Drug insight: aldosterone-receptor antagonists in heart failure--the journey continues. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007;4(7):368-78.
114. Francis GS, Benedict C, Johnstone DE, Kirlin PC, Nicklas J, Liang CS, et al. Comparison of neuroendocrine activation in patients with left ventricular dysfunction with and without congestive heart failure. A substudy of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *Circulation* 1990;82(5):1724-9.
115. Danser AH, van Kesteren CA, Bax WA, Tavenier M, Derkx FH, Saxena PR, et al. Prorenin, renin, angiotensinogen, and angiotensin-converting enzyme in normal and failing human hearts. Evidence for renin binding. *Circulation* 1997;96(1):220-6.
116. Zisman LS, Asano K, Dutcher DL, Ferdensi A, Robertson AD, Jenkin M, et al. Differential regulation of cardiac angiotensin converting enzyme binding sites and AT1 receptor density in the failing human heart. *Circulation* 1998;98(17):1735-41.
117. Matsubara H. Renin-angiotensin system in human failing hearts: message from nonmyocyte cells to myocytes. *Circ Res* 2001;88(9):861-3.
118. Serneri GG, Boddi M, Cecioni I, Vanni S, Coppo M, Papa ML, et al. Cardiac angiotensin II formation in the clinical course of heart failure and its relationship with left ventricular function. *Circ Res* 2001;88(9):961-8.
119. Pieruzzi F, Abassi ZA, Keiser HR. Expression of renin-angiotensin system components in the heart, kidneys, and lungs of rats with experimental heart failure. *Circulation* 1995;92(10):3105-12.
120. Yoshimura M, Nakamura S, Ito T, Nakayama M, Harada E, Mizuno Y, et al. Expression of aldosterone synthase gene in failing human heart: quantitative analysis using modified real-time polymerase chain reaction. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(8):3936-40.
121. Asano K, Dutcher DL, Port JD, Minobe WA, Tremmel KD, Roden RL, et al. Selective downregulation of the angiotensin II AT1-receptor subtype in failing human ventricular myocardium. *Circulation* 1997;95(5):1193-200.

122. Haywood GA, Gullestad L, Katsuya T, Hutchinson HG, Pratt RE, Horiuchi M, et al. AT1 and AT2 angiotensin receptor gene expression in human heart failure. *Circulation* 1997;95(5):1201-6.
123. Crackower MA, Sarao R, Oudit GY, Yagil C, Kozieradzki I, Scanga SE, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function. *Nature* 2002;417(6891):822-8.
124. Goulter AB, Goddard MJ, Allen JC, Clark KL. ACE2 gene expression is up-regulated in the human failing heart. *BMC Med* 2004;2:19.
125. Zisman LS, Keller RS, Weaver B, Lin Q, Speth R, Bristow MR, et al. Increased angiotensin-(1-7)-forming activity in failing human heart ventricles: evidence for upregulation of the angiotensin-converting enzyme Homologue ACE2. *Circulation* 2003;108(14):1707-12.
126. Epelman S, Tang WH, Chen SY, Van Lente F, Francis GS, Sen S. Detection of soluble angiotensin-converting enzyme 2 in heart failure: insights into the endogenous counter-regulatory pathway of the renin-angiotensin-aldosterone system. *J Am Coll Cardiol* 2008;52(9):750-4.
127. Swedberg K, Eneroth P, Kjeksus J, Wilhelmsen L. Hormones regulating cardiovascular function in patients with severe congestive heart failure and their relation to mortality. CONSENSUS Trial Study Group. *Circulation* 1990;82(5):1730-6.
128. Guder G, Bauersachs J, Frantz S, Weismann D, Allolio B, Ertl G, et al. Complementary and incremental mortality risk prediction by cortisol and aldosterone in chronic heart failure. *Circulation* 2007;115(13):1754-61.
129. Latini R, Masson S, Anand I, Salio M, Hester A, Judd D, et al. The comparative prognostic value of plasma neurohormones at baseline in patients with heart failure enrolled in Val-HeFT. *Eur Heart J* 2004;25(4):292-9.
130. Francis GS, Cohn JN, Johnson G, Rector TS, Goldman S, Simon A. Plasma norepinephrine, plasma renin activity, and congestive heart failure. Relations to survival and the effects of therapy in V-HeFT II. The V-HeFT VA Cooperative Studies Group. *Circulation* 1993;87(6 Suppl):VI40-8.

131. Rouleau JL, Packer M, Moye L, de Champlain J, Bichet D, Klein M, et al. Prognostic value of neurohumoral activation in patients with an acute myocardial infarction: effect of captopril. *J Am Coll Cardiol* 1994;24(3):583-91.
132. Eriksson SV, Eneroth P, Kjekshus J, Offstad J, Swedberg K. Neuroendocrine activation in relation to left ventricular function in chronic severe congestive heart failure: a subgroup analysis from the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). *Clin Cardiol* 1994;17(11):603-6.
133. Gislason GH, Rasmussen JN, Abildstrom SZ, Schramm TK, Hansen ML, Fosbol EL, et al. Increased mortality and cardiovascular morbidity associated with use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in chronic heart failure. *Arch Intern Med* 2009;169(2):141-9.
134. The effect of diltiazem on mortality and reinfarction after myocardial infarction. The Multicenter Diltiazem Postinfarction Trial Research Group. *N Engl J Med* 1988;319(7):385-92.
135. Tsuyuki RT, McKelvie RS, Arnold JM, Avezum A, Jr., Barretto AC, Carvalho AC, et al. Acute precipitants of congestive heart failure exacerbations. *Arch Intern Med* 2001;161(19):2337-42.
136. Liu P, Arnold JM, Belenkie I, Demers C, Dorian P, Gianetti N, et al. The 2002/3 Canadian Cardiovascular Society consensus guideline update for the diagnosis and management of heart failure. *Can J Cardiol* 2003;19(4):347-56.
137. Cohn JN, Johnson G, Ziesche S, Cobb F, Francis G, Tristani F, et al. A comparison of enalapril with hydralazine-isosorbide dinitrate in the treatment of chronic congestive heart failure. *N Engl J Med* 1991;325(5):303-10.
138. Pfeffer MA, Lamas GA, Vaughan DE, Parisi AF, Braunwald E. Effect of captopril on progressive ventricular dilatation after anterior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1988;319(2):80-6.
139. Kober L, Torp-Pedersen C, Carlsen JE, Bagger H, Eliassen P, Lyngborg K, et al. A clinical trial of the angiotensin-converting-enzyme inhibitor trandolapril in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Trandolapril Cardiac Evaluation (TRACE) Study Group. *N Engl J Med* 1995;333(25):1670-6.

140. Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. The SOLVD Investigators. *N Engl J Med* 1992;327(10):685-91.
141. Dargie HJ. Effect of carvedilol on outcome after myocardial infarction in patients with left-ventricular dysfunction: the CAPRICORN randomised trial. *Lancet* 2001;357(9266):1385-90.
142. Cohen Solal A, Jondeau G, Beauvais F, Berdeaux A. Beneficial effects of carvedilol on angiotensin-converting enzyme activity and renin plasma levels in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2004;6(4):463-6.
143. Fung JW, Yu CM, Yip G, Chan S, Yandle TG, Richards AM, et al. Effect of beta blockade (carvedilol or metoprolol) on activation of the renin-angiotensin-aldosterone system and natriuretic peptides in chronic heart failure. *Am J Cardiol* 2003;92(4):406-10.
144. A trial of the beta-blocker bucindolol in patients with advanced chronic heart failure. *N Engl J Med* 2001;344(22):1659-67.
145. Brater DC. Diuretic therapy. *N Engl J Med* 1998;339(6):387-95.
146. Faris R, Flather M, Purcell H, Henein M, Poole-Wilson P, Coats A. Current evidence supporting the role of diuretics in heart failure: a meta analysis of randomised controlled trials. *Int J Cardiol* 2002;82(2):149-58.
147. Faris R, Flather MD, Purcell H, Poole-Wilson PA, Coats AJ. Diuretics for heart failure. *Cochrane Database Syst Rev* 2006(1):CD003838.
148. Francis GS, Siegel RM, Goldsmith SR, Olivari MT, Levine TB, Cohn JN. Acute vasoconstrictor response to intravenous furosemide in patients with chronic congestive heart failure. Activation of the neurohumoral axis. *Ann Intern Med* 1985;103(1):1-6.
149. Neuberg GW, Miller AB, O'Connor CM, Belkin RN, Carson PE, Cropp AB, et al. Diuretic resistance predicts mortality in patients with advanced heart failure. *Am Heart J* 2002;144(1):31-8.
150. Gheorghide M, Konstam MA, Burnett JC, Jr., Grinfeld L, Maggioni AP, Swedberg K, et al. Short-term clinical effects of tolvaptan, an oral vasopressin antagonist, in patients hospitalized for heart failure: the EVEREST Clinical Status Trials. *JAMA* 2007;297(12):1332-43.

151. Konstam MA, Gheorghiade M, Burnett JC, Jr., Grinfeld L, Maggioni AP, Swedberg K, et al. Effects of oral tolvaptan in patients hospitalized for worsening heart failure: the EVEREST Outcome Trial. *JAMA* 2007;297(12):1319-31.
152. Gheorghiade M, Gattis WA, O'Connor CM, Adams KF, Jr., Elkayam U, Barbagelata A, et al. Effects of tolvaptan, a vasopressin antagonist, in patients hospitalized with worsening heart failure: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291(16):1963-71.
153. Costanzo MR, Saltzberg M, O'Sullivan J, Sobotka P. Early ultrafiltration in patients with decompensated heart failure and diuretic resistance. *J Am Coll Cardiol* 2005;46(11):2047-51.
154. Bart BA, Boyle A, Bank AJ, Anand I, Olivari MT, Kraemer M, et al. Ultrafiltration versus usual care for hospitalized patients with heart failure: the Relief for Acutely Fluid-Overloaded Patients With Decompensated Congestive Heart Failure (RAPID-CHF) trial. *J Am Coll Cardiol* 2005;46(11):2043-6.
155. Gheorghiade M, van Veldhuisen DJ, Colucci WS. Contemporary use of digoxin in the management of cardiovascular disorders. *Circulation* 2006;113(21):2556-64.
156. Rathore SS, Curtis JP, Wang Y, Bristow MR, Krumholz HM. Association of serum digoxin concentration and outcomes in patients with heart failure. *JAMA* 2003;289(7):871-8.
157. Adams KF, Jr., Gheorghiade M, Uretsky BF, Patterson JH, Schwartz TA, Young JB. Clinical benefits of low serum digoxin concentrations in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(6):946-53.
158. Taylor AL, Ziesche S, Yancy C, Carson P, D'Agostino R, Jr., Ferdinand K, et al. Combination of isosorbide dinitrate and hydralazine in blacks with heart failure. *N Engl J Med* 2004;351(20):2049-57.
159. Howlett JG, McKelvie RS, Arnold JM, Costigan J, Dorian P, Ducharme A, et al. Canadian Cardiovascular Society Consensus Conference guidelines on heart failure, update 2009: diagnosis and management of right-sided heart failure, myocarditis, device therapy and recent important clinical trials. *Can J Cardiol* 2009;25(2):85-105.
160. Brown NJ, Vaughan DE. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Circulation* 1998;97(14):1411-20.

161. de Graeff PA, Kingma JH, Dunselman PH, Wesseling H, Lie KI. Acute hemodynamic and hormonal effects of ramipril in chronic congestive heart failure and comparison with captopril. *Am J Cardiol* 1987;59(10):164D-170D.
162. Uretsky BF, Shaver JA, Liang CS, Amin D, Shah PK, Levine TB, et al. Modulation of hemodynamic effects with a converting enzyme inhibitor: acute hemodynamic dose-response relationship of a new angiotensin converting enzyme inhibitor, lisinopril, with observations on long-term clinical, functional, and biochemical responses. *Am Heart J* 1988;116(2 Pt 1):480-8.
163. Stone CK, Uretsky BF, Linnemeier TJ, Shah PK, Amin DK, Snapinn SM, et al. Hemodynamic effects of lisinopril after long-term administration in congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1989;63(9):567-70.
164. Ader R, Chatterjee K, Ports T, Brundage B, Hiramatsu B, Parmley W. Immediate and sustained hemodynamic and clinical improvement in chronic heart failure by an oral angiotensin-converting enzyme inhibitor. *Circulation* 1980;61(5):931-7.
165. LeJemtel TH, Keung E, Frishman WH, Ribner HS, Sonnenblick EH. Hemodynamic effects of captopril in patients with severe chronic heart failure. *Am J Cardiol* 1982;49(6):1484-8.
166. Packer M, Medina N, Yushak M. Comparative hemodynamic and clinical effects of long-term treatment with prazosin and captopril for severe chronic congestive heart failure secondary to coronary artery disease or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1986;57(15):1323-7.
167. Cody RJ, Covit AB, Schaer GL, Laragh JH. Evaluation of a long-acting converting enzyme inhibitor (enalapril) for the treatment of chronic congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1983;1(4):1154-9.
168. Schoolwerth AC, Sica DA, Ballermann BJ, Wilcox CS. Renal considerations in angiotensin converting enzyme inhibitor therapy: a statement for healthcare professionals from the Council on the Kidney in Cardiovascular Disease and the Council for High Blood Pressure Research of the American Heart Association. *Circulation* 2001;104(16):1985-91.
169. Giudicelli JF, Berdeaux A, Edouard A, Richer C, Jacolot D. The effect of enalapril on baroreceptor mediated reflex function in normotensive subjects. *Br J Clin Pharmacol* 1985;20(3):211-8.

170. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circ Res* 1985;57(1):84-95.
171. Cushman DW, Cheung HS. Concentrations of angiotensin-converting enzyme in tissues of the rat. *Biochim Biophys Acta* 1971;250(1):261-5.
172. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, Basta L, Brown EJ, Jr., Cuddy TE, et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. *N Engl J Med* 1992;327(10):669-77.
173. Pfeffer MA, McMurray JJ, Velazquez EJ, Rouleau JL, Kober L, Maggioni AP, et al. Valsartan, captopril, or both in myocardial infarction complicated by heart failure, left ventricular dysfunction, or both. *N Engl J Med* 2003;349(20):1893-906.
174. Packer M, Poole-Wilson PA, Armstrong PW, Cleland JG, Horowitz JD, Massie BM, et al. Comparative effects of low and high doses of the angiotensin-converting enzyme inhibitor, lisinopril, on morbidity and mortality in chronic heart failure. ATLAS Study Group. *Circulation* 1999;100(23):2312-8.
175. GISSI-3: effects of lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together on 6-week mortality and ventricular function after acute myocardial infarction. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'infarto Miocardico. *Lancet* 1994;343(8906):1115-22.
176. Rouleau JL, Warnica WJ, Baillot R, Block PJ, Chocron S, Johnstone D, et al. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition in low-risk patients early after coronary artery bypass surgery. *Circulation* 2008;117(1):24-31.
177. Pitt B, O'Neill B, Feldman R, Ferrari R, Schwartz L, Mudra H, et al. The QUinapril Ischemic Event Trial (QUIET): evaluation of chronic ACE inhibitor therapy in patients with ischemic heart disease and preserved left ventricular function. *Am J Cardiol* 2001;87(9):1058-63.
178. Hornig B, Landmesser U, Kohler C, Ahlersmann D, Spiekermann S, Christoph A, et al. Comparative effect of ace inhibition and angiotensin II type 1 receptor antagonism on bioavailability of nitric oxide in patients with coronary artery disease: role of superoxide dismutase. *Circulation* 2001;103(6):799-805.

179. Ghiadoni L, Magagna A, Versari D, Kardasz I, Huang Y, Taddei S, et al. Different effect of antihypertensive drugs on conduit artery endothelial function. *Hypertension* 2003;41(6):1281-6.
180. Mancini GB, Henry GC, Macaya C, O'Neill BJ, Pucillo AL, Carere RG, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. The TREND (Trial on Reversing ENdothelial Dysfunction) Study. *Circulation* 1996;94(3):258-65.
181. Mancini GB. Long-term use of angiotensin-converting enzyme inhibitors to modify endothelial dysfunction: a review of clinical investigations. *Clin Invest Med* 2000;23(2):144-61.
182. Brown NJ, Agirbasli M, Vaughan DE. Comparative effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II type 1 receptor antagonism on plasma fibrinolytic balance in humans. *Hypertension* 1999;34(2):285-90.
183. Brown NJ, Agirbasli MA, Williams GH, Litchfield WR, Vaughan DE. Effect of activation and inhibition of the renin-angiotensin system on plasma PAI-1. *Hypertension* 1998;32(6):965-71.
184. Flather MD, Yusuf S, Kober L, Pfeffer M, Hall A, Murray G, et al. Long-term ACE-inhibitor therapy in patients with heart failure or left-ventricular dysfunction: a systematic overview of data from individual patients. ACE-Inhibitor Myocardial Infarction Collaborative Group. *Lancet* 2000;355(9215):1575-81.
185. Yusuf S, Pepine CJ, Garces C, Pouleur H, Salem D, Kostis J, et al. Effect of enalapril on myocardial infarction and unstable angina in patients with low ejection fractions. *Lancet* 1992;340(8829):1173-8.
186. Fox KM. Efficacy of perindopril in reduction of cardiovascular events among patients with stable coronary artery disease: randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial (the EUROPA study). *Lancet* 2003;362(9386):782-8.
187. Yusuf S, Sleight P, Pogue J, Bosch J, Davies R, Dagenais G. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 2000;342(3):145-53.

188. Yusuf S, Ostergren JB, Gerstein HC, Pfeffer MA, Swedberg K, Granger CB, et al. Effects of candesartan on the development of a new diagnosis of diabetes mellitus in patients with heart failure. *Circulation* 2005;112(1):48-53.
189. Yusuf S, Gerstein H, Hoogwerf B, Pogue J, Bosch J, Wolffenbittel BH, et al. Ramipril and the development of diabetes. *JAMA* 2001;286(15):1882-5.
190. Kjeldsen SE, Julius S, Mancia G, McInnes GT, Hua T, Weber MA, et al. Effects of valsartan compared to amlodipine on preventing type 2 diabetes in high-risk hypertensive patients: the VALUE trial. *J Hypertens* 2006;24(7):1405-12.
191. Vermees E, Ducharme A, Bourassa MG, Lessard M, White M, Tardif JC. Enalapril reduces the incidence of diabetes in patients with chronic heart failure: insight from the Studies Of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *Circulation* 2003;107(9):1291-6.
192. Beltowski J. Role of leptin in blood pressure regulation and arterial hypertension. *J Hypertens* 2006;24(5):789-801.
193. Koh KK, Quon MJ, Lee Y, Han SH, Ahn JY, Chung WJ, et al. Additive beneficial cardiovascular and metabolic effects of combination therapy with ramipril and candesartan in hypertensive patients. *Eur Heart J* 2007;28(12):1440-7.
194. Koh KK, Quon MJ, Han SH, Chung WJ, Ahn JY, Seo YH, et al. Additive beneficial effects of losartan combined with simvastatin in the treatment of hypercholesterolemic, hypertensive patients. *Circulation* 2004;110(24):3687-92.
195. Koh KK, Quon MJ, Han SH, Chung WJ, Ahn JY, Kim JA, et al. Additive beneficial effects of fenofibrate combined with candesartan in the treatment of hypertriglyceridemic hypertensive patients. *Diabetes Care* 2006;29(2):195-201.
196. Koh KK, Quon MJ, Han SH, Ahn JY, Jin DK, Kim HS, et al. Vascular and metabolic effects of combined therapy with ramipril and simvastatin in patients with type 2 diabetes. *Hypertension* 2005;45(6):1088-93.
197. Lely AT, Krikken JA, Bakker SJ, Boomsma F, Dullaart RP, Wolffenbittel BH, et al. Low dietary sodium and exogenous angiotensin II infusion decrease plasma adiponectin concentrations in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(5):1821-6.
198. Zorad S, Dou JT, Benicky J, Hutanu D, Tybitanclova K, Zhou J, et al. Long-term angiotensin II AT1 receptor inhibition produces adipose tissue hypotrophy

- accompanied by increased expression of adiponectin and PPARgamma. *Eur J Pharmacol* 2006;552(1-3):112-22.
199. Derosa G, Cicero AF, D'Angelo A, Ragonesi PD, Ciccarelli L, Piccinni MN, et al. Telmisartan and irbesartan therapy in type 2 diabetic patients treated with rosiglitazone: effects on insulin-resistance, leptin and tumor necrosis factor-alpha. *Hypertens Res* 2006;29(11):849-56.
 200. Cruden NL, Witherow FN, Webb DJ, Fox KA, Newby DE. Bradykinin contributes to the systemic hemodynamic effects of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition in patients with heart failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24(6):1043-8.
 201. Witherow FN, Dawson P, Ludlam CA, Webb DJ, Fox KA, Newby DE. Bradykinin receptor antagonism and endothelial tissue plasminogen activator release in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(9):1667-70.
 202. Witherow FN, Dawson P, Ludlam CA, Fox KA, Newby DE. Marked bradykinin-induced tissue plasminogen activator release in patients with heart failure maintained on long-term angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy. *J Am Coll Cardiol* 2002;40(5):961-6.
 203. Witherow FN, Helmy A, Webb DJ, Fox KA, Newby DE. Bradykinin contributes to the vasodilator effects of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition in patients with heart failure. *Circulation* 2001;104(18):2177-81.
 204. Cheng CP, Onishi K, Ohte N, Suzuki M, Little WC. Functional effects of endogenous bradykinin in congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1998;31(7):1679-86.
 205. Brown NJ, Nadeau JH, Vaughan DE. Selective stimulation of tissue-type plasminogen activator (t-PA) in vivo by infusion of bradykinin. *Thromb Haemost* 1997;77(3):522-5.
 206. Liu YH, Yang XP, Sharov VG, Nass O, Sabbah HN, Peterson E, et al. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II type 1 receptor antagonists in rats with heart failure. Role of kinins and angiotensin II type 2 receptors. *J Clin Invest* 1997;99(8):1926-35.

207. Jong P, Yusuf S, Rousseau MF, Ahn SA, Bangdiwala SI. Effect of enalapril on 12-year survival and life expectancy in patients with left ventricular systolic dysfunction: a follow-up study. *Lancet* 2003;361(9372):1843-8.
208. Hall AS, Murray GD, Ball SG. Follow-up study of patients randomly allocated ramipril or placebo for heart failure after acute myocardial infarction: AIRE Extension (AIREX) Study. *Acute Infarction Ramipril Efficacy. Lancet* 1997;349(9064):1493-7.
209. Abdulla J, Pogue J, Abildstrom SZ, Kober L, Christensen E, Pfeffer MA, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on functional class in patients with left ventricular systolic dysfunction--a meta-analysis. *Eur J Heart Fail* 2006;8(1):90-6.
210. Burnier M. Angiotensin II type 1 receptor blockers. *Circulation* 2001;103(6):904-12.
211. Pitt B, Segal R, Martinez FA, Meurers G, Cowley AJ, Thomas I, et al. Randomised trial of losartan versus captopril in patients over 65 with heart failure (Evaluation of Losartan in the Elderly Study, ELITE). *Lancet* 1997;349(9054):747-52.
212. Levy BI. Can angiotensin II type 2 receptors have deleterious effects in cardiovascular disease? Implications for therapeutic blockade of the renin-angiotensin system. *Circulation* 2004;109(1):8-13.
213. Martineau P, Goulet J. New competition in the realm of renin-angiotensin axis inhibition; the angiotensin II receptor antagonists in congestive heart failure. *Ann Pharmacother* 2001;35(1):71-84.
214. Pitt B, Poole-Wilson PA, Segal R, Martinez FA, Dickstein K, Camm AJ, et al. Effect of losartan compared with captopril on mortality in patients with symptomatic heart failure: randomised trial--the Losartan Heart Failure Survival Study ELITE II. *Lancet* 2000;355(9215):1582-7.
215. Dickstein K, Kjekshus J. Effects of losartan and captopril on mortality and morbidity in high-risk patients after acute myocardial infarction: the OPTIMAAL randomised trial. *Optimal Trial in Myocardial Infarction with Angiotensin II Antagonist Losartan. Lancet* 2002;360(9335):752-60.

216. Forclaz A, Maillard M, Nussberger J, Brunner HR, Burnier M. Angiotensin II receptor blockade: is there truly a benefit of adding an ACE inhibitor? *Hypertension* 2003;41(1):31-6.
217. Maggioni AP, Anand I, Gottlieb SO, Latini R, Tognoni G, Cohn JN. Effects of valsartan on morbidity and mortality in patients with heart failure not receiving angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J Am Coll Cardiol* 2002;40(8):1414-21.
218. Seed A, Gardner R, McMurray J, Hillier C, Murdoch D, MacFadyen R, et al. Neurohumoral effects of the new orally active renin inhibitor, aliskiren, in chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2007;9(11):1120-7.
219. MacFadyen RJ, Lee AF, Morton JJ, Pringle SD, Struthers AD. How often are angiotensin II and aldosterone concentrations raised during chronic ACE inhibitor treatment in cardiac failure? *Heart* 1999;82(1):57-61.
220. Roig E, Perez-Villa F, Morales M, Jimenez W, Orus J, Heras M, et al. Clinical implications of increased plasma angiotensin II despite ACE inhibitor therapy in patients with congestive heart failure. *Eur Heart J* 2000;21(1):53-7.
221. Farquharson CA, Struthers AD. Gradual reactivation over time of vascular tissue angiotensin I to angiotensin II conversion during chronic lisinopril therapy in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(5):767-75.
222. Blanchet M, Sheppard R, Racine N, Ducharme A, Curnier D, Tardif JC, et al. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitor plus irbesartan on maximal and submaximal exercise capacity and neurohumoral activation in patients with congestive heart failure. *Am Heart J* 2005;149(5):938 e1-7.
223. Hamroff G, Katz SD, Mancini D, Blaufarb I, Bijou R, Patel R, et al. Addition of angiotensin II receptor blockade to maximal angiotensin-converting enzyme inhibition improves exercise capacity in patients with severe congestive heart failure. *Circulation* 1999;99(8):990-2.
224. Hamroff G, Blaufarb I, Mancini D, Katz SD, Bijou R, Jondeau G, et al. Angiotensin II-receptor blockade further reduces afterload safely in patients maximally treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors for heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 1997;30(4):533-6.
225. Baruch L, Anand I, Cohen IS, Ziesche S, Judd D, Cohn JN. Augmented short- and long-term hemodynamic and hormonal effects of an angiotensin receptor blocker

- added to angiotensin converting enzyme inhibitor therapy in patients with heart failure. Vasodilator Heart Failure Trial (V-HeFT) Study Group. *Circulation* 1999;99(20):2658-64.
226. Guazzi M, Palermo P, Pontone G, Susini F, Agostoni P. Synergistic efficacy of enalapril and losartan on exercise performance and oxygen consumption at peak exercise in congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1999;84(9):1038-43.
227. McKelvie RS, Yusuf S, Pericak D, Avezum A, Burns RJ, Probstfield J, et al. Comparison of candesartan, enalapril, and their combination in congestive heart failure: randomized evaluation of strategies for left ventricular dysfunction (RESOLVD) pilot study. The RESOLVD Pilot Study Investigators. *Circulation* 1999;100(10):1056-64.
228. Majani G, Giardini A, Opasich C, Glazer R, Hester A, Tognoni G, et al. Effect of valsartan on quality of life when added to usual therapy for heart failure: results from the Valsartan Heart Failure Trial. *J Card Fail* 2005;11(4):253-9.
229. Demers C, McMurray JJ, Swedberg K, Pfeffer MA, Granger CB, Olofsson B, et al. Impact of candesartan on nonfatal myocardial infarction and cardiovascular death in patients with heart failure. *JAMA* 2005;294(14):1794-8.
230. McMurray JJ, Young JB, Dunlap ME, Granger CB, Hainer J, Michelson EL, et al. Relationship of dose of background angiotensin-converting enzyme inhibitor to the benefits of candesartan in the Candesartan in Heart failure: Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM)-Added trial. *Am Heart J* 2006;151(5):985-91.
231. O'Meara E, Solomon S, McMurray J, Pfeffer M, Yusuf S, Michelson E, et al. Effect of candesartan on New York Heart Association functional class. Results of the Candesartan in Heart failure: Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM) programme. *Eur Heart J* 2004;25(21):1920-6.
232. Yusuf S, Teo KK, Pogue J, Dyal L, Copland I, Schumacher H, et al. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *N Engl J Med* 2008;358(15):1547-59.
233. Latini R, Masson S, Anand I, Judd D, Maggioni AP, Chiang YT, et al. Effects of valsartan on circulating brain natriuretic peptide and norepinephrine in symptomatic

- chronic heart failure: the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *Circulation* 2002;106(19):2454-8.
234. Cohn JN, Anand IS, Latini R, Masson S, Chiang YT, Glazer R. Sustained reduction of aldosterone in response to the angiotensin receptor blocker valsartan in patients with chronic heart failure: results from the Valsartan Heart Failure Trial. *Circulation* 2003;108(11):1306-9.
235. Wong M, Staszewsky L, Latini R, Barlera S, Volpi A, Chiang YT, et al. Valsartan benefits left ventricular structure and function in heart failure: Val-HeFT echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol* 2002;40(5):970-5.
236. White M, Lepage S, Lavoie J, De Denus S, Leblanc MH, Gossard D, et al. Effects of combined candesartan and ACE inhibitors on BNP, markers of inflammation and oxidative stress, and glucose regulation in patients with symptomatic heart failure. *J Card Fail* 2007;13(2):86-94.
237. Maggioni AP, Latini R, Carson PE, Singh SN, Barlera S, Glazer R, et al. Valsartan reduces the incidence of atrial fibrillation in patients with heart failure: results from the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *Am Heart J* 2005;149(3):548-57.
238. Ducharme A, Swedberg K, Pfeffer MA, Cohen-Solal A, Granger CB, Maggioni AP, et al. Prevention of atrial fibrillation in patients with symptomatic chronic heart failure by candesartan in the Candesartan in Heart failure: Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM) program. *Am Heart J* 2006;152(1):86-92.
239. Vermees E, Tardif JC, Bourassa MG, Racine N, Levesque S, White M, et al. Enalapril decreases the incidence of atrial fibrillation in patients with left ventricular dysfunction: insight from the Studies Of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) trials. *Circulation* 2003;107(23):2926-31.
240. Wachtell K, Lehto M, Gerds E, Olsen MH, Hornestam B, Dahlöf B, et al. Angiotensin II receptor blockade reduces new-onset atrial fibrillation and subsequent stroke compared to atenolol: the Losartan Intervention For End Point Reduction in Hypertension (LIFE) study. *J Am Coll Cardiol* 2005;45(5):712-9.
241. Madrid AH, Bueno MG, Rebollo JM, Marin I, Pena G, Bernal E, et al. Use of irbesartan to maintain sinus rhythm in patients with long-lasting persistent atrial fibrillation: a prospective and randomized study. *Circulation* 2002;106(3):331-6.

242. Elliott WJ, Meyer PM. Incident diabetes in clinical trials of antihypertensive drugs: a network meta-analysis. *Lancet* 2007;369(9557):201-7.
243. Abuissa H, Jones PG, Marso SP, O'Keefe JH, Jr. Angiotensin-converting enzyme inhibitors or angiotensin receptor blockers for prevention of type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized clinical trials. *J Am Coll Cardiol* 2005;46(5):821-6.
244. Effectiveness of spironolactone added to an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a loop diuretic for severe chronic congestive heart failure (the Randomized Aldactone Evaluation Study [RALES]). *Am J Cardiol* 1996;78(8):902-7.
245. Pitt B, Remme W, Zannad F, Neaton J, Martinez F, Roniker B, et al. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003;348(14):1309-21.
246. Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, Mabuchi N, Hayashi M, Tsutsui T, et al. Effect of spironolactone on plasma brain natriuretic peptide and left ventricular remodeling in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2001;37(5):1228-33.
247. Cicoira M, Zanolla L, Rossi A, Golia G, Franceschini L, Brighetti G, et al. Long-term, dose-dependent effects of spironolactone on left ventricular function and exercise tolerance in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;40(2):304-10.
248. Feola M, Menardi E, Ribichini F, Vado A, Deorsola A, Ferrero V, et al. Effects of the addition of a low dose of spironolactone on brain natriuretic peptide plasma level and cardiopulmonary function in patients with moderate congestive heart failure. *Med Sci Monit* 2003;9(8):CR341-5.
249. Kasama S, Toyama T, Kumakura H, Takayama Y, Ichikawa S, Suzuki T, et al. Effect of spironolactone on cardiac sympathetic nerve activity and left ventricular remodeling in patients with dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2003;41(4):574-81.
250. Macdonald JE, Kennedy N, Struthers AD. Effects of spironolactone on endothelial function, vascular angiotensin converting enzyme activity, and other prognostic markers in patients with mild heart failure already taking optimal treatment. *Heart* 2004;90(7):765-70.

251. Rousseau MF, Gurne O, Duprez D, Van Mieghem W, Robert A, Ahn S, et al. Beneficial neurohormonal profile of spironolactone in severe congestive heart failure: results from the RALES neurohormonal substudy. *J Am Coll Cardiol* 2002;40(9):1596-601.
252. Yee KM, Pringle SD, Struthers AD. Circadian variation in the effects of aldosterone blockade on heart rate variability and QT dispersion in congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2001;37(7):1800-7.
253. Farquharson CA, Struthers AD. Spironolactone increases nitric oxide bioactivity, improves endothelial vasodilator dysfunction, and suppresses vascular angiotensin I/angiotensin II conversion in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2000;101(6):594-7.
254. Pitt B, Reichek N, Willenbrock R, Zannad F, Phillips RA, Roniker B, et al. Effects of eplerenone, enalapril, and eplerenone/enalapril in patients with essential hypertension and left ventricular hypertrophy: the 4E-left ventricular hypertrophy study. *Circulation* 2003;108(15):1831-8.
255. Zannad F, Alla F, Dousset B, Perez A, Pitt B. Limitation of excessive extracellular matrix turnover may contribute to survival benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure: insights from the randomized aldactone evaluation study (RALES). Rales Investigators. *Circulation* 2000;102(22):2700-6.
256. MacFadyen RJ, Barr CS, Struthers AD. Aldosterone blockade reduces vascular collagen turnover, improves heart rate variability and reduces early morning rise in heart rate in heart failure patients. *Cardiovasc Res* 1997;35(1):30-4.
257. Sato A, Hayashi M, Saruta T. Relative long-term effects of spironolactone in conjunction with an angiotensin-converting enzyme inhibitor on left ventricular mass and diastolic function in patients with essential hypertension. *Hypertens Res* 2002;25(6):837-42.
258. Sato A, Takane H, Saruta T. High serum level of procollagen type III amino-terminal peptide contributes to the efficacy of spironolactone and angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy on left ventricular hypertrophy in essential hypertensive patients. *Hypertens Res* 2001;24(2):99-104.

259. McMurray JJV, Pitt B, Latini R, Maggioni AP, Solomon SD, Keefe DL, et al. Effects of the Oral Direct Renin Inhibitor Aliskiren in Patients With Symptomatic Heart Failure. *Circ Heart Fail* 2008;1(1):17-24.
260. Alderman CP. Adverse effects of the angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Ann Pharmacother* 1996;30(1):55-61.
261. Dykewicz MS. Cough and angioedema from angiotensin-converting enzyme inhibitors: new insights into mechanisms and management. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2004;4(4):267-70.
262. Dicipinigaitis PV. Angiotensin-converting enzyme inhibitor-induced cough: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2006;129(1 Suppl):169S-173S.
263. Kostis JB, Kim HJ, Rusnak J, Casale T, Kaplan A, Corren J, et al. Incidence and characteristics of angioedema associated with enalapril. *Arch Intern Med* 2005;165(14):1637-42.
264. Malde B, Regalado J, Greenberger PA. Investigation of angioedema associated with the use of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007;98(1):57-63.
265. Molinaro G, Cugno M, Perez M, Lepage Y, Gervais N, Agostoni A, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitor-associated angioedema is characterized by a slower degradation of des-arginine(9)-bradykinin. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;303(1):232-7.
266. Irons BK, Kumar A. Valsartan-induced angioedema. *Ann Pharmacother* 2003;37(7-8):1024-7.
267. Cicardi M, Zingale LC, Bergamaschini L, Agostoni A. Angioedema associated with angiotensin-converting enzyme inhibitor use: outcome after switching to a different treatment. *Arch Intern Med* 2004;164(8):910-3.
268. Warner KK, Visconti JA, Tschampel MM. Angiotensin II receptor blockers in patients with ACE inhibitor-induced angioedema. *Ann Pharmacother* 2000;34(4):526-8.
269. Mosenkis A, Townsend RR. Gynecomastia and antihypertensive therapy. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2004;6(8):469-70.
270. Prisant LM, Chin E. Gynecomastia and hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2005;7(4):245-8.

271. Satoh T, Munakata H, Fujita K, Itoh S, Itoh S, Kamataki T, et al. Studies on the interactions between drug and estrogen. II: On the inhibitory effect of 29 drugs reported to induce gynecomastia on the oxidation of estradiol at C-2 or C-17. *Biol Pharm Bull* 2003;26(5):695-700.
272. Greenberg B, Quinones MA, Koilpillai C, Limacher M, Shindler D, Benedict C, et al. Effects of long-term enalapril therapy on cardiac structure and function in patients with left ventricular dysfunction. Results of the SOLVD echocardiography substudy. *Circulation* 1995;91(10):2573-81.
273. Metra M, Giubbini R, Nodari S, Boldi E, Modena MG, Dei Cas L. Differential effects of beta-blockers in patients with heart failure: A prospective, randomized, double-blind comparison of the long-term effects of metoprolol versus carvedilol. *Circulation* 2000;102(5):546-51.
274. Colucci WS, Packer M, Bristow MR, Gilbert EM, Cohn JN, Fowler MB, et al. Carvedilol inhibits clinical progression in patients with mild symptoms of heart failure. US Carvedilol Heart Failure Study Group. *Circulation* 1996;94(11):2800-6.
275. Effects of metoprolol CR in patients with ischemic and dilated cardiomyopathy : the randomized evaluation of strategies for left ventricular dysfunction pilot study. *Circulation* 2000;101(4):378-84.
276. Carson P, Ziesche S, Johnson G, Cohn JN. Racial differences in response to therapy for heart failure: analysis of the vasodilator-heart failure trials. Vasodilator-Heart Failure Trial Study Group. *J Card Fail* 1999;5(3):178-87.
277. Exner DV, Dries DL, Domanski MJ, Cohn JN. Lesser response to angiotensin-converting-enzyme inhibitor therapy in black as compared with white patients with left ventricular dysfunction. *N Engl J Med* 2001;344(18):1351-7.
278. Yancy CW. Heart failure in African Americans. *Am J Cardiol* 2005;96(7B):3i-12i.
279. Dries DL, Strong MH, Cooper RS, Drazner MH. Efficacy of angiotensin-converting enzyme inhibition in reducing progression from asymptomatic left ventricular dysfunction to symptomatic heart failure in black and white patients. *J Am Coll Cardiol* 2002;40(2):311-7.
280. Foster MW, Sharp RR. Beyond race: towards a whole-genome perspective on human populations and genetic variation. *Nat Rev Genet* 2004;5(10):790-6.
281. Bevan D. Genes, race and drugs. *Clin Invest Med* 2004;27(1):5-6.

282. Bloche MG. Race-based therapeutics. *N Engl J Med* 2004;351(20):2035-7.
283. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001;291(5507):1304-51.
284. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001;409(6822):860-921.
285. Frazer KA, Ballinger DG, Cox DR, Hinds DA, Stuve LL, Gibbs RA, et al. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* 2007;449(7164):851-61.
286. Cordell HJ, Clayton DG. Genetic association studies. *Lancet* 2005;366(9491):1121-31.
287. Burton PR, Tobin MD, Hopper JL. Key concepts in genetic epidemiology. *Lancet* 2005;366(9489):941-51.
288. Hirschhorn JN, Daly MJ. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet* 2005;6(2):95-108.
289. Weinshilboum R. Inheritance and drug response. *N Engl J Med* 2003;348(6):529-37.
290. Guttmacher AE, Collins FS. Genomic medicine--a primer. *N Engl J Med* 2002;347(19):1512-20.
291. Tefferi A, Wieben ED, Dewald GW, Whiteman DA, Bernard ME, Spelsberg TC. Primer on medical genomics part II: Background principles and methods in molecular genetics. *Mayo Clin Proc* 2002;77(8):785-808.
292. Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nat Rev Genet* 2002;3(5):391-7.
293. Morita H, Seidman J, Seidman CE. Genetic causes of human heart failure. *J Clin Invest* 2005;115(3):518-26.
294. Ashrafian H, Watkins H. Reviews of translational medicine and genomics in cardiovascular disease: new disease taxonomy and therapeutic implications cardiomyopathies: therapeutics based on molecular phenotype. *J Am Coll Cardiol* 2007;49(12):1251-64.
295. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology,

- Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2006;113(14):1807-16.
296. Hershberger RE, Lindenfeld J, Mestroni L, Seidman CE, Taylor MR, Towbin JA. Genetic evaluation of cardiomyopathy--a heart failure society of america practice guideline. *J Card Fail* 2009;15(2):83-97.
297. Perrot A, Dietz R, Osterziel KJ. Is there a common genetic basis for all familial cardiomyopathies? *Eur J Heart Fail* 2007;9(1):4-6.
298. Perkins MJ, Van Driest SL, Ellsworth EG, Will ML, Gersh BJ, Ommen SR, et al. Gene-specific modifying effects of pro-LVH polymorphisms involving the renin-angiotensin-aldosterone system among 389 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2005;26(22):2457-62.
299. Amara ME, Villard E, Komajda M. Mise au point sur la genetique de la cardiomyopathie dilatee familiale. *Annales de Cardiologie et d'Angeiologie* 2005;54(3):151-156.
300. Doris PA. Hypertension genetics, single nucleotide polymorphisms, and the common disease:common variant hypothesis. *Hypertension* 2002;39(2 Pt 2):323-31.
301. Lee DS, Pencina MJ, Benjamin EJ, Wang TJ, Levy D, O'Donnell CJ, et al. Association of parental heart failure with risk of heart failure in offspring. *N Engl J Med* 2006;355(2):138-47.
302. Rice GI, Jones AL, Grant PJ, Carter AM, Turner AJ, Hooper NM. Circulating activities of angiotensin-converting enzyme, its homolog, angiotensin-converting enzyme 2, and neprilysin in a family study. *Hypertension* 2006;48(5):914-20.
303. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990;86(4):1343-6.
304. Canham RM, Das SR, Leonard D, Abdullah SM, Mehta SK, Chung AK, et al. Alpha2cDel322-325 and beta1Arg389 adrenergic polymorphisms are not associated with reduced left ventricular ejection fraction or increased left ventricular volume. *J Am Coll Cardiol* 2007;49(2):274-6.

305. Kitsios G, Zintzaras E. Genetic variation associated with ischemic heart failure: a HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol* 2007;166(6):619-33.
306. Zakrzewski-Jakubiak M, de Denus S, Dube MP, Belanger F, White M, Turgeon J. Ten renin-angiotensin system-related gene polymorphisms in maximally treated Canadian Caucasian patients with heart failure. *Br J Clin Pharmacol* 2008;65(5):742-51.
307. Winkelmann BR, Russ AP, Nauck M, Klein B, Bohm BO, Maier V, et al. Angiotensinogen M235T polymorphism is associated with plasma angiotensinogen and cardiovascular disease. *Am Heart J* 1999;137(4 Pt 1):698-705.
308. Renner W, Nauck M, Winkelmann BR, Hoffmann MM, Scharnagl H, Mayer V, et al. Association of angiotensinogen haplotypes with angiotensinogen levels but not with blood pressure or coronary artery disease: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study. *J Mol Med* 2005;83(3):235-9.
309. Sethi AA, Nordestgaard BG, Agerholm-Larsen B, Frandsen E, Jensen G, Tybjaerg-Hansen A. Angiotensinogen polymorphisms and elevated blood pressure in the general population: the Copenhagen City Heart Study. *Hypertension* 2001;37(3):875-81.
310. Robinson M, Williams SM. Role of two angiotensinogen polymorphisms in blood pressure variation. *J Hum Hypertens* 2004;18(12):865-9.
311. Rodriguez-Perez JC, Rodriguez-Esparragon F, Hernandez-Perera O, Anabitarte A, Losada A, Medina A, et al. Association of angiotensinogen M235T and A(-6)G gene polymorphisms with coronary heart disease with independence of essential hypertension: the PROCAGENE study. *Prospective Cardiac Gene. J Am Coll Cardiol* 2001;37(6):1536-42.
312. Pereira TV, Nunes AC, Rudnicki M, Yamada Y, Pereira AC, Krieger JE. Meta-analysis of the association of 4 angiotensinogen polymorphisms with essential hypertension: a role beyond M235T? *Hypertension* 2008;51(3):778-83.
313. Dzau VJ, Bernstein K, Celermajer D, Cohen J, Dahlof B, Deanfield J, et al. Pathophysiologic and therapeutic importance of tissue ACE: a consensus report. *Cardiovasc Drugs Ther* 2002;16(2):149-60.
314. Dahlof B, Devereux RB, Kjeldsen SE, Julius S, Beevers G, de Faire U, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint

- reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. *Lancet* 2002;359(9311):995-1003.
315. Hansson L, Lindholm LH, Niskanen L, Lanke J, Hedner T, Niklason A, et al. Effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition compared with conventional therapy on cardiovascular morbidity and mortality in hypertension: the Captopril Prevention Project (CAPPP) randomised trial. *Lancet* 1999;353(9153):611-6.
316. ISIS-4: a randomised factorial trial assessing early oral captopril, oral mononitrate, and intravenous magnesium sulphate in 58,050 patients with suspected acute myocardial infarction. ISIS-4 (Fourth International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *Lancet* 1995;345(8951):669-85.
317. Abraham MR, Olson LJ, Joyner MJ, Turner ST, Beck KC, Johnson BD. Angiotensin-converting enzyme genotype modulates pulmonary function and exercise capacity in treated patients with congestive stable heart failure. *Circulation* 2002;106(14):1794-9.
318. Tang WH, Vagelos RH, Yee YG, Fowler MB. Impact of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on neurohormonal responses to high- versus low-dose enalapril in advanced heart failure. *Am Heart J* 2004;148(5):889-94.
319. Danser AH, Schalekamp MA, Bax WA, van den Brink AM, Saxena PR, Riegger GA, et al. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation* 1995;92(6):1387-8.
320. Cicoira M, Zanolla L, Rossi A, Golia G, Franceschini L, Cabrini G, et al. Failure of aldosterone suppression despite angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor administration in chronic heart failure is associated with ACE DD genotype. *J Am Coll Cardiol* 2001;37(7):1808-12.
321. McNamara DM, Holubkov R, Postava L, Janosko K, MacGowan GA, Mathier M, et al. Pharmacogenetic interactions between angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy and the angiotensin-converting enzyme deletion polymorphism in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004;44(10):2019-26.
322. Andersson B, Sylven C. The DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with increased mortality in idiopathic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1996;28(1):162-7.

323. Cuoco MA, Pereira AC, de Freitas HF, de Fatima Alves da Mota G, Fukushima JT, Krieger JE, et al. Angiotensin-converting enzyme gene deletion polymorphism modulation of onset of symptoms and survival rate of patients with heart failure. *Int J Cardiol* 2005;99(1):97-103.
324. Montgomery HE, Keeling PJ, Goldman JH, Humphries SE, Talmud PJ, McKenna WJ. Lack of association between the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1995;25(7):1627-31.
325. Sanderson JE, Yu CM, Young RP, Shum IO, Wei S, Arumanayagam M, et al. Influence of gene polymorphisms of the renin-angiotensin system on clinical outcome in heart failure among the Chinese. *Am Heart J* 1999;137(4 Pt 1):653-7.
326. Shin J, Lobmeyer MT, Gong Y, Zineh I, Langae TY, Yarandi H, et al. Relation of beta(2)-adrenoceptor haplotype to risk of death and heart transplantation in patients with heart failure. *Am J Cardiol* 2007;99(2):250-5.
327. Pilbrow AP, Palmer BR, Frampton CM, Yandle TG, Troughton RW, Campbell E, et al. Angiotensinogen M235T and T174M gene polymorphisms in combination doubles the risk of mortality in heart failure. *Hypertension* 2007;49(2):322-7.
328. McNamara DM, Tam SW, Sabolinski ML, Tobelmann P, Janosko K, Taylor AL, et al. Aldosterone synthase promoter polymorphism predicts outcome in African Americans with heart failure: results from the A-HeFT Trial. *J Am Coll Cardiol* 2006;48(6):1277-82.
329. Spiering W, Kroon AA, Fuss-Lejeune MM, Daemen MJ, de Leeuw PW. Angiotensin II sensitivity is associated with the angiotensin II type 1 receptor A(1166)C polymorphism in essential hypertensives on a high sodium diet. *Hypertension* 2000;36(3):411-6.
330. van Geel PP, Pinto YM, Voors AA, Buikema H, Oosterga M, Crijns HJ, et al. Angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphism is associated with an increased response to angiotensin II in human arteries. *Hypertension* 2000;35(3):717-21.
331. Tiret L, Bonnardeaux A, Poirier O, Ricard S, Marques-Vidal P, Evans A, et al. Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type 1

- receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction. *Lancet* 1994;344(8927):910-3.
332. Kainulainen K, Perola M, Terwilliger J, Kaprio J, Koskenvuo M, Syvanen AC, et al. Evidence for involvement of the type 1 angiotensin II receptor locus in essential hypertension. *Hypertension* 1999;33(3):844-9.
333. Baudin B. Polymorphism in angiotensin II receptor genes and hypertension. *Exp Physiol* 2005;90(3):277-82.
334. Fabris B, Bortoletto M, Candido R, Barbone F, Cattin MR, Calci M, et al. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system and renal insufficiency in essential hypertension. *J Hypertens* 2005;23(2):309-16.
335. Cameron VA, Mocatta TJ, Pilbrow AP, Frampton CM, Troughton RW, Richards AM, et al. Angiotensin type-1 receptor A1166C gene polymorphism correlates with oxidative stress levels in human heart failure. *Hypertension* 2006;47(6):1155-61.
336. Andersson B, Blange I, Sylven C. Angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphism and long-term survival in patients with idiopathic congestive heart failure. *Eur J Heart Fail* 1999;1(4):363-9.
337. Bristow MR, Ginsburg R, Umans V, Fowler M, Minobe W, Rasmussen R, et al. Beta 1- and beta 2-adrenergic-receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective beta 1-receptor down-regulation in heart failure. *Circ Res* 1986;59(3):297-309.
338. Bristow MR, Ginsburg R, Minobe W, Cubicciotti RS, Sageman WS, Lurie K, et al. Decreased catecholamine sensitivity and beta-adrenergic-receptor density in failing human hearts. *N Engl J Med* 1982;307(4):205-11.
339. Magnusson Y, Levin MC, Eggertsen R, Nystrom E, Mobini R, Schaufelberger M, et al. Ser49Gly of beta1-adrenergic receptor is associated with effective beta-blocker dose in dilated cardiomyopathy. *Clin Pharmacol Ther* 2005;78(3):221-31.
340. Mialet Perez J, Rathz DA, Petrashevskaya NN, Hahn HS, Wagoner LE, Schwartz A, et al. Beta 1-adrenergic receptor polymorphisms confer differential function and predisposition to heart failure. *Nat Med* 2003;9(10):1300-5.
341. Liggett SB, Mialet-Perez J, Thaneemit-Chen S, Weber SA, Greene SM, Hodne D, et al. A polymorphism within a conserved beta(1)-adrenergic receptor motif alters

- cardiac function and beta-blocker response in human heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(30):11288-93.
342. Mason DA, Moore JD, Green SA, Liggett SB. A gain-of-function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human beta1-adrenergic receptor. *J Biol Chem* 1999;274(18):12670-4.
343. Wagoner LE, Craft LL, Zengel P, McGuire N, Rathz DA, Dorn GW, 2nd, et al. Polymorphisms of the beta1-adrenergic receptor predict exercise capacity in heart failure. *Am Heart J* 2002;144(5):840-6.
344. Burger AJ, Elkayam U, Neibaur MT, Haught H, Ghali J, Horton DP, et al. Comparison of the occurrence of ventricular arrhythmias in patients with acutely decompensated congestive heart failure receiving dobutamine versus nesiritide therapy. *Am J Cardiol* 2001;88(1):35-9.
345. Thackray S, Easthaugh J, Freemantle N, Cleland JG. The effectiveness and relative effectiveness of intravenous inotropic drugs acting through the adrenergic pathway in patients with heart failure-a meta-regression analysis. *Eur J Heart Fail* 2002;4(4):515-29.
346. Iwai C, Akita H, Shiga N, Takai E, Miyamoto Y, Shimizu M, et al. Suppressive effect of the Gly389 allele of the beta1-adrenergic receptor gene on the occurrence of ventricular tachycardia in dilated cardiomyopathy. *Circ J* 2002;66(8):723-8.
347. Biolo A, Clausell N, Santos KG, Salvaro R, Ashton-Prolla P, Borges A, et al. Impact of beta1-adrenergic receptor polymorphisms on susceptibility to heart failure, arrhythmogenesis, prognosis, and response to beta-blocker therapy. *Am J Cardiol* 2008;102(6):726-32.
348. Forleo C, Resta N, Sorrentino S, Guida P, Manghisi A, De Luca V, et al. Association of beta-adrenergic receptor polymorphisms and progression to heart failure in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Med* 2004;117(7):451-8.
349. White HL, de Boer RA, Maqbool A, Greenwood D, van Veldhuisen DJ, Cuthbert R, et al. An evaluation of the beta-1 adrenergic receptor Arg389Gly polymorphism in individuals with heart failure: a MERIT-HF sub-study. *Eur J Heart Fail* 2003;5(4):463-8.

350. Levin MC, Marullo S, Muntaner O, Andersson B, Magnusson Y. The myocardium-protective Gly-49 variant of the beta 1-adrenergic receptor exhibits constitutive activity and increased desensitization and down-regulation. *J Biol Chem* 2002;277(34):30429-35.
351. Rathz DA, Brown KM, Kramer LA, Liggett SB. Amino acid 49 polymorphisms of the human beta1-adrenergic receptor affect agonist-promoted trafficking. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002;39(2):155-60.
352. Borjesson M, Magnusson Y, Hjalmarson A, Andersson B. A novel polymorphism in the gene coding for the beta(1)-adrenergic receptor associated with survival in patients with heart failure. *Eur Heart J* 2000;21(22):1853-8.
353. Dishy V, Landau R, Sofowora GG, Xie HG, Smiley RM, Kim RB, et al. Beta2-adrenoceptor Thr164Ile polymorphism is associated with markedly decreased vasodilator and increased vasoconstrictor sensitivity in vivo. *Pharmacogenetics* 2004;14(8):517-22.
354. Green SA, Turki J, Innis M, Liggett SB. Amino-terminal polymorphisms of the human beta 2-adrenergic receptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. *Biochemistry* 1994;33(32):9414-9.
355. Kaye DM, Smirk B, Finch S, Williams C, Esler MD. Interaction between cardiac sympathetic drive and heart rate in heart failure: modulation by adrenergic receptor genotype. *J Am Coll Cardiol* 2004;44(10):2008-15.
356. Snyder EM, Turner ST, Johnson BD. Beta2-adrenergic receptor genotype and pulmonary function in patients with heart failure. *Chest* 2006;130(5):1527-34.
357. Wolk R, Snyder EM, Somers VK, Turner ST, Olson LJ, Johnson BD. Arginine 16 glycine beta2-adrenoceptor polymorphism and cardiovascular structure and function in patients with heart failure. *J Am Soc Echocardiogr* 2007;20(3):290-7.
358. Wagoner LE, Craft LL, Singh B, Suresh DP, Zengel PW, McGuire N, et al. Polymorphisms of the beta(2)-adrenergic receptor determine exercise capacity in patients with heart failure. *Circ Res* 2000;86(8):834-40.
359. Liggett SB, Wagoner LE, Craft LL, Hornung RW, Hoit BD, McIntosh TC, et al. The Ile164 beta2-adrenergic receptor polymorphism adversely affects the outcome of congestive heart failure. *J Clin Invest* 1998;102(8):1534-9.

360. Barbato E, Penicka M, Delrue L, Van Durme F, De Bruyne B, Goethals M, et al. Thr164Ile polymorphism of beta2-adrenergic receptor negatively modulates cardiac contractility: implications for prognosis in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Heart* 2007;93(7):856-61.
361. Brodde OE, Buscher R, Tellkamp R, Radke J, Dhein S, Insel PA. Blunted cardiac responses to receptor activation in subjects with Thr164Ile beta(2)-adrenoceptors. *Circulation* 2001;103(8):1048-50.
362. Littlejohn MD, Palmer BR, Richards AM, Frampton CM, Pilbrow AP, Troughton RW, et al. Ile164 variant of beta2-adrenoceptor does not influence outcome in heart failure but may interact with beta blocker treatment. *Eur J Heart Fail* 2008;10(1):55-9.
363. Small KM, Forbes SL, Rahman FF, Bridges KM, Liggett SB. A four amino acid deletion polymorphism in the third intracellular loop of the human alpha 2C-adrenergic receptor confers impaired coupling to multiple effectors. *J Biol Chem* 2000;275(30):23059-64.
364. Neumeister A, Charney DS, Belfer I, Geraci M, Holmes C, Sharabi Y, et al. Sympathoneural and adrenomedullary functional effects of alpha2C-adrenoreceptor gene polymorphism in healthy humans. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15(3):143-9.
365. Brede M, Wiesmann F, Jahns R, Hadamek K, Arnolt C, Neubauer S, et al. Feedback inhibition of catecholamine release by two different alpha2-adrenoceptor subtypes prevents progression of heart failure. *Circulation* 2002;106(19):2491-6.
366. Regitz-Zagrosek V, Hocher B, Bettmann M, Brede M, Hadamek K, Gerstner C, et al. Alpha2C-adrenoceptor polymorphism is associated with improved event-free survival in patients with dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2006;27(4):454-9.
367. Metra M, Zani C, Covolo L, Nodari S, Pezzali N, Gelatti U, et al. Role of beta1- and alpha2c-adrenergic receptor polymorphisms and their combination in heart failure: a case-control study. *Eur J Heart Fail* 2006;8(2):131-5.
368. Nonen S, Okamoto H, Akino M, Matsui Y, Fujio Y, Yoshiyama M, et al. No positive association between adrenergic receptor variants of alpha2cDel322-325, beta1Ser49, beta1Arg389 and the risk for heart failure in the Japanese population. *Br J Clin Pharmacol* 2005;60(4):414-7.

369. Small KM, Wagoner LE, Levin AM, Kardina SL, Liggett SB. Synergistic polymorphisms of beta1- and alpha2C-adrenergic receptors and the risk of congestive heart failure. *N Engl J Med* 2002;347(15):1135-42.
370. Liggett SB, Cresci S, Kelly RJ, Syed FM, Matkovich SJ, Hahn HS, et al. A GRK5 polymorphism that inhibits beta-adrenergic receptor signaling is protective in heart failure. *Nat Med* 2008;14(5):510-7.
371. Collins RP, Palmer BR, Pilbrow AP, Frampton CM, Troughton RW, Yandle TG, et al. Evaluation of AMPD1 C34T genotype as a predictor of mortality in heart failure and post-myocardial infarction patients. *Am Heart J* 2006;152(2):312-20.
372. Kalsi KK, Yuen AH, Rybakowska IM, Johnson PH, Slominska E, Birks EJ, et al. Decreased cardiac activity of AMP deaminase in subjects with the AMPD1 mutation--a potential mechanism of protection in heart failure. *Cardiovasc Res* 2003;59(3):678-84.
373. Morisaki T, Gross M, Morisaki H, Pongratz D, Zollner N, Holmes EW. Molecular basis of AMP deaminase deficiency in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89(14):6457-61.
374. Fuller RW, Maxwell DL, Conradson TB, Dixon CM, Barnes PJ. Circulatory and respiratory effects of infused adenosine in conscious man. *Br J Clin Pharmacol* 1987;24(3):306-17.
375. Cronstein BN. Adenosine, an endogenous anti-inflammatory agent. *J Appl Physiol* 1994;76(1):5-13.
376. Loh E, Rebbeck TR, Mahoney PD, DeNofrio D, Swain JL, Holmes EW. Common variant in AMPD1 gene predicts improved clinical outcome in patients with heart failure. *Circulation* 1999;99(11):1422-5.
377. Gastmann A, Sigusch HH, Henke A, Reinhardt D, Surber R, Gastmann O, et al. Role of adenosine monophosphate deaminase-1 gene polymorphism in patients with congestive heart failure (influence on tumor necrosis factor-alpha level and outcome). *Am J Cardiol* 2004;93(10):1260-4.
378. Yazaki Y, Muhlestein JB, Carlquist JF, Bair TL, Horne BD, Renlund DG, et al. A common variant of the AMPD1 gene predicts improved survival in patients with ischemic left ventricular dysfunction. *J Card Fail* 2004;10(4):316-20.

379. de Groote P, Lamblin N, Helbecque N, Mouquet F, Hermant X, Amouyel P, et al. The impact of the AMPD1 gene polymorphism on exercise capacity, other prognostic parameters, and survival in patients with stable congestive heart failure: a study in 686 consecutive patients. *Am Heart J* 2006;152(4):736-41.
380. Kolek MJ, Carlquist JF, Thaneemit-Chen S, Lazzeroni LC, Whiting BM, Horne BD, et al. The role of a common adenosine monophosphate deaminase (AMPD)-1 polymorphism in outcomes of ischemic and nonischemic heart failure. *J Card Fail* 2005;11(9):677-83.
381. McNamara DM, Holubkov R, Postava L, Ramani R, Janosko K, Mathier M, et al. Effect of the Asp298 variant of endothelial nitric oxide synthase on survival for patients with congestive heart failure. *Circulation* 2003;107(12):1598-602.
382. Drigo SA, Cunha-Neto E, Ianni B, Cardoso MR, Braga PE, Fae KC, et al. TNF gene polymorphisms are associated with reduced survival in severe Chagas' disease cardiomyopathy patients. *Microbes Infect* 2006;8(3):598-603.
383. Herrmann S, Schmidt-Petersen K, Pfeifer J, Perrot A, Bit-Avragim N, Eichhorn C, et al. A polymorphism in the endothelin-A receptor gene predicts survival in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2001;22(20):1948-53.
384. Mizon-Gerard F, de Groote P, Lamblin N, Hermant X, Dallongeville J, Amouyel P, et al. Prognostic impact of matrix metalloproteinase gene polymorphisms in patients with heart failure according to the aetiology of left ventricular systolic dysfunction. *Eur Heart J* 2004;25(8):688-93.
385. van der Meer P, De Boer RA, White HL, van der Steege G, Hall AS, Voors AA, et al. The VEGF +405 CC promoter polymorphism is associated with an impaired prognosis in patients with chronic heart failure: a MERIT-HF substudy. *J Card Fail* 2005;11(4):279-84.
386. de Groote P, Helbecque N, Lamblin N, Hermant X, Amouyel P, Bauters C, et al. Beta-adrenergic receptor blockade and the angiotensin-converting enzyme deletion polymorphism in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2004;6(1):17-21.
387. Mukae S, Itoh S, Aoki S, Iwata T, Nishio K, Sato R, et al. Association of polymorphisms of the renin-angiotensin system and bradykinin B2 receptor with ACE-inhibitor-related cough. *J Hum Hypertens* 2002;16(12):857-63.

388. Mukae S, Aoki S, Itoh S, Iwata T, Ueda H, Katagiri T. Bradykinin B(2) receptor gene polymorphism is associated with angiotensin-converting enzyme inhibitor-related cough. *Hypertension* 2000;36(1):127-31.
389. Chadwick IG, Yeo WW, Higgins KS, Jackson PR, Ramsay LE, Morice AH. ACE inhibitors, cough, and genetics. *Lancet* 1994;343(8899):740-1.
390. Furuya K, Yamaguchi E, Hirabayashi T, Itoh A, Hizawa N, Ohnuma N, et al. Angiotensin-I-converting enzyme gene polymorphism and susceptibility to cough. *Lancet* 1994;343(8893):354.
391. Kreft-Jais C, Laforest L, Bonnardeaux A, Dumont C, Plouin PF, Jeunemaitre X. ACE inhibitors, cough, and genetics. *Lancet* 1994;343(8899):740.
392. Zee RY, Rao VS, Paster RZ, Sweet CS, Lindpaintner K. Three candidate genes and angiotensin-converting enzyme inhibitor-related cough: a pharmacogenetic analysis. *Hypertension* 1998;31(4):925-8.
393. Lefebvre J, Bachvarov DR, Turgeon J, Lacourciere Y. Relationship between ACE inhibitor-cough and genetic polymorphism of bradykinin (B2) receptor. *Am J Hypertens* 2000;13(4S):80A-80A.
394. Duan QL, Nikpoor B, Dube MP, Molinaro G, Meijer IA, Dion P, et al. A variant in XPNPEP2 is associated with angioedema induced by angiotensin I-converting enzyme inhibitors. *Am J Hum Genet* 2005;77(4):617-26.
395. Piller LB, Ford CE, Davis BR, Nwachuku C, Black HR, Oparil S, et al. Incidence and predictors of angioedema in elderly hypertensive patients at high risk for cardiovascular disease: a report from the Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2006;8(9):649-56; quiz 657-8.
396. Cicoira M, Rossi A, Bonapace S, Zanolla L, Perrot A, Francis DP, et al. Effects of ACE gene insertion/deletion polymorphism on response to spironolactone in patients with chronic heart failure. *Am J Med* 2004;116(10):657-61.
397. Honda M, Ogura Y, Toyoda W, Taguchi M, Nozawa T, Inoue H, et al. Multiple regression analysis of pharmacogenetic variability of carvedilol disposition in 54 healthy Japanese volunteers. *Biol Pharm Bull* 2006;29(4):772-8.

398. Honda M, Toyoda W, Shimizu T, Horiuchi I, Kayano Y, Taguchi M, et al. UGT2B7*3 did not affect the pharmacokinetics of R- and S-carvedilol in healthy Japanese. *Drug Metab Pharmacokinet* 2007;22(5):382-6.
399. Takekuma Y, Takenaka T, Kiyokawa M, Yamazaki K, Okamoto H, Kitabatake A, et al. Contribution of polymorphisms in UDP-glucuronosyltransferase and CYP2D6 to the individual variation in disposition of carvedilol. *J Pharm Pharm Sci* 2006;9(1):101-12.
400. Takekuma Y, Takenaka T, Kiyokawa M, Yamazaki K, Okamoto H, Kitabatake A, et al. Evaluation of effects of polymorphism for metabolic enzymes on pharmacokinetics of carvedilol by population pharmacokinetic analysis. *Biol Pharm Bull* 2007;30(3):537-42.
401. Takekuma Y, Takenaka T, Yamazaki K, Ueno K, Sugawara M. Stereoselective metabolism of racemic carvedilol by UGT1A1 and UGT2B7, and effects of mutation of these enzymes on glucuronidation activity. *Biol Pharm Bull* 2007;30(11):2146-53.
402. Terra SG, Pauly DF, Lee CR, Patterson JH, Adams KF, Schofield RS, et al. beta-Adrenergic receptor polymorphisms and responses during titration of metoprolol controlled release/extended release in heart failure. *Clin Pharmacol Ther* 2005;77(3):127-37.
403. Fux R, Morike K, Prohmer AM, Delabar U, Schwab M, Schaeffeler E, et al. Impact of CYP2D6 genotype on adverse effects during treatment with metoprolol: a prospective clinical study. *Clin Pharmacol Ther* 2005;78(4):378-87.
404. Nonen S, Okamoto H, Fujio Y, Takemoto Y, Yoshiyama M, Hamaguchi T, et al. Polymorphisms of norepinephrine transporter and adrenergic receptor alpha(1D) are associated with the response to beta-blockers in dilated cardiomyopathy. *Pharmacogenomics J* 2007.
405. Liggett SB, Mialet-Perez J, Thaneemit-Chen S, Weber SA, Greene SM, Hodne D, et al. A polymorphism within a conserved beta1-adrenergic receptor motif alters cardiac function and beta-blocker response in human heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(30):11288-93.
406. Rochais F, Vilardaga JP, Nikolaev VO, Bunemann M, Lohse MJ, Engelhardt S. Real-time optical recording of beta1-adrenergic receptor activation reveals

- supersensitivity of the Arg389 variant to carvedilol. *J Clin Invest* 2007;117(1):229-35.
407. Bristow MR. beta-adrenergic receptor blockade in chronic heart failure. *Circulation* 2000;101(5):558-69.
408. Lopez-Sendon J, Swedberg K, McMurray J, Tamargo J, Maggioni AP, Dargie H, et al. Expert consensus document on beta-adrenergic receptor blockers. *Eur Heart J* 2004;25(15):1341-62.
409. Krum H. Beta-blockers in heart failure. The 'new wave' of clinical trials. *Drugs* 1999;58(2):203-10.
410. Chen L, Meyers D, Javorsky G, Burstow D, Lolekha P, Lucas M, et al. Arg389Gly-beta1-adrenergic receptors determine improvement in left ventricular systolic function in nonischemic cardiomyopathy patients with heart failure after chronic treatment with carvedilol. *Pharmacogenet Genomics* 2007;17(11):941-9.
411. Terra SG, Hamilton KK, Pauly DF, Lee CR, Patterson JH, Adams KF, et al. Beta1-adrenergic receptor polymorphisms and left ventricular remodeling changes in response to beta-blocker therapy. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15(4):227-34.
412. Sehnert AJ, Daniels SE, Elashoff M, Wingrove JA, Burrow CR, Horne B, et al. Lack of association between adrenergic receptor genotypes and survival in heart failure patients treated with carvedilol or metoprolol. *J Am Coll Cardiol* 2008;52(8):644-51.
413. de Groote P, Helbecque N, Lamblin N, Hermant X, Mc Fadden E, Foucher-Hossein C, et al. Association between beta-1 and beta-2 adrenergic receptor gene polymorphisms and the response to beta-blockade in patients with stable congestive heart failure. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15(3):137-42.
414. Iwata A, Miura S, Nishikawa H, Kawamura A, Matsuo Y, Sako H, et al. Significance of combined angiotensin II receptor blocker and carvedilol therapy in patients with congestive heart failure and arginine variant. *J Cardiol* 2006;47(1):1-7.
415. Kaye DM, Smirk B, Williams C, Jennings G, Esler M, Holst D. Beta-adrenoceptor genotype influences the response to carvedilol in patients with congestive heart failure. *Pharmacogenetics* 2003;13(7):379-82.
416. Lobmeyer MT, Gong Y, Terra SG, Beitelshes AL, Langae TY, Pauly DF, et al. Synergistic polymorphisms of beta1 and alpha2C-adrenergic receptors and the

- influence on left ventricular ejection fraction response to beta-blocker therapy in heart failure. *Pharmacogenet Genomics* 2007;17(4):277-82.
417. Johne A, Kopke K, Gerloff T, Mai I, Rietbrock S, Meisel C, et al. Modulation of steady-state kinetics of digoxin by haplotypes of the P-glycoprotein MDR1 gene. *Clin Pharmacol Ther* 2002;72(5):584-94.
418. Bartnicka L, Kurzawski M, Drozdziak A, Plonska-Gosciniak E, Gornik W, Drozdziak M. Effect of ABCB1 (MDR1) 3435C >T and 2677G >A,T polymorphisms and P-glycoprotein inhibitors on salivary digoxin secretion in congestive heart failure patients. *Pharmacol Rep* 2007;59(3):323-9.
419. Verstuyft C, Strabach S, El-Morabet H, Kerb R, Brinkmann U, Dubert L, et al. Dipyridamole enhances digoxin bioavailability via P-glycoprotein inhibition. *Clin Pharmacol Ther* 2003;73(1):51-60.
420. Kurata Y, Ieiri I, Kimura M, Morita T, Irie S, Urae A, et al. Role of human MDR1 gene polymorphism in bioavailability and interaction of digoxin, a substrate of P-glycoprotein. *Clin Pharmacol Ther* 2002;72(2):209-19.
421. Sakaeda T, Nakamura T, Horinouchi M, Kakumoto M, Ohmoto N, Sakai T, et al. MDR1 genotype-related pharmacokinetics of digoxin after single oral administration in healthy Japanese subjects. *Pharm Res* 2001;18(10):1400-4.
422. Chowbay B, Li H, David M, Cheung YB, Lee EJ. Meta-analysis of the influence of MDR1 C3435T polymorphism on digoxin pharmacokinetics and MDR1 gene expression. *Br J Clin Pharmacol* 2005;60(2):159-71.
423. Aarnoudse AJ, Dieleman JP, Visser LE, Arp PP, van der Heiden IP, van Schaik RH, et al. Common ATP-binding cassette B1 variants are associated with increased digoxin serum concentration. *Pharmacogenet Genomics* 2008;18(4):299-305.
424. Sciarrone MT, Stella P, Barlassina C, Manunta P, Lanzani C, Bianchi G, et al. ACE and alpha-adducin polymorphism as markers of individual response to diuretic therapy. *Hypertension* 2003;41(3):398-403.
425. Cusi D, Barlassina C, Azzani T, Casari G, Citterio L, Devoto M, et al. Polymorphisms of alpha-adducin and salt sensitivity in patients with essential hypertension. *Lancet* 1997;349(9062):1353-7.
426. Davis BR, Arnett DK, Boerwinkle E, Ford CE, Leisencker-Foster C, Miller MB, et al. Antihypertensive therapy, the alpha-adducin polymorphism, and

- cardiovascular disease in high-risk hypertensive persons: the Genetics of Hypertension-Associated Treatment Study. *Pharmacogenomics J* 2007;7(2):112-22.
427. Turner ST, Chapman AB, Schwartz GL, Boerwinkle E. Effects of endothelial nitric oxide synthase, alpha-adducin, and other candidate gene polymorphisms on blood pressure response to hydrochlorothiazide. *Am J Hypertens* 2003;16(10):834-9.
428. Kurland L, Liljedahl U, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Melhus H, et al. Angiotensinogen gene polymorphisms: relationship to blood pressure response to antihypertensive treatment. Results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA) trial. *Am J Hypertens* 2004;17(1):8-13.
429. Kurland L, Melhus H, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Ohman KP, et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism predicts blood pressure response to angiotensin II receptor type 1 antagonist treatment in hypertensive patients. *J Hypertens* 2001;19(10):1783-7.
430. Nakamura Y, Tamaki S, Uchida Y, Ohmichi N, Yamaoka O, Miyauchi N, et al. Angiotensin converting enzyme genotype influences the response to the angiotensin II receptor antagonist losartan in patients with hypertension. *Hypertens Res* 2004;27(3):137-40.
431. Spiering W, Kroon AA, Fuss-Lejeune MJ, de Leeuw PW. Genetic contribution to the acute effects of angiotensin II type 1 receptor blockade. *J Hypertens* 2005;23(4):753-8.
432. Kurland L, Melhus H, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Ohman P, et al. Polymorphisms in the angiotensinogen and angiotensin II type 1 receptor gene are related to change in left ventricular mass during antihypertensive treatment: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *J Hypertens* 2002;20(4):657-63.
433. Lim HS, Cho JY, Oh DS, Chung JY, Hong KS, Bae KS, et al. Angiotensin II type 1 receptor 1166A/C polymorphism in association with blood pressure response to exogenous angiotensin II. *Eur J Clin Pharmacol* 2007;63(1):17-26.
434. Kurland L, Melhus H, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Ohman P, et al. Aldosterone synthase (CYP11B2) -344 C/T polymorphism is related to antihypertensive response: result from the Swedish Irbesartan Left Ventricular

- Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *Am J Hypertens* 2002;15(5):389-93.
435. Ortlepp JR, Hanrath P, Mevissen V, Kiel G, Borggreffe M, Hoffmann R. Variants of the CYP11B2 gene predict response to therapy with candesartan. *Eur J Pharmacol* 2002;445(1-2):151-2.
436. Hallberg P, Lind L, Michaelsson K, Karlsson J, Kurland L, Kahan T, et al. B2 bradykinin receptor (B2BKR) polymorphism and change in left ventricular mass in response to antihypertensive treatment: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *J Hypertens* 2003;21(3):621-624.
437. Ross H, Hendry P, Dipchand A, Giannetti N, Hirsch G, Isaac D, et al. 2001 Canadian Cardiovascular Society Consensus Conference on cardiac transplantation. *Can J Cardiol* 2003;19(6):620-54.
438. Mehra MR, Kobashigawa J, Starling R, Russell S, Uber PA, Parameshwar J, et al. Listing criteria for heart transplantation: International Society for Heart and Lung Transplantation guidelines for the care of cardiac transplant candidates--2006. *J Heart Lung Transplant* 2006;25(9):1024-42.
439. Taylor DO, Edwards LB, Boucek MM, Trulock EP, Aurora P, Christie J, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult heart transplant report--2007. *J Heart Lung Transplant* 2007;26(8):769-81.
440. Rose EA, Gelijns AC, Moskowitz AJ, Heitjan DF, Stevenson LW, Dembitsky W, et al. Long-term mechanical left ventricular assistance for end-stage heart failure. *N Engl J Med* 2001;345(20):1435-43.
441. Kobashigawa JA, Patel J, Furukawa H, Moriguchi JD, Yeatman L, Takemoto S, et al. Five-year results of a randomized, single-center study of tacrolimus vs microemulsion cyclosporine in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant* 2006;25(4):434-9.
442. Taylor DO, Barr ML, Radovancevic B, Renlund DG, Mentzer RM, Jr., Smart FW, et al. A randomized, multicenter comparison of tacrolimus and cyclosporine immunosuppressive regimens in cardiac transplantation: decreased hyperlipidemia and hypertension with tacrolimus. *J Heart Lung Transplant* 1999;18(4):336-45.

443. Meiser BM, Uberfuhr P, Fuchs A, Schmidt D, Pfeiffer M, Paulus D, et al. Single-center randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of acute myocardial rejection. *J Heart Lung Transplant* 1998;17(8):782-8.
444. Grimm M, Rinaldi M, Yonan NA, Arpesella G, Arizon Del Prado JM, Pulpon LA, et al. Superior prevention of acute rejection by tacrolimus vs. cyclosporine in heart transplant recipients--a large European trial. *Am J Transplant* 2006;6(6):1387-97.
445. Kobashigawa JA, Miller LW, Russell SD, Ewald GA, Zucker MJ, Goldberg LR, et al. Tacrolimus with mycophenolate mofetil (MMF) or sirolimus vs. cyclosporine with MMF in cardiac transplant patients: 1-year report. *Am J Transplant* 2006;6(6):1377-86.
446. Hamawy MM, Knechtle SJ. An overview of the actions of cyclosporine and FK506. *Transplantation Reviews* 2003;17(4):165-171.
447. Campistol JM, Sacks SH. Mechanisms of nephrotoxicity. *Transplantation* 2000;69(12 Suppl):SS5-10.
448. Lindenfeld J, Miller GG, Shakar SF, Zolty R, Lowes BD, Wolfel EE, et al. Drug therapy in the heart transplant recipient: part II: immunosuppressive drugs. *Circulation* 2004;110(25):3858-65.
449. Dunn CJ, Wagstaff AJ, Perry CM, Plosker GL, Goa KL. Cyclosporin: an updated review of the pharmacokinetic properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion-based formulation (neoral)¹ in organ transplantation. *Drugs* 2001;61(13):1957-2016.
450. Hauser IA, Koziolk M, Hopfer U, Thevenod F. Therapeutic concentrations of cyclosporine A, but not FK506, increase P-glycoprotein expression in endothelial and renal tubule cells. *Kidney Int* 1998;54(4):1139-49.
451. Masuda S, Inui K. An up-date review on individualized dosage adjustment of calcineurin inhibitors in organ transplant patients. *Pharmacol Ther* 2006;112(1):184-98.
452. Stataz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet* 2004;43(10):623-53.

453. Christians U, Strom T, Zhang YL, Steudel W, Schmitz V, Trump S, et al. Active drug transport of immunosuppressants: new insights for pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Ther Drug Monit* 2006;28(1):39-44.
454. Knight SR, Morris PJ. The clinical benefits of cyclosporine C2-level monitoring: a systematic review. *Transplantation* 2007;83(12):1525-35.
455. Mahalati K, Belitsky P, Sketris I, West K, Panek R. Neoral monitoring by simplified sparse sampling area under the concentration-time curve: its relationship to acute rejection and cyclosporine nephrotoxicity early after kidney transplantation. *Transplantation* 1999;68(1):55-62.
456. Cyclosporine microemulsion (Neoral) absorption profiling and sparse-sample predictors during the first 3 months after renal transplantation. *Am J Transplant* 2002;2(2):148-56.
457. MacDonald AS. Impact of immunosuppressive therapy on hypertension. *Transplantation* 2000;70(11 Suppl):SS70-6.
458. Dumont RJ, Ensom MH. Methods for clinical monitoring of cyclosporin in transplant patients. *Clin Pharmacokinet* 2000;38(5):427-47.
459. Cooney GF, Jeevanandam V, Choudhury S, Feutren G, Mueller EA, Eisen HJ. Comparative bioavailability of Neoral and Sandimmune in cardiac transplant recipients over 1 year. *Transplant Proc* 1998;30(5):1892-4.
460. Eisen H, Ross H. Optimizing the immunosuppressive regimen in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2004;23(5 Suppl):S207-13.
461. Cantarovich M, Besner JG, Barkun JS, Elstein E, Loertscher R. Two-hour cyclosporine level determination is the appropriate tool to monitor Neoral therapy. *Clin Transplant* 1998;12(3):243-9.
462. Cantarovich M, Elstein E, de Varennes B, Barkun JS. Clinical benefit of neoral dose monitoring with cyclosporine 2-hr post-dose levels compared with trough levels in stable heart transplant patients. *Transplantation* 1999;68(12):1839-42.
463. Reichart B, Meiser B, Vigano M, Rinaldi M, Martinelli L, Yacoub M, et al. European Multicenter Tacrolimus (FK506) Heart Pilot Study: one-year results--European Tacrolimus Multicenter Heart Study Group. *J Heart Lung Transplant* 1998;17(8):775-81.

464. White M, Haddad H, Leblanc MH, Giannetti N, Pflugfelder P, Davies R, et al. Conversion from cyclosporine microemulsion to tacrolimus-based immunoprophylaxis improves cholesterol profile in heart transplant recipients with treated but persistent dyslipidemia: the Canadian multicentre randomized trial of tacrolimus vs cyclosporine microemulsion. *J Heart Lung Transplant* 2005;24(7):798-809.
465. Reichenspurner H. Overview of tacrolimus-based immunosuppression after heart or lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005;24(2):119-30.
466. Rubel JR, Milford EL, McKay DB, Jarcho JA. Renal insufficiency and end-stage renal disease in the heart transplant population. *J Heart Lung Transplant* 2004;23(3):289-300.
467. Ojo AO, Held PJ, Port FK, Wolfe RA, Leichtman AB, Young EW, et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med* 2003;349(10):931-40.
468. Lindenfeld J, Page RL, 2nd, Zolty R, Shakar SF, Levi M, Lowes B, et al. Drug therapy in the heart transplant recipient: Part III: common medical problems. *Circulation* 2005;111(1):113-7.
469. Vossler MR, Ni H, Toy W, Hershberger RE. Pre-operative renal function predicts development of chronic renal insufficiency after orthotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2002;21(8):874-81.
470. van Gelder T, Balk AH, Zietse R, Hesse C, Mochtar B, Weimar W. Renal insufficiency after heart transplantation: a case-control study. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13(9):2322-6.
471. Bennett WM, DeMattos A, Meyer MM, Andoh T, Barry JM. Chronic cyclosporine nephropathy: the Achilles' heel of immunosuppressive therapy. *Kidney Int* 1996;50(4):1089-100.
472. Burdmann EA, Andoh TF, Yu L, Bennett WM. Cyclosporine nephrotoxicity. *Semin Nephrol* 2003;23(5):465-76.
473. Koller-Strametz J, Wolzt M, Fuchs C, Putz D, Wisser W, Mensik C, et al. Renal hemodynamic effects of L-arginine and sodium nitroprusside in heart transplant recipients. *Kidney Int* 1999;55(5):1871-7.

474. Branten AJ, Hilbrands LB, van Hamersvelt HW, Koene RA, Huysmans FT. Renal and systemic effects of atenolol and tertatolol in renal transplant recipients on cyclosporine A. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13(2):423-6.
475. Perez de Lema G, Arribas I, Prieto A, Parra T, de Arriba G, Rodriguez-Puyol D, et al. Cyclosporin A-induced hydrogen peroxide synthesis by cultured human mesangial cells is blocked by exogenous antioxidants. *Life Sci* 1998;62(19):1745-53.
476. Lake KD, Aaronson KD, Gorman LE, Pagani FD, Koelling TM. Effect of oral vitamin E and C therapy on calcineurin inhibitor levels in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2005;24(8):990-4.
477. Blackhall ML, Fassett RG, Sharman JE, Geraghty DP, Coombes JS. Effects of antioxidant supplementation on blood cyclosporin A and glomerular filtration rate in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20(9):1970-5.
478. del Moral RG, Andujar M, Ramirez C, Gomez-Morales M, Masseroli M, Aguilar M, et al. Chronic cyclosporin A nephrotoxicity, P-glycoprotein overexpression, and relationships with intrarenal angiotensin II deposits. *Am J Pathol* 1997;151(6):1705-14.
479. Ramirez C, Olmo A, O'Valle F, Masseroli M, Aguilar M, Gomez-Morales M, et al. Role of intrarenal endothelin 1, endothelin 3, and angiotensin II expression in chronic cyclosporin A nephrotoxicity in rats. *Exp Nephrol* 2000;8(3):161-72.
480. Bloom RD, Doyle AM. Kidney disease after heart and lung transplantation. *Am J Transplant* 2006;6(4):671-9.
481. Johnson DW, Saunders HJ, Johnson FJ, Huq SO, Field MJ, Pollock CA. Cyclosporin exerts a direct fibrogenic effect on human tubulointerstitial cells: roles of insulin-like growth factor I, transforming growth factor beta1, and platelet-derived growth factor. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;289(1):535-42.
482. Burdmann EA, Andoh TF, Nast CC, Evan A, Connors BA, Coffman TM, et al. Prevention of experimental cyclosporin-induced interstitial fibrosis by losartan and enalapril. *Am J Physiol* 1995;269(4 Pt 2):F491-9.
483. Johnson DW, Saunders HJ, Vesey DA, Qi W, Field MJ, Pollock CA. Enalaprilat directly ameliorates in vitro cyclosporin nephrotoxicity in human tubulo-interstitial cells. *Nephron* 2000;86(4):473-81.

484. Feria I, Pichardo I, Juárez P, Ramirez V, Gonzalez MA, Uribe N, et al. Therapeutic benefit of spironolactone in experimental chronic cyclosporine A nephrotoxicity. *Kidney Int* 2003;63(1):43-52.
485. Halimi JM, Giraudeau B, Buchler M, Al-Najjar A, Etienne I, Laouad I, et al. Enalapril/amlodipine combination in cyclosporine-treated renal transplant recipients: a prospective randomized trial. *Clin Transplant* 2007;21(2):277-84.
486. Suwelack B, Kobelt V, Erfmann M, Hausberg M, Gerhardt U, Rahn KH, et al. Long-term follow-up of ACE-inhibitor versus beta-blocker treatment and their effects on blood pressure and kidney function in renal transplant recipients. *Transpl Int* 2003;16(5):313-20.
487. Sennesael JJ, Lamote JG, Violet I, Tasse S, Verbeelen DL. Divergent effects of calcium channel and angiotensin converting enzyme blockade on glomerulotubular function in cyclosporine-treated renal allograft recipients. *Am J Kidney Dis* 1996;27(5):701-8.
488. Brozena SC, Johnson MR, Ventura H, Hobbs R, Miller L, Olivari MT, et al. Effectiveness and safety of diltiazem or lisinopril in treatment of hypertension after heart transplantation. Results of a prospective, randomized multicenter trial. *J Am Coll Cardiol* 1996;27(7):1707-12.
489. Leenen FH, Coletta E, Davies RA. Prevention of renal dysfunction and hypertension by amlodipine after heart transplant. *Am J Cardiol* 2007;100(3):531-5.
490. Joy MS, Nickeleit V, Hogan SL, Thompson BD, Finn WF. Calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity and renal expression of P-glycoprotein. *Pharmacotherapy* 2005;25(6):779-89.
491. Del Moral RG, Olmo A, Osuna A, Aguilar M, Carvia R, Becerra P, et al. Role of P-glycoprotein in chronic cyclosporine nephrotoxicity and its relationship to intrarenal angiotensin II deposits. *Transplant Proc* 1998;30(5):2014-6.
492. Schinkel AH, Wagenaar E, van Deemter L, Mol CA, Borst P. Absence of the mdr1a P-Glycoprotein in mice affects tissue distribution and pharmacokinetics of dexamethasone, digoxin, and cyclosporin A. *J Clin Invest* 1995;96(4):1698-705.
493. Schwab M, Eichelbaum M, Fromm MF. Genetic polymorphisms of the human MDR1 drug transporter. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2003;43:285-307.

494. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmoller J, John A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(7):3473-8.
495. Song P, Lamba JK, Zhang L, Schuetz E, Shukla N, Meibohm B, et al. G2677T and C3435T genotype and haplotype are associated with hepatic ABCB1 (MDR1) expression. *J Clin Pharmacol* 2006;46(3):373-9.
496. Koziolok MJ, Riess R, Geiger H, Thevenod F, Hauser IA. Expression of multidrug resistance P-glycoprotein in kidney allografts from cyclosporine A-treated patients. *Kidney Int* 2001;60(1):156-66.
497. Hitzl M, Schaeffeler E, Hoher B, Slowinski T, Halle H, Eichelbaum M, et al. Variable expression of P-glycoprotein in the human placenta and its association with mutations of the multidrug resistance 1 gene (MDR1, ABCB1). *Pharmacogenetics* 2004;14(5):309-18.
498. Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori Y, et al. Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;297(3):1137-43.
499. Molsa M, Heikkinen T, Hakkola J, Hakala K, Wallerman O, Wadelius M, et al. Functional role of P-glycoprotein in the human blood-placental barrier. *Clin Pharmacol Ther* 2005;78(2):123-31.
500. Uhr M, Holsboer F, Muller MB. Penetration of endogenous steroid hormones corticosterone, cortisol, aldosterone and progesterone into the brain is enhanced in mice deficient for both *mdr1a* and *mdr1b* P-glycoproteins. *J Neuroendocrinol* 2002;14(9):753-9.
501. Schinkel AH, Wagenaar E, Mol CA, van Deemter L. P-glycoprotein in the blood-brain barrier of mice influences the brain penetration and pharmacological activity of many drugs. *J Clin Invest* 1996;97(11):2517-24.
502. Meissner K, Jedlitschky G, Meyer zu Schwabedissen H, Dazert P, Eckel L, Vogelgesang S, et al. Modulation of multidrug resistance P-glycoprotein 1 (ABCB1) expression in human heart by hereditary polymorphisms. *Pharmacogenetics* 2004;14(6):381-5.

503. Meissner K, Sperker B, Karsten C, Zu Schwabedissen HM, Seeland U, Bohm M, et al. Expression and localization of P-glycoprotein in human heart: effects of cardiomyopathy. *J Histochem Cytochem* 2002;50(10):1351-6.
504. Yokogawa K, Takahashi M, Tamai I, Konishi H, Nomura M, Moritani S, et al. P-glycoprotein-dependent disposition kinetics of tacrolimus: studies in *mdr1a* knockout mice. *Pharm Res* 1999;16(8):1213-8.
505. Lown KS, Mayo RR, Leichtman AB, Hsiao HL, Turgeon DK, Schmiedlin-Ren P, et al. Role of intestinal P-glycoprotein (*mdr1*) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther* 1997;62(3):248-60.
506. Hashida T, Masuda S, Uemoto S, Saito H, Tanaka K, Inui K. Pharmacokinetic and prognostic significance of intestinal MDR1 expression in recipients of living-donor liver transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69(5):308-16.
507. Fukudo M, Yano I, Masuda S, Goto M, Uesugi M, Katsura T, et al. Population pharmacokinetic and pharmacogenomic analysis of tacrolimus in pediatric living-donor liver transplant recipients[ast]. *Clin Pharmacol Ther* 2006;80(4):331-345.
508. Zheng HX, Zeevi A, McCurry K, Schuetz E, Webber S, Ristich J, et al. The impact of pharmacogenomic factors on acute persistent rejection in adult lung transplant patients. *Transpl Immunol* 2005;14(1):37-42.
509. Masuda S, Goto M, Fukatsu S, Uesugi M, Ogura Y, Oike F, et al. Intestinal MDR1/ABCB1 level at surgery as a risk factor of acute cellular rejection in living-donor liver transplant patients. *Clin Pharmacol Ther* 2006;79(1):90-102.
510. Schaefer M, Roots I, Gerloff T. In-vitro transport characteristics discriminate wild-type ABCB1 (MDR1) from ALA893SER and ALA893THR polymorphisms. *Pharmacogenet Genomics* 2006;16(12):855-61.
511. Siegsmond M, Brinkmann U, Schaffeler E, Weirich G, Schwab M, Eichelbaum M, et al. Association of the P-glycoprotein transporter MDR1(C3435T) polymorphism with the susceptibility to renal epithelial tumors. *J Am Soc Nephrol* 2002;13(7):1847-54.
512. Wang D, Johnson AD, Papp AC, Kroetz DL, Sadee W. Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435C>T affects mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15(10):693-704.

513. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 2001;27(4):383-91.
514. Haehner BD, Gorski JC, Vandenbranden M, Wrighton SA, Janardan SK, Watkins PB, et al. Bimodal distribution of renal cytochrome P450 3A activity in humans. *Mol Pharmacol* 1996;50(1):52-9.
515. Dai Y, Iwanaga K, Lin YS, Hebert MF, Davis CL, Huang W, et al. In vitro metabolism of cyclosporine A by human kidney CYP3A5. *Biochem Pharmacol* 2004;68(9):1889-902.
516. Goto M, Masuda S, Kiuchi T, Ogura Y, Oike F, Okuda M, et al. CYP3A5*1-carrying graft liver reduces the concentration/oral dose ratio of tacrolimus in recipients of living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics* 2004;14(7):471-8.
517. Lin YS, Dowling AL, Quigley SD, Farin FM, Zhang J, Lamba J, et al. Co-regulation of CYP3A4 and CYP3A5 and contribution to hepatic and intestinal midazolam metabolism. *Mol Pharmacol* 2002;62(1):162-72.
518. Uesugi M, Masuda S, Katsura T, Oike F, Takada Y, Inui K. Effect of intestinal CYP3A5 on postoperative tacrolimus trough levels in living-donor liver transplant recipients. *Pharmacogenet Genomics* 2006;16(2):119-27.
519. Joy MS, Hogan SL, Thompson BD, Finn WF, Nickleit V. Cytochrome P450 3A5 expression in the kidneys of patients with calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22(7):1963-8.
520. Haufroid V, Mourad M, Van Kerckhove V, Wawrzyniak J, De Meyer M, Eddour DC, et al. The effect of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on cyclosporine and tacrolimus dose requirements and trough blood levels in stable renal transplant patients. *Pharmacogenetics* 2004;14(3):147-54.
521. Haufroid V, Wallemacq P, VanKerckhove V, Elens L, De Meyer M, Eddour DC, et al. CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms and tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant candidates: guidelines from an experimental study. *Am J Transplant* 2006;6(11):2706-13.
522. Bonhomme-Faivre L, Devocelle A, Saliba F, Chatled S, Maccario J, Farinotti R, et al. MDR-1 C3435T polymorphism influences cyclosporine a dose requirement in liver-transplant recipients. *Transplantation* 2004;78(1):21-5.

523. Fredericks S, Moreton M, Reboux S, Carter ND, Goldberg L, Holt DW, et al. Multidrug resistance gene-1 (MDR-1) haplotypes have a minor influence on tacrolimus dose requirements. *Transplantation* 2006;82(5):705-8.
524. Mai I, Perloff ES, Bauer S, Goldammer M, Johne A, Filler G, et al. MDR1 haplotypes derived from exons 21 and 26 do not affect the steady-state pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant patients. *Br J Clin Pharmacol* 2004;58(5):548-53.
525. Tsuchiya N, Satoh S, Tada H, Li Z, Ohyama C, Sato K, et al. Influence of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients. *Transplantation* 2004;78(8):1182-7.
526. Macphee IA, Fredericks S, Tai T, Syrris P, Carter ND, Johnston A, et al. Tacrolimus pharmacogenetics: polymorphisms associated with expression of cytochrome p4503A5 and P-glycoprotein correlate with dose requirement. *Transplantation* 2002;74(11):1486-9.
527. von Ahnen N, Richter M, Grupp C, Ringe B, Oellerich M, Armstrong VW. No influence of the MDR-1 C3435T polymorphism or a CYP3A4 promoter polymorphism (CYP3A4-V allele) on dose-adjusted cyclosporin A trough concentrations or rejection incidence in stable renal transplant recipients. *Clin Chem* 2001;47(6):1048-52.
528. Yates CR, Zhang W, Song P, Li S, Gaber AO, Kotb M, et al. The effect of CYP3A5 and MDR1 polymorphic expression on cyclosporine oral disposition in renal transplant patients. *J Clin Pharmacol* 2003;43(6):555-64.
529. Thervet E, Anglicheau D, King B, Schlageter MH, Cassinat B, Beaune P, et al. Impact of cytochrome p450 3A5 genetic polymorphism on tacrolimus doses and concentration-to-dose ratio in renal transplant recipients. *Transplantation* 2003;76(8):1233-5.
530. Anglicheau D, Verstuyft C, Laurent-Puig P, Becquemont L, Schlageter MH, Cassinat B, et al. Association of the multidrug resistance-1 gene single-nucleotide polymorphisms with the tacrolimus dose requirements in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(7):1889-96.

531. Roy JN, Barama A, Poirier C, Vinet B, Roger M. Cyp3A4, Cyp3A5, and MDR-1 genetic influences on tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant recipients. *Pharmacogenet Genomics* 2006;16(9):659-65.
532. Chowbay B, Cumaraswamy S, Cheung YB, Zhou Q, Lee EJ. Genetic polymorphisms in MDR1 and CYP3A4 genes in Asians and the influence of MDR1 haplotypes on cyclosporin disposition in heart transplant recipients. *Pharmacogenetics* 2003;13(2):89-95.
533. Balram C, Sharma A, Sivathanan C, Lee EJ. Frequency of C3435T single nucleotide MDR1 genetic polymorphism in an Asian population: phenotypic-genotypic correlates. *Br J Clin Pharmacol* 2003;56(1):78-83.
534. Zheng H, Webber S, Zeevi A, Schuetz E, Zhang J, Bowman P, et al. Tacrolimus dosing in pediatric heart transplant patients is related to CYP3A5 and MDR1 gene polymorphisms. *Am J Transplant* 2003;3(4):477-83.
535. Hebert MF, Dowling AL, Gierwatowski C, Lin YS, Edwards KL, Davis CL, et al. Association between ABCB1 (multidrug resistance transporter) genotype and post-liver transplantation renal dysfunction in patients receiving calcineurin inhibitors. *Pharmacogenetics* 2003;13(11):661-74.
536. Baena MI, Faus MJ, Fajardo PC, Luque FM, Sierra F, Martinez-Olmos J, et al. Medicine-related problems resulting in emergency department visits. *Eur J Clin Pharmacol* 2006;62(5):387-93.
537. Gautier S, Bachelët H, Bordet R, Caron J. The cost of adverse drug reactions. *Expert Opin Pharmacother* 2003;4(3):319-26.
538. White TJ, Arakelian A, Rho JP. Counting the costs of drug-related adverse events. *Pharmacoeconomics* 1999;15(5):445-58.
539. Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 1998;279(15):1200-5.
540. Juurlink DN, Mamdani MM, Lee DS, Kopp A, Austin PC, Laupacis A, et al. Rates of hyperkalemia after publication of the Randomized Aldactone Evaluation Study. *N Engl J Med* 2004;351(6):543-51.
541. Takaichi K, Takemoto F, Ubara Y, Mori Y. Analysis of factors causing hyperkalemia. *Intern Med* 2007;46(12):823-9.

542. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352(16):1685-95.
543. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340(2):115-26.
544. White M, Ducharme A, Ibrahim R, Whittom L, Lavoie J, Guertin MC, et al. Increased systemic inflammation and oxidative stress in patients with worsening congestive heart failure: improvement after short-term inotropic support. *Clin Sci (Lond)* 2006;110(4):483-9.
545. Orus J, Roig E, Perez-Villa F, Pare C, Azqueta M, Filella X, et al. Prognostic value of serum cytokines in patients with congestive heart failure. *J Heart Lung Transplant* 2000;19(5):419-25.
546. Parthenakis FI, Patrianakos A, Prassopoulos V, Papadimitriou E, Nikitovic D, Karkavitsas NS, et al. Relation of cardiac sympathetic innervation to proinflammatory cytokine levels in patients with heart failure secondary to idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2003;91(10):1190-4.
547. Adamopoulos S, Parissis J, Kroupis C, Georgiadis M, Karatzas D, Karavolias G, et al. Physical training reduces peripheral markers of inflammation in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* 2001;22(9):791-7.
548. Prasad K, Kalra J, Bharadwaj B. Increased chemiluminescence of polymorphonuclear leucocytes in dogs with volume overload heart failure. *Br J Exp Pathol* 1989;70(4):463-8.
549. Ellis GR, Anderson RA, Lang D, Blackman DJ, Morris RH, Morris-Thurgood J, et al. Neutrophil superoxide anion--generating capacity, endothelial function and oxidative stress in chronic heart failure: effects of short- and long-term vitamin C therapy. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(5):1474-82.
550. Mann DL. Inflammatory mediators and the failing heart: past, present, and the foreseeable future. *Circ Res* 2002;91(11):988-98.
551. Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, Young JB, White BG, Mann DL. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST). *Circulation* 2001;103(16):2055-9.
552. Tsutamoto T, Wada A, Matsumoto T, Maeda K, Mabuchi N, Hayashi M, et al. Relationship between tumor necrosis factor-alpha production and oxidative stress in

- the failing hearts of patients with dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2001;37(8):2086-92.
553. Zhao SP, Xu TD. Elevated tumor necrosis factor alpha of blood mononuclear cells in patients with congestive heart failure. *Int J Cardiol* 1999;71(3):257-61.
554. Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 1990;323(4):236-41.
555. Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C, Oral H, Young JB, Mann DL. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol* 1996;27(5):1201-6.
556. Aronson D, Mittleman MA, Burger AJ. Interleukin-6 levels are inversely correlated with heart rate variability in patients with decompensated heart failure. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2001;12(3):294-300.
557. Higuchi Y, McTiernan CF, Frye CB, McGowan BS, Chan TO, Feldman AM. Tumor necrosis factor receptors 1 and 2 differentially regulate survival, cardiac dysfunction, and remodeling in transgenic mice with tumor necrosis factor-alpha-induced cardiomyopathy. *Circulation* 2004;109(15):1892-7.
558. Bryant D, Becker L, Richardson J, Shelton J, Franco F, Peshock R, et al. Cardiac failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor-alpha. *Circulation* 1998;97(14):1375-81.
559. Kadokami T, Frye C, Lemster B, Wagner CL, Feldman AM, McTiernan CF. Anti-tumor necrosis factor-alpha antibody limits heart failure in a transgenic model. *Circulation* 2001;104(10):1094-7.
560. Madjid M, Awan I, Willerson JT, Casscells SW. Leukocyte count and coronary heart disease: implications for risk assessment. *J Am Coll Cardiol* 2004;44(10):1945-56.
561. Cannon CP, McCabe CH, Wilcox RG, Bentley JH, Braunwald E. Association of white blood cell count with increased mortality in acute myocardial infarction and unstable angina pectoris. OPUS-TIMI 16 Investigators. *Am J Cardiol* 2001;87(5):636-9, A10.

562. Barron HV, Cannon CP, Murphy SA, Braunwald E, Gibson CM. Association between white blood cell count, epicardial blood flow, myocardial perfusion, and clinical outcomes in the setting of acute myocardial infarction: a thrombolysis in myocardial infarction 10 substudy. *Circulation* 2000;102(19):2329-34.
563. Menon V, Lessard D, Yarzebski J, Furman MI, Gore JM, Goldberg RJ. Leukocytosis and adverse hospital outcomes after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2003;92(4):368-72.
564. Furman MI, Becker RC, Yarzebski J, Savegeau J, Gore JM, Goldberg RJ. Effect of elevated leukocyte count on in-hospital mortality following acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1996;78(8):945-8.
565. Abdelhadi RH, Gurm HS, Van Wagoner DR, Chung MK. Relation of an exaggerated rise in white blood cells after coronary bypass or cardiac valve surgery to development of atrial fibrillation postoperatively. *Am J Cardiol* 2004;93(9):1176-8.
566. Furman MI, Gore JM, Anderson FA, Budaj A, Goodman SG, Avezum A, et al. Elevated leukocyte count and adverse hospital events in patients with acute coronary syndromes: findings from the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Am Heart J* 2004;147(1):42-8.
567. O'Donoghue M, Morrow DA, Cannon CP, Guo W, Murphy SA, Gibson CM, et al. Association between baseline neutrophil count, clopidogrel therapy, and clinical and angiographic outcomes in patients with ST-elevation myocardial infarction receiving fibrinolytic therapy. *Eur Heart J* 2008;29(8):984-91.
568. Kyne L, Hausdorff JM, Knight E, Dukas L, Azhar G, Wei JY. Neutrophilia and congestive heart failure after acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2000;139(1 Pt 1):94-100.
569. Sugano R, Matsuoka H, Haramaki N, Umei H, Murase E, Fukami K, et al. Polymorphonuclear leukocytes may impair endothelial function: results of crossover randomized study of lipid-lowering therapies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25(6):1262-7.
570. Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab Invest* 2000;80(5):617-53.

571. Kawakami R, Saito Y, Kishimoto I, Harada M, Kuwahara K, Takahashi N, et al. Overexpression of brain natriuretic peptide facilitates neutrophil infiltration and cardiac matrix metalloproteinase-9 expression after acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;110(21):3306-12.
572. Chen L, Zang Y, Bai B, Zhu M, Zhao B, Hou J, et al. Electron spin resonance determination and superoxide dismutase activity in polymorphonuclear leukocytes in congestive heart failure. *Can J Cardiol* 1992;8(7):756-60.
573. Damas JK, Gullestad L, Ueland T, Solum NO, Simonsen S, Froland SS, et al. CXC-chemokines, a new group of cytokines in congestive heart failure--possible role of platelets and monocytes. *Cardiovasc Res* 2000;45(2):428-36.
574. Patel MR, Mahaffey KW, Armstrong PW, Weaver WD, Tasissa G, Hochman JS, et al. Prognostic usefulness of white blood cell count and temperature in acute myocardial infarction (from the CARDINAL Trial). *Am J Cardiol* 2005;95(5):614-8.
575. Ferrario CM, Strawn WB. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system and proinflammatory mediators in cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2006;98(1):121-8.
576. Athyros VG, Kakafika AI, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Do we need to consider inflammatory markers when we treat atherosclerotic disease? *Atherosclerosis* 2008;200(1):1-12.
577. Dandona P, Dhindsa S, Ghanim H, Chaudhuri A. Angiotensin II and inflammation: the effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockade. *J Hum Hypertens* 2007;21(1):20-7.
578. Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, Mabuchi N, Hayashi M, Tsutsui T, et al. Angiotensin II type 1 receptor antagonist decreases plasma levels of tumor necrosis factor alpha, interleukin-6 and soluble adhesion molecules in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000;35(3):714-21.
579. Gullestad L, Aukrust P, Ueland T, Espevik T, Yee G, Vagelos R, et al. Effect of high- versus low-dose angiotensin converting enzyme inhibition on cytokine levels in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1999;34(7):2061-7.
580. Suzuki Y, Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Ruperez M, Esteban V, Egido J. Inflammation and angiotensin II. *Int J Biochem Cell Biol* 2003;35(6):881-900.

581. Clapperton M, Beswick PH, Abdullah I, Dargie HJ, Fisher AC, McMurray J. Effect of captopril, enalaprilat and mercaptopropionyl glycine (MPG) on the oxidative activity of human isolated neutrophils. *Br J Clin Pharmacol* 1995;40(1):31-5.
582. Clapperton M, McMurray J, Fisher AC, Dargie HJ. The effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors on human neutrophil chemotaxis in vitro. *Br J Clin Pharmacol* 1994;38(1):53-6.
583. Wysocki H, Siminiak T, Zozulinska D, Wierusz-Wysocka B. Evaluation of the effect of oral enalapril on neutrophil functions: comparison with the in vitro effect of enalapril and enalaprilat. *Pol J Pharmacol* 1995;47(1):53-8.
584. Kuster GM, Kotlyar E, Rude MK, Siwik DA, Liao R, Colucci WS, et al. Mineralocorticoid receptor inhibition ameliorates the transition to myocardial failure and decreases oxidative stress and inflammation in mice with chronic pressure overload. *Circulation* 2005;111(4):420-7.
585. Giamouzis G, Butler J. Relationship between heart failure and lipids: the paradigm continues to evolve. *J Card Fail* 2007;13(4):254-8.
586. Tang WH, Tong W, Troughton RW, Martin MG, Shrestha K, Borowski A, et al. Prognostic value and echocardiographic determinants of plasma myeloperoxidase levels in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007;49(24):2364-70.
587. Shah KB, Kop WJ, Christenson RH, Diercks DB, Kuo D, Henderson S, et al. Lack of diagnostic and prognostic utility of circulating plasma myeloperoxidase concentrations in patients presenting with dyspnea. *Clin Chem* 2009;55(1):59-67.
588. Dragu R, Huri S, Zuckerman R, Suleiman M, Mutlak D, Agmon Y, et al. Predictive value of white blood cell subtypes for long-term outcome following myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2008;196(1):405-12.
589. Chia S, Nagurney JT, Brown DF, Raffel OC, Bamberg F, Senatore F, et al. Association of leukocyte and neutrophil counts with infarct size, left ventricular function and outcomes after percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2009;103(3):333-7.
590. Turner SJ, Ketch TR, Gandhi SK, Sane DC. Routine hematologic clinical tests as prognostic markers in patients with acute coronary syndromes. *Am Heart J* 2008;155(5):806-16.

591. Sinning C, Schnabel R, Peacock WF, Blankenberg S. Up-and-coming markers: myeloperoxidase, a novel biomarker test for heart failure and acute coronary syndrome application? *Congest Heart Fail* 2008;14(4 Suppl 1):46-8.
592. Khan SQ, Kelly D, Quinn P, Davies JE, Ng LL. Myeloperoxidase aids prognostication together with N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in high-risk patients with acute ST elevation myocardial infarction. *Heart* 2007;93(7):826-31.
593. Mocatta TJ, Pilbrow AP, Cameron VA, Senthilmohan R, Frampton CM, Richards AM, et al. Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2007;49(20):1993-2000.
594. Dominguez-Rodriguez A, Samimi-Fard S, Abreu-Gonzalez P, Garcia-Gonzalez MJ, Kaski JC. Prognostic value of admission myeloperoxidase levels in patients with ST-segment elevation myocardial infarction and cardiogenic shock. *Am J Cardiol* 2008;101(11):1537-40.
595. Deswal A, Bozkurt B, Seta Y, Pariliti-Eiswirth S, Hayes FA, Blosch C, et al. Safety and efficacy of a soluble P75 tumor necrosis factor receptor (Enbrel, etanercept) in patients with advanced heart failure. *Circulation* 1999;99(25):3224-6.
596. Bozkurt B, Torre-Amione G, Warren MS, Whitmore J, Soran OZ, Feldman AM, et al. Results of targeted anti-tumor necrosis factor therapy with etanercept (ENBREL) in patients with advanced heart failure. *Circulation* 2001;103(8):1044-7.
597. Mann DL, McMurray JJ, Packer M, Swedberg K, Borer JS, Colucci WS, et al. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL). *Circulation* 2004;109(13):1594-602.
598. Chung ES, Packer M, Lo KH, Fasanmade AA, Willerson JT. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation* 2003;107(25):3133-40.
599. Gissi HFI, Tavazzi L, Maggioni AP, Marchioli R, Barlera S, Franzosi MG, et al. Effect of rosuvastatin in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008;372(9645):1231-9.

600. Kjekshus J, Apetrei E, Barrios V, Bohm M, Cleland JG, Cornel JH, et al. Rosuvastatin in older patients with systolic heart failure. *N Engl J Med* 2007;357(22):2248-61.
601. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Jr., Kastelein JJ, et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* 2008;359(21):2195-207.
602. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002;360(9326):7-22.
603. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994;344(8934):1383-9.
604. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, et al. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2004;350(15):1495-504.
605. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. *N Engl J Med* 1998;339(19):1349-57.
606. Sacks FM, Pfeffer MA, Moya LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG, et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. *N Engl J Med* 1996;335(14):1001-9.
607. Stewart RA, White HD, Kirby AC, Heritier SR, Simes RJ, Nestel PJ, et al. White blood cell count predicts reduction in coronary heart disease mortality with pravastatin. *Circulation* 2005;111(14):1756-62.
608. Svensson M, Gustafsson F, Galatius S, Hildebrandt PR, Atar D. Hyperkalaemia and impaired renal function in patients taking spironolactone for congestive heart failure: retrospective study. *Bmj* 2003;327(7424):1141-2.
609. Wrenger E, Muller R, Moesenthin M, Welte T, Frolich JC, Neumann KH. Interaction of spironolactone with ACE inhibitors or angiotensin receptor blockers: analysis of 44 cases. *Bmj* 2003;327(7407):147-9.

610. Fujii H, Nakahama H, Yoshihara F, Nakamura S, Inenaga T, Kawano Y. Life-threatening hyperkalemia during a combined therapy with the angiotensin receptor blocker candesartan and spironolactone. *Kobe J Med Sci* 2005;51(1-2):1-6.
611. Hauben M, Reich L, Gerrits CM, Madigan D. Detection of spironolactone-associated hyperkalaemia following the Randomized Aldactone Evaluation Study (RALES). *Drug Saf* 2007;30(12):1143-9.
612. Ahuja TS, Freeman D, Jr., Mahnken JD, Agraharkar M, Siddiqui M, Memon A. Predictors of the development of hyperkalemia in patients using angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Am J Nephrol* 2000;20(4):268-72.
613. Bozkurt B, Agoston I, Knowlton AA. Complications of inappropriate use of spironolactone in heart failure: when an old medicine spirals out of new guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2003;41(2):211-4.
614. Cruz CS, Cruz AA, Marcilio de Souza CA. Hyperkalaemia in congestive heart failure patients using ACE inhibitors and spironolactone. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(9):1814-9.
615. Reardon LC, Macpherson DS. Hyperkalemia in outpatients using angiotensin-converting enzyme inhibitors. How much should we worry? *Arch Intern Med* 1998;158(1):26-32.
616. Svensson M, Gustafsson F, Galatius S, Hildebrandt PR, Atar D. How prevalent is hyperkalemia and renal dysfunction during treatment with spironolactone in patients with congestive heart failure? *J Card Fail* 2004;10(4):297-303.
617. Rastegar A, Soleimani M. Hypokalaemia and hyperkalaemia. *Postgrad Med J* 2001;77(914):759-64.
618. Alfonzo AV, Isles C, Geddes C, Deighan C. Potassium disorders--clinical spectrum and emergency management. *Resuscitation* 2006;70(1):10-25.
619. Oster JR, Materson BJ. Renal and electrolyte complications of congestive heart failure and effects of therapy with angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Arch Intern Med* 1992;152(4):704-10.
620. Schepkens H, Vanholder R, Billiouw JM, Lameire N. Life-threatening hyperkalemia during combined therapy with angiotensin-converting enzyme inhibitors and spironolactone: an analysis of 25 cases. *Am J Med* 2001;110(6):438-41.

621. Perazella MA. Drug-induced hyperkalemia: old culprits and new offenders. *Am J Med* 2000;109(4):307-14.
622. Palmer BF. Managing hyperkalemia caused by inhibitors of the renin-angiotensin-aldosterone system. *N Engl J Med* 2004;351(6):585-92.
623. Blaustein DA, Babu K, Reddy A, Schwenk MH, Avram MM. Estimation of glomerular filtration rate to prevent life-threatening hyperkalemia due to combined therapy with spironolactone and angiotensin-converting enzyme inhibition or angiotensin receptor blockade. *Am J Cardiol* 2002;90(6):662-3.
624. Obialo CI, Ofili EO, Mirza T. Hyperkalemia in congestive heart failure patients aged 63 to 85 years with subclinical renal disease. *Am J Cardiol* 2002;90(6):663-5.
625. Kostis JB, Shelton BJ, Yusuf S, Weiss MB, Capone RJ, Pepine CJ, et al. Tolerability of enalapril initiation by patients with left ventricular dysfunction: results of the medication challenge phase of the Studies of Left Ventricular Dysfunction. *Am Heart J* 1994;128(2):358-64.
626. Kostis JB, Shelton B, Gosselin G, Goulet C, Hood WB, Jr., Kohn RM, et al. Adverse effects of enalapril in the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). SOLVD Investigators. *Am Heart J* 1996;131(2):350-5.
627. Massie BM, Armstrong PW, Cleland JG, Horowitz JD, Packer M, Poole-Wilson PA, et al. Toleration of high doses of angiotensin-converting enzyme inhibitors in patients with chronic heart failure: results from the ATLAS trial. The Assessment of Treatment with Lisinopril and Survival. *Arch Intern Med* 2001;161(2):165-71.
628. Sica DA, Gehr TW, Yancy C. Hyperkalemia, congestive heart failure, and aldosterone receptor antagonism. *Congest Heart Fail* 2003;9(4):224-9.
629. McAlister FA, Straus SE, Guyatt GH, Haynes RB. Users' guides to the medical literature: XX. Integrating research evidence with the care of the individual patient. Evidence-Based Medicine Working Group. *JAMA* 2000;283(21):2829-36.
630. Desai AS, Swedberg K, McMurray JJ, Granger CB, Yusuf S, Young JB, et al. Incidence and predictors of hyperkalemia in patients with heart failure: an analysis of the CHARM Program. *J Am Coll Cardiol* 2007;50(20):1959-66.
631. Pitt B, Bakris G, Ruilope LM, DiCarlo L, Mukherjee R. Serum potassium and clinical outcomes in the Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study (EPHESUS). *Circulation* 2008;118(16):1643-50.

632. Young JB, Abraham WT, Albert NM, Gattis Stough W, Gheorghiade M, Greenberg BH, et al. Relation of low hemoglobin and anemia to morbidity and mortality in patients hospitalized with heart failure (insight from the OPTIMIZE-HF registry). *Am J Cardiol* 2008;101(2):223-30.
633. DeFrancesco TC. Maintaining fluid and electrolyte balance in heart failure. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2008;38(3):727-45, xiv.
634. Segura J, Ruilope LM. Hyperkalemia risk and treatment of heart failure. *Heart Fail Clin* 2008;4(4):455-64.
635. Acquarone N, Castello C, Antonucci G, Lione S, Bellotti P. Pharmacologic therapy in patients with chronic heart failure and chronic kidney disease: a complex issue. *Journal of Cardiovascular Medicine* 2009;10(1):13-21.
636. Shah KB, Rao K, Sawyer R, Gottlieb SS. The adequacy of laboratory monitoring in patients treated with spironolactone for congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2005;46(5):845-9.
637. Raebel MA, McClure DL, Simon SR, Chan KA, Feldstein A, Andrade SE, et al. Laboratory monitoring of potassium and creatinine in ambulatory patients receiving angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2007;16(1):55-64.
638. Raebel MA, McClure DL, Chan KA, Simon SR, Feldstein AC, Lafata JE, et al. Laboratory evaluation of potassium and creatinine among ambulatory patients prescribed spironolactone: are we monitoring for hyperkalemia? *Ann Pharmacother* 2007;41(2):193-200.
639. Ouzounian M, Hassan A, Cox JL, Johnstone DE, Howlett J. The effect of spironolactone use on heart failure mortality: a population-based study. *J Card Fail* 2007;13(3):165-9.
640. Vinck WJ, Fagard RH, Vlietinck R, Lijnen P. Heritability of plasma renin activity and plasma concentration of angiotensinogen and angiotensin-converting enzyme. *J Hum Hypertens* 2002;16(6):417-22.
641. O'Meara E, Lewis E, Granger C, Dunlap ME, McKelvie RS, Probstfield JL, et al. Patient perception of the effect of treatment with candesartan in heart failure. Results of the candesartan in heart failure: assessment of reduction in mortality and morbidity (CHARM) programme. *Eur J Heart Fail* 2005;7(4):650-6.

642. Troughton RW, Frampton CM, Yandle TG, Espiner EA, Nicholls MG, Richards AM. Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet* 2000;355(9210):1126-30.
643. Pfisterer M, Buser P, Rickli H, Gutmann M, Erne P, Rickenbacher P, et al. BNP-guided vs symptom-guided heart failure therapy: the Trial of Intensified vs Standard Medical Therapy in Elderly Patients With Congestive Heart Failure (TIME-CHF) randomized trial. *JAMA* 2009;301(4):383-92.
644. Newton-Cheh C, Guo CY, Gona P, Larson MG, Benjamin EJ, Wang TJ, et al. Clinical and genetic correlates of aldosterone-to-renin ratio and relations to blood pressure in a community sample. *Hypertension* 2007;49(4):846-56.
645. Malmqvist K, Kahan T, Edner M, Held C, Hagg A, Lind L, et al. Regression of left ventricular hypertrophy in human hypertension with irbesartan. *J Hypertens* 2001;19(6):1167-76.
646. Ozdemir V, Williams-Jones B, Cooper DM, Someya T, Godard B. Mapping translational research in personalized therapeutics: from molecular markers to health policy. *Pharmacogenomics* 2007;8(2):177-85.
647. Cooper GM, Johnson JA, Langae TY, Feng H, Stanaway IB, Schwarz UI, et al. A genome-wide scan for common genetic variants with a large influence on warfarin maintenance dose. *Blood* 2008;112(4):1022-7.
648. Turner ST, Bailey KR, Fridley BL, Chapman AB, Schwartz GL, Chai HS, et al. Genomic association analysis suggests chromosome 12 locus influencing antihypertensive response to thiazide diuretic. *Hypertension* 2008;52(2):359-65.
649. Grant FD, Romero JR, Jeunemaitre X, Hunt SC, Hopkins PN, Hollenberg NH, et al. Low-renin hypertension, altered sodium homeostasis, and an alpha-adducin polymorphism. *Hypertension* 2002;39(2):191-6.
650. Khan NA, Hemmelgarn B, Herman RJ, Rabkin SW, McAlister FA, Bell CM, et al. The 2008 Canadian Hypertension Education Program recommendations for the management of hypertension: part 2 - therapy. *Can J Cardiol* 2008;24(6):465-75.
651. Cambon-Thomsen A. The social and ethical issues of post-genomic human biobanks. *Nat Rev Genet* 2004;5(11):866-73.
652. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, De Simone G, Ferguson TB, Flegal K, et al. Heart disease and stroke statistics--2009 update: a report from the American

- Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee.
Circulation 2009;119(3):480-6.
653. Barnard JB, Richardson S, Sheldon S, Fildes J, Pravica V, Hutchinson IV, et al. The MDR1/ABCB1 gene, a high-impact risk factor for cardiac transplant rejection. *Transplantation* 2006;82(12):1677-82.
654. Klauke B, Wirth A, Zittermann A, Bohms B, Tenderich G, Korfer R, et al. No association between single nucleotide polymorphisms and the development of nephrotoxicity after orthotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2008;27(7):741-5.
655. Altman DG, Royston P. The cost of dichotomising continuous variables. *Bmj* 2006;332(7549):1080.
656. Royston P, Altman DG, Sauerbrei W. Dichotomizing continuous predictors in multiple regression: a bad idea. *Stat Med* 2006;25(1):127-41.
657. Ragland DR. Dichotomizing continuous outcome variables: dependence of the magnitude of association and statistical power on the cutpoint. *Epidemiology* 1992;3(5):434-40.
658. Kuypers DR, de Jonge H, Naesens M, Lerut E, Verbeke K, Vanrenterghem Y. CYP3A5 and CYP3A4 but not MDR1 single-nucleotide polymorphisms determine long-term tacrolimus disposition and drug-related nephrotoxicity in renal recipients. *Clin Pharmacol Ther* 2007;82(6):711-25.
659. Kreutz R, Zurcher H, Kain S, Martus P, Offermann G, Beige J. The effect of variable CYP3A5 expression on cyclosporine dosing, blood pressure and long-term graft survival in renal transplant patients. *Pharmacogenetics* 2004;14(10):665-71.
660. Hauser IA, Schaeffeler E, Gauer S, Scheuermann EH, Wegner B, Gossmann J, et al. ABCB1 genotype of the donor but not of the recipient is a major risk factor for cyclosporine-related nephrotoxicity after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(5):1501-11.
661. Racusen LC, Colvin RB, Solez K, Mihatsch MJ, Halloran PF, Campbell PM, et al. Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 2003;3(6):708-14.
662. Peters BJ, Maitland-van der Zee AH, Stricker BH, van Wieren-de Wijer DB, de Boer A, Kroon AA, et al. Effectiveness of statins in the reduction of the risk of

- myocardial infarction is modified by the GNB3 C825T variant. *Pharmacogenet Genomics* 2008;18(7):631-6.
663. Shiffman D, Kane JP, Louie JZ, Arellano AR, Ross DA, Catanese JJ, et al. Analysis of 17,576 potentially functional SNPs in three case-control studies of myocardial infarction. *PLoS ONE* 2008;3(8):e2895.
664. Zafarmand MH, van der Schouw YT, Grobbee DE, de Leeuw PW, Bots ML. T64A polymorphism in beta3-adrenergic receptor gene (ADRB3) and coronary heart disease: a case-cohort study and meta-analysis. *J Intern Med* 2008;263(1):79-89.
665. Zineh I, Beitelshees AL, Gaedigk A, Walker JR, Pauly DF, Eberst K, et al. Pharmacokinetics and CYP2D6 genotypes do not predict metoprolol adverse events or efficacy in hypertension. *Clin Pharmacol Ther* 2004;76(6):536-44.
666. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007;447(7145):661-78.
667. Padwal RJ, Hemmelgarn BR, Khan NA, Grover S, McAlister FA, McKay DW, et al. The 2008 Canadian Hypertension Education Program recommendations for the management of hypertension: Part 1 - blood pressure measurement, diagnosis and assessment of risk. *Can J Cardiol* 2008;24(6):455-63.
668. Caulfield M, Munroe P, Pembroke J, Samani N, Dominiczak A, Brown M, et al. Genome-wide mapping of human loci for essential hypertension. *Lancet* 2003;361(9375):2118-23.
669. Harrap SB. Where are all the blood-pressure genes? *Lancet* 2003;361(9375):2149-51.
670. Chavanu K, Merkel J, Quan AM. Role of ambulatory blood pressure monitoring in the management of hypertension. *Am J Health Syst Pharm* 2008;65(3):209-18.
671. Routledge FS, McFetridge-Durdle JA, Dean CR. Night-time blood pressure patterns and target organ damage: a review. *Can J Cardiol* 2007;23(2):132-8.
672. Abdullah KG, Li L, Shen GQ, Hu Y, Yang Y, MacKinlay KG, et al. Four SNPs on chromosome 9p21 confer risk to premature, familial CAD and MI in an American Caucasian population (GeneQuest). *Ann Hum Genet* 2008;72(Pt 5):654-7.
673. McPherson R, Pertsemlidis A, Kavaslar N, Stewart A, Roberts R, Cox DR, et al. A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease. *Science* 2007;316(5830):1488-91.

674. Helgadottir A, Thorleifsson G, Manolescu A, Gretarsdottir S, Blondal T, Jonasdottir A, et al. A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction. *Science* 2007;316(5830):1491-3.
675. Schunkert H, Gotz A, Braund P, McGinnis R, Tregouet DA, Mangino M, et al. Repeated replication and a prospective meta-analysis of the association between chromosome 9p21.3 and coronary artery disease. *Circulation* 2008;117(13):1675-84.
676. Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, Hengstenberg C, Mangino M, Mayer B, et al. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med* 2007;357(5):443-53.
677. Hiura Y, Fukushima Y, Yuno M, Sawamura H, Kokubo Y, Okamura T, et al. Validation of the association of genetic variants on chromosome 9p21 and 1q41 with myocardial infarction in a Japanese population. *Circ J* 2008;72(8):1213-7.
678. Hinohara K, Nakajima T, Takahashi M, Hohda S, Sasaoka T, Nakahara K, et al. Replication of the association between a chromosome 9p21 polymorphism and coronary artery disease in Japanese and Korean populations. *J Hum Genet* 2008;53(4):357-9.
679. Shen GQ, Li L, Rao S, Abdullah KG, Ban JM, Lee BS, et al. Four SNPs on chromosome 9p21 in a South Korean population implicate a genetic locus that confers high cross-race risk for development of coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28(2):360-5.
680. Limdi NA, McGwin G, Goldstein JA, Beasley TM, Arnett DK, Adler BK, et al. Influence of CYP2C9 and VKORC1 1173C/T genotype on the risk of hemorrhagic complications in African-American and European-American patients on warfarin. *Clin Pharmacol Ther* 2008;83(2):312-21.
681. Anderson JL, Horne BD, Stevens SM, Grove AS, Barton S, Nicholas ZP, et al. Randomized trial of genotype-guided versus standard warfarin dosing in patients initiating oral anticoagulation. *Circulation* 2007;116(22):2563-70.
682. Schwarz UI, Ritchie MD, Bradford Y, Li C, Dudek SM, Frye-Anderson A, et al. Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation. *N Engl J Med* 2008;358(10):999-1008.

683. Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, Nickerson DA, Eby CS, McLeod HL, et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med* 2005;352(22):2285-93.
684. Sconce EA, Khan TI, Wynne HA, Avery P, Monkhouse L, King BP, et al. The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. *Blood* 2005;106(7):2329-33.
685. Caraco Y, Blotnick S, Muszkat M. CYP2C9 genotype-guided warfarin prescribing enhances the efficacy and safety of anticoagulation: a prospective randomized controlled study. *Clin Pharmacol Ther* 2008;83(3):460-70.
686. Gage BF, Eby C, Johnson JA, Deych E, Rieder MJ, Ridker PM, et al. Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. *Clin Pharmacol Ther* 2008;84(3):326-31.
687. Mallal S, Phillips E, Carosi G, Molina JM, Workman C, Tomazic J, et al. HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med* 2008;358(6):568-79.
688. Hammer SM, Eron JJ, Jr., Reiss P, Schooley RT, Thompson MA, Walmsley S, et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *JAMA* 2008;300(5):555-70.
689. Hustert E, Haberl M, Burk O, Wolbold R, He YQ, Klein K, et al. The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics* 2001;11(9):773-9.
690. Zheng H, Zeevi A, Schuetz E, Lamba J, McCurry K, Griffith BP, et al. Tacrolimus dosing in adult lung transplant patients is related to cytochrome P4503A5 gene polymorphism. *J Clin Pharmacol* 2004;44(2):135-40.
691. Willer CJ, Sanna S, Jackson AU, Scuteri A, Bonnycastle LL, Clarke R, et al. Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease. *Nat Genet* 2008;40(2):161-9.
692. Ozaki K, Sato H, Inoue K, Tsunoda T, Sakata Y, Mizuno H, et al. SNPs in BRAP associated with risk of myocardial infarction in Asian populations. *Nat Genet* 2009;41(3):329-33.

693. Tregouet DA, Konig IR, Erdmann J, Munteanu A, Braund PS, Hall AS, et al. Genome-wide haplotype association study identifies the SLC22A3-LPAL2-LPA gene cluster as a risk locus for coronary artery disease. *Nat Genet* 2009;41(3):283-5.
694. Kathiresan S, Voight BF, Purcell S, Musunuru K, Ardissino D, Mannucci PM, et al. Genome-wide association of early-onset myocardial infarction with single nucleotide polymorphisms and copy number variants. *Nat Genet* 2009;41(3):334-41.
695. Erdmann J, Grosshennig A, Braund PS, Konig IR, Hengstenberg C, Hall AS, et al. New susceptibility locus for coronary artery disease on chromosome 3q22.3. *Nat Genet* 2009;41(3):280-2.
696. Kathiresan S, Melander O, Guiducci C, Surti A, Burt NP, Rieder MJ, et al. Six new loci associated with blood low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol or triglycerides in humans. *Nat Genet* 2008;40(2):189-97.
697. Raynolds MV, Bristow MR, Bush EW, Abraham WT, Lowes BD, Zisman LS, et al. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1993;342(8879):1073-5.
698. Zethelius B, Berglund L, Sundstrom J, Ingelsson E, Basu S, Larsson A, et al. Use of multiple biomarkers to improve the prediction of death from cardiovascular causes. *N Engl J Med* 2008;358(20):2107-16.
699. Omland T, Sabatine MS, Jablonski KA, Rice MM, Hsia J, Wergeland R, et al. Prognostic value of B-Type natriuretic peptides in patients with stable coronary artery disease: the PEACE Trial. *J Am Coll Cardiol* 2007;50(3):205-14.
700. Blankenberg S, McQueen MJ, Smieja M, Pogue J, Balion C, Lonn E, et al. Comparative impact of multiple biomarkers and N-Terminal pro-brain natriuretic peptide in the context of conventional risk factors for the prediction of recurrent cardiovascular events in the Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study. *Circulation* 2006;114(3):201-8.
701. Anand IS, Fisher LD, Chiang YT, Latini R, Masson S, Maggioni AP, et al. Changes in brain natriuretic peptide and norepinephrine over time and mortality and morbidity in the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *Circulation* 2003;107(9):1278-83.

702. Logeart D, Thabut G, Jourdain P, Chavelas C, Beyne P, Beauvais F, et al. PredischARGE B-type natriuretic peptide assay for identifying patients at high risk of re-admission after decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004;43(4):635-41.
703. Richards AM, Doughty R, Nicholls MG, Macmahon S, Ikram H, Sharpe N, et al. Neurohumoral prediction of benefit from carvedilol in ischemic left ventricular dysfunction. Australia-New Zealand Heart Failure Group. *Circulation* 1999;99(6):786-92.
704. Maisel A, Hollander JE, Guss D, McCullough P, Nowak R, Green G, et al. Primary results of the Rapid Emergency Department Heart Failure Outpatient Trial (REDHOT). A multicenter study of B-type natriuretic peptide levels, emergency department decision making, and outcomes in patients presenting with shortness of breath. *J Am Coll Cardiol* 2004;44(6):1328-33.
705. Fonarow GC, Peacock WF, Phillips CO, Givertz MM, Lopatin M. Admission B-type natriuretic peptide levels and in-hospital mortality in acute decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007;49(19):1943-50.
706. Heeschen C, Hamm CW, Goldmann B, Deu A, Langenbrink L, White HD. Troponin concentrations for stratification of patients with acute coronary syndromes in relation to therapeutic efficacy of tirofiban. PRISM Study Investigators. Platelet Receptor Inhibition in Ischemic Syndrome Management. *Lancet* 1999;354(9192):1757-62.
707. Hamm CW, Heeschen C, Goldmann B, Vahanian A, Adgey J, Miguel CM, et al. Benefit of abciximab in patients with refractory unstable angina in relation to serum troponin T levels. c7E3 Fab Antiplatelet Therapy in Unstable Refractory Angina (CAPTURE) Study Investigators. *N Engl J Med* 1999;340(21):1623-9.
708. Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, Schactman M, McCabe CH, Cannon CP, et al. Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1996;335(18):1342-9.
709. Sharma AM, Schorr U, Oelkers W, Distler A. Effects of sodium salts on plasma renin activity and norepinephrine response to orthostasis in salt-sensitive normotensive subjects. *Am J Hypertens* 1993;6(9):780-5.

710. Engeli S, Boschmann M, Frings P, Beck L, Janke J, Titze J, et al. Influence of salt intake on renin-angiotensin and natriuretic peptide system genes in human adipose tissue. *Hypertension* 2006;48(6):1103-8.
711. Kuznetsova T, Staessen JA, Thijs L, Kunath C, Olszanecka A, Ryabikov A, et al. Left ventricular mass in relation to genetic variation in angiotensin II receptors, renin system genes, and sodium excretion. *Circulation* 2004;110(17):2644-50.
712. Stolarz K, Staessen JA, Kawecka-Jaszcz K, Brand E, Bianchi G, Kuznetsova T, et al. Genetic variation in CYP11B2 and AT1R influences heart rate variability conditional on sodium excretion. *Hypertension* 2004;44(2):156-62.
713. Wojciechowska W, Staessen JA, Stolarz K, Nawrot T, Filipovsky J, Ticha M, et al. Association of peripheral and central arterial wave reflections with the CYP11B2 -344C allele and sodium excretion. *J Hypertens* 2004;22(12):2311-9.
714. Kuznetsova T, Staessen JA, Brand E, Cwynar M, Stolarz K, Thijs L, et al. Sodium excretion as a modulator of genetic associations with cardiovascular phenotypes in the European Project on Genes in Hypertension. *J Hypertens* 2006;24(2):235-42.
715. Alvelos M, Ferreira A, Bettencourt P, Serrao P, Pestana M, Cerqueira-Gomes M, et al. The effect of dietary sodium restriction on neurohumoral activity and renal dopaminergic response in patients with heart failure. *Eur J Heart Fail* 2004;6(5):593-9.
716. Damgaard M, Goetze JP, Norsk P, Gadsboll N. Altered sodium intake affects plasma concentrations of BNP but not proBNP in healthy individuals and patients with compensated heart failure. *Eur Heart J* 2007;28(22):2726-31.
717. Ordovas JM, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F, Rodriguez C, Park JS, Cole T, et al. Effect of apolipoprotein E and A-IV phenotypes on the low density lipoprotein response to HMG CoA reductase inhibitor therapy. *Atherosclerosis* 1995;113(2):157-66.
718. Ballantyne CM, Herd JA, Stein EA, Ferlic LL, Dunn JK, Gotto AM, Jr., et al. Apolipoprotein E genotypes and response of plasma lipids and progression-regression of coronary atherosclerosis to lipid-lowering drug therapy. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(5):1572-8.
719. Schmitz G, Langmann T. Pharmacogenomics of cholesterol-lowering therapy. *Vascul Pharmacol* 2006;44(2):75-89.

720. Mangravite LM, Thorn CF, Krauss RM. Clinical implications of pharmacogenomics of statin treatment. *Pharmacogenomics J* 2006;6(6):360-74.
721. Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlbom A, et al. Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *JAMA* 2007;298(11):1300-11.
722. Chiodini BD, Franzosi MG, Barlera S, Signorini S, Lewis CM, D'Orazio A, et al. Apolipoprotein E polymorphisms influence effect of pravastatin on survival after myocardial infarction in a Mediterranean population: the GISSI-Prevenzione study. *Eur Heart J* 2007;28(16):1977-83.
723. Gerdes LU, Gerdes C, Kervinen K, Savolainen M, Klausen IC, Hansen PS, et al. The apolipoprotein epsilon4 allele determines prognosis and the effect on prognosis of simvastatin in survivors of myocardial infarction : a substudy of the Scandinavian simvastatin survival study. *Circulation* 2000;101(12):1366-71.
724. Takeuchi F, McGinnis R, Bourgeois S, Barnes C, Eriksson N, Soranzo N, et al. A genome-wide association study confirms VKORC1, CYP2C9, and CYP4F2 as principal genetic determinants of warfarin dose. *PLoS Genet* 2009;5(3):e1000433.
725. Caldwell MD, Awad T, Johnson JA, Gage BF, Falkowski M, Gardina P, et al. CYP4F2 genetic variant alters required warfarin dose. *Blood* 2008;111(8):4106-12.
726. Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM, et al. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA* 2002;287(13):1690-8.
727. Lima MV, Ribeiro GS, Mesquita ET, Victor PR, Vianna-Jorge R. CYP2C9 genotypes and the quality of anticoagulation control with warfarin therapy among Brazilian patients. *Eur J Clin Pharmacol* 2008;64(1):9-15.
728. Sanderson S, Emery J, Higgins J. CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: a HuGENet systematic review and meta-analysis. *Genet Med* 2005;7(2):97-104.
729. Loebstein R, Vecsler M, Kurnik D, Austerweil N, Gak E, Halkin H, et al. Common genetic variants of microsomal epoxide hydrolase affect warfarin dose requirements beyond the effect of cytochrome P450 2C9. *Clin Pharmacol Ther* 2005;77(5):365-72.

730. Takahashi H, Wilkinson GR, Nutescu EA, Morita T, Ritchie MD, Scordo MG, et al. Different contributions of polymorphisms in VKORC1 and CYP2C9 to intra- and inter-population differences in maintenance dose of warfarin in Japanese, Caucasians and African-Americans. *Pharmacogenet Genomics* 2006;16(2):101-10.
731. Veenstra DL, Blough DK, Higashi MK, Farin FM, Srinouanprachan S, Rieder MJ, et al. CYP2C9 haplotype structure in European American warfarin patients and association with clinical outcomes. *Clin Pharmacol Ther* 2005;77(5):353-64.
732. Wu AH, Wang P, Smith A, Haller C, Drake K, Linder M, et al. Dosing algorithm for warfarin using CYP2C9 and VKORC1 genotyping from a multi-ethnic population: comparison with other equations. *Pharmacogenomics* 2008;9(2):169-78.
733. Borgiani P, Ciccacci C, Forte V, Sirianni E, Novelli L, Bramanti P, et al. CYP4F2 genetic variant (rs2108622) significantly contributes to warfarin dosing variability in the Italian population. *Pharmacogenomics* 2009;10(2):261-6.
734. Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F, et al. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy--a genomewide study. *N Engl J Med* 2008;359(8):789-99.
735. Ho RH, Choi L, Lee W, Mayo G, Schwarz UI, Tirona RG, et al. Effect of drug transporter genotypes on pravastatin disposition in European- and African-American participants. *Pharmacogenet Genomics* 2007;17(8):647-56.
736. Choi JH, Lee MG, Cho JY, Lee JE, Kim KH, Park K. Influence of OATP1B1 genotype on the pharmacokinetics of rosuvastatin in Koreans. *Clin Pharmacol Ther* 2008;83(2):251-7.
737. Crowley JJ, Sullivan PF, McLeod HL. Pharmacogenomic genome-wide association studies: lessons learned thus far. *Pharmacogenomics* 2009;10(2):161-3.
738. Xu MQ, Ye Z, Hu FB, He L. Quantitative assessment of the effect of angiotensinogen gene polymorphisms on the risk of coronary heart disease. *Circulation* 2007;116(12):1356-66.
739. De Angelis C, Drazen JM, Frizelle FA, Haug C, Hoey J, Horton R, et al. Clinical trial registration: a statement from the International Committee of Medical Journal Editors. *Circulation* 2005;111(10):1337-8.
740. van der Net JB, van Etten J, Yazdanpanah M, Dallinga-Thie GM, Kastelein JJ, Defesche JC, et al. Gene-load score of the renin-angiotensin-aldosterone system is

- associated with coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J* 2008;29(11):1370-6.
741. Kathiresan S, Melander O, Anevski D, Guiducci C, Burt NP, Roos C, et al. Polymorphisms associated with cholesterol and risk of cardiovascular events. *N Engl J Med* 2008;358(12):1240-9.
742. Trichopoulou A, Yiannakouris N, Bamia C, Benetou V, Trichopoulos D, Ordovas JM. Genetic predisposition, nongenetic risk factors, and coronary infarct. *Arch Intern Med* 2008;168(8):891-6.
743. Lee DS, Austin PC, Rouleau JL, Liu PP, Naimark D, Tu JV. Predicting mortality among patients hospitalized for heart failure: derivation and validation of a clinical model. *JAMA* 2003;290(19):2581-7.
744. Antman EM, Cohen M, Bernink PJ, McCabe CH, Horacek T, Papuchis G, et al. The TIMI risk score for unstable angina/non-ST elevation MI: A method for prognostication and therapeutic decision making. *JAMA* 2000;284(7):835-42.
745. Granger CB, Goldberg RJ, Dabbous O, Pieper KS, Eagle KA, Cannon CP, et al. Predictors of hospital mortality in the global registry of acute coronary events. *Arch Intern Med* 2003;163(19):2345-53.
746. Boersma E, Pieper KS, Steyerberg EW, Wilcox RG, Chang WC, Lee KL, et al. Predictors of outcome in patients with acute coronary syndromes without persistent ST-segment elevation. Results from an international trial of 9461 patients. The PURSUIT Investigators. *Circulation* 2000;101(22):2557-67.
747. Yan AT, Yan RT, Huynh T, Casanova A, Raimondo FE, Fitchett DH, et al. Understanding physicians' risk stratification of acute coronary syndromes: insights from the Canadian ACS 2 Registry. *Arch Intern Med* 2009;169(4):372-8.
748. Manfrini O, Bugiardini R. Barriers to clinical risk scores adoption. *Eur Heart J* 2007;28(9):1045-6.
749. Finn CT, Wilcox MA, Korf BR, Blacker D, Racette SR, Sklar P, et al. Psychiatric genetics: a survey of psychiatrists' knowledge, opinions, and practice patterns. *J Clin Psychiatry* 2005;66(7):821-30.
750. Baars MJ, Scherpbier AJ, Schuwirth LW, Henneman L, Beemer FA, Cobben JM, et al. Deficient knowledge of genetics relevant for daily practice among medical students nearing graduation. *Genet Med* 2005;7(5):295-301.

751. Guttmacher AE, Porteous ME, McInerney JD. Educating health-care professionals about genetics and genomics. *Nat Rev Genet* 2007;8(2):151-7.
752. Gandhi TK, Weingart SN, Borus J, Seger AC, Peterson J, Burdick E, et al. Adverse drug events in ambulatory care. *N Engl J Med* 2003;348(16):1556-64.
753. Phillips KA, Veenstra DL, Oren E, Lee JK, Sadee W. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. *JAMA* 2001;286(18):2270-9.
754. Budnitz DS, Shehab N, Kegler SR, Richards CL. Medication use leading to emergency department visits for adverse drug events in older adults. *Ann Intern Med* 2007;147(11):755-65.
755. Jorgensen JT. Are we approaching the post-blockbuster era? Pharmacodiagnosics and rational drug development. *Expert Rev Mol Diagn* 2008;8(6):689-95.
756. Roden DM, Altman RB, Benowitz NL, Flockhart DA, Giacomini KM, Johnson JA, et al. Pharmacogenomics: challenges and opportunities. *Ann Intern Med* 2006;145(10):749-57.
757. Kola I, Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nat Rev Drug Discov* 2004;3(8):711-5.
758. Wilke RA, Lin DW, Roden DM, Watkins PB, Flockhart D, Zineh I, et al. Identifying genetic risk factors for serious adverse drug reactions: current progress and challenges. *Nat Rev Drug Discov* 2007;6(11):904-16.
759. Lesko LJ, Woodcock J. Translation of pharmacogenomics and pharmacogenetics: a regulatory perspective. *Nat Rev Drug Discov* 2004;3(9):763-9.
760. Roses AD. Pharmacogenetics in drug discovery and development: a translational perspective. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7(10):807-17.
761. de Denus S, Gaudreault N, Turgeon J, White M, Phillips MS. Development of a focused pharmacogenomics panel to predict the effects of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors in patients with heart failure. *Canadian Journal of Cardiology* 2007;23:149C-149C.
762. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Corey D, Leip EP, et al. Heritability and genetic linkage of plasma natriuretic peptide levels. *Circulation* 2003;108(1):13-6.

763. Lanfear DE, Stolker JM, Marsh S, Rich MW, McLeod HL. Genetic variation in the B-type natriuretic peptide pathway affects BNP levels. *Cardiovasc Drugs Ther* 2007;21(1):55-62.
764. Lajer M, Tarnow L, Jorsal A, Parving HH. Polymorphisms in the B-type natriuretic peptide (BNP) gene are associated with NT-proBNP levels but not with diabetic nephropathy or mortality in type 1 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22(11):3235-9.
765. Takeishi Y, Toriyama S, Takabatake N, Shibata Y, Konta T, Emi M, et al. Linkage disequilibrium analyses of natriuretic peptide precursor B locus reveal risk haplotype conferring high plasma BNP levels. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;362(2):480-4.
766. Meirhaeghe A, Sandhu MS, McCarthy MI, de Groote P, Cottel D, Arveiler D, et al. Association between the T-381C polymorphism of the brain natriuretic peptide gene and risk of type 2 diabetes in human populations. *Hum Mol Genet* 2007;16(11):1343-50.
767. Intravenous nesiritide vs nitroglycerin for treatment of decompensated congestive heart failure: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002;287(12):1531-40.
768. Burger AJ, Horton DP, LeJemtel T, Ghali JK, Torre G, Dennish G, et al. Effect of nesiritide (B-type natriuretic peptide) and dobutamine on ventricular arrhythmias in the treatment of patients with acutely decompensated congestive heart failure: the PRECEDENT study. *Am Heart J* 2002;144(6):1102-8.
769. Silver MA, Horton DP, Ghali JK, Elkayam U. Effect of nesiritide versus dobutamine on short-term outcomes in the treatment of patients with acutely decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(5):798-803.
770. Colucci WS, Elkayam U, Horton DP, Abraham WT, Bourge RC, Johnson AD, et al. Intravenous nesiritide, a natriuretic peptide, in the treatment of decompensated congestive heart failure. Nesiritide Study Group. *N Engl J Med* 2000;343(4):246-53.
771. Sackner-Bernstein JD, Kowalski M, Fox M, Aaronson K. Short-term risk of death after treatment with nesiritide for decompensated heart failure: a pooled analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 2005;293(15):1900-5.

772. Sackner-Bernstein JD, Skopicki HA, Aaronson KD. Risk of worsening renal function with nesiritide in patients with acutely decompensated heart failure. *Circulation* 2005;111(12):1487-91.
773. Catarsi P, Ravazzolo R, Emma F, Fruci D, Finos L, Frau A, et al. Angiotensin-converting enzyme (ACE) haplotypes and cyclosporine A (CsA) response: a model of the complex relationship between ACE quantitative trait locus and pathological phenotypes. *Hum Mol Genet* 2005;14(16):2357-67.
774. McNamara DM, Holubkov R, Janosko K, Palmer A, Wang JJ, MacGowan GA, et al. Pharmacogenetic interactions between beta-blocker therapy and the angiotensin-converting enzyme deletion polymorphism in patients with congestive heart failure. *Circulation* 2001;103(12):1644-8.
775. Tang WH, Vagelos RH, Yee YG, Benedict CR, Willson K, Liss CL, et al. Neurohormonal and clinical responses to high- versus low-dose enalapril therapy in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(1):70-8.
776. O'Toole L, Stewart M, Padfield P, Channer K. Effect of the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene on response to angiotensin-converting enzyme inhibitors in patients with heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;32(6):988-94.

Annexe 1. Essais cliniques majeurs portant sur l'inhibition du SRAA en IC

Tableau I. Études cliniques majeures ayant évalué l'impact des IECA en IC.

Étude	Sommaire du devis de l'étude	Points d'aboutissement	IECA	Groupe contrôle	p
SOLVD Prevention ²⁷	Étude multicentrique, randomisée, à double-insu comparant l'énalapril (dose cible : 10 mg po bid) au placebo chez 4228 patients (IC ischémique : 83%) dont la dysfonction ventriculaire ne requérait pas de traitement (NYHA I : 67% II : 33%), FEVG ≤ 35% (FE moyenne = 28%)	Mortalité*	14,8%	15,8%	0,3
		Développement d'IC symptomatique	29,8%	38,6%	< 0,001
		Hospitalisation ou mortalité pour IC	20,6%	24,5%	< 0,001
SOLVD treatment ²⁶	Étude multicentrique, randomisée, à double-insu comparant l'énalapril (dose cible : 10 mg po bid) au placebo chez 2569 patients (IC ischémique : 71%) traités pour leur IC (NYHA I : 11% II : 57% III : 30% IV : 2%), FEVG ≤ 35% (FEVG moyenne : 25%)	Mortalité*	35,2 %	39,7 %	< 0,01
		Mortalité ou hospitalisation pour IC	47,7 %	57,3%	0,006
CONSENSUS ²⁵	Étude multicentrique, randomisée, à double-insu comparant l'énalapril (dose cible : 20 mg po bid) au placebo chez 253 patients (IC ischémique : 73%) de classe NYHA IV (100%).	Mortalité* (6 mois)	26%	44%	0,002
V-HeFT II ¹³⁷	Étude multicentrique, randomisée, à double-insu comparant l'énalapril (dose cible : 10 mg po bid) à une combinaison hydralazine/dinitrate d'isosorbide chez 804 hommes (IC ischémique : 53%) de classes NYHA I-IV (I: 5,8% II: 51,0% III: 42,9% IV: 0,3%), FEVG < 45% (moyenne : 29%).	Mortalité* (2 ans)	18%	25%	0,016
		Hospitalisations pour IC	18,9%	18,4%	NS

FEVG : fraction d'éjection ventriculaire gauche; IC : insuffisance cardiaque; NYHA : New York Heart Association.

*Point d'aboutissement primaire

Tableau II. Essais cliniques majeurs ayant comparé une ARA à un IECA en IC chronique

Étude	Sommaire du devis de l'étude	Point d'aboutissement	Losartan 50 mg die	Captopril 50 mg tid	p
ELITE²¹¹	Étude multicentrique, randomisée, à double-insu comparant le captopril (dose cible : 50 mg po tid) au losartan (dose cible : 50 mg po die) (IC ischémique : 68%) chez 722 patients de classes NYHA II-IV (II: 65% III: 34% IV: 1%), FEVG ≤ 40% (moyenne : 30%)	↑ créatinine sérique > 26.5 μmol/L persistante	10,5%	10,5%	NS
		Mortalité totale	4,8%	8,7%	0,035
		Toux menant à arrêt du Rx	0%	3,8%	0,002
ELITE II²¹⁴	Étude multicentrique, randomisée, à double-insu comparant le captopril (dose cible : 50 mg po tid) au losartan (dose cible : 50 mg po die) (IC ischémique : 79%) chez 3 152 patients de classes NYHA II-IV (II: 52% III: 43% IV: 5%), FEVG ≤ 40% (moyenne : 31%)	Mortalité totale*	17,7%	15,9%	0,16

FEVG : fraction d'éjection ventriculaire gauche; IC : insuffisance cardiaque; NYHA : New York Heart Association.

*Point d'aboutissement primaire

Tableau III. Résultats de l'étude CHARM-alternative

Étude	Sommaire du devis de l'étude	Point d'aboutissement	ARA, %	Placebo, %	p
CHARM-Alternative⁹	Étude multicentrique, randomisée, à double-insu comparant le candesartan (dose cible : 32 mg po die) au placebo chez 2028 patients de classes NYHA II-IV (II: 48% III: 49% IV: 4%), FEVG < 40% (moyenne: 30%) intolérants aux IECA, 55% prenaient un bêta-bloqueur.	Mortalité cardiovasculaire + hospitalisations pour IC*	33,0	40,0	<0,001
		Mortalité cardiovasculaire	21,6	24,8	0,07

FEVG : fraction d'éjection ventriculaire gauche; IC : insuffisance cardiaque; IECA : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.; NYHA : New York Heart Association.

*Point d'aboutissement primaire

Tableau IV. Grands essais cliniques ayant évalué l'impact des ARA chez patients prenant déjà un IECA.

Étude	Sommaire du devis de l'étude	Point d'aboutissement	ARA, %	Placebo, %	p
Val-HeFT⁶¹	Étude multicentrique, randomisée, à double-insu comparant le valsartan (dose cible : 160 mg po bid) au placebo (IC ischémique : 57%) chez 5010 patients de classes NYHA II-IV (II: 62% III: 36% IV: 2%), FEVG < 40% (moyenne : 27%) et prenant un IECA (93%) et un bêta-bloqueur (35%)	Mortalité*	19,7	19,4	0,8
		Mortalité et morbidité***	28,8	32,1	0,009
CHARM-Added⁸	Étude multicentrique, randomisée, à double-insu comparant le valsartan (dose cible : 32 mg po die) au placebo (IC ischémique : 62%) chez 2548 patients de classes NYHA II-IV (II: 24% III: 73% IV: 3%), FEVG < 40% (moyenne : 28%) et prenant un IECA 99,9%) et bêta-bloqueur (55%)	Mortalité cardiovasculaire ou hospitalisation pour IC*	37,9	42,3	0,011
		Mortalité CV	23,7	27,3	0,029
		Mortalité	30	32	0,086

FEVG : fraction d'éjection ventriculaire gauche; IC : insuffisance cardiaque; IECA : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.; NYHA : New York Heart Association.
Point d'aboutissement primaire ** Second point d'aboutissement primaire

Tableau V. Résultats de l'étude RALES³⁰

Étude	Sommaire du devis de l'étude	Point d'aboutissement	Spiro-lactone, %	Placebo, %	p
RALES	Étude multicentrique, randomisée, à double-insu comparant la spironolactone (dose cible 25-50 mg po die) au placebo chez 1663 patients (IC ischémique : 54%) de classes NYHA III et IV (NYHA III : 71% IV: 29%), FEVG ≤ 35% (FE moyenne = 25%). 94% utilisaient un IECA et 10% un bêta-bloqueur.	Mortalité*	35	46	p < 0,001
		Hospitalisations pour IC	26	36	p < 0,001

FEVG : fraction d'éjection ventriculaire gauche; IC : insuffisance cardiaque; IECA : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.; NYHA : New York Heart Association.

*Point d'aboutissement primaire

Annexe 2. La génétique et la pharmacogénétique du système rénine-angiotensine-aldostérone en insuffisance cardiaque

Tableau I. Impact de gènes candidats du SRAA sur le pronostic des patients atteints d'insuffisance cardiaque.

Référence	Population	Polymorphismes étudiés	Traitement, %	Résultats
Cuoco, MA, et collaborateurs. 323	333 patients avec IC d'étiologies variées.	<i>ACE</i> I/D	IECA : 95,5 BB : 3,6 Digoxine : 89,5 Diurétiques : 98,2	Pas d'impact sur la mortalité dans l'ensemble de la population. Mortalité augmentée chez patients DD de plus de 50 ans (RR : 4,5 IC95% : 1,7-12,2, p= 0,003 vs I/I +I/D).
Andersson B, et collaborateurs. 322	193 patients avec cardiomyopathie idiopathique.	<i>ACE</i> I/D	IECA : 26 Digoxine : 63 Diurétiques : 64	Survie à 5 ans inférieure chez porteurs du génotype D/D : OR : 1.69 IC95% : 1,01-2,82 p= 0,04 vs I/I +I/D.
Andersson B, et collaborateurs. 336	194 patients avec cardiomyopathie idiopathique (même cohorte que ³²²).	<i>ACE</i> I/D <i>AGTRI</i> A1166C	IECA : 26 Digoxine : 63 Diurétiques : 64 BB : 38	Aucun impact additionnel statistiquement significatif, mais tendance vers décès augmenté avec l'allèle C chez patients porteurs du génotype <i>ACE</i> D/D.
Montgomery HE, et collaborateurs. 324	99 patients avec cardiomyopathie dilatée idiopathique.	<i>ACE</i> I/D	ND	Fréquence des génotypes similaires entre les patients stables durant le suivi et les patients présentant une détérioration clinique ou ayant reçue une greffe cardiaque (p=0,5).
Sanderson JE, et collaborateurs. 325	82 patients avec IC systolique.	<i>ACE</i> I/D <i>AGTRI</i> A1166C <i>AGTM</i> 235T	ND	Aucune association significative avec le risque de décès. Porteurs de l'allèle <i>AGTRI</i> 1166C avaient un risque

				accrue d'hospitalisation (p < 0,05).
McNamara DM, et collaborateurs. 321, 774	479 patients atteints d'IC de multiples étiologies (91% de Caucasiens).	ACE I/D	IECA : 84,1 ARA : 10,6 BB : 42,2	Décès ou greffe cardiaque à 2 ans de 23%, 31% et 38% chez les patients I/I, I/D et D/D (p = 0,026), respectivement.
Pilbrow AP, et collaborateurs. 327	451 patients atteints d'IC de multiples étiologies.	AGT M235T AGT T174M	IECA : 71 BB : 42 Digoxine : 28 Diurétiques : 87 Spironolactone : 10	Mortalité augmentée chez porteurs des génotypes 235TT et 174M ou 174MM vs autres patients (OR 2,00 IC95% : 1.32-3.03, p = 0,001).
McNamara, et collaborateurs. 328	354 patients atteints d'IC de multiples étiologies.	CYP11B2 C344T	IECA : 76 BB : 84 Antagonistes de l'aldostérone : 36	Mortalité accrue avec la présence de l'allèle C : TT (1,8%); TC (3,5%), CC (18,2%), p = 0,001.
Shin J, et collaborateurs. 326	227 patients atteints d'IC de multiples étiologies.	ACE I/D AGT M235T AGT R1 A1166C	IECA : 78 ARA : 19 BB : 81 Digoxine : 77 Diurétiques : 85 Spironolactone : 29	Aucun impact sur risque de décès ou greffe cardiaque.

ARA : antagoniste du récepteur AT1 de l'angiotensine; BB : bêta-bloqueur; IC :

insuffisance cardiaque; IECA : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine;

ND : non disponible.

Tableau II. La pharmacogénétique des IECA en insuffisance cardiaque

Référence	Patients	Polymorphisme génétique	Résultats
McNamara DM, et collaborateurs. ³² 1, 774	Sous-groupe de patients traités par un IECA.	<i>ACE I/D</i>	Impact délétère de l'allèle D absente chez patient recevant des hautes doses d'IECA ($p=0,64$), mais présente chez patient ne recevant des faibles doses ($p=0,03$).
Tang WHW, et collaborateurs. ³¹ 8	74 patients randomisés à énalapril 2,5 mg bid ou 20 mg bid (sous-étude de ⁷⁷⁵).	<i>ACE I/D</i>	Malgré un effet du polymorphisme sur l'activité de l'ECA au début de l'étude et après 6 mois de traitement, n'a pas influencé les effets de l'énalapril sur les différentes neurohormones mesurées (angiotensine II, rénine, aldostérone).
O'Toole L, et collaborateurs. ⁷⁷ 6	34 patients randomisés au lisinopril 10 mg po die ou captopril 25 mg po tid.	<i>ACE I/D</i>	Réduction de la tension artérielle moyenne plus importante chez patients II (-7,4 mmHg) vs ID (-4,7 mmHg) et DD (-0,5 mmHg; $p=0,02$), mais aucun impact avec lisinopril.
Andersson B, et collaborateurs. ³² 2	193 patients suédois avec cardiomyopathie idiopathique. Analyse secondaire évaluant l'impact du polymorphisme <i>ACE I/D</i> selon prise d'IECA.	<i>ACE I/D</i>	Mortalité accrue chez patient DD non traités par un IECA ($p=0,024$), mais aucune différence chez les patients traités avec des IECA. Analyse non ajustée pour confondants potentiels.

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

Annexe 3. La génétique et la pharmacogénétique du système adrénergique en insuffisance cardiaque

Tableau I. Impact de gènes candidats du système adrénergique sur le pronostic des patients atteints d'IC.

Référence	Population	Polymorphismes étudiés	Traitement,%	Impact clinique
Shin J, et collaborateurs. 326	227 patients atteints d'IC de multiples étiologies.	<i>ADRB1</i> Ser49Gly, Arg389gly <i>ADRB2</i> Arg16Gly, Gln27Glu, <i>ADRA2C</i> Ins/del 322-325	IECA :78 ARA : 19 BB : 81 Digoxine : 77 Diurétiques : 85 Spironolactone : 29	Haplotype <i>ADRB2</i> associé au risque de décès ou greffe cardiaque (Présence de 2 copies de l'haplotype Arg16-Gln27 HR : 1,91 95%CI :1,09-3,36; p = 0,02).
Regitz-Zagrosek V, et collaborateurs. 366	345 patients avec cardiomyopathie dilatée.	<i>ADRA2C</i> Ins/del 322-325	IECA :99 BB : 76 Antagonistes de l'aldostérone : 60	Polymorphisme 322-325del associé à une réduction du risque de décès/implantation de pompe d'assistance ventriculaire ou greffe cardiaque, RR : 0,17 IC95% : 0,04-0,69; p = 0,01.
Borjesson M, et collaborateurs. 352	194 patients avec cardiomyopathie idiopathique (même cohorte que ^{21 et 336})..	<i>ADRB1</i> Ser49Gly	IECA : 26 BB : 38	Patients Ser49Ser ont un risque accru de décès vs porteurs de l'allèle Gly : OR : 2,03 95%CI : 0,99-4,16; p = 0,05. Impact du génotype Ser/Ser chez patients traités avec BB (OR :3,08; 95%CI :1,17-8,10, p = 0,02) plus important que patients sans bêta-bloqueur (OR : 1,72, 95%CI :

				0,86-3,75; p =0,12).
White HF, et collaborateurs. 349	600 patients atteints d'IC de multiples étiologies (sous étude de MERIT-HF).	<i>ADRB1</i> Arg389Gly	ND	Aucun impact sur le risque de décès ou d'hospitalisation.
Forleo C, et collaborateurs. 348	171 patients avec cardiomyopathie dilatée.	<i>ADRB1</i> Ser49Gly, Arg389Gly <i>ADRB2</i> Arg16Gly, Arg19Cys, Gln27Glu, Thr164Ile <i>ADRB3</i> Trp64Arg	IECA : 79 ARA : 25 BB : 75 Diurétiques : 58 Digoxine : 33	Cys19 (HR : 0,15; IC95% : 0,05-0,42; p < 0,001), Arg16 (HR : 0,12; IC95% : 0,04-0,42; p < 0,001) et Gln27 (HR : 0,15; IC95% : 0,05-0,42; p < 0,001) associés au risque d'hospitalisation pour IC, greffe cardiaque ou décès pour IC dans trois modèles distincts.
Magnusson Y, et collaborateurs. 339	2 cohortes de patients avec cardiomyopathie dilatée de 185 (cohorte de Borjesson ³⁵²) et 190 patients respectivement.	<i>ADRB1</i> Ser49Gly, Arg389Gly	Cohorte 1, voir ³⁵² Cohorte 2 IECA : 99 BB : 83	Impact du Ser49Gly sur risque de décès dans cohorte 1 rapporté à nouveau. ³⁵² Tendance nonsignificative vers un effet protecteur dans la seconde cohorte. Aucun impact du Arg389Gly dans les cohortes étudiées.
Ligett SB, et collaborateurs. 341	525 patients randomisés au groupe placebo dans la sous-étude pharmacogénétique de BEST (1040 patients au total).	<i>ADRB1</i> Ser49Gly, Arg389Gly	IECA : 92 Digoxine : 90 Diurétiques : 93	Aucun impact sur pronostic des patients dans le groupe placebo.

Ligett SB, et collaborateurs. 359	259 patients avec IC de multiples étiologies.	<i>ADRB2</i> Arg16Gly, Gln27Glu, Thr164Ile	Diurétiques : 98 Digoxine : 95	Risque de décès ou transplantation cardiaque augmenté chez porteurs de l'allèle Ile164 (RR : 4,81; IC95% : 2,0-11,5; p < 0,001).
Barbato et collaborateurs. 360	31 patients sélectionnés en fonction de leur génotype avec cardiomyopathie dilatée	<i>ADRB2</i> Thr164Ile	IECA/ARA : 91 BB : 77 Diurétiques : 58 Spironolactone : 87	Risque de décès, greffe cardiaque, hospitalisation, augmentation des diurétiques ou nouveau diagnostic de fibrillation auriculaire augmenté chez porteurs de l'allèle Ile164 (75% vs. 30%; p < 0,05).
Biolo A, et collaborateurs. 347	201 patients atteints d'IC systolique.	<i>ADRB1</i> Ser49Gly, Arg389Gly	IECA : 90 BB : 85 Diurétiques : 87 Spiro : 32	Allèle Arg389 associé à une augmentation du risque de décès secondaire à progression de l'IC ou mort subite (p = 0,025). Aucun impact du Ser49Gly.
Littlejohn MD, et collaborateurs. 362	Groupe hétérogène de 443 patients atteints d'IC de divers types (systolique et autres).	<i>ADRB2</i> Thr164Ile	IECA : 71 BB : 42	Aucun impact sur le risque de décès.
Liggett SB, et collaborateurs. 370	61 patients non traités par un bêta-bloqueur.	<i>GRK5</i> Glu41Leu	Non spécifié	Porteurs de <i>GRK5</i> Leu41 avaient une mortalité réduite par rapport aux homozygotes Gln41 (p = 0,013).

ARA : antagoniste du récepteur AT1 de l'angiotensine; BB : bêta-bloqueur; BEST : Beta-Blocker Evaluation of Survival Trial; IC : insuffisance cardiaque; IECA : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine; MERIT-HF : Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart; ND : non disponible.

Tableau II. Pharmacogénétique des bêta-bloqueurs en insuffisance cardiaque

Référence	Patients	Polymorphisme génétique	Résultats
McNamara DM, et collaborateurs. ^{321, 774}	Évaluation de l'impact des bêta-bloqueurs sur effets délétères de l'allèle D.	<i>ACE I/D</i>	Aucun impact délétère de l'allèle D chez patients recevant BB (p=0,97), mais présent chez patients ne recevant pas de BB (p=0,004).
de Groote, P, et collaborateurs. ³⁸⁶	199 patients traités par un bêta-bloqueur (bisoprolol[65%] ou carvedilol [35%]).	<i>ACE I/D</i>	Aucun impact sur l'amélioration de la FEVG ou survie.
White HF, et collaborateurs. ³⁴⁹	600 patients inclus dans MERIT-HF (métoprolol succinate vs placebo).	<i>ADRB1</i> Arg389Gly	Aucune interaction entre le génotype et les effets du métoprolol succinate sur le risque de mortalité, la dose de métoprolol succinate ou la réduction de la fréquence cardiaque.
Perez JM, et collaborateurs. ³⁴⁰	Étude rétrospective de 224 patients traités avec du carvedilol.	<i>ADRB1</i> Arg389Gly	Patients Arg/Arg ont démontré une amélioration supérieure de la FEVG par rapport aux patients Gly/Gly (8,7±1,1% vs. 0,93±1,7%, p =0,02).
Kaye DM et collaborateurs. ⁴¹⁵	Étude rétrospective de 80 patients traités par du carvedilol.	<i>ADRB2</i> Arg16Gly, Gln27Glu	Allèle Glu27 plus prévalent chez patient ayant répondu favorablement au carvedilol (86% vs 55%, p = 0,003) défini comme une augmentation de la FEVG de ≥10%. Aucun impact du Arg16Gly.
Terra SG, et collaborateurs. ^{402, 411, 416}	61 patients traités par métoprolol succinate.	<i>ADRB1</i> Arg389Gly, Ser49Gly <i>ADRB2</i> Arg16Gly, Gln27Glu <i>CYP2D6</i> <i>GNAS</i> (polymorphisme non spécifié) <i>ADRA2C</i> Ins/del 322-325	Homozygotes Arg389 ont une amélioration supérieure de la FEVG, du VTS et du VTD (p<0,05). Allèle Gly49 associé à une réduction du VTD (p < 0,05). Une analyse subséquente a également suggéré que les porteurs du génotype 322-325 Del avaient une amélioration significative de la FEVG et que cet effet était additif à celui du Arg389. Les porteurs de l'allèle Gly389

			ont nécessité une augmentation des autres médicaments pour l'IC (principalement des diurétiques) vs. homozygotes Arg389 (48% vs 14%; p = 0,006).
DeGroot P, et collaborateurs. ⁴¹³	199 patients traités avec du bisoprolol ou du carvedilol.	<i>ADRB1</i> Ser49Gly, Arg389Gly Thr164Ile	Aucun impact des polymorphismes étudiés sur l'augmentation de la FEVG après trois mois de traitement à la dose maximale tolérée ou sur la dose maximale tolérée.
Magnusson Y, et collaborateurs. ³³⁹	184 patients recevant un bêta-bloqueur provenant de 2 cohortes de patients avec cardiomyopathie dilatée.	<i>ADRB1</i> Ser49Gly, Arg389Gly	Risque de décès ou greffe cardiaque augmenté chez porteurs de l'allèle Ser49 (p=0,01). Les auteurs suggèrent que le risque est influencé par la dose des bêta-bloqueurs : risque associé à allèle Ser49 statistiquement significatif uniquement chez patients recevant ≤ 50% de la dose cible du bêta-bloqueur, mais risque relatif en fait similaire chez patients avec haute dose de bêta bloqueur (0,24 95%CI : 0,07-0,80; p = 0,03 vs 0,27 95%CI : 0,04-2,04; p = 0,2). Tendance chez porteurs de Gly389 (p=0,08) d'un risque accru de décès ou greffe, qui devient significatif chez patients recevant faible dose de bêta-bloqueur (p=0,04), mais qui disparaît chez patients prenant des hautes doses de bêta-bloqueurs.
Iwata, A et collaborateurs. ⁴¹⁴	Étude rétrospective de 22 patients traités avec du carvedilol.	<i>ADRB1</i> Arg389Gly	Aucun impact du polymorphisme sur l'augmentation de la FEVG.
Nonen S, et collaborateurs. ⁴⁰⁴	80 patients avec cardiomyopathie dilatée traités par de multiples bêta-	39 polymorphismes de 16 gènes du système	NET T-182C, ADRA1D T1848A et A1905G associé à l'amélioration de la fonction ventriculaire (p<

	bloqueurs.	adrénergique.	0,05).
Ligett SB, et collaborateurs. ³⁴¹	1040 patients inclus dans une sous-étude pharmacogénétique de BEST.	<i>ADRB1</i> Ser49Gly, Arg389Gly	Bénéfice du bucindolol sur la réduction du risque de décès présent chez homozygotes Arg/Arg(0,62; 95%CI :0,40-0,96; p =0,03) , mais absence chez porteurs de l'allèle Gly (HR :0,90; 95%CI :0,32-1,30; p = 0,57). Impact similaire sur le risque d'hospitalisation présent chez homozygotes 389Arg (0,64;95%CI :0,46-0,88; p= 0,006) ; mais absent chez porteurs de l'allèle 389Gly (0,86; 95%CI : 0,54-1,15; p=0,3). Aucun impact du polymorphisme Ser49Gly sur le risque de ces événements.
Chen L, et collaborateurs. ⁴¹⁰	135 patients avec IC non ischémique traités avec du carvédilol.	<i>ADRB1</i> Ser49Gly, Arg389Gly <i>ADRB2</i> Arg16Gly, Gln27Glu, Thr164Ile	Après 1,5 années de traitement, amélioration plus importante de la FEVG chez les homozygotes pour l'allèle Arg389 (18,8%) que chez les porteurs de l'allèle 389Gly (Arg389Gly : 9,4%; Gly389GLy : 6.0%; p < 0,001). Aucun impact des autres polymorphismes.
Kolek MJ, et collaborateurs. ³⁸⁰	1038 patients inclus dans l'étude BEST.	<i>AMPD1</i> C34T	Aucun effet sur l'impact du bucindolol.
Sehnert, et collaborateurs. ⁴¹²	637 patients atteints d'IC systolique traité avec carvédilol (56,7%) ou métoprolol (43,3%).	<i>ADRB1</i> Ser49Gly, Arg389Gly Arg389Gly <i>ADRB2</i> Arg16Gly, Gln27Glu <i>ADRA2C</i> Ins/del 322-325	Aucun impact des polymorphismes sur la survie.
Kolek MJ, et collaborateurs. ³⁸⁰	1038 patients inclus dans l'étude BEST	<i>AMPD1</i> C34T	Aucun effet sur l'impact du bucindolol sur la mortalité.
Liggett SB, et collaborateurs. ³⁷⁰	383 afro-américains atteints d'IC	<i>GRK5</i> Gln41Leu	Seul les homozygotes pour l'allèle GRK5 Gln41 (HR :0,22; 95%CI :0,12-0,40; p <0,001) bénéficient de l'utilisation d'un bêta-bloqueur (p _{int} génotype x bêta-

			bloqueur : 0,004).
Van der Meer P, et collaborateurs. ³⁸⁵	596 patients inclus dans la sous-étude génétique de MERIT-HF.	<i>VEGF</i> C405G, C460T	Aucun impact sur le risque de décès ou d'hospitalisation.

FEVG : fraction d'éjection ventriculaire gauche; IC : insuffisance cardiaque; MERIT-HF :

Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure; VTD :

volume télédiastolique; VTS : volume télésystolique.