

gen 2000 6301

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE I
U.F.R. de Biologie

THESE DE DOCTORAT D'UNIVERSITE
EN SCIENCES DE LA VIE

présentée par

Carole AMANT



EPIDEMIOLOGIE DE LA MALADIE CORONAIRE :
RECHERCHE DES DETERMINANTS GENETIQUES
DE LA VASOMOTRICITE CORONAIRE
ET DE LA RESTENOSE

Composition du jury :

Madame le Professeur Geneviève Spik :	Présidente du jury
Monsieur le Professeur Bernard Lévy :	Rapporteur
Monsieur le Professeur Christophe Bauters :	Rapporteur
Monsieur le Professeur Philippe Amouyel :	Examineur
Monsieur le Professeur Roméo Cecchelli :	Examineur
Monsieur le Docteur François Fontaine :	Examineur

Date de soutenance : le 4 décembre 1997

A mes parents

A ma soeur

*Ce travail a été réalisé dans l'Unité d'Epidémiologie et de Santé Publique
de l'Institut Pasteur de Lille - INSERM C7F 95-05,
service dirigé par le Professeur Philippe Amouyel.*

Monsieur le Professeur Philippe Amouyel

Je vous remercie du privilège de m'avoir accueillie au sein de votre équipe sympathique et dynamique. Votre gentillesse, vos compétences scientifiques exceptionnelles et la confiance que vous m'avez témoignées pendant ces trois années m'ont beaucoup aidée pour la réalisation de ce travail. Vous m'avez ainsi permis de mener à bien ce projet qui me tenait à cœur et de le poursuivre lors d'un stage post-doctoral dans le laboratoire du Docteur Walsh. Que cette thèse soit l'expression de ma profonde reconnaissance et de toute mon estime.

Madame le Professeur Geneviève Spik

Je suis très honorée que vous ayez accepté de présider ce jury. Recevez ici l'expression de mes plus vifs remerciements et de mon profond respect.

Monsieur le Professeur Christophe Bauters

Vous avez largement participé à la genèse et la réalisation de ce travail. Vos qualités humaines et vos compétences scientifiques remarquables, reconnues de tous, m'ont soutenue dans l'accomplissement de ce travail. Je vous prie de trouver ici la marque de mon estime et de ma reconnaissance.

Monsieur le Professeur Bernard Lévy

Je suis très sensible à l'intérêt que vous avez témoigné pour cette thèse et l'aide précieuse que vous m'avez apportée. Je vous remercie vivement de l'honneur que vous me faites en acceptant d'être rapporteur de ce travail.

Monsieur le Professeur Roméo Cecchelli

C'est avec un très grand plaisir que je vous compte aujourd'hui parmi les membres de mon jury. Je vous remercie de votre gentillesse et de m'avoir permis de faire mes premiers pas dans l'enseignement.

Monsieur le Docteur François Fontaine

Je vous suis reconnaissante de la bienveillance et de la sympathie que vous m'avez toujours témoignées au cours de mon cursus universitaire. Je suis très touchée de l'honneur que vous me faites en acceptant de participer à ce jury.

Merci à Monsieur le Professeur Michel Bertrand, directeur du Service d'Hémodynamique de l'Hôpital Cardiologique du CH et U de Lille, qui a permis cette étroite collaboration avec son service sans laquelle ce travail n'aurait pu avoir lieu.

Merci à Monsieur le Professeur Martial Hamon pour sa gentillesse et son dynamisme et qui a aussi largement contribué à la réalisation de ce projet.

Merci à Joëlle Benessiano et Daniel Henrion pour l'aide précieuse que vous m'avez apportée.

Merci à l'ensemble des membres de l'équipe de l'Unité d'Epidémiologie et de Santé Publique pour leur soutien, leur sympathie et leurs conseils.

Je tiens à remercier plus particulièrement Nicole Helbecque, Valérie Codron, Chantal Steclebout, Florence Richard, et Michèle Montaye qui ont manifesté à mon égard leur compréhension, leur disponibilité et leurs aides pratiques. Je ne pouvais espérer meilleure coopération. Qu'elles trouvent ici l'expression de mon amical souvenir.

Merci également à l'ensemble du personnel du Service d'Hémodynamique de l'Hôpital Cardiologique du CH et U de Lille pour leur disponibilité et leur sympathie et plus particulièrement à Catherine Feucherolles, Claudine Mercier, Sylvette Desmet et Michel Denève.

Merci à Thibaut Meurice pour sa patience et sa gentillesse lors de la correction des versions préliminaires de cette thèse.

Merci à l'ensemble des membres du laboratoire de la CEREP et à toute l'équipe du SERLIA et tout particulièrement Agnès Boullier, Evelyne Walters, Monique Plateel et Laurent Béghin.

Merci encore à Nadira Delhem, Catherine Dengremont, Virginie Barbary, Christophe Boutillon et Henri Parra pour leurs encouragements.

En dernier lieu, merci à mes parents et à ma sœur Cécile pour les encouragements qu'ils m'ont prodigués tout au long de ces années d'étude. Qu'ils trouvent dans ce travail le témoignage de ma profonde reconnaissance et de mon amour.

Pardon à tous ceux que j'aurais pu oublier...

Liste des publications internationales dans des revues à comité de lecture

* 95. Hamon M., Bauters C., Amant C., Mc Fadden E.P., Helbecque N., Lablanche J.M., Bertrand M., Amouyel P. Relation between the deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme and late luminal narrowing after coronary angioplasty. *Circulation*, 1995, 92:296-299.

* 96.1 Hamon M., Amant C., Bauters C., Lablanche J-M, Bertrand M., Amouyel P. ACE polymorphism, a genetic predictor of occlusion after coronary angioplasty. *The American Journal of Cardiology*, 1996, 78 : 679-681

96.2 Amouyel P., Richard F., Cotel D., Amant C., Codron V., Helbecque N. The deletion allele of the angiotensin I converting enzyme gene as a genetic susceptibility factor for cognitive impairment. *Neuroscience Letters*, 1996, 217 : 203-205.

* 97.1 Amant C., Hamon M., Bauters C., Richard F., Helbecque N., Mc Fadden E., Escudero X., Lablanche J-M., Amouyel P., Bertrand M. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism as a determinant of coronary artery vasoconstriction. *Journal of the American College of Cardiology*. 1997, 29(3) : 486-490.

97.2 Hamon M., Amant C., Bauters C., Richard F., Helbecque N., Mc Fadden E., Lablanche J-M., Bertrand M., Amouyel P. Association of angiotensin converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor genotypes with left ventricular function and mass in patients with angiographically normal coronary arteries. *Heart*. 1997, 77 (6) : 502-505.

* 97.3 Amant C., Bauters C., Bodart J-C., Lablanche J-M., Grollier G., Danchin N., Hamon M., Richard F., Helbecque N., MC Fadden E., Amouyel P., Bertrand M. The D allele of the Angiotensin I-converting enzyme is a major risk factor for restenosis after coronary stenting. *Circulation*. 1997, 96 : 56-60.

97-4 Richard F., Berr C., Amant C., Helbecque N., Amouyel P., Alperovitch A. and the EVA study group. The deletion allele of the angiotensin-I converting enzyme is associated with lower cognitive performances. The EVA study. *Soumis à Alzheimer's Disease and Related Disorders*.

* 97-5 Henrion D., Amant C., Benessiano J., Philip I., Chatel D., Hwas U., Durand G., Amouyel P., Lévy B. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms is associated with an increased vascular reactivity in human mammary artery in vitro. *Soumis à Circulation Research*.

97-6 Boullier A., Walters-Laporte E., Hamon M., Amant C., Amouyel P., Fruchart J-C., Bertrand M., Duriez P. Absence of relationship between plasma Lp(a), Lp-AI, anti-oxidized LDL, and auto-antibodies, LDL immune complexes concentrations and restenosis after Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty.

Soumis à Atherosclerosis.

98 Hamon M., Amant C., Bauters C., Richard F., Helbecque N., Passard F., McFadden E., Lablanche J-M., Bertrand M., Amouyel P. Dual determination of Angiotensin-Converting Enzyme and Angiotensin-II Type 1 Receptor genotypes as predictors of restenosis after coronary angioplasty. *The American Journal of Cardiology*. 1998, 81, *sous-presse.*

* : *publications présentées dans la thèse.*

Table des Matières

Liste des abréviations	16
Glossaire	18
Introduction	22
Généralités	25
Première partie : Artère coronaire, vasomotricité et resténose	26
<i>A. La paroi de l'artère coronaire saine</i>	26
I. L'endothélium, propriétés et rôles physiologiques	27
I.1 Maintien du tonus des cellules musculaires lisses vasculaires sous-jacentes.	28
a) La vasodilatation	29
b) La vasoconstriction	30
c) L'équilibre vasomoteur	31
I.2 Protection de la paroi vis-à-vis de l'action des éléments figurés du sang	31
a) Propriétés anticoagulantes de l'endothélium	32
b) Endothélium et fibrinolyse	33
c) Endothélium et inhibition de l'agrégation plaquettaire	34
I.3 Perméabilité sélective de l'endothélium	35
I.4 Régulation de la trophicité du vaisseau	35
II. Les cellules musculaires lisses : propriétés, rôles et physiologie	36
II.1 Les différents phénotypes des cellules musculaires lisses	36
a) Le phénotype contractile	36
b) Le phénotype de synthèse	38
II.2 Facteurs influençant le changement de phénotype des cellules musculaires lisses	39
a) L'endothélium	39
b) Les forces imposées à la paroi	40
c) Les cellules sanguines et les éléments figurés du sang	40
d) Les facteurs de croissance	40

	10
III. La matrice extracellulaire vasculaire	42
III.1 Composition de la matrice extra-cellulaire	42
III.2 Fonctions de la matrice extra-cellulaire	42
a) Modulation du phénotype des cellules musculaires lisses	43
b) Protection et transmission du signal de la lumière du vaisseau vers les tissus sous-jacents.	43
<i>B. Vasomotricité coronaire et vasospasme</i>	44
I. La vasomotricité coronaire	44
I.1 Les effecteurs de la vasomotricité coronaire	44
I.2 Le vasospasme	45
I.3 Mécanisme du vasospasme	45
II. Estimation de la vasomotricité coronaire chez l'homme	46
II.1 Test à l'ergométrine	47
II.2 Test de provocation du spasme à l'acétylcholine ou à la sérotonine	47
III. Déterminants de la vasomotricité : les LDL oxydées	49
IV. Vasomotricité et lésions coronaires	50
IV.1 Vasomotricité et plaque d'athérome	50
IV.2 Vasomotricité et resténose	50
<i>C. Physio-pathologie de la resténose coronaire</i>	52
I. Le retour élastique de l'artère	53
II. La formation du thrombus	53
III. L'hyperplasie néo-intimale	54
III.1 Les phases de la prolifération des cellules musculaires lisses	54
III.2 Facteurs influençant la prolifération des cellules musculaires lisses	55
a) Facteurs de croissance	55
b) Le système plasminogène/plasmine	58
c) Les monocytes	58
d) Le système rénine/angiotensine	59
III.3 Synthèse de la matrice extracellulaire	59
IV. Le remodelage	59
IV.1 Développement du remodelage artériel après angioplastie	60
a) La survenue de la rétraction chronique	61

	11
b) La fibrose de l'adventice	61
IV.2 Les facteurs qui influencent le développement du remodelage	62
a) L'état de l'endothélium	62
b) Les forces de frottements	63
V. L'occlusion, complication de la resténose	63
VI. L'utilisation d'endoprothèses coronaires	64
VI.1 Composition d'un stent	64
VI.2 Conséquences de l'utilisation de stent sur le développement de la resténose	64
VI.3 Complications intervenant lors de la pose d'un stent	65
<i>D. Différence entre la plaque athéromateuse et la resténose</i>	66
I. Quelques rappels sur la plaque d'athérome	66
II. Différences entre la formation de la plaque d'athérome et la resténose	69
Deuxième partie : Les facteurs de risque de la maladie coronaire et de la resténose : facteurs de susceptibilité génétique et facteurs environnementaux	71
<i>A. Facteurs de risque environnementaux</i>	71
I. Rappels sur les facteurs de risque environnementaux de la maladie coronaire et de la resténose	71
I.1 Le diabète	71
I.2 L'influence du profil lipidique	72
I.3 Les facteurs de coagulation	72
I.4 L'infection virale	73
II. Les facteurs de risque spécifiques de la resténose	73
II.1 Les facteurs de risque d'origine mécanique	73
a) Le délai entre deux angioplasties	73
b) le ratio taille du ballon/taille du vaisseau	73
II.2 La nature de la lésion et du vaisseau avant l'angioplastie	74
<i>B. Les facteurs de susceptibilité génétique</i>	74
I. Facteurs de susceptibilité génétique des pathologies cardio-vasculaires, quelques exemples	74
II. Différentes stratégies d'étude des facteurs de susceptibilité génétique	76
II.1 Les études familiales	76

	12
II.2 Les études en population	77
III. Différents types de polymorphismes	77
III.1. Les variations ponctuelles du génome	78
III.2 Les polymorphismes de répétition	78
IV La loi de Hardy-Weinberg	79
V. L'informativité des polymorphismes	80
VI. Le déséquilibre de liaison	81
VII. L'approche gènes candidats	81
C. <i>Quelques gènes candidats : les gènes du système rénine-angiotensine</i>	83
I. L'enzyme de conversion de l'angiotensine I	84
I.1 Génétique de l'ECA	85
a) Gène de l'ECA	85
b) Gène de l'ECA et polymorphismes	85
I.2 Taux plasmatique d'ECA et polymorphisme d'Insertion/Délétion du gène de l'ECA	86
I.3 Implication du polymorphisme I/D dans la survenue de l'infarctus du myocarde	87
a) Le polymorphisme I/D et la survenue de l'infarctus du myocarde	88
b) Relation entre le polymorphisme I/D et les antécédents familiaux d'IM	89
c) Polymorphisme I/D et maladie coronaire, confirmation des résultats de l'étude ECTIM	89
d) Mesure de l'impact de l'allèle D sur la survenue de l'IM dans de grands échantillon	91
I.4 Influence du polymorphisme I/D de l'ECA sur la prévalence d'autres pathologies cardiologiques	95
II Le récepteur de type 1 de l'angiotensine II	96
II.1 Constitution	97
II.2 Rôle physiologique	97
a) Distribution tissulaire de l'AT1	97
b) AT1 et vasoconstriction	97
II.3 Génétique	98
II.4 Polymorphismes du gène de l'AT1	98
II.5 Polymorphisme A/C 1166 et maladie cardio-vasculaire	99
a) Polymorphisme A/C 1166 et hypertension	99
b) Polymorphisme A/C 1166 et survenue de l'infarctus du myocarde	99

	13
Travaux Personnels	101
Le polymorphisme A/C 1166 du gène du récepteur de type 1 de l'angiotensine II est associé à la vasoconstriction coronaire.	102
Le polymorphisme du gène du récepteur de l'angiotensine II de type 1 est associé à une augmentation de la réactivité vasculaire dans l'artère mammaire humaine <i>in vitro</i> .	111
Absence de relation entre le polymorphisme de délétion du gène de l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine I et le rétrécissement de la lumière du vaisseau, au contrôle d'angioplastie.	132
Le polymorphisme I/D de l'ECA est un facteur de risque d'occlusion totale de l'artère coronaire après angioplastie.	140
L'allèle D du gène de l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine I est un facteur de risque majeur de la resténose après angioplastie avec pose de stent.	148
Discussion	158
Conclusion	164
Données Bibliographiques	166

Table des Illustrations

Figure 1 : Constitution de la paroi d'une artère coronaire	27
Figure 2 : La coagulation sanguine	33
Figure 3 : La fibrinolyse	34
Figure 4 : Différences dans la structure des cellules musculaires lisses lors du changement de phénotype	38
Figure 5 : Implication des facteurs de croissance dans la modulation phénotypique des cellules musculaires lisses	41
Figure 6 : Régulation du tonus vasculaire des cellules musculaires lisses par le système adrénergique et par les facteurs locaux et circulant	44
Figure 7 : Les deux phénomènes principaux qui interviennent dans la formation de la resténose : l'hyperplasie néo-intimale et le remodelage	60
Figure 8 : Les agents du remodelage vasculaire	62
Figure 9 : Les différentes approches dans le déterminisme génétique des maladies multifactorielles.	77
Figure 10 : Le système rénine-angiotensine cardio-vasculaire	84
Figure 11 : Hypothèse de contribution de l'allèle D à la formation de l'occlusion totale après angioplastie, chez les sujets DD	143
Figure 12 : Variation de la lumière du vaisseau, de la perte de lumière et de l'indice de perte de la lumière en fonction des génotypes de l' <i>ECA</i> .	150
Figure 13 : Hypothèse de formation de l'hyperplasie néo-intimale chez un sujet DD	162

Table des Tableaux

Tableau 1 : Facteurs synthétisés par l'endothélium intervenant dans la vasomotricité, la coagulation et la vasotrophicité du vaisseau	28
Tableau 2 : Facteurs de croissance et formation de la néo-intima	56
Tableau 3 : Estimation du taux de concordance sur la concentration des lipides et des lipoprotéines dans deux populations de jumeaux	75
Tableau 4 : Distribution des génotypes de l'ECA dans la population de l'étude ECTIM et dans un sous-groupe de cette population : les sujets à bas risque d'infarctus du myocarde	89
Tableau 5 : Distribution des génotypes et des fréquences alléliques dans différentes études	91
Tableau 6 : Caractéristiques de différentes études de l'association entre le polymorphisme I/D et les pathologies cardio-vasculaires	93

Liste des abréviations

ADP	Adénosine Diphosphate
ARNm	ARN messenger
AT1, AT2 et AT3	Récepteurs de l'Angiotensine II de type 1, de type 2 et de type 3
ATP	Adénosine Triphosphate
bFGF	basic Fibroblast Growth Factor
BMI	Body Mass Index
CHD	Coronary Heart Disease
CML	Cellule Musculaire Lisse
D	Délétion
DAG	DiAcylGlycérol
ECA	Enzyme de Conversion de l'Angiotensine I
ECTIM	Etude Cas-Témoins de l'Infarctus du Myocarde
EDHF	Endothelium Derived Hyperpolarising Factor
EDRF	Endothelium Derived Relaxing Factor
ET-1	Endothéline 1
H-W	Hardy-Weinberg
HMG-CoA réductase	3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl Coenzyme A reductase
HVG	Hypertrophie Ventriculaire Gauche
I	Insertion
IC	Intervalle de Confiance
IDDM	Insulino Dependant Diabete Mellitus
IL-1	Interleukine-1
IM	Infarctus du Myocarde
IP3	Inositol 1,4,5-triphosphate
ISDN	Dinitrate d'Isosorbide
LDL	Low Density Lipoprotein
LEE	Lame limitante Elastique Externe

LEI	Lame limitante Elastique Interne
Lp (a)	Lipoprotéine (a)
LpA-I	Lipoprotéine A-I
MEC	Matrice Extra-Cellulaire
NIDDM	Non Insulino Dependant Diabete Mellitus
NO	Nitric Oxide
OR	Odds Ratio
PAF	Platelet-Activating Factor
PAI-1	Plasminogen Activator Inhibitor Type 1
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PGI2	Prostacycline
PIC	Polymorphism Information Content
PIP2	Phosphatidyl-Inositol
PLC	Phospholipase C
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
t-PA	tissue-type Plasminogen Activator
TGF-β	Transforming Growth Factor- β
TXA2	Thromboxane A2
u-PA	urokinase-type Plasminogen Activator
VNTR	Variable Number of Tandem Repeat

Glossaire

Allèles : versions alternatives d'un même gène différant par leur séquence nucléotidique (il y a des systèmes bialléliques et multialléliques) et situées au niveau d'un même locus.

Allèle délétère : allèle entraînant l'apparition d'une pathologie ou d'une anomalie physiologique associée à une pathologie.

Angor : Douleur thoracique due à une ischémie myocardique, survenant à l'effort ou au repos.

Angor stable/angor instable : l'instabilité d'un angor est caractérisée par l'aggravation de l'angor à l'effort et par l'apparition de l'angor au repos. Cette instabilité est due à une fissuration de la plaque d'athérome favorisant la constitution d'un thrombus.

ASO ou *Allele Specific Oligonucleotide* : sonde oligonucléotidique spécifique d'allèle, utilisée dans la recherche de mutations ponctuelles situées en dehors des sites consensus de restriction.

Délétion : perte d'un segment chromosomique ou de DNA.

Déséquilibre de liaison : situation dans laquelle deux gènes ou deux allèles sont plus (ou moins) fréquemment associés en cis dans une population que ne le voudrait le hasard; c'est à dire situation dans laquelle la fréquence d'association observée s'écarte de la fréquence attendue conformément à l'équilibre de Hardy-Weinberg. Une telle association allélique préférentielle est favorisée par la proximité physique des loci, le caractère récent de la mutation ayant produit l'un des allèles et/ou l'existence d'un avantage sélectif.

Effet co-dominant : l'effet d'une mutation ou d'un allèle est dit co-dominant lorsque le phénotype des individus hétérozygotes est intermédiaire aux phénotypes des individus homozygotes pour les deux types d'allèles.

Effet dominant : se dit d'un allèle ou d'une mutation qui, à l'état hétérozygote, conditionne le phénotype.

Effet récessif : l'effet d'un allèle est dit récessif lorsqu'il ne s'exprime qu'à l'état homozygote.

Enzyme de restriction ou endonucléase : enzyme purifiée à partir de bactéries, coupant l'ADN double brin en un site nucléotidique spécifique nommé site consensus spécifique.

Fréquence allélique : fréquence d'un allèle donné par rapport à l'ensemble des allèles existant dans la population, pour un gène déterminé.

Fréquence génotypique : fréquence d'un génotype dans une population d'individus.

Génome : ensemble du matériel génétique d'une cellule ou d'un individu.

Génotype : ensemble de l'information génétique d'un individu ou d'une cellule.

Haplotype : combinaison d'allèles de deux ou plusieurs loci différents mais proches sur un même chromosome.

Hétérozygote : sujet portant deux allèles différents sur les deux loci homologues d'une même paire de chromosomes.

Homozygote : sujet portant deux allèles identiques sur les deux loci homologues d'une même paire de chromosomes.

Incidence : décrit la fréquence des nouveaux cas d'une maladie dans une population.

Insertion : intégration dans un chromosome de matériel génétique d'origine non homologue.

Liaison génétique : coségrégation de deux ou plusieurs allèles au cours des générations en raison de la proximité physique de leur locus dans leur génome. Le degré de liaison, mesuré

par le pourcentage de recombinaison entre loci, indique une distance génétique que l'on exprime en centimorgans.

Locus : position d'un gène sur un chromosome.

Loi de Hardy-Weinberg : loi rendant compte de la ségrégation mendélienne de caractères alléliques en équilibre dans une population.

Marqueur génétique : trait génétique héréditaire, utile au marquage d'un locus voisin.

Mutation : désigne n'importe quel changement intervenu dans la séquence du DNA. S'il ne concerne qu'une seule base, on parle de mutation ponctuelle.

PCR ou *Polymerase Chain reaction* : amplification génique *in vitro* par la DNA polymérase.

Phénotype : manifestation apparente de la constitution du génome.

Polymorphisme génétique : caractère monogénique qui se transmet suivant le mode mendélien et qui est présent dans la population sous au moins deux formes différentes dont la fréquence est supérieure à 1%.

Prévalence : décrit la fréquence de la maladie dans la population.

RFLP ou *Restriction Fragment Length Polymorphism* : ces polymorphismes sont la conséquence d'une mutation intervenant dans un site consensus de restriction. Cette mutation entraîne l'apparition ou la disparition de ce site consensus.

Séquence de type *Alu* : famille de DNA modérément répétitif, possédant en général un site de restriction pour l'enzyme Alu I. Elle comporte environ 600 000 copies de 300 pb chacune, dispersées dans le génome humain, aussi bien entre les gènes que dans les introns.

VNTR ou *Variable Number of Tandemly Repeats* : les VNTR sont des minisatellites formés de la répétition, en nombre variable selon les individus, d'une séquence unique.

Introduction

L'insuffisance coronaire ou maladie coronaire et sa principale complication, l'infarctus du myocarde, qui se traduit par une ischémie puis une nécrose du muscle cardiaque suite à l'obstruction d'une artère coronaire, sont les premières causes de mortalité et de morbidité dans les pays industrialisés.

La maladie coronaire a deux composantes. Il s'agit pour la première du développement d'une plaque d'athérome saillante à l'intérieur de la lumière de l'artère, l'athérosclérose et pour la seconde une vasomotricité anormale qui peut conduire à une obstruction soudaine du vaisseau, le vasospasme coronaire. En réalité, de nombreux états intermédiaires existent entre ces deux mécanismes.

Comme dans la plupart des maladies multifactorielles, de nombreux facteurs de risque prédisposent au développement et à la survenue de la maladie coronaire. Il s'agit des facteurs de risque environnementaux et des facteurs de susceptibilité génétique.

Dans le souci de prévenir les répercussions graves de la maladie coronaire nous nous sommes intéressés à la recherche des facteurs de prédisposition génétique à cette maladie, c'est à dire à la recherche de gènes candidats. Afin de déterminer précisément l'implication de ces déterminants génétiques, nous voulions utiliser la resténose post-angioplastie comme modèle d'étude accéléré du développement de la plaque d'athérome et le test de provocation du vasospasme pour la détermination d'un tonus vasomoteur anormal.

Dans le travail présenté ici, nous nous sommes focalisés sur des gènes candidats issus du système rénine-angiotensine. Les études développées ont consisté à mesurer le degré d'implication de ce système dans les phénomènes de resténose et de vasoconstriction accrue. Parmi les gènes candidats possibles, nous avons retenu le polymorphisme d'Insertion/Délétion du gène de l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine I (ECA) et le polymorphisme de substitution A/C 1166 du gène du récepteur de l'angiotensine II de type 1 (AT1). En effet, l'ECA permet la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II vasoconstrictrice et inactive la bradykinine vasodilatatrice. De plus, l'allèle D a pu être associé à la survenue de l'infarctus du myocarde.

Ces études ont été réalisées en collaboration avec l'équipe hospitalière du service d'Hémodynamique de l'Hopital Cardiologique du CH et U de Lille. Des études

épidémiologiques sur des patients coronariens ayant tous bénéficié d'une angiographie quantitative ainsi que d'une angioplastie et/ou d'un test de provocation du vasospasme ont été effectuées dans l'équipe du Professeur Bertrand.

Une étude de la potentialisation de la vasoconstriction par l'angiotensine II *in vitro* effectuée sur des anneaux d'artères mammaires humaines a été réalisée en collaboration avec l'équipe du Professeur Lévy, Service de Physiologie et d'Exploration Fonctionnelle de l'Hôpital Lariboisière de Paris. Cette étude visait à conforter les résultats obtenus avec les études épidémiologiques.

Généralités

Première partie : Artère coronaire, vasomotricité et resténose

A. La paroi de l'artère coronaire saine

Les artères coronaires sont les artères nourricières du myocarde. Leur paroi est organisée en trois couches concentriques, bien individualisées de la lumière vers la périphérie (Mac Alpin R. 1980) (Figure 1):

- la **tunica intima** ou intima est la couche la plus interne. Elle est constituée, à l'état normal, par l'**endothélium** qui limite la lumière du vaisseau et dont les cellules sont orientées longitudinalement. La principale fonction de l'intima est de participer aux échanges entre le sang circulant et la paroi artérielle.

- la **tunica media** ou media est la couche intermédiaire. Elle est composée principalement de **cellules musculaires lisses** qui sont responsables de la contraction et de la relaxation, c'est à dire de la vasomotricité du vaisseau et de la matrice extra-cellulaire.

- la **tunica adventitia** ou adventice est constituée de **fibroblastes**, de **monocytes-macrophages** quiescents, de **tissu conjonctif** lâche et de **tissu fibreux** orientés le plus souvent longitudinalement. L'adventice joue essentiellement un rôle nutritif de la partie externe de la média.

L'intima et la média sont séparées par la lame limitante élastique interne, la média et l'adventice l'étant par la lame limitante élastique externe.

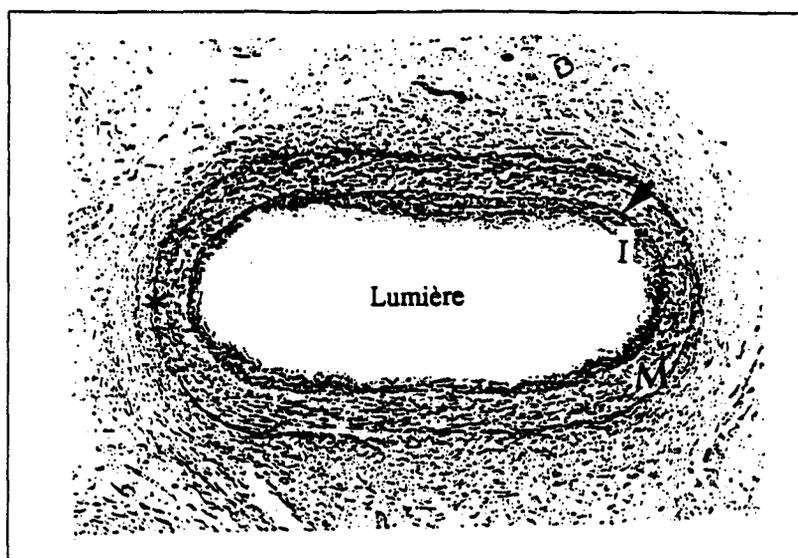


Figure 1 : Constitution de la paroi d'une artère coronaire.

* : lame limitante élastique externe; M : media; ← : lame limitante élastique interne ; I : l'intima

I. L'endothélium, propriétés et rôles physiologiques

Du fait de sa localisation stratégique à l'interface entre le sang circulant et les tissus constituant la paroi des vaisseaux, l'endothélium coronaire participe à la régulation du tonus vasculaire, maintient l'homéostasie tissulaire et hémodynamique, régule la prolifération cellulaire et les mécanismes inflammatoires et immuns de la paroi, notamment par la production de nombreuses substances (Tableau 1). Il contribue au maintien de la fluidité sanguine et permet l'ajustement du calibre des vaisseaux sanguins en fonction des modifications hémodynamiques et humorales de l'environnement vasculaire (Rubanyi G. 1993), (De Mey J. 1993).

Molécules	Action	Cibles
PGI ₂	<ul style="list-style-type: none"> •vasodilatation •inhibition de l'agrégation plaquettaire 	CML PAF
NO	<ul style="list-style-type: none"> •vasodilatation •inhibition de l'agrégation plaquettaire •inhibition de la croissance et de la prolifération des CML 	CML PAF CML
EDHF	<ul style="list-style-type: none"> •vasodilatation 	CML
ET-1	<ul style="list-style-type: none"> •vasoconstriction •activation de la prolifération des CML 	CML CML
Héparanes-Sulfates	<ul style="list-style-type: none"> •inhibition de la coagulation •inhibition de la croissance des CML 	Antithrombine III CML
Héparine	<ul style="list-style-type: none"> •inhibition de la coagulation •inhibition de la croissance des CML 	CML
Thrombomoduline	<ul style="list-style-type: none"> •inhibition de la coagulation 	Thrombine
Facteur Von Willebrand	<ul style="list-style-type: none"> •activation de la coagulation 	Facteur VIII
t-PA	<ul style="list-style-type: none"> •inhibition de la coagulation •inhibition de la fibrinolyse 	Plasminogène Fibrine
PAI-1	<ul style="list-style-type: none"> •inhibition de la fibrinolyse 	t-PA
PDGF	<ul style="list-style-type: none"> •prolifération des CML 	CML
Thrombospondine	<ul style="list-style-type: none"> •activation de la prolifération des CML 	CML
Interleukine-1	<ul style="list-style-type: none"> •inhibition de la prolifération des CML 	CML

Tableau 1 : Facteurs synthétisés par l'endothélium intervenant dans la vasomotricité, la coagulation et la vasotrophie du vaisseau.

PGI₂ : Prostacycline; NO : Nitric Oxide; EDHF : Endothelium Derived Hyperpolarising Factor; ET-1 : Endothéline 1; t-PA : tissue-type Plasminogen Activator; PAI-1 : Plasminogen Activator Inhibitor Type 1; PDGF : Platelet Derived Growth Factor ; CML : Cellule musculaire Lisse ; PAF : Platelet-Activating factor.

1.1 Maintien du tonus des cellules musculaires lisses vasculaires sous-jacentes.

L'endothélium exerce une fonction protectrice sur la circulation, non seulement en prévenant les phénomènes thrombolytiques tels que l'agrégation plaquettaire mais aussi en régulant le spasme vasculaire. Ainsi, la cellule endothéliale module-t-elle le tonus des cellules

musculaires lisses sous-jacentes en produisant des facteurs vasorelaxants et vasoconstricteurs en réponse à des stimuli physiologiques et pathologiques. Ces stimuli peuvent être d'origine mécanique tels que la variation du flux sanguin et la variation de la pression sanguine ou d'origine chimique comme les neurotransmetteurs et les hormones.

a) La vasodilatation

En réponse à certains stimuli tels que l'agrégation des plaquettes, la formation de thrombine, d'hormones, de neurotransmetteurs, des changements de pression en oxygène ou l'augmentation du flux sanguin, l'endothélium produit des substances biologiques actives vasodilatatrices (Badimon L. 1992). Il existe essentiellement deux molécules vasodilatatrices produites par l'endothélium : la prostacycline (PGI_2), et l'EDRF (Endothelium Derived Relaxing Factor) identifié ultérieurement comme étant l'oxyde nitrique (NO). Ces deux molécules agissent de manière synergique par deux mécanismes de transduction du signal intracellulaire distincts, la voie de l'AMPC pour la PGI_2 et celle du GMPc pour le NO.

La PGI_2 qui appartient à la famille des prostaglandines et qui est le produit du métabolisme de l'acide arachidonique, fut le premier facteur endothélial décrit. Elle possède une action inhibitrice de l'agrégation plaquettaire et une action vasodilatatrice sur les cellules musculaires lisses sous-jacentes. Son mécanisme d'action passe par la formation dans la cellule cible d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) consécutive à l'activation de l'adénylate cyclase.

Le deuxième facteur vasorelaxant synthétisé par l'endothélium est le NO, obtenu lors de la transformation de la L-arginine en citrulline, réaction catalysée par la NO synthase. En 1980 Furchgott et Zawadzki mettaient en évidence sur des artères isolées que la vasorelaxation des cellules musculaires lisses induite par l'acétylcholine nécessite la présence de l'endothélium (Furchgott R. 1980). En fait, cette vasorelaxation ne s'exerce qu'à condition que les cellules endothéliales sécrètent le NO. Le mécanisme de vasodilatation du NO se fait par la guanylate cyclase et l'action paracrine du NO sur la cellule musculaire lisse est brève.

A côté de ces deux puissants vasodilatateurs, un autre produit vasodilatateur existe dans l'endothélium, l'EDHF (Endothelium Derived Hyperpolarising Factor). Ce facteur hyperpolarise la membrane plasmique, relaxe la cellule musculaire lisse vasculaire par l'intermédiaire des canaux potassiques et insensibilise la cellule vis-à-vis des stimuli vasoconstricteurs (Lüscher T. 1990).

b) La vasoconstriction

La vasoconstriction des cellules musculaires lisses, dépendante de l'endothélium, est activée par des substances naturelles (comme la thrombine), des agents pharmacologiques, des forces physiques ou l'hypoxie. L'endothélium produit alors des seconds messagers capables d'induire la vasoconstriction coronaire en réponse à ces stimuli.

Les facteurs vasoconstricteurs dérivés de l'endothélium peuvent être divisés en deux catégories. La première catégorie est constituée par un puissant vasoconstricteur peptidique : l'endothéline. La seconde catégorie est représentée par les métabolites de l'acide arachidonique tels que, la prostaglandine H₂ et les endoperoxides.

L'endothéline est un peptide de 21 acides aminés qui est synthétisé dans les cellules endothéliales à partir d'un prépropeptide de 203 résidus. Il existe trois formes structurales de l'endothéline chez les mammifères. Il s'agit des endothélines 1, 2 et 3. Seule l'endothéline 1 (ET-1) est produite par l'endothélium. Son taux circulant plasmatique à l'état basal varie de 0.25 à 5 ng/l et est considérablement augmenté (environ de 2 à 10 fois) dans des conditions pathologiques telles que l'infarctus du myocarde. Sa sécrétion est induite par la thrombine, le facteur de croissance tumorale β (TGF β), l'angiotensine II, l'arginine-vasopressine et l'insuline. Il existe trois types de récepteurs de l'endothéline : les récepteurs ET-A, ET-B et ET-C. L'ET-1 présente, au niveau des cellules musculaires lisses, une action vasoconstrictrice soutenue. Cette action paracrine s'effectue par l'intermédiaire des récepteurs de très haute affinité pour ET-1, ET-A et ET-B couplés à la phospholipase C (Love M. 1996). La plupart des effets vasoconstricteurs de ET-1 sur la cellule musculaire lisse s'effectue par l'intermédiaire de l'ET-A (Masaki T. 1993) (Katusic Z. 1991) (Hickey K. 1985).

Les endoperoxides activent à la fois les cellules musculaires lisses et les plaquettes et contrebalancent les effets du NO et de la PGI₂.

Outre la synthèse de vasoconstricteurs, l'endothélium participe à l'activation, au stockage ou représente un passage obligé de certaines substances vasoconstrictrices vers les cellules musculaires lisses. Ainsi, la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II par l'enzyme de conversion de l'angiotensine I a pu être localisée dans les cellules endothéliales des capillaires, des artères et des veines. L'angiotensine II, générée à la surface de l'endothélium, a été décrite également comme un facteur vasoconstricteur dérivé de l'endothélium.

c) L'équilibre vasomoteur

Dans les conditions physiologiques, c'est la vasodilatation qui prédomine. Dans un grand nombre de cas, la biosynthèse et la sécrétion des facteurs de contraction semblent être la conséquence de pathologies ou de processus tels que l'hypertension, le diabète, le spasme vasculaire et la reperfusion de l'artère après angioplastie. De même, lorsqu'une blessure de l'endothélium survient, les cellules produisent davantage de composés vasoconstricteurs (Katusic Z. 1991).

Il existe donc un équilibre entre la libération par l'endothélium de produits vasoconstricteurs et de produits vasodilatateurs (Goligorsky M. 1994).

I.2 Protection de la paroi vis-à-vis de l'action des éléments figurés du sang

Le maintien de la fluidité sanguine s'effectue par le biais de trois mécanismes : l'inhibition de la coagulation, la fibrinolyse et une inhibition des mécanismes impliqués dans la thrombose.

a) Propriétés anticoagulantes de l'endothélium

Grâce aux héparane-sulfates synthétisés par les cellules endothéliales, l'endothélium concentre et catalyse à sa surface l'interaction entre l'antithrombine III et certaines protéases actives dans la coagulation comme la thrombine et le facteur X. Ce phénomène favorise la protection de l'endothélium contre la formation du thrombus ainsi que l'activité puissante de l'antithrombine III au niveau de la surface endothéliale (Rubanyi G. 1993).

La thrombomoduline, synthétisée par l'endothélium, est un récepteur intramembranaire pour la thrombine. Lorsque cette protéine se lie à la thrombine, elle provoque la perte de la fonction coagulante de la thrombine en diminuant l'affinité de celle-ci pour le fibrinogène. D'autre part, le complexe thrombine/thrombomoduline active la protéine C qui, en présence de la protéine S, a des propriétés anticoagulantes, ce qui inactive les facteurs de coagulation Va et VIIIa et augmente l'activité du plasminogène (Stern D. 1986). La sécrétion de t-PA (tissue-type Plasminogen Activator) par les cellules endothéliales est stimulée par la thrombine et évite la coagulation (Figure 2).

Pour rétablir l'équilibre entre l'inhibition de la coagulation et la coagulation elle-même, l'endothélium, sous l'effet de certains stimuli et de la thromboplasmine, sécrète de façon constitutive des facteurs pro-coagulants tels que le facteur de Von Willebrand qui se lie au facteur VIII.

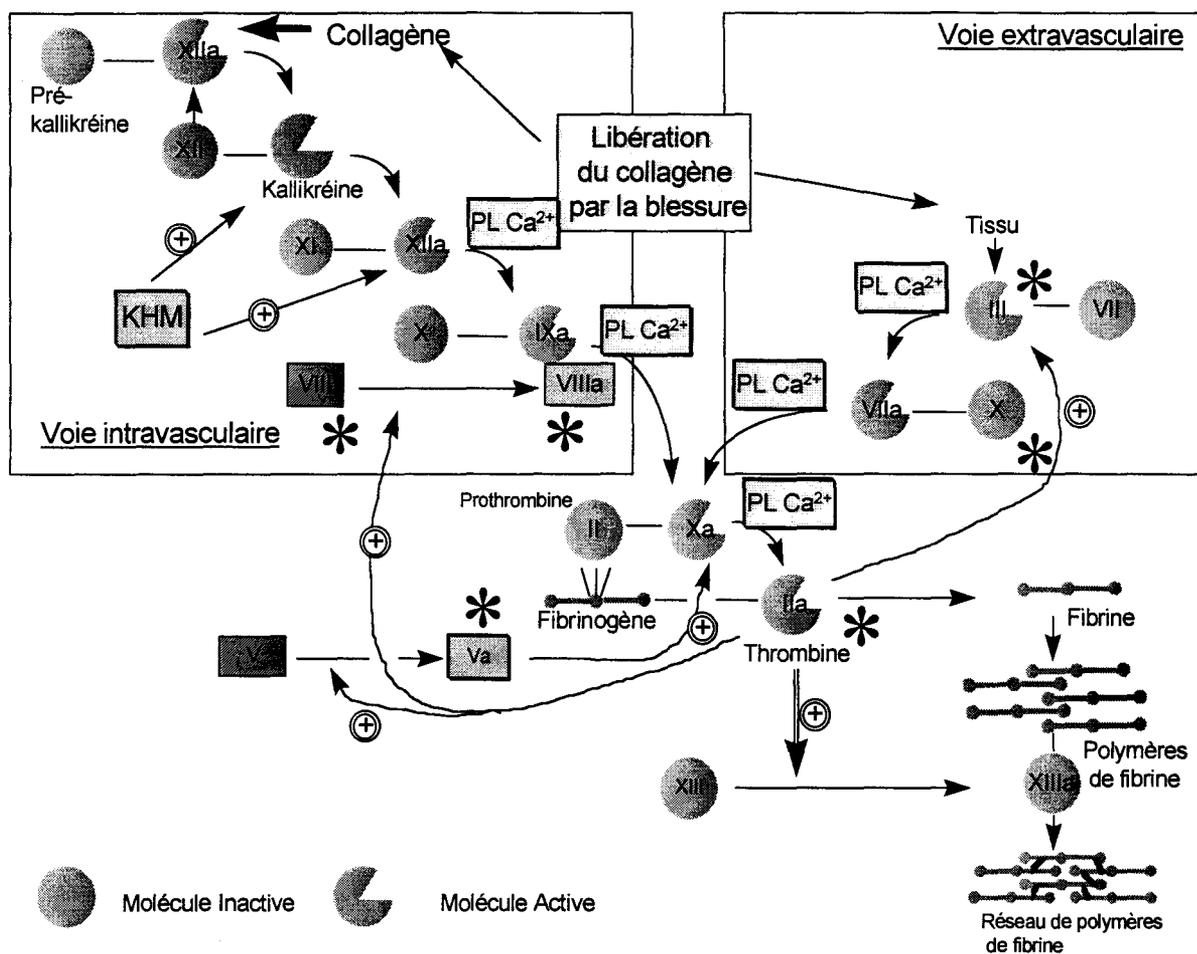


Figure 2 : La coagulation sanguine.

II : Prothrombine; IIa : Thrombine; III : Facteur Tissulaire; V : Proaccélérine; VII : Proconvertine; VIII Facteur antihémophilique; IX : Facteur de Christmas; X : Facteur de Stuart-Prower; XI : Précurseur plasmatique de la thromboplasmine (PTA); XII : Facteur de Hagemann; XIII : Facteur de stabilisation de la fibrine; PL : Phospholipide; KHM : Kininogène de haut poids moléculaire (d'après Koolman *et al*).

* : action anticoagulante de l'endothélium.

b) Endothélium et fibrinolyse

La fibrinolyse intra-vasculaire est initiée à la surface du vaisseau par la synthèse et la sécrétion de l'activateur du plasminogène tissulaire (t-PA) qui permet la conversion et l'activation du plasminogène en plasmine (Loskutoff D. 1977) (Figure 2). La sécrétion du t-PA est modulée par le stress, l'occlusion du vaisseau, la thrombine, l'histamine et différentes cytokines. L'endothélium produit aussi l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1 (PAI-1) qui peut réduire la lyse de la fibrine (Loskutoff D. 1981).

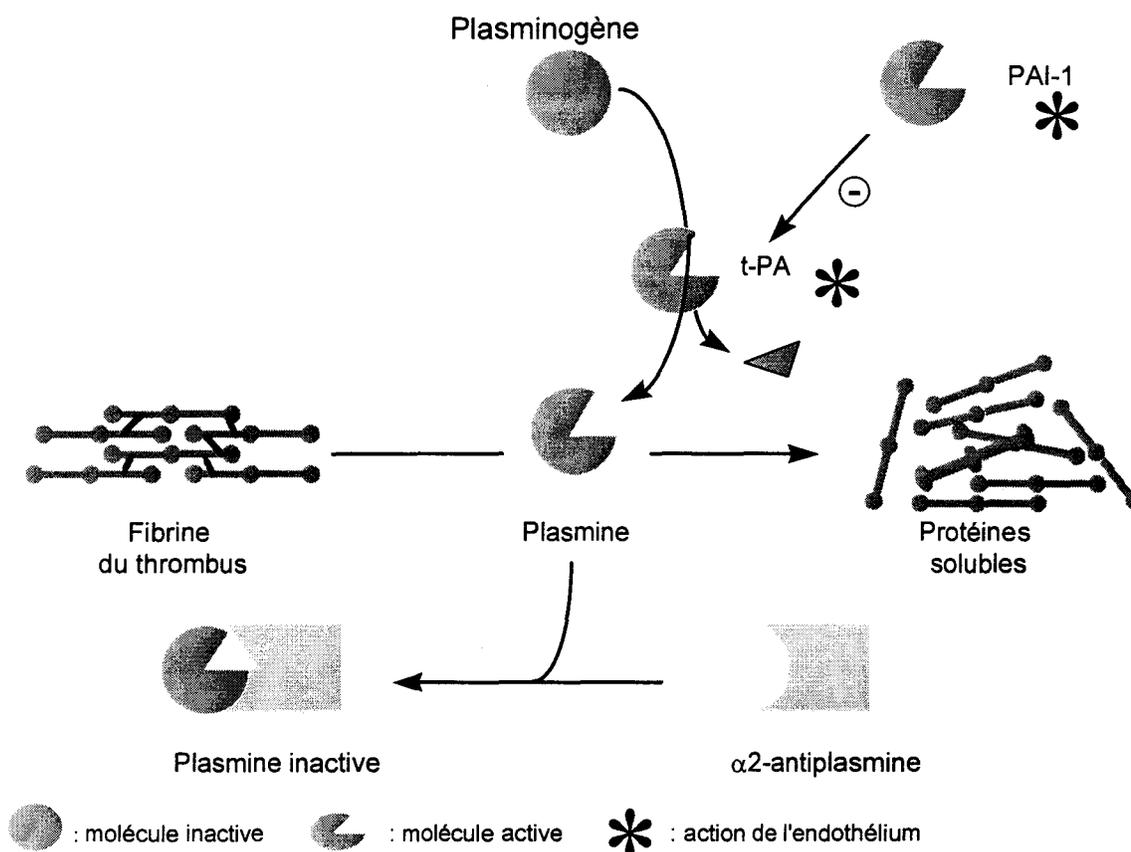


Figure 3 : La fibrinolyse (d'après Koolman J. *et al.*).

c) Endothélium et inhibition de l'agrégation plaquettaire

L'endothélium vasculaire produit des facteurs qui modulent de façon constitutive l'interaction entre les plaquettes et la paroi vasculaire (Radomski M. 1987a) (Rubanyi G. 1993). Par des mécanismes d'action différents, le NO et la PGI₂ agissent de façon synergique pour inhiber l'agrégation plaquettaire. De faibles concentrations de NO et de PGI₂ seuls sont insuffisantes pour inhiber le Platelet-Activating Factor (PAF) responsable de l'agrégation plaquettaire, alors qu'une combinaison de ces deux composants à faible concentration permet d'éviter cette agrégation (Radomski M. 1987b) (Mügge A. 1991).

1.3 Perméabilité sélective de l'endothélium

L'endothélium agit comme une barrière tissulaire qui régule les échanges des fluides, des métabolites et des gaz entre le plasma et les tissus sous-jacents (Tedgui A. 1996).

L'endothélium vasculaire est de type continu. Les cellules qui le composent, présentent des jonctions serrées au niveau de leurs parois latérales. Cette caractéristique structurale confère à l'endothélium un rôle de perméabilité sélective dans le transport des molécules de la lumière du vaisseau vers la média.

Les cellules endothéliales sont dotées de deux mécanismes de transport des molécules du plasma : un mécanisme d'endocytose par l'intermédiaire de récepteurs pour l'apport de nutriments nécessaires au métabolisme de la cellule (comme les LDL), et un mécanisme de transport trans-endothélial qui permet le passage direct du plasma vers l'intima. Ce transport de molécules se fait par un système complexe de vésicules. Les glycosaminoglycanes et d'autres molécules chargées présentes à la surface de l'endothélium permettent l'absorption sélective de certaines macromolécules telles que les cytokines et les facteurs de croissance.

Enfin, on peut observer un changement dans l'agencement de ce transport membranaire suite à des variations physiologiques ou pathologiques de l'endothélium tel que par exemple le transport des molécules de LDL oxydées lors du développement de la plaque d'athérome.

1.4 Régulation de la trophicité du vaisseau

Des études effectuées sur des cultures monocouches de tissu endothélial et de tissu musculaire lisse montrent que l'endothélium peut produire des facteurs de croissance et des cytokines, agents mitogènes des cellules musculaires lisses, ainsi que des agents inhibiteurs de la croissance de ces cellules.

Les agents inhibiteurs de la croissance vasculaire sécrétés par l'endothélium sont l'héparine, les héparanes-sulfates, l'interleukine-1 et le NO. Les molécules activatrices de la prolifération des cellules musculaires lisses (CML) synthétisées par les cellules endothéliales sont représentées par le PDGF, la thrombospondine et l'ET-1 (Lüscher T. 1990).

II. Les cellules musculaires lisses : propriétés, rôles et physiologie

La caractéristique principale des CML est qu'elles existent sous deux phénotypes : un phénotype contractile et un phénotype de synthèse de la matrice extra-cellulaire. Les CML peuvent modifier leur fonction et passer de l'état contractile à celui de synthèse, puis proliférer. Cette modulation du phénotype cellulaire permet aux cellules musculaires lisses de s'adapter aux changements environnementaux. La modification de la fonction des CML est réversible. En se contractant et en se relaxant, les CML régulent de façon active le tonus vasculaire. En proliférant et en synthétisant la matrice extra-cellulaire (MEC), ces cellules participent au maintien de l'intégrité de la paroi vasculaire. Cette interconversion entre les différents phénotypes rappelle les différentes étapes du processus de la formation de l'artère. Les cellules musculaires lisses de la média des artères fœtales présentent un phénotype de synthèse, puis un phénotype contractile dans l'artère adulte.

La localisation de ces cellules dans la paroi contribue au déterminisme de leur phénotype. Dans la média des artères adultes normales, la majorité des cellules sont sous l'état contractile et les cellules retrouvées dans l'intima présentent le plus souvent un phénotype de synthèse. La conversion des phénotypes dépend de la densité cellulaire et de l'état physiologique ou pathologique des tissus environnants.

II.1 Les différents phénotypes des cellules musculaires lisses

a) Le phénotype contractile

La fonction principale des cellules musculaires lisses dans l'artère normale adulte est le maintien du tonus vasculaire. Ces cellules présentent une grande plasticité. Elles peuvent être fortement étirées et sont insensibles aux agents mitogènes. Leur cytoplasme est constitué d'une grande quantité d'éléments participant à la contraction de la cellule tels que des filaments fins (des filaments d'actine) et des filaments épais (des filaments de myosine). Par contre, le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi et les ribosomes sont peu développés et se trouvent en position périnucléaire, ces cellules n'ayant besoin que d'un minimum de fonctions de synthèse. Les CML ont la capacité de présenter des modifications spectaculaires de leur taille. Elles se contractent lentement et sont capables de maintenir une tension

prolongée avec une faible consommation d'énergie. Elles contrôlent le calibre du vaisseau sanguin (Severs N. 1992).

La coordination de la contraction est permise par les jonctions qui existent entre les CML. La lame basale recouvre la membrane plasmique des cellules musculaires lisses et leur permet de s'attacher aux composants de la matrice extra-cellulaire (MEC). Cet ancrage des CML au niveau de la MEC se fait au niveau des corps denses qui forment des jonctions transmembranaires. Les jonctions de type "gap" qui se trouvent au niveau des parois latérales des CML permettent la transmission du signal électrique, tandis que les jonctions de type "adherens" participent à la connexion entre les cellules. La transmission de signaux chimiques par l'intermédiaire des jonctions de type "gap" autorise la communication entre la média et l'intima.

Au niveau de l'intima, les cellules endothéliales expriment à leur surface des molécules d'adhésion qui appartiennent à la famille des intégrines et qui peuvent réguler l'interaction entre les cellules endothéliales et la MEC.

L'activation de la contraction de la cellule musculaire lisse est déclenchée par des composés dérivés de l'endothélium et du sang. La transduction du signal des composés vasoconstricteurs au niveau des CML emprunte la voie du calcium intracellulaire. Cette contraction débute par une augmentation du taux de calcium intracellulaire dans le cytoplasme, médiée par le phosphatidyl-inositol (PIP₂). Il s'ensuit alors une phosphorylation des chaînes de myosine.

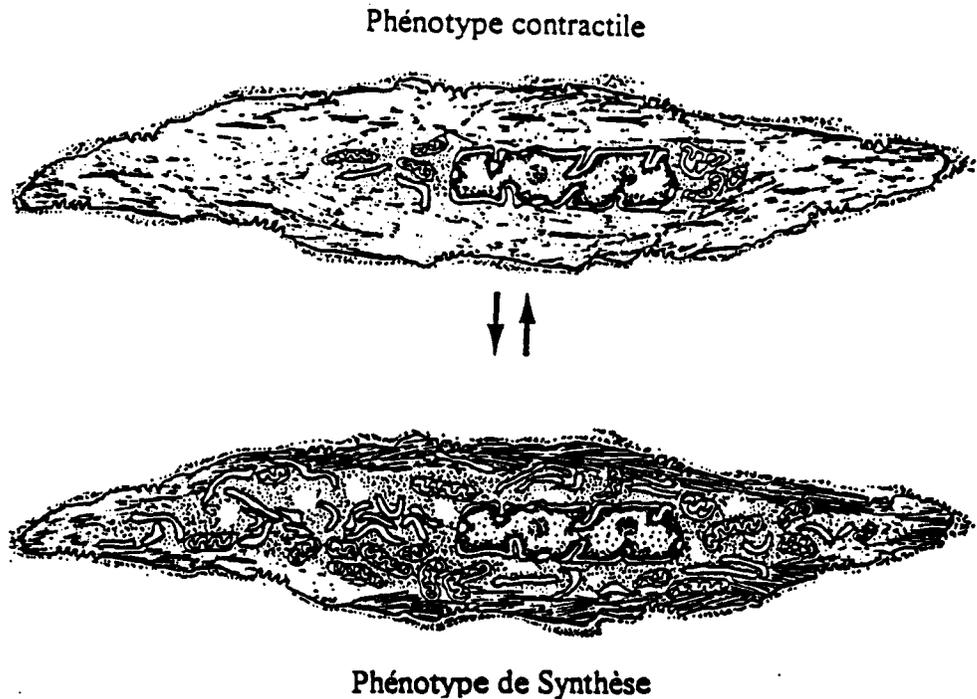


Figure 4 : Différences dans la structure des cellules musculaires lisses lors du changement de phénotype (d'après Campbell et al , 1988).

b) Le phénotype de synthèse

Les CML présentant un phénotype de synthèse possèdent dans leur cytoplasme un réseau de myofilaments rudimentaires tandis que le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi et les ribosomes sont prééminents. Une augmentation de l'expression de l'isoforme B de la chaîne lourde de la myosine constitue un marqueur de l'état de synthèse des CML (Simons M. 1993).

La synthèse de collagène est deux à trois fois supérieure et le taux de glycosaminoglycanes sulfates est multiplié par cinq dans ces cellules en phénotype de synthèse par rapport aux cellules en phénotype contractile. Le passage des CML vers le phénotype de synthèse est souvent corrélé au développement d'une sténose due à une lésion athéromateuse ou consécutive à une resténose.

Les CML synthétisent trois types de composants de la MEC : le collagène de type IV, l'élastine et les protéoglycanes. Les fibres d'élastine sont associées entre elles et superposées et confèrent l'élasticité au tissu. Les protéoglycanes, constituants majeurs de la MEC, sont composés de longues chaînes de glycosaminoglycanes associées à un noyau protéique et forment un gel hydraté où sont enfermés les autres composants de la MEC.

II.2 Facteurs influençant le changement de phénotype des cellules musculaires lisses

Dans des conditions physiologiques, la majorité des cellules musculaires lisses de la média sont quiescentes et contractiles. Des cellules actives, capables de synthétiser la matrice extra-cellulaire et de proliférer, sont présentes en nombre plus restreint. Ces cellules sont soumises à l'action des produits sécrétés par l'endothélium et des produits transportés par le sang. Elles s'adaptent aux modifications physiques de l'environnement telles que les blessures de l'endothélium, les forces de pression ou la confluence des cellules. La modulation du phénotype est une conséquence de la blessure de la paroi et s'effectue dans le but de sa réparation. La modification du phénotype des CML est un phénomène déterminant dans le développement de la plaque d'athérome et de la resténose coronarienne après angioplastie.

a) L'endothélium

L'implication de l'endothélium, à l'état physiologique ou pathologique, dans la régulation de la prolifération des cellules musculaires lisses est majeure (De Mey J. 1993) (Campbell J. 1986).

La blessure de l'endothélium par dénudation de la paroi stimule le changement de phénotype des CML vers un état de prolifération. Si la blessure de l'endothélium est minime, l'endothélium se régénère rapidement et les cellules musculaires lisses retournent de l'état de synthèse et de division à l'état contractile. Si la blessure de l'endothélium est maintenue ou répétée, les cellules restent sous le phénotype de synthèse, ne peuvent plus retourner à l'état contractile et sont en permanence tributaires des agents mitogènes. Ce phénomène est particulièrement important dans le développement de l'athérosclérose (Campbell G. 1988) (Chamley-Campbell J. 1981).

L'endothélium intervient dans la modulation de la production de certains composés impliqués dans le métabolisme de la croissance cellulaire. L'héparine, les héparanes-sulfates, le NO et des cytokines telles que l'interleukine-1 (IL-1), produits par les cellules endothéliales, ont la capacité d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses (Scott-Burden T. 1993). La production de NO par l'endothélium induit une brève inhibition de la croissance qui est prolongée par l'action des héparanes-sulfates. D'autre part l'endothélium peut synthétiser

ou rendre disponibles certaines molécules, comme l'angiotensine II, impliquées dans le passage du phénotype contractile vers le phénotype de synthèse et dans la prolifération des CML.

b) Les forces imposées à la paroi

Il a pu être démontré que, lorsque des forces mécaniques étaient imposées à des cellules en culture, une réorientation des cellules musculaires lisses et une augmentation de la synthèse des composants de la matrice extra-cellulaire pouvaient être observées.

c) Les cellules sanguines et les éléments figurés du sang

Les macrophages, les plaquettes et les lymphocytes T contribuent à la transformation des cellules musculaires lisses en sécrétant des endoglycosidases qui détruisent les héparanes-sulfates.

d) Les facteurs de croissance

De nombreux facteurs de croissance sont synthétisés par les plaquettes, les macrophages et les cellules endothéliales. Ces facteurs agissent au niveau de la modulation du phénotype des CML, permettent le maintien des CML sous le phénotype de synthèse et l'initiation de la prolifération des CML et leur migration des couches profondes de la paroi vers l'intima ou la néo-intima.

L'ensemble de l'action de ces facteurs est résumé dans la Figure 5.

Deux facteurs majeurs : le PDGF et le TGF- β initient le passage du phénotype contractile vers le phénotype de synthèse ainsi que la prolifération des CML tandis que le NO, l'héparine et l'IL-1 l'inhibent. Certains facteurs de croissance, comme le PDGF, sont également produits par les CML elles-mêmes. Ils exercent alors une action mitogène autocrine sur ces CML. Cette action du PDGF est potentialisée par l'action de l'IGF-1.

également produits par les CML elles-mêmes. Ils exercent alors une action mitogène autocrine sur ces CML. Cette action du PDGF est potentialisée par l'action de l'IGF-1.

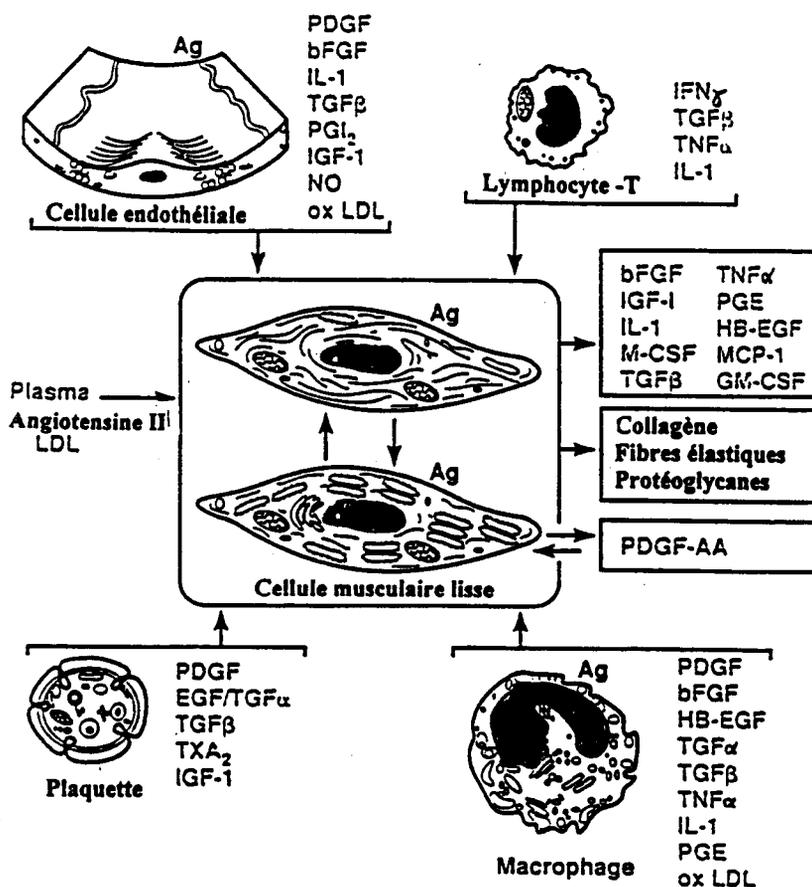


Figure 5 : Implication des facteurs de croissance dans la modulation phénotypique des cellules musculaires lisses (d'après Ross, 1993).

III. La matrice extracellulaire vasculaire

III.1 Composition de la matrice extra-cellulaire

La matrice extra-cellulaire (MEC) représente un des constituants majeurs de la paroi vasculaire. Elle est composée de fibres élastiques, de fibres de collagène et de protéines d'ancrage enchâssées dans un gel constitué par un mélange de protéoglycanes, de glycoprotéines, d'acide hyaluronique et d'eau. Ce sont les cellules musculaires lisses qui constituent la source principale des fibres de collagène et des fibres élastiques.

La composition de la matrice extra-cellulaire de chaque couche de la paroi vasculaire est différente.

Dans l'adventice, ce sont les fibres de collagène qui prédominent et qui confèrent à l'artère sa rigidité et sa dureté. Les fibres élastiques sont agencées en couches concentriques et permettent d'individualiser les différentes couches vasculaires. Ainsi, la lame limitante élastique interne permet-elle la séparation de l'intima et de la média, et la lame élastique externe la séparation de la média et de l'adventice. Les fibres élastiques sont aussi retrouvées à l'intérieur des différentes couches de la paroi du vaisseau, où leur fonction est d'amortir les forces de pression exercées sur la paroi du vaisseau.

La matrice de *l'intima* est constituée majoritairement de protéoglycanes et d'acide hyaluronique responsables de la visco-élasticité de la paroi vasculaire. Ces composés présentent des fonctions variées : ils permettent l'ancrage d'enzymes impliquées dans le métabolisme des lipides et dans la coagulation sanguine, la fixation des cellules endothéliales et des CML, ainsi que celle des facteurs de croissance et des cytokines.

III.2 Fonctions de la matrice extra-cellulaire

Outre sa principale fonction d'assurer l'architecture de l'artère, la MEC permet la transmission des forces élastiques, de tension et de compression. Elle participe non seulement au maintien de la structure mais aussi à la physiologie du vaisseau. En effet, lors du développement du vaisseau ou de la plaque d'athérome, la MEC participe à l'adhésion, à la migration et à la prolifération cellulaire ainsi qu'à la transmission des signaux provenant de l'endothélium vers les tissus sous-jacents (Wight T. 1996).

La MEC est aussi une surface thrombogène qui permet l'adhésion des plaquettes et l'activation du système de coagulation.

a) Modulation du phénotype des cellules musculaires lisses

Le collagène, la laminine et la fibronectine jouent un rôle important dans le changement de phénotype des CML. Absher *et al* montrent que la matrice extra-cellulaire permet la progression des lésions athéroscléreuses en augmentant l'adhérence et la migration des CML vers le site athérogène (Absher M. 1997). La laminine et la fibronectine interviennent aussi sur la capacité des CML à répondre aux agents mitogènes et aux agents chimioattractants (Ross R. 1993).

b) Protection et transmission du signal de la lumière du vaisseau vers les tissus sous-jacents.

Dans les conditions physiologiques, l'endothélium est soumis aux forces de cisaillement exercées par les cellules sanguines et les éléments figurés du sang. Cet endothélium constitue une barrière protectrice, permise par le maintien de l'adhésion des cellules endothéliales à la surface du vaisseau. L'interaction des cellules endothéliales avec les protéines de la matrice par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques situés à la surface des cellules endothéliales (les récepteurs de la famille des intégrines) permet le maintien de cette protection endothéliale.

La fixation des protéines de la MEC aux cellules endothéliales, par l'intermédiaire de ces intégrines, potentialise le transfert du signal intracellulaire en renforçant l'adhésion des cellules endothéliales entre elles et en facilitant la communication entre ces cellules (Dejana E. 1993).

B. Vasomotricité coronaire et vasospasme

I. La vasomotricité coronaire

I.1 Les effecteurs de la vasomotricité coronaire

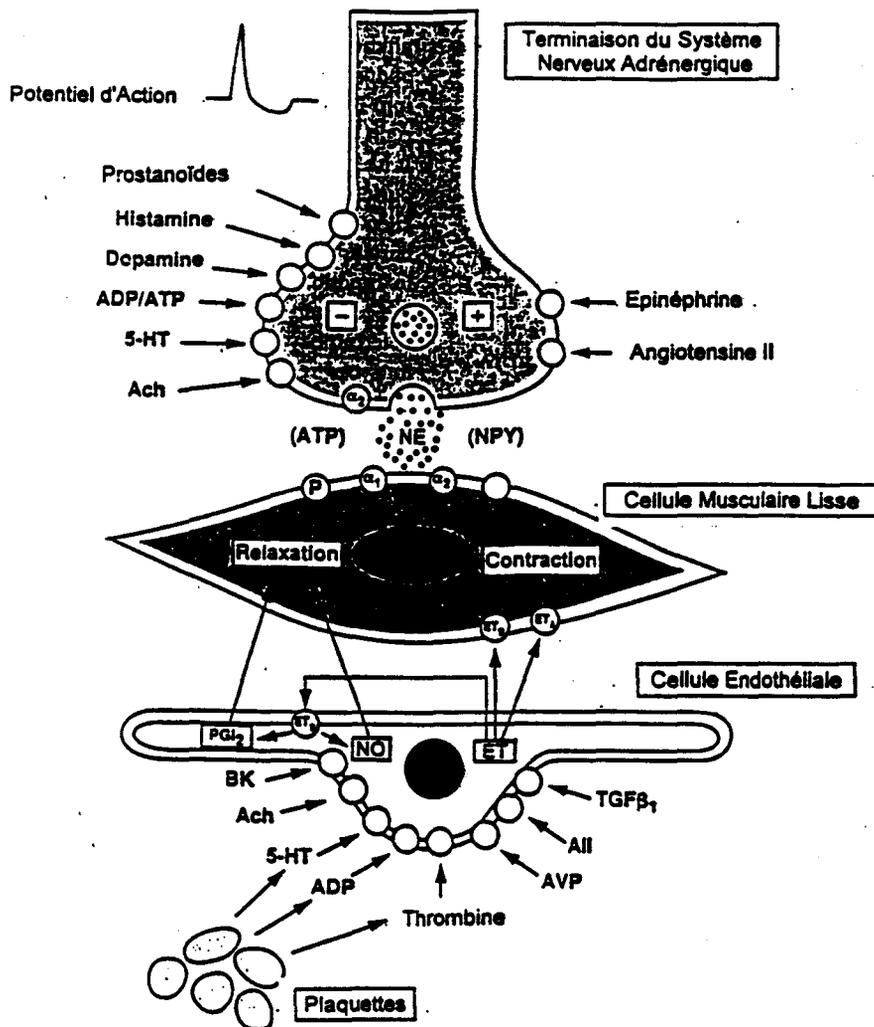


Figure 6 : Régulation du tonus vasculaire des cellules musculaires lisses par le système adrénergique et par les facteurs locaux et circulant (d'après Lüscher T. et al).

AII : angiotensine II; Ach : acétylcholine; ADP/ATP : adénosine di- et triphosphate; AVP : arginine vasopressine; BK : Bradykinine; 5-HT : 5-hydroxytryptamine (sérotonine); NPY : neuropeptide Y; P : récepteur purinergique; NE : norépinéphrine.

La participation de la vasomotricité coronaire dans la pathogénèse de l'infarctus du myocarde et de nombreux syndromes ischémiques est fondamentale. Cette vasomotricité, dont l'agent effecteur est constitué par les CML, est sous la dépendance de trois grands mécanismes qui régulent la contraction ou la relaxation de ces cellules : le système sympathique, les molécules sécrétées par l'endothélium et les substances sécrétées par les plaquettes et les cellules sanguines.

L'activation sympathique fait intervenir la sécrétion de neurotransmetteurs tels que la norépinéphrine et le neuropeptide Y qui, par l'intermédiaire des récepteurs α -adrénergiques, induisent alors la contraction des CML. La sécrétion de ces neurotransmetteurs peut être stimulée par l'épinéphrine et l'angiotensine II. Les plaquettes sécrètent des molécules comme la sérotonine qui induisent une réponse endothéliale. Les cellules endothéliales régulent la vasomotricité en sécrétant des molécules vasodilatatrices et vasoconstrictrices. L'endothélium participe à l'équilibre vasomoteur.

1.2 Le vasospasme

La vasoconstriction coronaire est un mécanisme physiologique qui, sous sa forme mineure, s'effectue en réponse à des stimuli physiologiques constricteurs et, sous sa forme extrême et pathologique, aboutit à une occlusion totale et soudaine de l'artère : c'est le spasme coronaire. Le spasme vasculaire correspond à une contraction soudaine et violente du vaisseau et est souvent accompagné d'un épisode douloureux. Il est la conséquence d'une hypersensibilité du vaisseau aux agents vasoconstricteurs (Pickering G. 1950).

L'occlusion artérielle post-spastique provoque l'interruption du flux sanguin avec une stase du sang et prédispose au développement d'une thrombose coronaire. La formation de ce thrombus consécutive et initiée par le vasospasme a pu être angiographiquement prouvée (Hayes J. 1993).

1.3 Mécanisme du vasospasme

L'endothélium est l'élément déterminant dans la régulation du flux sanguin en réponse aux forces de cisaillement. Il a pu être démontré dans l'artère iliaque de lapin que l'augmentation des forces de frottements induisait l'activation du canal potassique endothélial,

ce qui conduit à une hyperpolarisation et à une augmentation de la production de NO (Tronc F. 1996). Cependant, les cellules endothéliales traumatisées sont incapables de produire du NO et ne peuvent plus compenser l'action des composés vasoconstricteurs du milieu ambiant ni l'agrégation plaquettaire (Flavahan N. 1992) dont l'adhésion à la paroi de ces dernières engendre la sécrétion de produits vasoconstricteurs tels que le thromboxane A₂, l'ATP/ADP et la sérotonine (Lüscher T. 1994).

Lorsque l'endothélium est intact, la sérotonine induit la production de NO par les cellules endothéliales et provoque de ce fait la vasodilatation de l'artère. En effet, dans le vaisseau sain, il existe un processus d'inhibition de l'agrégation des plaquettes qui constitue également un moyen de défense contre la survenue du vasospasme. Les mêmes stimuli qui activent les plaquettes à savoir la thrombine, l'adénosine diphosphate (ADP) et l'adénosine triphosphate (ATP) provoquent aussi la sécrétion de la PGI₂ et du NO par l'endothélium (Celermajer D. 1997). Le NO neutralise l'effet vasoconstricteur des produits sécrétés par les plaquettes tels que le TBXA₂ et la sérotonine. Il en résulte alors une vasodilatation locale. S'il existe une dysfonction endothéliale, la sécrétion du NO et de la PGI₂ est abolie.

II. Estimation de la vasomotricité coronaire chez l'homme

Le tonus de base témoigne d'un processus pathologique éventuel. La détermination de ce tonus chez un patient constitue un bon moyen prédictif de la survenue du vasospasme coronaire. En effet, une hypercontractilité du vaisseau est souvent associée au développement d'une plaque d'athérome (Ganz P. 1985). Cependant, le tonus de base de chaque individu est inconnu; c'est pourquoi il est nécessaire de le quantifier. Pour mesurer ce tonus de base, il convient de mettre les artères successivement dans leurs états extrêmes de vasoconstriction et de vasodilatation. On mesure alors la capacité vasomotrice coronaire du sujet. Cette étude de la variation maximale normale du diamètre entre les états de vasoconstriction et de vasodilatation détermine la capacité vasomotrice coronaire propre à chaque individu (Lablanche J. 1986).

$$\frac{\text{plus grand diamètre de l'artère} - \text{plus petit diamètre}}{\text{plus petit diamètre}} * 100 = \text{capacité vasomotrice coronaire}$$

II.1 Test à l'ergométrine

Pour déterminer la capacité vasomotrice coronaire, deux tests pharmacologiques successifs sont utilisés. Le test de provocation de la constriction maximale du vaisseau est réalisé par l'administration de deux doses successives d'ergométrine ou de méthylergométrine (Méthergin). Le test de vasorelaxation maximale de l'artère est réalisé à l'aide du dinitrate d'isosorbide (ISDN). La visualisation des diamètres du vaisseau après ces deux tests est obtenue par angiographie.

Le maléate d'ergonovine exerce un effet constricteur direct sur les CML par l'intermédiaire des récepteurs α -adrénergiques et des récepteurs sérotoninergiques. Ce composé est un coronaro-constricteur puissant qui provoque un spasme coronaire chez les patients prédisposés, sans affecter le potentiel vasodilatateur du vaisseau (Tatineni S. 1992). L'utilisation de l'ISDN permet d'obtenir une réponse rapide, de neutraliser les effets de l'ergométrine qui sont de longue durée et de mettre les coronaires en vasodilatation maximale. Ce dérivé nitré agit directement au niveau des CML sans intervention de l'endothélium (Lablanche J. 1992).

La contraction normale du vaisseau est uniforme et n'excède pas une réduction de 20 à 30% du diamètre de l'artère. La capacité vasomotrice coronaire est considérée en général comme anormale quand le diamètre de l'artère observé après l'administration de nitrate est le double de celui obtenu après l'administration de l'ergonovine (Kuga T. 1993) (Hoshio A. 1992).

II.2 Test de provocation du spasme à l'acétylcholine ou à la sérotonine

Le test de provocation du vasospasme par l'acétylcholine ou la sérotonine ressemble à celui effectué avec du méthergin. Deux doses successives d'acétylcholine ou de sérotonine sont administrées, puis deux doses successives d'ISDN sont injectées au patient.

L'acétylcholine comme la sérotonine ont un double effet sur le vaisseau coronaire, c'est à dire un effet vasodilatateur par l'intermédiaire de l'endothélium et un effet vasoconstricteur direct sur les CML. Ces deux molécules ont des mécanismes d'action

similaires. Dans les artères coronaires saines, l'acétylcholine et la sérotonine exercent une fonction vasodilatatrice. Alors qu'en présence d'hypertension ou d'athérosclérose, l'infusion d'acétylcholine conduit à une vasoconstriction. Ainsi, les patients coronariens ne répondent pas au test à la sérotonine ou au test à l'acétylcholine par une vasodilatation mais par une vasoconstriction. Ces sujets présentent un spasme occlusif à des doses de sérotonine qui induisent normalement la dilatation du vaisseau (Mc Fadden E. 1991), cette vasoconstriction est plus marquée au niveau distal du vaisseau qu'au niveau proximal (Mc Fadden. E. 1993).

Cette vasoconstriction acétylcholine- ou sérotonine-dépendante n'est pas associée aux facteurs de risque de la maladie coronaire tels qu'une augmentation du taux de cholestérol, le sexe masculin, des antécédents familiaux de maladie coronaire et l'âge du sujet (Vita J. 1990).

Ce mécanisme peut être expliqué par le mécanisme d'action de la sérotonine.

Il existe deux sous-types de récepteurs de la sérotonine : les récepteurs de type S_1 présents au niveau de l'endothélium et participant à la vasodilatation, et les récepteurs de type S_2 localisés au niveau des plaquettes et de l'endothélium participant à la vasoconstriction. La sérotonine, par ses récepteurs de type S_2 , est capable de potentialiser l'action d'autres molécules vasoconstrictrices telles que la norépinéphrine et l'angiotensine II. Par les récepteurs de type S_1 présents au niveau de l'endothélium, la sérotonine provoque la sécrétion du NO qui relaxe les CML sous-jacentes. La dénudation de la paroi contribue à la perte des récepteurs de type S_1 et donc de la perte à la sécrétion du NO, ce qui induit la vasoconstriction (Frischman W. 1995).

L'utilisation de test à l'acétylcholine ou à la sérotonine permet par l'activation de la fonction vasoconstrictrice de ces deux substances de caractériser une dysfonction endothéliale. Ces tests constituent un marqueur précoce dans la prédiction de l'athérosclérose non détectable par angiographie (Vita J. 1990).

III. Déterminants de la vasomotricité : les LDL oxydées

Les premières études se rapportant à l'observation de la relation entre les LDL et la vasomotricité coronaire montrent que les LDL à faible concentration sont capables de potentialiser une vasoconstriction induite par la norépinéphrine sur des aortes de rat à raison de 30%. Cette vasoconstriction est endothélium-indépendante (Sachinidis A. 1989).

En fait, ce sont les LDL oxydées et non les LDL natives qui interviennent dans la modification du tonus vasculaire. Il existe une corrélation importante entre le degré d'oxydation des LDL et l'intensité de la vasoconstriction du vaisseau induite par l'acétylcholine, la sérotonine et les agonistes de ces composés. Les LDL oxydées potentialisent la vasoconstriction induite par ces composés par un effet direct sur les cellules musculaires lisses. Il semble que ce soit la dysfonction de l'endothélium qui soit responsable de cette vasoconstriction (Galle J. 1990).

Les LDL oxydées altèrent la fonction endothéliale en interagissant avec la protéine G des récepteurs sérotoninergiques et α -2 adrénergiques, en réduisant la mobilisation de la L-arginine précurseur du NO, en interférant avec la fonction NO synthase et en inactivant la production du NO (Lüscher T. 1995). Les LDL pourraient directement augmenter la constriction en agissant au niveau de la guanylate cyclase des cellules musculaires lisses et en facilitant la libération du Ca^{2+} intracellulaire (Schmidt K. 1990) (Heinle H. 1990). La sécrétion du NO est inhibée par la lysolécithine qui est produite lors de l'oxydation des LDL et qui agit au niveau du récepteur endothélial responsable de la transduction du signal pour la sécrétion du NO (Anderson T. 1996).

Le stress oxydatif est donc un déterminant majeur de la dysfonction endocoronaire qui peut être observée chez des patients présentant une athérosclérose ou une hypercholestérolémie, et conduit donc à l'apparition d'une vasomotricité anormale. Le traitement par des agents hypolipémiants et des agents antioxydants (comme par exemple l'acide ascorbique) de patients hyperlipidémiques ou présentant une athérosclérose améliore et restaure la réponse vasodilatatrice liée à l'acétylcholine (Anderson T. 1995) (Anderson T. 1996) (Levine G. 1996).

IV. Vasomotricité et lésions coronaires

IV.1 Vasomotricité et plaque d'athérome

En 1959, Prinzmetal démontrait le premier qu'il existait un tonus vasomoteur augmenté au site de la plaque d'athérome (Prinzmetal M. 1959). Le degré de cette réactivité anormale vasculaire est étroitement lié à l'extension de la plaque d'athérome (Zeicher A. 1994). Plusieurs phénomènes concourent à cette réactivité anormale. Les LDL oxydées sont des protagonistes majeurs de l'athérosclérose et stimulent la production d'endothéline-1 qui est un vasoconstricteur puissant (Lüscher T. 1995). En présence d'une plaque d'athérome, la réduction de l'activité du NO et l'atténuation de l'activité vasodilatatrice acétylcholine-NO-dépendante provoquent une vasomotricité anormale (Quyyumi A. 1997).

La vasoconstriction au site d'athérosclérose est souvent accompagnée de manifestations ischémiques et est plus grave qu'une vasoconstriction sur un vaisseau sain. Le développement d'un spasme au site de la sténose nécessite une contraction des CML plus importante qu'une contraction au niveau d'une région saine du vaisseau. On observe alors une fissuration de la plaque d'athérome, ainsi que la formation d'une thrombose encouragée par la production de PAI-1 par l'endothélium, et dans les cas les plus graves, la survenue d'un infarctus du myocarde (Stewart D. 1993).

IV.2 Vasomotricité et resténose

Le spasme coronaire survient préférentiellement en cas de resténose coronaire. En effet, les sténoses athéroscléreuses qui présentent un tonus vasomoteur augmenté à la sérotonine sont susceptibles à la resténose après angioplastie.

Des études cliniques ont démontré que la présence d'un vasospasme coronarien induit par l'ergonovine six mois après une angioplastie réussie est fréquemment accompagné d'une resténose et que la présence d'un tonus vasculaire anormal avant l'angioplastie est fortement prédictif de la formation de cette resténose. Au site d'angioplastie, on peut observer que l'endothélium régénéré après blessure n'exerce plus la même fonction vasomotrice et que les CML sont hyper-réactives aux molécules vasoconstrictrices (Mc Fadden E. 1993).

Une étude plus récente montre que la perturbation de la fonction vasodilatatrice de l'endothélium régénéré après angioplastie est associée à l'expression de molécules d'adhésion

de type VCAM-1 au niveau de la couche endothéliale ainsi qu'à une diminution de l'expression de récepteurs endothéliaux pour la synthèse de molécules vasodilatatrices. De plus, la présence des molécules d'adhésion VCAM-1 à la surface de l'endothélium active le recrutement de monocytes. Ce recrutement monocyttaire stimule alors le mécanisme prolifératif de la formation de la resténose (Krejcy K. 1996), témoignant de l'intrication étroite entre la vasomotricité et la resténose.

C. *Physio-pathologie de la resténose coronaire*

L'angioplastie est une thérapeutique interventionnelle de l'obstruction de l'artère coronaire. Elle consiste à la revascularisation de l'artère en utilisant un ballonnet gonflé à de fortes pressions et qui va écraser contre la paroi la sténose coronaire, la plaque d'athérome. Cependant, une reformation de la sténose, la resténose réduit significativement l'impact de cette thérapeutique interventionnelle et correspond à la ré-obturation dans un délai de six mois de l'artère coronaire traitée.

La resténose est la conséquence d'une réaction de cicatrisation exagérée engendrée par le traumatisme de la paroi vasculaire au cours de l'angioplastie.

Des études chez des modèles animaux montrent que le développement de la resténose se déroule en quatre phases principales :

- 1 : une phase de réaction précoce de la paroi de l'artère vis-à-vis de la procédure, c'est à dire la recalibration du vaisseau
- 2 : une phase de formation d'un thrombus mural
- 3 : une phase de multiplication et de migration des cellules musculaires lisses vers l'intima
4. Une phase de remodelage.

La première phase intervient dans les 24 heures qui suivent l'angioplastie et constitue une réaction de constriction précoce de la paroi consécutive à l'angioplastie : c'est le retour élastique du vaisseau. Cette réaction semble être une conséquence des propriétés élastiques du vaisseau. Ce recul de la paroi dépend du contenu de la lésion en fibres, en calcium et de l'état plus ou moins fibreux de la plaque d'athérome.

Durant la deuxième phase, le traumatisme infligé au vaisseau par la pression importante du ballon induit la formation d'un thrombus avec l'organisation de tissu conjonctif. Ceci est la conséquence de la perte des propriétés antithrombotiques de l'endothélium et de la sécrétion de facteurs procoagulants comme la thrombine et le facteur tissulaire.

La troisième phase est la phase de formation de la néo-intima. On observe une activation des cellules musculaires lisses et la synthèse de la matrice extra-cellulaire par les CML et les fibroblastes. Cette phase peut elle-même être divisée en trois périodes évolutives :

- la réplication des CML dans la média
- leur migration de la média vers l'intima
- la prolifération des CML dans l'intima et la synthèse de la matrice extra-cellulaire (Badimon L. Z. 1995).

La quatrième phase est constituée par le remodelage.

I. Le retour élastique de l'artère

Immédiatement après l'intervention, un retour élastique du vaisseau c'est à dire une rétraction précoce, aiguë et élastique de la paroi du vaisseau est observé. Ce phénomène est distinct du phénomène de remodelage qui constitue un recalibrage chronique.

L'utilisation d'un ballonnet gonflé à de fortes pressions s'accompagne d'une dilatation compensatoire propre de l'artère. Du fait de son élasticité, l'artère retrouve dans un délai bref son calibre initial.

II. La formation du thrombus

Durant les premiers jours suivant l'angioplastie, un phénomène thrombotique constitue l'élément déterminant de la formation de la resténose (Kimura T. 1997). En effet, lors de l'angioplastie, l'écrasement de la plaque d'athérome par le ballonnet permet la libération de thrombine et de fibrine internalisées dans la lésion athéromateuse. Les plaquettes circulantes sont très sensibles à l'activation de la thrombine et se déposent alors le long de la paroi pour former un thrombus. En se fixant au collagène, au facteur de coagulation Von Willebrand et au fibrinogène, les récepteurs des plaquettes de type glycoprotéique tels que les récepteurs Ia, Ib et IIb/IIIa permettent l'agrégation et renforcent l'adhésion des plaquettes à la paroi (Popma J. 1991). L'administration d'anticorps anti-glycoprotéine IIb/IIIa diminue le risque de

survenue d'événements thrombotiques aigus consécutifs à l'angioplastie (Libby P. 1995). C'est l'ensemble de ces facteurs qui concourent à l'apparition du thrombus.

Certains éléments peuvent également influencer la formation du thrombus. En effet, la thrombogénicité est influencée par la composition des plaques d'athérome : le noyau riche en lipides des plaques d'athérome est le composant le plus thrombogène. Une angioplastie sur des plaques riches en lipides augmente donc le risque de formation d'un thrombus (Badimon L. 1995).

III. L'hyperplasie néo-intimale

L'hyperplasie néo-intimale est caractérisée par la prolifération des macrophages, des cellules endothéliales, la prolifération et la migration des CML et la synthèse de la MEC (O'Brien E. 1993). La prolifération et l'accumulation des CML dans l'intima est un processus fondamental de la resténose. Ce processus dépend des propriétés phénotypiques intrinsèques des CML et de la potentialité des facteurs locaux à réguler la prolifération et la migration des CML vers l'intima. Ces facteurs locaux correspondent à la sécrétion de cytokines et de facteurs de croissance, à l'activation du système rénine-angiotensine, aux caractéristiques hémodynamiques de la circulation et à l'état des tissus environnants.

III.1 Les phases de la prolifération des cellules musculaires lisses

Phase I : On observe dans les 24 premières heures qui suivent l'angioplastie, une thrombose aiguë qui est suivie par la sécrétion d'agents mitogènes des CML de la média. Des molécules telles que le PDGF (platelet-derived growth factor), le TGF- β (transforming growth factor- β), le bFGF (basic fibroblast growth factor) et l'IL-1 sont responsables de la modulation du phénotype des CML qui s'hypertrophient et prolifèrent dans la média. Cette prolifération médiale est maximale vers le 7^{ème} jour après l'angioplastie et revient à son niveau de base environ un mois après l'intervention.

Phase II : Du 4^{ème} au 14^{ème} jour après la procédure, les CML traversent la lame limitante élastique interne et migrent vers l'intima pour former une néo-intima. Des études ont

démontré qu'approximativement un peu moins de la moitié des cellules qui pénètrent dans l'intima sont en division (Popma J., 1991) (Clowes A., 1989).

Phase III : La troisième étape commence aux environs du 14^{ème} jour et correspond à une amplification de la prolifération des CML sous l'action d'agents mitogènes. Les cellules s'accumulent alors dans la néo-intima. Puis la synthèse de la MEC intervient dans l'augmentation considérable de la taille de la néo-intima (environ 80%).

Cette prolifération myointimale des CML constitue un événement clef de la formation de la resténose.

III.2 Facteurs influençant la prolifération des cellules musculaires lisses

a) Facteurs de croissance

Des facteurs de croissance interviennent au niveau des différentes phases de l'hyperplasie néo-intimale. Ces facteurs peuvent interagir entre eux et intervenir tant au niveau de la migration et de la prolifération des CML qu'au niveau du développement de la MEC.

L'ensemble de ces facteurs de croissance agissant sur les CML est présenté dans le Tableau 2.

Facteur de croissance	Source	Action sur les CML	Autres actions
PDGF	plaquettes CML	facteur de compétence des cellules quiescentes, migration vers intima. action autocrine, migration vers l'intima	induit une augmentation du taux de plasmine qui stimule la prolifération des CML
TGF- β	activation par la plasmine	permet la prolifération des CML	accumulation de tissu conjonctif
IGF 1	cellules endothéliales et CML	facteur de progression du cycle cellulaire action synergique avec le PDGF	stimule la biosynthèse d'élastine
bFGF	localisation intracellulaire et dans la MEC	rôle mitogène (le plus actif des agents mitogènes)	régénération de la couche endothéliale
Angiotensine II	convertie à partir de l'angiotensine I par l'ECA.	permet la prolifération médiale et intimale des CML (effet indirect)	interaction avec les facteurs de croissance
IL-1	endothélium	inhibe la prolifération des CML	
Sérotonine	plaquettes	permet la prolifération des CML	Vasoconstricteur

Tableau 2 : Facteurs de croissance et formation de la néo-intima. ECA : Enzyme de Conversion de l'Angiotensine I.

Le PDGF

Le PDGF est principalement produit par les plaquettes sanguines. Il est aussi sécrété par d'autres cellules présentes dans la paroi vasculaire telles que les CML, les cellules endothéliales et les macrophages.

Il existe deux isoformes du PDGF : le PDGF-A et le PDGF-B. Chez le rat, l'administration d'anticorps spécifiques du PDGF-B dans la région blessée par le ballon peut réduire le rétrécissement de la lumière artérielle tandis qu'un traitement par des anticorps spécifiques du PDGF-A n'apporte aucune modification. D'autre part, l'infusion de dimères de PDGF-B après une blessure avec dénudation endothéliale n'influence que peu la répllication intimale des CML (Hart C. 1997). Le PDGF agit plutôt en tant que facteur de compétence

permettant ainsi aux cellules quiescentes de passer de la phase G_0 à la phase G_1 du cycle cellulaire (Pauletto P. 1994) stimulant ainsi la prolifération des CML dans la média et leur migration vers l'intima (Zempo N. 1996). L'activation des cellules endothéliales et des macrophages par la thrombine conduit ces deux types cellulaires à synthétiser du PDGF-B.

Le TGF- β

Le TGF- β contribue à l'accumulation de tissu conjonctif et à la prolifération cellulaire. Ce facteur de croissance est sécrété à l'état inactif, puis est converti sous sa forme active par une augmentation de la concentration en plasminogène tissulaire et en plasmine. Cette augmentation de la concentration en plasmine est elle-même stimulée par le PDGF et potentialise la migration des CML observée après l'angioplastie.

Le bFGF

Le FGF basique exerce des propriétés angiogènes et mitogènes pour les CML et les cellules endothéliales. La localisation du bFGF est caractéristique puisqu'il est séquestré dans des compartiments intracellulaires ou lié à la matrice extracellulaire où il reste inaccessible pour les CML. Dans le vaisseau normal, il ne peut donc pas être retrouvé dans le milieu extracellulaire comme les autres facteurs de croissance. Cependant, immédiatement après l'angioplastie, la mort de nombreuses CML permet une libération soudaine et importante de bFGF. L'héparinase et les enzymes protéolytiques sécrétées par les leucocytes et les macrophages infiltrés dans la région blessée assurent également la libération du bFGF de la MEC.

Le bFGF libéré consécutivement à l'angioplastie exerce une puissante action mitogène sur les CML de la média. Ces cellules ont la capacité de se répliquer à des niveaux élevés pendant plus de deux semaines (Olson N. 1992).

La MEC sert de réservoir pour le bFGF qui peut être utilisé par les cellules environnantes présentant des récepteurs de haute affinité pour le FGF c'est à dire des récepteurs FGFR-1 (Daley S. 1996).

b) Le système plasminogène/plasmine

Le système plasminogène/ plasmine intervient dans le développement de l'hyperplasie néo-intimale en permettant une libération des CML des fibres de la MEC, en activant la prolifération de ces cellules et en permettant la ré-endothélisation. La pression exercée par le ballonnet d'angioplastie contre la paroi du vaisseau induit la mort d'un certain nombre de CML de la média sous-jacente. On observe alors dans le milieu ambiant, une diminution transitoire de la quantité d'activateur du plasminogène tissulaire (t-PA) qui intervient dans la fibrinolyse. Le t-PA, lorsque sa sécrétion par les CML est rétablie, intervient comme un mitogène autocrine et participe à la migration des CML à travers la lame élastique interne (LEI).

L'expression de l'activateur du plasminogène de type urokinase (u-PA) et du récepteur de l'u-PA par les cellules endothéliales, les CML et les leucocytes induit la migration et la prolifération des CML.

L'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1 (PAI-1) est produit par les plaquettes du thrombus mural, par les cellules endothéliales blessées, par les CML ou par les leucocytes activés. Le PAI-1 ainsi déposé dans la MEC prévient et restreint une protéolyse de la plasmine (Carmeliet P. 1995).

c) Les monocytes

Les monocytes participent à l'hyperplasie néo-intimale en adhérant à la paroi artérielle et en l'infiltrant. Ce recrutement des monocytes dépend de l'expression de molécules d'adhésion par les cellules endothéliales et de la sécrétion par les cellules vasculaires de molécules chimioattractives telles que le « monocyte chemoattractant protein-1 ». L'adhésion monocyttaire induit la synthèse des agents chimiotactiles et mitogènes des CML. L'adhésion des monocytes à la paroi endothéliale est reversée par l'héparine. L'héparine qui est un glycosaminoglycane endothélial inhibe la prolifération monocyttaire en bloquant le cycle cellulaire de ces cellules au niveau du passage de la phase G_0 à la phase G_1 (Rogers C. 1996).

d) Le système rénine/angiotensine

Il a pu être démontré que l'infusion d'angiotensine II au cours d'une angioplastie augmentait la synthèse d'ADN dans les CML. Cet effet est accru dans les CML de la néo-intima par rapport aux CML de la média des vaisseaux sains (Daemen M. 1991).

Il semble en effet que l'angiotensine II joue un rôle important dans l'hypertrophie ainsi que dans la prolifération des CML. L'angiotensine II potentialiserait la transcription de gènes d'expression précoce tels que *c-fos*, *c-jun* et *c-myc*. Il en résulterait l'activation d'agents mitogènes puissants comme le PDGF-A, le TGF- β et l' α -actine (Naftilan A. 1992).

III.3 Synthèse de la matrice extracellulaire

La MEC qui est constituée après l'angioplastie est principalement composée de glycosaminoglycanes et de collagène. Les glycosaminoglycanes de type héparanes sulfates sont produits par les cellules endothéliales après la régénération de l'endothélium. Les autres composants de la matrice synthétisés dans le vaisseau blessé comprennent le collagène de type I, l'élastine, l'ostéopontine et les protéoglycanes. Le dépôt de la MEC par les cellules musculaires lisses intimes contribue à la croissance de la lésion fibromusculaire jusqu'à trois mois après l'angioplastie. Après cette période, la sténose apparaît stable (Pauletto P. 1994).

IV. Le remodelage

Les études de la réponse du vaisseau après l'angioplastie dans des modèles animaux et l'évidence histologique de l'infiltration des CML dans l'intima avaient suggéré que l'hyperplasie néo-intimale constituait la cause principale de resténose après angioplastie. Cependant, les observations de l'équipe de Mintz confirmées par les études de l'équipe de Post limitent cette hypothèse. En effet, le **recalibrage chronique du vaisseau** serait un élément prévalent dans le processus de resténose (Di Mario C. 1995) (Figure 7).

C'est l'utilisation des ultrasons pour la mesure de la lumière de l'artère qui a permis de mettre en évidence ce phénomène de remodelage. Les premières expériences effectuées par

l'équipe de Mintz ont conclu qu'environ 65% de la perte de la lumière après angioplastie était due à une réduction du diamètre total du vaisseau (Mintz G. 1994).

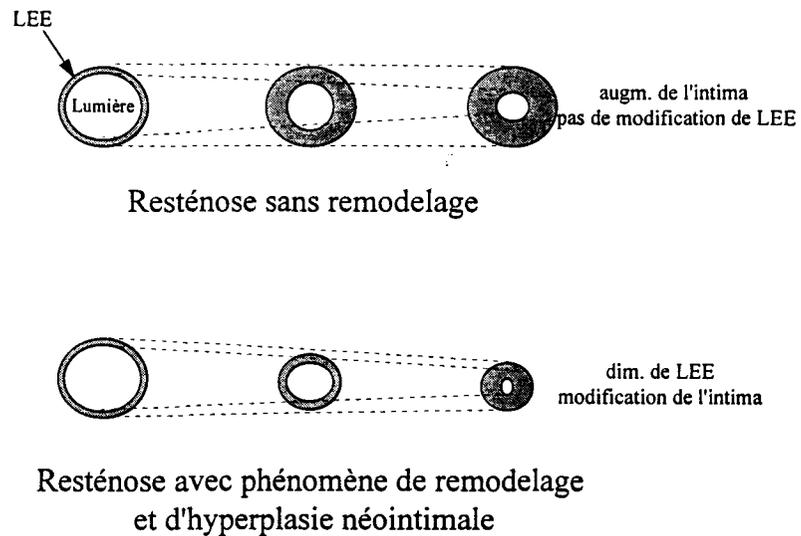


Figure 7 : Les deux phénomènes principaux qui interviennent dans la formation de la resténose : l'hyperplasie néo-intimale et le remodelage (LEE= Lamé limitante Elastique Externe).

IV.1 Développement du remodelage artériel après angioplastie

Plusieurs mécanismes ont été proposés par l'équipe de Mintz pour expliquer la formation et l'évolution de ce phénomène de remodelage :

- la fibrose de la paroi du vaisseau, notamment au niveau de l'adventice
- l'induction du phénomène d'apoptose
- un changement dans la structure et la composition de la MEC
- un changement du tonus vasomoteur en réponse aux forces de cisaillement des cellules sanguines exercées contre la paroi du vaisseau (Mintz G. 1996).

a) La survenue de la rétraction chronique

Le vasospasme qui apparaît lors du remodelage est provoqué par la perte des propriétés vasodilatatrices de l'endothélium, par la production de vasoconstricteurs consécutivement au développement de la thrombose au site d'angioplastie et par une rétraction du thrombus mural (Cowan D. 1996). La blessure de l'endothélium par le ballonnet et l'agrégation des plaquettes sont les éléments essentiels de la constriction post-angioplastique. Les études récentes de l'équipe de Kimura ont montré par l'utilisation de technique d'ultrasons intravasculaires que ce phénomène de constriction du vaisseau consécutif à l'utilisation du ballonnet était divisé en deux épisodes. De 24 heures à un mois après l'angioplastie, on observe un **élargissement de l'artère** puis, entre un et six mois après la procédure, c'est une **constriction du vaisseau** qui est observée (Kimura T. 1997).

b) La fibrose de l'adventice

La formation d'une néoadventice constitue la deuxième phase du développement du remodelage. Pendant l'angioplastie, la plaque rigide athéroscléreuse est séparée de tous les composants du vaisseau qui sont alors étirés. Il s'ensuit une déchirure de la paroi et une expression immédiate et continue de facteurs thrombogènes, vasoactifs et mitogènes. Des études dans des modèles animaux ont permis de démontrer un rôle prépondérant de la lame limitante élastique externe (LEE) dans le développement du remodelage. En effet, il existe une forte corrélation positive entre le diamètre de la LEE et le rétrécissement de la taille du diamètre de la lumière (Guzman L. 1996) (Lafont A. 1995). Ces résultats peuvent être expliqués par l'observation de la formation d'une néoadventice correspondant à l'enrichissement de l'adventice en fibres de collagène. Il s'agit alors d'un phénomène structural, trophique correspondant à une fibrose de l'adventice et qui est associé à une rétraction de l'ensemble de la paroi. Il s'agit d'une cicatrisation rétractile de la paroi du vaisseau qui explique la constriction chronique (Andersen H. 1996). Lors de la cicatrisation du vaisseau, cette fibrose de l'adventice joue un rôle prépondérant en comprimant le vaisseau et en prévenant un élargissement compensatoire. Il apparaît alors une strangulation du vaisseau correspondant à une contraction de la néoadventice sur toute la circonférence du vaisseau.

Le phénomène de remodelage constitue donc une adaptation de la taille du vaisseau aux changements du flux sanguin avant et après angioplastie ainsi qu'aux forces de frottements, induits par la procédure d'angioplastie et par la formation de la néo-intima.

IV.2 Les facteurs qui influencent le développement du remodelage

a) L'état de l'endothélium

L'endothélium est à la fois responsable de la détection des modifications de l'environnement, de la transmission du signal vers d'autres cellules et de la modification de la structure du vaisseau. Lorsqu'une des étapes de la détection à la transmission du signal aux tissus sous-jacents ne fonctionne plus, l'endothélium est dysfonctionnel et ne peut plus inhiber l'action des produits vasoconstricteurs ainsi que l'agrégation plaquettaire (Figure 8).

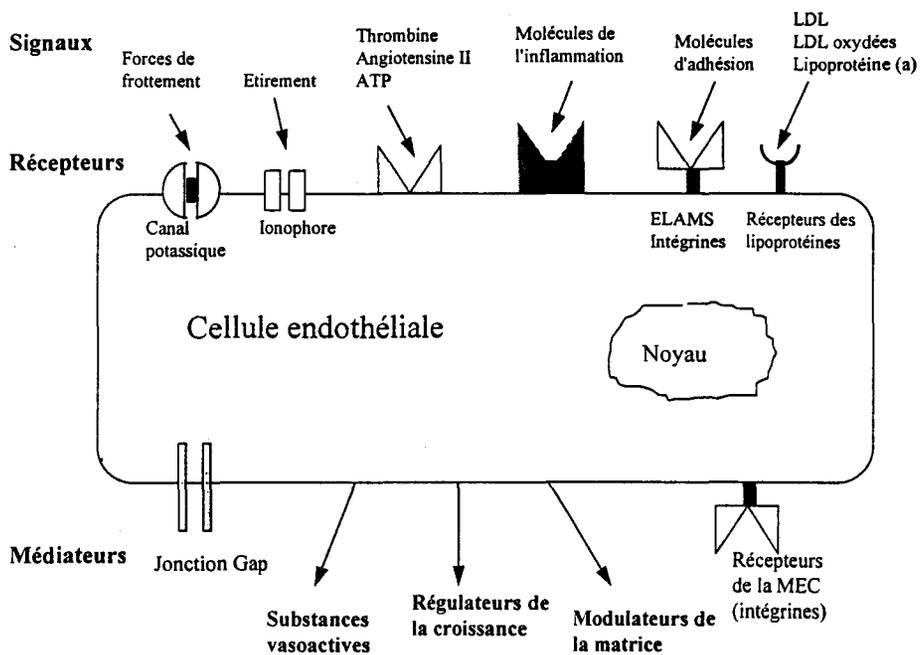


Figure 8 : Les agents du remodelage vasculaire (d'après Gibbons G., 1994).

b) Les forces de frottements

Le stress constitué par les forces de frottements des cellules sanguines contre la paroi active les canaux potassiques sensibles au flux, ce qui induit une hyperpolarisation et permet l'internalisation de calcium. Ces tensions conduisent à la production de molécules vasoconstrictrices et d'agents mitogènes. Une diminution de la perception des variations du flux sanguin et/ou une altération du mécanisme de transduction du signal conduisent à la diminution de la lumière de l'artère.

V. L'occlusion, complication de la resténose

Les occlusions post-angioplastiques constituent des complications graves de l'angioplastie et ce dans 5 à 8% des cas. Il existe deux types d'occlusions, les occlusions aiguës et les occlusions chroniques.

Les occlusions aiguës s'accompagnent d'une cascade d'événements qui conduisent à la survenue d'un infarctus du myocarde nécessitant un pontage en urgence ou à la mort du patient. C'est le plus souvent un processus de dissection, de délabrement important de l'artère ou de thrombose intracoronaire liée au ralentissement du flux coronaire qui intervient après l'angioplastie et qui provoque cette occlusion.

L'occlusion chronique correspond à l'obstruction complète du vaisseau observée au contrôle d'angioplastie. Après la lacération de la paroi par le ballonnet et la dissection de la plaque, le collagène de la MEC et les CML sont soudainement exposés au flux sanguin. On observe alors une réponse fibroproliférative excessive. Ces fibres, ainsi que le collagène découvert par le ballonnet, représentent des sites d'adhésion manifestes pour les plaquettes. La formation d'un thrombus de fibrine, la sécrétion de PDGF par les plaquettes et par les CML et une activation de l'agrégation des plaquettes par la thrombine sont les éléments prépondérants de cette réobturation de la lumière du vaisseau.

Il semble que l'utilisation d'endoprothèse coronaire ou stent évite l'apparition de ce phénomène. Le stent étaye la paroi, permet de recoller les débris artériels et augmente le diamètre de la lumière, ce qui améliore le flux coronaire et limite le risque de thrombose et de fibrose excessive (Guyon P. 1997).

VI. L'utilisation d'endoprothèses coronaires

L'endoprothèse coronaire ou stent a grossièrement la forme d'un ressort métallique. Ce ressort est déployé le long de la paroi artérielle par le ballonnet d'angioplastie lors de la procédure.

VI.1 Composition d'un stent

Il est nécessaire que les stents soient biocompatibles, c'est à dire qu'ils soient capables de résister aux phénomènes thrombotiques et à la corrosion. Les caractéristiques essentielles du stent sont constituées par :

- une grande flexibilité afin de pouvoir cheminer au sein des artères parfois tortueuses et franchir des lésions complexes et calcifiées
- une force radiale suffisante pour s'opposer au recul élastique.

Il existe deux types de stents : les stents tubulaires (constitués d'une seule entité et d'un maillage d'acier) et les stents filamenteux (constitués par un fil monobrin enroulé, en acier inoxydable). Les stents filamenteux sont beaucoup moins flexibles que les stents tubulaires, tandis que les stents tubulaires exercent une force radiale beaucoup plus importante que les stents filamenteux. Le choix de l'utilisation d'un stent tubulaire ou filamentaire est guidé par les caractéristiques propres de la lésion concernée et par celles de l'artère à traiter (Bourachot M. 1997).

VI.2 Conséquences de l'utilisation de stent sur le développement de la resténose

Les résultats des deux études BENESTENT et STRESS montrent que l'utilisation du stent lors de l'angioplastie augmente le taux de réussite d'angioplastie et diminue de 30% le taux de resténose à six mois réduisant la nécessité d'une revascularisation (Serruys P. 1994) (Fischman D. 1994).

L'impact des stents sur la resténose est mécanique. Le stent joue un rôle de charpente de la paroi du vaisseau et permet de maintenir l'ouverture de l'artère obtenue après

angioplastie. Cette endoprothèse prévient des conséquences indésirables de la dilatation par le ballonnet telles que le retour élastique et le remodelage chronique du vaisseau. De plus, le stent améliore la prévention des occlusions aiguës par angioplastie et des occlusions chroniques.

Pourtant, le stent ne diminue pas l'hyperplasie intimale qui constitue dans ce cas le mécanisme essentiel impliqué dans la resténose après angioplastie. Cette hyperplasie conduit à la formation d'une resténose diffuse lorsqu'elle se manifeste sur toute la longueur du stent ou à une resténose focale lorsqu'elle est plus localisée dans le stent. Le déterminant principal de la taille de la lumière du vaisseau à six mois est la taille du diamètre de la lumière obtenu après la procédure (Dussailant G. 1995) (Hoffmann R. 1996).

VI.3 Complications intervenant lors de la pose d'un stent

Les complications principales qui peuvent survenir après le déploiement du stent sont le développement d'une thrombose et le risque augmenté d'hémorragie après la procédure. L'utilisation de fortes pressions lors du déploiement d'un stent dans le réseau coronaire ainsi que des traitements pharmacologiques réduisent les risques liés à l'implantation d'un corps étranger dans le système vasculaire (Guyon P. 1997). Ces traitements pharmacologiques sont constitués par des agents antiplaquettaires et/ou des inhibiteurs de l'agrégation plaquettaire qui évitent la formation du thrombus consécutif à l'angioplastie avec pose de stent (Van Belle E. 1995).

D. Différence entre la plaque athéromateuse et la resténose

La resténose après angioplastie a souvent été décrite dans de nombreux modèles animaux comme un modèle d'étude de la formation de la plaque d'athérome. Ainsi, l'étude du développement rapide de la resténose après angioplastie chez l'être humain devrait permettre de comprendre les processus qui interviennent dans la formation de la plaque d'athérome. En fait, ces deux types de lésions, à savoir la plaque d'athérome et la resténose, diffèrent totalement tant au niveau de leur composition qu'au niveau de leur mécanisme de formation et des pathologies qui leur sont associées.

I. Quelques rappels sur la plaque d'athérome

L'athérosclérose est caractérisée par la présence d'une plaque d'athérome épaississant la paroi de l'artère et réduisant la lumière de façon variable.

Dans des conditions physiologiques, il existe un processus de réponse à l'agression et à la blessure de l'endothélium et de la paroi artérielle. Cette protection consiste en la formation d'une couche fibreuse et fibro-lipidique précédée et accompagnée par un processus inflammatoire. Quand ce processus est excessif, il devient pathologique et peut provoquer une occlusion de l'artère.

La plaque d'athérome est constituée par une chape fibreuse et une partie centrale riche en lipides. Ce noyau lipidique a l'aspect d'une masse grumeleuse qui vaut à la maladie son appellation (athéré=bouillie). Le développement de la plaque d'athérome se fait en trois étapes:

1. la formation de la strie lipidique qui correspond à l'accumulation sous-endothéliale de cellules à inclusions lipidiques
2. l'évolution vers la formation de la plaque fibreuse avec un revêtement de fibres de collagènes et d'élastine et l'enchâssement de CML dans cette structure
3. le vieillissement et l'altération de la plaque.

L'événement déterminant dans la formation de la plaque d'athérome est la blessure de l'endothélium qui devient alors dysfonctionnel (Badimon L. 1992). Les LDL (Low Density Lipoprotein) peuvent alors traverser la paroi endothéliale et se diriger vers les tissus sous-jacents où elles sont oxydées. Elles induisent alors l'expression par les cellules de la média de facteurs chimiotactiles pour le recrutement des monocytes et des cellules T (Hoff H. 1991) (Lin J. 1996).

Les monocytes et les lymphocytes T s'infiltrent entre les cellules endothéliales et migrent alors vers les tissus sous-endothéliaux où ils se différencient en macrophages (Witztum J. 1994).

- Formation de la strie lipidique

Les LDL oxydées sont reconnues par un récepteur de très haute affinité : le « scavenger receptor » ou récepteur éboueur qui est présent à la surface des monocytes-macrophages et qui n'est pas "down-régulé". Les macrophages internalisent et accumulent ces lipoprotéines oxydées et deviennent des cellules spumeuses. Les macrophages gorgés de lipides forment avec les lymphocytes T la strie lipidique ou « fatty steak » (Ross R. 1986).

Dans la strie lipidique, les CML changent de phénotype, passant d'un état contractile à un état de prolifération en réponse aux agents mitogènes locaux, et présentent alors une forte affinité pour les protéines de la MEC (Schwartz S. 1997)

-Progression vers la chape fibreuse

Quand la concentration plasmatique des LDL oxydées devient trop importante, les LDL oxydées s'accumulent dans l'intima où elles deviennent cytotoxiques et induisent la mort cellulaire des cellules endothéliales, des CML et des macrophages environnants (Escargueil-Blanc I. 1997). On observe alors une nécrose cellulaire qui est suivie par la libération des LDL oxydées des cellules spumeuses vers le milieu extracellulaire. Une cascade de réponses d'origine inflammatoire dans l'intima ainsi qu'un accroissement de la prolifération des CML dans l'intima sont observés (Fruchart J. 1994).

La strie lipidique se transforme en une forme intermédiaire : la lésion fibro-lipidique puis finalement en plaque fibreuse. La plaque fibreuse représente une forme avancée de l'athérosclérose. Elle est spécifiquement entourée par une chape fibreuse qui recouvre un noyau lipidique contenant de grandes quantités de macrophages gorgés de lipides. Cette

plaque progresse et se projette à l'intérieur de la lumière du vaisseau en repoussant les cellules endothéliales.

- Vieillessement et altération de la plaque

A un stade avancé de l'athérosclérose, la plaque fibreuse se vascularise et contient un grand nombre de capillaires.

Quand il y a une fissuration de la plaque cela entraîne une hémorragie, une ulcération et la formation d'un thrombus (Ross R. 1993). Il en résulte alors la formation d'une hémorragie au site de la plaque, une thrombose puis une occlusion de l'artère qui peut avoir des conséquences graves. En effet, la plupart des décès suite à la survenue d'un infarctus du myocarde sont provoqués par la rupture ou la fissure de la plaque d'athérome.

II. Différences entre la formation de la plaque d'athérome et la resténose

	<i>Athérosclérose</i>	<i>Resténose</i>
<i>La blessure de la paroi</i>	La dysfonction endothéliale est l'élément décisif du développement de la lésion. L'endothélium reste constitutionnellement intact mais est dysfonctionnel du fait de l'érosion de la paroi par les forces de cisaillement exercées par les cellules sanguines et les éléments figurés du sang contre la paroi.	La blessure du vaisseau est importante et est induite par un écrasement brutal et soudain de la plaque d'athérome qui conduit à la déchirure et à la dissection de cette plaque. On assiste ainsi à une blessure profonde de la paroi qui peut s'étendre jusqu'à la média et qui conduit à une dénudation endothéliale. Cependant, l'endothélium régénéré lors de la resténose n'est plus capable d'assurer ses fonctions originelles.
<i>Nature de la lésion</i>	Elle est formée essentiellement par un noyau lipidique intra- et extra-cellulaire entouré par une chape fibreuse constituée par un assemblage de tissu conjonctif. Cette plaque fibreuse comprend aussi un mélange de CML, de macrophages gorgés de lipides, de lymphocytes, de débris provenant de la nécrose cellulaire et des cristaux de cholestérol. Cette lésion athéromateuse peut être calcifiée, hémorragique, associée à une thrombose ou se rompre. Dans ce cas la formation du thrombus est postérieure à la rupture de la plaque.	L'hyperplasie néo-intimale qui intervient dans le développement de la resténose est homogène et est constituée par une accumulation de CML enchâssées dans une imposante MEC formée essentiellement de fibres de collagène et d'élastine. Le thrombus fait partie intégrante de cette sténose puisqu'il est l'un des premiers événements dans la formation de cette lésion.
<i>Les cellules impliquées dans la formation de la lésion</i>	La réponse à la dysfonction endothéliale est essentiellement inflammatoire. La formation de la plaque d'athérome fait appel aux cellules du système immunitaire telles que les monocytes qui vont alors pénétrer dans la région sous-endothéliale et se différencier en macrophages.	Peu de cellules du système immunitaire sont impliquées, ce sont ainsi les CML qui constituent les éléments cellulaires majeurs.
<i>Les lipides</i>	Les lipides, et surtout les LDL oxydées, sont des éléments prépondérants et initiateurs du développement de la plaque d'athérome. Ils sont retrouvés dans les cellules spumeuses et dans les dépôts extra-cellulaires.	Les lipides sont absents de la néo-intima.
<i>Le remodelage de l'artère</i>	Le développement de la plaque d'athérome est associé à une dilatation compensatoire de l'artère ou hypertrophie.	La resténose est associée à un remodelage constrictif du vaisseau.

	<i>Athérosclérose</i>	<i>Resténose</i>
<i>La vascularisation de la lésion</i>	La vascularisation s'effectue dans des formes avancées de la plaque d'athérome.	Aucune vascularisation de la resténose n'a pu être décrite.
<i>L'activation des cellules musculaires lisses</i>	Prolifération des CML.	Prolifération des CML importante. Les CML de la resténose expriment plus de chaîne lourde de la myosine, marqueur de l'activité de ces cellules.
<i>Durée de la formation de la lésion</i>	De nombreuses années sont nécessaires pour développer une plaque d'athérome mature.	Six mois suffisent à la formation d'une resténose significative.
<i>Manifestations cliniques</i>	Bien souvent la déchirure de la plaque d'athérome conduit à la formation d'un thrombus et à l'occlusion de l'artère coronaire dont la conséquence est la survenue d'un infarctus du myocarde.	La resténose post-angioplastique est rarement associée à la survenue d'un infarctus du myocarde mais plutôt à des angines de poitrine.

Différences entre la formation de la plaque d'athérome et la resténose

Deuxième partie : Les facteurs de risque de la maladie coronaire et de la resténose : facteurs de susceptibilité génétique et facteurs environnementaux

A. Facteurs de risque environnementaux

I. Rappels sur les facteurs de risque environnementaux de la maladie coronaire et de la resténose

Les facteurs de risque environnementaux de la maladie coronaire sont nombreux et sont régis pour la plupart par nos conditions de vie et par nos habitudes alimentaires. En effet, un régime riche en lipides, en sel ou pauvre en fibres, en carbohydrates, en vitamines antioxydantes ou en acide α -linoléique contribue au développement de la maladie coronaire. L'obésité, une infection virale et le tabagisme (consommation quotidienne de tabac, durée du tabagisme) interviennent de façon majeure dans le développement de la pathologie coronaire. Des processus pathologiques tels que le diabète, l'hypertension, un déséquilibre du profil lipidique, une dysfonction du mécanisme de coagulation constituent aussi des facteurs de risque de pathologie coronaire. Quelques exemples de ces facteurs sont présentés ci-dessous.

I.1 Le diabète

Le diabète constitue un facteur de risque notoire de la maladie coronaire. L'insuline intervient dans la protection vis-à-vis de la maladie coronaire et c'est son déficit qui peut conduire au développement d'une sténose ou d'une resténose ou provoquer une vasoconstriction.

L'insuline entretient une vasodilatation en activant le système β -adrénergique et en inhibant la vasoconstriction qui est induite par l'angiotensine II et par la norépinéphrine. Elle réduit la formation du thrombus en augmentant la synthèse de PGI_2 par les plaquettes et limite la prolifération des CML en entrant en compétition avec l'IGF1 pour la fixation au niveau des récepteurs de ce dernier. L'insuline présente un pouvoir mitogène 50 fois inférieur à celui de l'IGF1. Ainsi en général, un déficit en insuline contribue-t-il à la pathogénèse de la maladie coronaire (Rabbani L. 1994). On peut observer cependant dans certains cas de diabète avec insuline élevée un risque augmenté de resténose.

1.2 L'influence du profil lipidique

Une altération de la synthèse, de la régulation de l'expression ou du mécanisme d'action de certains composants impliqués dans le métabolisme ou le transport du cholestérol participent au développement de la maladie coronaire. Une diminution de la fraction HDL-cholestérol, une élévation de la fraction LDL-cholestérol et une élévation du taux de triglycérides plasmatiques constituent des facteurs de risque reconnus de la maladie coronaire (Pyörälä K. 1994).

Cependant ces facteurs de risque de l'athérosclérose d'origine lipidique ne constituent pas pour l'ensemble des facteurs de risque de la resténose.

Une élévation de la concentration en cholestérol total et en LDL-cholestérol ne constitue pas des facteurs de risque directs de la resténose. Mais seule la lipoprotéine (a) (Lp(a)) a été décrite comme facteur de risque de resténose. Alors que de faibles taux de HDL cholestérol et une augmentation de la concentration de la Lp (a) sont des facteurs de risque majeurs. Le mécanisme d'action de la Lp (a) inhibe compétitivement la fixation du plasminogène à la surface des cellules endothéliales et de ce fait réduit l'activité du t-PA. D'autre part la Lp (a) augmente la synthèse et l'activité du PAI-1. Enfin, la Lp (a) inhibe le TGF- β et potentialise la prolifération des CML (Yamamoto H. 1995) (Hearn J. 1992) (Shah P. 1993). Une étude récente montre que les niveaux de Lp(a) sont significativement augmentés chez les sujets présentant une resténose après angioplastie par rapport aux sujets témoins (Horie H., 1997).

1.3 Les facteurs de coagulation

Une dysfonction du processus de coagulation est pathologique. Les patients qui développent une resténose après angioplastie présentent un équilibre prothrombique/antithrombique perturbé. Chez ces patients la concentration du fibrinogène, du t-PA et d'un marqueur de la sécrétion des plaquettes : le facteur plaquettaire 4 est augmentée (Benchimol D. 1993).

I.4 L'infection virale

Récemment, il a pu être démontré que l'infection à herpes virus tel que le cytomégalovirus humain prédisposait à la resténose ainsi qu'au développement de l'athérosclérose. En effet, une protéine constitutive du cytomégalovirus, la protéine IE 84 peut se fixer sur la protéine suppressive de tumeur (la protéine p53) et pourrait lever le rôle d'inhibition de la prolifération des CML joué par la p53 (Speir E. 1994) (Zhou Y. 1996).

II. Les facteurs de risque spécifiques de la resténose

II.1 Les facteurs de risque d'origine mécanique

a) Le délai entre deux angioplasties

Lorsqu'une resténose s'est formée au niveau du site d'angioplastie, la répétition du geste, c'est à dire procéder à une nouvelle angioplastie constitue le traitement préférable à la revascularisation dans la mesure où il y a déjà eu un succès lors de la procédure précédente. La majorité des resténoses surviennent dans les trois mois qui suivent l'angioplastie. Une resténose précoce, c'est à dire qui intervient dans un délai inférieur à trois mois après la dilatation, est souvent accompagnée d'angor instable.

Un délai court, soit inférieur à trois mois, entre les deux procédures modifie la composition de cette resténose récurrente qui est alors essentiellement composée par un thrombus et, constitue un facteur de risque important à la reformation d'une nouvelle sténose (Bauters C. 1992) (Landau C. 1994).

b) le ratio taille du ballon/taille du vaisseau

Le ratio diamètre du ballon/diamètre du vaisseau ainsi que la taille du diamètre du vaisseau constituent des éléments prédictifs considérables de la resténose. Plus ce ratio est élevé, plus il y a un risque de resténose. En effet, un diamètre du ballonnet important induit une forte dilatation ce qui augmente le risque de déchirure de la plaque et de la paroi. L'utilisation des endoprothèses coronaires réduit le risque de déchirure et de sur-étirement de la paroi (Schmitz H. 1996) (Foley D. 1994).

II.2 La nature de la lésion et du vaisseau avant l'angioplastie

Lorsque l'on compare chez un même patient, les résultats au contrôle après angioplastie sur deux lésions et deux vaisseaux différents, il apparaît que la lésion coupable de la survenue de l'infarctus est plus sévère ($p < 0.02$) et qu'elle induit une resténose plus importante que la lésion non coupable ($p < 0.01$). Cette différence exprime le fait que les facteurs locaux sécrétés au niveau de la lésion coupable au moment de l'angioplastie sont des déterminants majeurs de la resténose. Ces facteurs contribuent largement à l'agrégation plaquettaire entraînant alors au site d'angioplastie une vasoconstriction et une induction de la migration et de la prolifération des CML. D'autre part, la morphologie de la lésion coupable est plus complexe que la lésion non coupable (De Groote P. 1995).

Un étude récente démontre que l'instabilité de la lésion avant l'angioplastie constitue un facteur de risque important de resténose accélérée (Bauters C. 1996).

B. Les facteurs de susceptibilité génétique

L'influence des prédispositions génétiques a déjà pu être démontré dans des maladies multifactorielles telles que le développement d'athérosclérose, la survenue de l'infarctus du myocarde et la maladie d'Alzheimer.

La plupart des études génétiques ont pour but d'apprécier l'influence de l'hérédité sur la survenue et le développement de la pathologie concernée.

La part de la génétique dans le développement de la maladie est conséquente. Des études rétrospectives des antécédents familiaux de sujets victimes d'un accident coronarien révèlent qu'une surmortalité ainsi qu'une augmentation de l'apparition de phénomènes coronariens sont observées chez les apparentés de ces individus.

I. Facteurs de susceptibilité génétique des pathologies cardio-vasculaires, quelques exemples

Certains paramètres lipidiques sont en relation avec une susceptibilité à l'athérosclérose. Les résultats des travaux de Berg se rapportant à l'étude des niveaux plasmatiques de cholestérol, de triglycérides, d'apolipoprotéine B, d'apolipoprotéine A-I et

d'apolipoprotéine A-II dans deux populations de jumeaux, montrent qu'il existe une composante génétique dans la transmission de ces paramètres (Berg K. 1987).

Coefficient de corrélation entre les jumeaux

<i>Paramètres</i>	<i>Etude 1</i>	<i>Etude 2</i>
Cholestérol	0.34	0.68
Triglycérides	0.40	0.46
Apo-B	0.66	0.64
ApoA-I	0.53	0.55
ApoA-II	0.69	0.68

Tableau 3 : Estimation du taux de concordance sur la concentration des lipides et des lipoprotéines dans deux populations de jumeaux (d'après Berg K. et al).

Ces résultats sont retrouvés dans des études en population mesurant l'impact des facteurs de risque d'origine génétique sur la survenue et le développement des pathologies cardiaques :

- Dans une population d'adolescents de 15 à 20 ans, une association entre la variation des paramètres lipidiques sanguins et une prédisposition familiale à la survenue d'un infarctus du myocarde a pu être mise en évidence. Il s'agissait d'une étude cas/témoins où le groupe des cas était représenté par l'ensemble des adolescents (n=97) dont les parents avaient été victimes d'un infarctus du myocarde avant l'âge de 55 ans. Le groupe des témoins était constitué par 194 adolescents ne présentant pas d'antécédents familiaux de maladie coronaire. Il apparaît, que les adolescents avec des antécédents familiaux d'infarctus du myocarde ont un taux plasmatique d'HDL-cholestérol ($p < 0.0001$) et des concentrations en LpA-I (Lipoprotéine A-I) nettement diminués ($p < 0.0001$) (Amouyel P. 1993).

- Dans l'étude cas-témoins ECTIM (Etude Cas-Témoins de l'Infarctus du Myocarde), qui portait sur 558 cas et 739 témoins, l'influence du polymorphisme de répétition (TTA)_n de l'enzyme 3-hydroxy-3-méthyl-glutaryl coenzyme A reductase (HMG-CoA réductase) sur la survenue de l'infarctus du myocarde a pu être examinée. Ce polymorphisme est constitué de 8 allèles majeurs classés de 10 à 17 répétitions. La fréquence de l'allèle 15 dans le groupe témoin 20.9% est plus importante que dans le groupe des cas 14.6% ($p < 0.004$). Il existe donc

un effet protecteur de l'allèle 15 contre la survenue de l'infarctus du myocarde (OR = 0.65; Intervalle de confiance à 95% = [0.48-0.88]). De plus, l'allèle 15 est moins fréquent chez les sujets ayant des antécédents familiaux de survenue d'infarctus du myocarde 13.9% contre 20.9% chez les autres sujets ($p=0.02$), (OR=0.65; Intervalle de confiance à 95% = [0.43-0.96]) (Brousseau T. 1995).

Ces trois études illustrent donc le fait que l'hérédité a une incidence sur le développement et l'apparition des pathologies cardiaques.

Les études génétiques qui visent à démontrer l'existence et l'impact de facteurs génétiques sur l'apparition et l'évolution, répondent à des critères précis. En effet certaines lois, qui seront évoquées ultérieurement, régissent le choix du type d'étude (étude familiale ou en population), le choix des marqueurs qui seront utilisés et l'interprétation des résultats obtenus.

II. Différentes stratégies d'étude des facteurs de susceptibilité génétique

Il existe deux types d'approche pour mettre en évidence des facteurs de susceptibilité génétique intervenant dans le déterminisme des maladies multifactorielles.

II.1 Les études familiales

L'intérêt des études familiales est qu'elles permettent de mettre en évidence dans des familles une **coségrégation** (c'est à dire une liaison) entre un marqueur polymorphe et la maladie ou l'anomalie étudiée. Pour les maladies complexes, les études de liaison sont généralement effectuées chez des paires de germains, plus adaptés à l'étude des maladies multifactorielles. Si on observe un excès de concordance entre la transmission de l'allèle et la maladie, cela suggère que le marqueur est situé à proximité d'un gène contribuant à la survenue de la maladie. Et, lorsqu'aucune liaison n'est mise en évidence, il est possible d'écarter la responsabilité de ce gène. Ces **études de liaison génétique** permettent l'identification de nouveaux gènes.

II.2 Les études en population

Les études d'individus non apparentés en population permettent d'identifier une association entre un marqueur d'un gène pour lequel on soupçonne sur des bases biologiques son implication et une maladie. Il s'agit de l'approche de type **gène candidat** (Cambien, 1991).

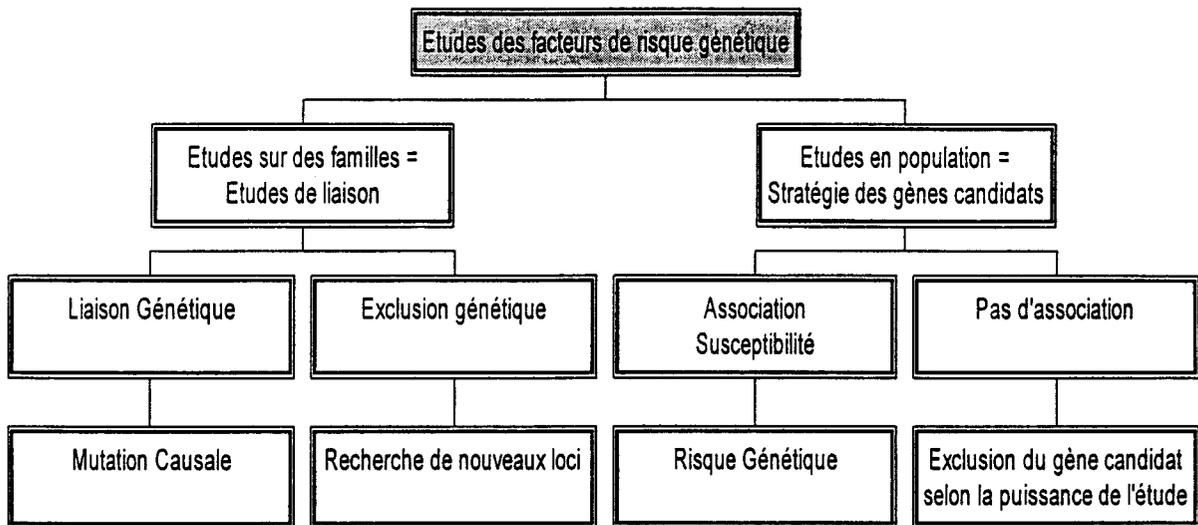


Figure 9 : Les différentes approches dans le déterminisme génétique des maladies multifactorielles.

III. Différents types de polymorphismes

Pour localiser une mutation causale de la maladie on utilise une autre mutation proche, un **marqueur génétique**. Un **polymorphisme** est un variant génétique défini conventionnellement par une fréquence allélique excédant 1% dans une population donnée et qui peut constituer une mutation causale ou un marqueur génétique. Dans l'ADN génomique des organismes supérieurs, la séquence à un emplacement strictement défini sur le génome c'est à dire à un **locus** donné peut varier d'un individu à l'autre au sein d'une même espèce. Ces variations stables sont transmises de manière **mendélienne** et constituent les polymorphismes génétiques : ce sont des marqueurs génétiques. Les différentes versions de ce marqueur génétique au niveau d'un même locus constituent des **allèles**. (Benlian P. 1996).

Il existe deux grands types de polymorphismes : les variations ponctuelles du génome et les polymorphismes de répétition.

III.1. Les variations ponctuelles du génome

Les polymorphismes de restriction ou RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) constituent des variations ponctuelles de l'ADN qui touchent les sites de reconnaissance d'enzyme de restriction. Les RFLP sont des polymorphismes bi-alléliques. Ces polymorphismes sont mis en évidence par l'amplification de la région encadrant le polymorphisme puis digestion par des enzymes de restriction et visualisation par simple électrophorèse.

Lorsque ces mutations ponctuelles du génome ne correspondent pas à des sites de restriction, l'analyse est possible par l'hybridation avec des sondes spécifiques marquées (ASO) ou par des techniques plus poussées de détection de mutation ponctuelle comme la SSCP (Single-Strand Conformation Polymorphism) ou la DDGE (Denaturing Gradient gel Electrophoresis). La SSCP utilise le principe d'une modification de la conformation tridimensionnelle d'un brin de DNA et la DDGE la modification de la température de fusion (T_m) lorsque le brin de DNA étudié présente une mutation ponctuelle.

III.2 Les polymorphismes de répétition

Le génome est constitué en grande partie d'éléments identiques de tailles diverses, dont certains sont répétés à la suite les uns des autres.

Il existe deux catégories de polymorphismes de répétition : les minisatellites et les microsatellites.

Les minisatellites ou VNTR (Variable Number of Tandem Repeat) ont été découverts par Jeffreys en 1985 (Jeffreys A. 1985) et correspondent à des séquences de plus de 10 nucléotides répétés en tandem. Un grand nombre d'allèles apparaît avec ce type de répétitions, d'où le caractère très polymorphe de ces variations génomiques.

Les microsatellites sont constitués par la répétition en tandem de très courtes séquences de 1 à 4 nucléotides. Ces polymorphismes sont aussi très abondants et multi-alléliques. Ces deux types de polymorphismes sont analysés par une électrophorèse sur gel d'acrylamide du produit d'amplification de la séquence nucléotidique comportant le polymorphisme.

IV La loi de Hardy-Weinberg

Cette loi constitue l'hypothèse de base des études génétiques.

En 1908, Hardy et Weinberg démontrent que l'équilibre des fréquences alléliques est régi par l'existence d'une loi mathématique. Cette loi dans sa forme la plus simple a été décrite pour un locus autosomique biallélique.

Cette loi stipule dans un premier temps, que les fréquences alléliques et génotypiques d'un locus restent inchangées au fil des générations dans une très grande population dans laquelle les mariages s'effectuent au hasard, sans chevauchement de générations, sans migration, ni sélection.

Dans un deuxième temps, cette loi permet de prévoir les fréquences génotypiques à partir de la connaissance des fréquences alléliques et inversement. Si les allèles A et a d'un locus biallélique ont des fréquences respectives p et q (avec $p+q=1$), les trois génotypes possibles AA, Aa et aa ont des fréquences respectives égales à p^2 , $2pq$ et q^2 . La répartition de l'ensemble des génotypes peut se noter :

$$p^2 (AA) + 2pq (aA) + q^2(aa).$$

Une population présentant ces fréquences génotypiques est dite en équilibre de Hardy-Weinberg pour le locus considéré.

Ces fréquences sont atteintes en une génération quelles que soient les fréquences initiales et demeurent constantes d'une génération à une autre.

Dans le cas général d'un locus à n allèles A_i , de fréquences alléliques p_i la répartition de l'ensemble des génotypes dans la population s'écrit :

$$\sum_i p_i^2 (A_i A_i) + \sum_{i \neq j} p_i p_j (A_i A_j)$$

(Amouyel P. 1989)

S'il existe un écart significatif entre les fréquences observées et les fréquences respectives théoriques des différentes formes génotypiques, les populations ne sont pas en équilibre. L'écart à l'équilibre est calculé par un test du χ^2 .

V. L'informativité des polymorphismes

L'**informativité** correspond à la probabilité d'un individu d'être hétérozygote au locus considéré, c'est à dire de porter à la fois deux allèles différents.

Cette probabilité dépend de la fréquence des allèles dans la population et du nombre d'allèles pour la variation génomique considérée. Un marqueur multiallélique est beaucoup plus informatif qu'un marqueur biallélique car il comporte un grand nombre d'allèles et présente donc un degré d'hétérozygotie élevé (nombre de génotypes hétérozygotes / nombre de génotypes totaux).

Un polymorphisme est d'autant plus intéressant comme marqueur qu'il est informatif. Les polymorphismes de restriction sont souvent décrits comme des polymorphismes peu informatifs puisqu'ils ne génèrent que deux allèles. Il est possible pour ces polymorphismes de restriction de combiner les informations provenant de plusieurs polymorphismes contigus, ce qui conduit à un nombre théorique de 2^n **haplotypes** de restriction (n représente le nombre de polymorphismes bialléliques). L'haplotype de restriction est représenté par l'assortiment des allèles figurant sur chaque chromosome. Les polymorphismes de répétitions sont considérés comme très informatifs puisque multialléliques.

Le calcul de l'informativité ou PIC (polymorphism Information Content) d'un polymorphisme repose sur la loi de Hardy-Weinberg. Le pourcentage maximum d'hétérozygotie est de $2pq$.

$$PIC = 1 - (p_A^2 + 2p_Aq_a + q_a^2)$$

(Benlian P. 1996).

Cette formule peut être généralisée pour un locus polymorphe à s allèles de fréquence p_i pour l'allèle A_i :

$$PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^s p_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{s-1} \sum_{j=i+1}^s 2p_i^2 * p_j^2$$

(Amouyel P. 1989)

VI. Le déséquilibre de liaison

Le nombre théorique d'haplotypes est de 2^n , mais bien souvent le nombre d'haplotypes de restriction est inférieur au nombre théorique ce qui traduit un déséquilibre de liaison. C'est Jennings et Robbins qui les premiers ont étudié ce concept de déséquilibre de liaison.

Le déséquilibre de liaison met en évidence l'existence d'une association allélique, entre deux loci différents, plus fréquente dans la population que si elle était due au hasard. Ce déséquilibre est plus précisément défini comme la différence (D) entre la fréquence d'une association allélique à 2 loci différents (p_{AB}) et le produit des fréquences de ces allèles à chacun des loci (p_A et p_B).

$$D = p_{AB} - p_A * p_B$$

La signification de l'association est donnée par le test du χ^2 .

Si $D=0$, $p_{AB}=p_A * p_B$, il n'y a pas de liaison entre les gènes A et B, les gènes A et B sont indépendants. On parle alors d'équilibre entre les deux loci.

Si D diffère significativement de zéro, il y a alors un déséquilibre de liaison.

Ce déséquilibre de liaison qui existe entre deux loci évolue suivant les générations sous l'effet des recombinaisons (Feingold J. 1991).

VII. L'approche gènes candidats

Enfin, l'étude des facteurs de risque génétiques d'une maladie par l'utilisation des gènes candidats nécessite une bonne connaissance des mécanismes physiopathologiques qui régissent l'apparition et le développement de cette pathologie.

Cette approche suppose que certains facteurs intervenant dans une voie métabolique soient identifiés et suspectés comme impliqués dans la pathogénèse de certaines affections.

La stratégie d'étude d'un gène candidat comprend les étapes suivantes :

- la sélection d'un gène
- l'obtention de la séquence nucléotidique de ce gène et notamment celle de ses régions codantes et régulatrices
- l'identification des variations de ces séquences dans un groupe de sujets sélectionnés
- la mesure des phénotypes intermédiaires comme par exemple, le taux plasmatique de la protéine codée par le gène

- la recherche par des études cas-témoins, des associations entre génotypes, phénotypes intermédiaire et maladies
- l'évaluation de la fonctionnalité des polymorphismes associés aux phénotypes.

Le choix d'une population d'étude représentative de la population est indispensable. Idéalement, les patients et les témoins doivent être répartis en deux groupes de façon aléatoire à partir d'une même population et pour une même période de recrutement (Cambien F. 1996).

C. Quelques gènes candidats : les gènes du système rénine-angiotensine

A travers les multiples actions de l'angiotensine II, le système rénine-angiotensine participe à l'homéostasie cardio-vasculaire. Deux enzymes clés interviennent dans ce système. Il s'agit de la rénine qui convertit l'angiotensinogène en angiotensine I et de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (ECA) qui transforme l'angiotensine I inactive en un puissant vasoconstricteur : l'angiotensine II (Jeunemaitre X. 1992).

En 1898, Tigerstedt découvre une substance vasoconstrictrice à partir d'un extrait de rein de lapin qu'il nomme rénine. Dans les années 50, l'équipe de Skeggs détermine la structure de l'angiotensine I et découvre que ce décapeptide est converti en un octapeptide, l'angiotensine II (Skeggs L. 1981).

Au niveau cardio-vasculaire, l'angiotensine II agit par l'intermédiaire de ses récepteurs spécifiques, les récepteurs de l'angiotensine II de type 1, de type 2 et de type 3 (AT1, AT2 et AT3) qui ont des fonctions et des répartitions tissulaires différentes. L'angiotensine II déclenche la prolifération des cellules musculaires lisses ainsi qu'une vasoconstriction directe ou indirecte.

L'ECA a également pour effet de dégrader la bradykinine, puissant vasodilatateur et un inhibiteur de la prolifération des CML. Par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques, la bradykinine induit la libération de médiateurs vasodilatateurs tels que le NO et la PGI₂ au niveau des cellules endothéliales (Figure 10).

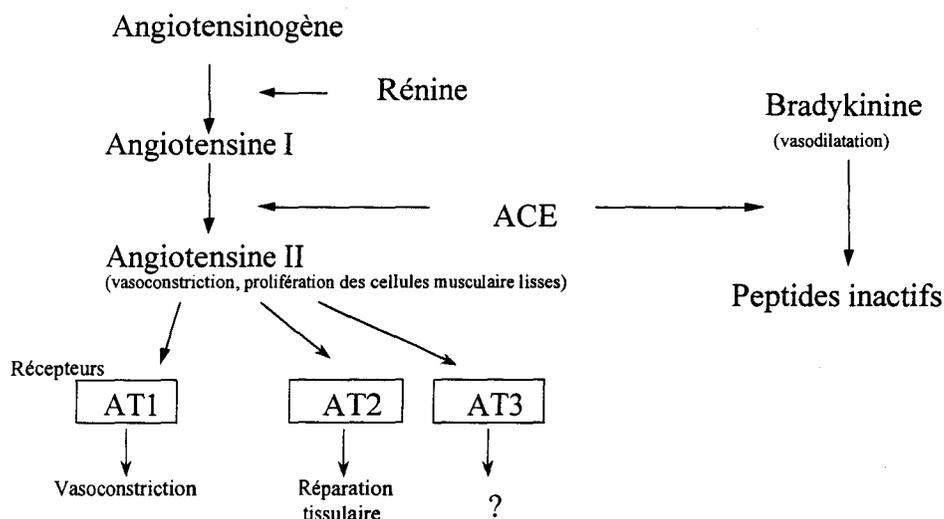


Figure 10 : Le système rénine-angiotensine cardio-vasculaire (schéma simplifié).

I. L'enzyme de conversion de l'angiotensine I

L'enzyme de conversion de l'angiotensine I (ECA) ou dipeptide carboxypeptidase I (EC 3.4.15.1) est une hydrolase peptidyl-dipeptidique qui appartient à la famille des métallo-enzymes à zinc. Cette enzyme existe sous trois formes :

- une forme membranaire, la plus répandue, de poids moléculaire 160Kd
- une forme circulante soluble de 140Kd
- une forme testiculaire de 90Kd.

Cette enzyme est ubiquitaire. La forme membranaire est la plus souvent retrouvée et se présente sur les cellules endothéliales et épithéliales, les neurones, les macrophages et les cellules germinales mâles. Cette enzyme est aussi retrouvée sous sa forme circulante dans le plasma sécrétée par l'endothélium vasculaire (Caldwell P. 1976).

A la surface des cellules endothéliales, l'ECA hydrolyse l'angiotensine I circulante, un décapeptide inactif, en un octapeptide vasoconstricteur : l'angiotensine II. Parallèlement, elle inactive la bradykinine qui est un vasodilatateur.

I.1 Génétique de l'ECA

a) Gène de l'ECA

Le gène de l'ECA a pu être localisé sur le chromosome 17 en position 17q23 (Jeunemaitre X. 1992). Ce gène a une longueur de 21 Kilobases et comprend 26 exons. Sa séquence codante est longue de 4.3 Kb et code pour une protéine de 1306 acides aminés qui inclut un peptide signal de 29 acides aminés. Une duplication génique apparue très tôt dans l'évolution serait à l'origine de la présence dans ce gène de deux domaines homologues de 8 exons ainsi que de deux promoteurs alternatifs.

Deux ARN messagers (ARNm) différents peuvent être transcrits à partir du gène de l'ECA. Le plus grand des deux ARNm (4.3 Kb) est obtenu à partir de la transcription des exons 1 à 26, à l'exception de l'exon 13. Il s'agit de l'ARN messenger correspondant à l'ECA de type endothélial. Le second ARN messenger encode 67 acides aminés et correspond à l'ECA testiculaire. Cet ARNm est transcrit à partir des exons 13 à 26 (Hubert C. 1991).

b) Gène de l'ECA et polymorphismes

En 1990, Rigat *et al* mettent en évidence l'existence d'un polymorphisme d'Insertion/Délétion situé dans le gène de l'ECA. Ce polymorphisme consiste en la présence Insertion (I), ou l'absence, Délétion (D), d'une séquence répétitive de type *Alu*, de 287 paires de bases, située dans l'intron 16 du gène de l'ECA (Rigat B. 1990). Les fréquences alléliques de ce polymorphisme, déterminées dans une population de sujets sains sont : $p(D)=0.57$ et $p(I)=0.43$ (Rigat B. 1992).

D'autres polymorphismes du gène de l'ECA ont pu être décrits. Deux d'entre eux se situent en position -201 et -152 en amont de l'exon 8. Au niveau de la position -201, il s'agit d'une substitution nucléotidique d'une adénine en guanine et d'une Insertion/Délétion d'une adénine au niveau de la position -152. L'haplotype guanine en position -201 et délétion dans l'intron 16 a pu être associé au développement d'une néphropathie diabétique (Doria A. 1994b).

A ce jour, dix autres polymorphismes ont été identifiés dans ce gène. Cinq de ces polymorphismes ont pu être localisés dans la région 5' du gène et trois autres dans la région 3' (Villard E. 1996).

1.2 Taux plasmatique d'ECA et polymorphisme d'Insertion/Délétion du gène de l'ECA

La notion de déterminisme génétique du taux circulant de l'ECA est apparue pour la première fois en 1988. En effet, le taux plasmatique de cette enzyme est très variable entre individus mais reste stable chez un individu donné. Il est indépendant de l'âge, de la taille, du poids et de la pression sanguine.

Une étude familiale réalisée à Nancy apporte des éléments démontrant l'existence d'une ressemblance familiale quant au taux d'ECA dans des familles de sujets sains. Cette observation est expliquée par la ségrégation d'un gène majeur à effet co-dominant : le gène de l'ECA lui-même (Cambien F. 1988).

Il a pu être estimé que le polymorphisme d'Insertion/Délétion situé dans l'intron 16 du gène de l'ECA est responsable de 40 à 50% de la variation de la concentration plasmatique de l'enzyme. Ainsi, les sujets homozygotes DD présentent un taux plasmatique d'ECA plus élevé que les sujets hétérozygotes, présentant eux-mêmes un taux plus élevé que les sujets homozygotes pour l'allèle I. Dans cette étude, les fréquences alléliques observées sont de 0.406 pour l'allèle I et de 0.594 pour l'allèle D. La concentration plasmatique d'ECA est de 299, 393 et 494 µg/L pour les génotypes II, ID, DD respectivement (Rigat B. 1990).

D'autres études ont été menées pour rechercher d'autres marqueurs associés à la variation du taux plasmatique de l'enzyme. Dans une seconde étude familiale : l'étude Nancy 2, une modélisation et une analyse combinée de ségrégation/linkage entre le polymorphisme I/D du gène de l'ECA et un variant fonctionnel potentiel situé dans le gène de l'ECA ont permis de réévaluer l'impact de l'allèle D sur la variation du taux plasmatique de l'ECA. Dans cette étude, ce variant théorique expliquerait 44% de la variation de la concentration plasmatique de cette enzyme et l'influence de l'allèle D lui-même ne serait que de 28%.

Ces travaux tendent à montrer que le polymorphisme I/D du gène de l'ECA constitue un déterminant majeur de la variation du taux de l'enzyme, fortement associé à un variant

fonctionnel situé dans, ou à proximité du gène de l'ECA (Rigat B. 1992) (Tiret L. 1992). Une analyse combinée de ségrégation/linkage effectuée par Villard *et al* entre dix polymorphismes du gène de l'ECA et le polymorphisme I/D suggère l'existence de plusieurs marqueurs responsables de la variation du taux plasmatique de l'ECA (Villard E. 1996).

L'ECA s'exprime dans les lymphocytes T. Cette expression ne semble pas être affectée *in vivo* ni des facteurs environnementaux, ni par des facteurs humoraux. L'activité de l'ECA dans les lymphocytes T chez les sujets homozygotes pour l'allèle D est supérieure à celle observée chez les sujets ID et II. Cette activité est donc elle aussi sous la dépendance du polymorphisme I/D de l'ECA (Costerousse O. 1993).

Enfin, le taux d'ECA est associé à la survenue de l'infarctus du myocarde et cette association est partiellement déterminée par le polymorphisme I/D (Cambien F. 1992, 1994b).

1.3 Implication du polymorphisme I/D dans la survenue de l'infarctus du myocarde

Trois mécanismes indépendants concourent au développement de la pathologie coronaire. Il s'agit de la formation de la plaque d'athérome, d'une vasoconstriction et de la formation d'une thrombose. Dans ses manifestations extrêmes, la maladie coronaire conduit à la survenue d'un infarctus du myocarde. Le risque attribuable à la survenue de chacun de ces processus, influence le risque de survenue d'infarctus du myocarde.

Une activité élevée de l'ECA pourrait favoriser une vasoconstriction chronique dans des régions spécifiques de l'artère et exacerberait ainsi la réponse brutale aux agents vasoconstricteurs en induisant la production d'angiotensine II et en dégradant la bradykinine. De plus, en modulant les effets de l'angiotensine II et de la bradykinine sur la croissance cellulaire, des taux élevés d'ECA peuvent théoriquement influencer positivement la croissance et la prolifération des cellules musculaires lisses et potentialiser la production de PAI-1 participant ainsi à la thrombogénèse (Ridker P. 1993).

En ces termes le polymorphisme d'Insertion/Délétion du gène de l'ECA constitue donc un gène candidat intéressant de la maladie coronaire et de la survenue de l'infarctus du myocarde.

a) Le polymorphisme I/D et la survenue de l'infarctus du myocarde

En 1992, l'existence d'un facteur de risque génétique impliqué dans la survenue de l'infarctus du myocarde a été mis en évidence dans une étude cas/témoins multicentrique : l'étude ECTIM. Dans cette étude, le groupe des cas est constitué par l'ensemble des hommes survivants à un infarctus du myocarde, recrutés 3 à 9 mois après l'évènement.

Une augmentation du risque d'infarctus des porteurs du génotype DD dans le groupe des patients survivants d'IM par rapport au groupe témoin est observée (OR=1.34 , p=0.007). Il en résulte que l'allèle D est un facteur de risque potentiel de survenue de l'IM. L'influence du génotype DD sur la survenue de l'IM est indépendante des facteurs de risque classiques tels que les variables lipidiques, un BMI (rapport poids/(taille)²) élevé, la consommation de tabac, une augmentation de la concentration de facteurs pro-coagulants et une pression sanguine élevée. Cette observation a conduit à l'examen de la distribution du génotype DD chez les sujets présentant un faible risque d'IM, c'est-à-dire des sujets avec un BMI < 26 kg.m⁻², un taux d'apolipoprotéine B < 125mg.dL⁻¹ et non traités par des hypolipémiants. Chez ces sujets dits « à bas risque » de survenue d'infarctus du myocarde, la fréquence du génotype DD est augmentée chez les survivants d'IM par rapport aux témoins (OR=3.2; p<0.0001) (Tableau 4).

Le génotype DD pourrait constituer donc un déterminant important de l'IM, surtout chez les patients indétectables par la mesure des facteurs de risque classiques. Le risque relatif attribuable à ce génotype varie de 8% pour l'ensemble de la population à 35% chez les sujets à bas risque d'infarctus du myocarde (Cambien F. 1992).

<i>Génotypes</i>	<i>Etude ECTIM (population totale en %)</i>		<i>Etude ECTIM (sujets à bas risque d'IM en %)</i>	
	<i>Cas</i>	<i>Témoins</i>	<i>Cas</i>	<i>Témoins</i>
<i>DD</i>	32.3	27.3	48.1	24.3
<i>ID + II</i>	67.7	72.7	51.9	75.7
<i>Odds ratio Ajustés</i>	1.34		3.2	

Tableau 4 : Distribution des génotypes de l'ECA dans la population de l'étude ECTIM et dans un sous-groupe de cette population : les sujets à bas risque d'infarctus du myocarde.

b) Relation entre le polymorphisme I/D et les antécédents familiaux d'IM

Devant cette première observation, on s'attendait à ce que les apparentés d'individus ayant présenté une maladie cardio-vasculaire (CHD ou Coronary Heart Disease) aient à leur tour un risque plus élevé que les autres individus de présenter cette pathologie. En effet, les individus ayant des antécédents parentaux d'infarctus du myocarde ont une fréquence augmentée de l'allèle D du gène de l'ECA par rapport aux sujets témoins. Ainsi dans l'étude ECTIM, il a pu être mis en évidence que la relation qui existe entre le génotype DD et les antécédents familiaux d'infarctus du myocarde est plus importante (OR=2.6; $p < 0.002$) que celle qui existe chez les sujets ID (OR=1.9; $p = 0.008$) (Tiret L. 1993). Les travaux de l'équipe de Wang ainsi que ceux de l'équipe de Badenhop confirment que le polymorphisme I/D du gène de l'ECA est associé à des antécédents familiaux et que cette association est conservée lorsqu'il s'agit d'antécédents familiaux du second degré (Wang X. 1996) (Badenhop R. 1995).

c) Polymorphisme I/D et maladie coronaire, confirmation des résultats de l'étude ECTIM

Des études supplémentaires sont nécessaires pour confirmer l'implication de l'allèle D dans le déterminisme de l'IM.

Dans l'étude ECTIM, les sujets sont des hommes survivant d'infarctus du myocarde, recrutés 3 à 9 mois après l'événement. Cependant, environ 30% des patients décèdent d'un IM

sévère avant de pouvoir bénéficier de soins médicaux (Tunsdall-Pedoe H. 1994). Par conséquent, un biais de sélection des sujets dû à la perte de patients au génotype DD et décédés d'un IM au jour du recrutement pour cette étude peut être envisagé (Lindpainter K. 1995).

Dans une étude similaire à l'étude ECTIM, effectuée sur des patients, hommes et femmes, survivant d'infarctus du myocarde, recrutés en moyenne 4 ans après l'accident, on observe une augmentation de la fréquence du génotype DD dans le groupe des patients à faible risque d'IM par rapport au groupe des témoins. Cependant, cette différence n'est pas significative. Là aussi, le décès d'un certain nombre de sujets DD avant le recrutement serait probablement à l'origine de l'absence de signification de la différence observée dans la distribution des génotypes entre les cas et les témoins (Bohn M. 1993).

Pour vérifier cette hypothèse de la perte d'un certain nombre de sujets ayant eu un IM avant le début du recrutement, Evans a analysé la distribution des génotypes de l'ECA dans une population de patients décédés des suites d'une pathologie cardiaque comparée à une population de sujets témoins (les témoins de l'étude ECTIM originaires du centre de Belfast). Les résultats de cette étude autopsique viennent confirmer les hypothèses précédentes, renforçant l'idée selon laquelle l'allèle D constitue bien un déterminant majeur d'IM. Dans cette dernière étude les Odds Ratio des génotypes DD/II sont de 2.2 et ceux des génotypes ID/II de 1.8; $p=0.01$ (Evans A. 1994).

D'autres études ont été menées sur différentes populations pour confirmer l'association entre le génotype DD et la survenue de l'IM.

Au premier abord, il semble qu'il existe une hétérogénéité des résultats (Tableau 5). Pourtant, une méta-analyse montre que les informations fournies par ces études ne sont pas aussi discordantes qu'elles le laissent paraître. La plupart de ces études confirment le fait que l'allèle D constitue un facteur de risque majeur de la survenue de l'infarctus du myocarde et ce, surtout chez les sujets considérés à faible risque (Samani N. 1996b). Les génotypes DD, ID et II ont des implications distinctes au niveau de l'incidence de l'IM, ce qui suggère que la présence d'un seul allèle D suffit pour constituer un facteur de risque. La plupart des études retrouvent cette implication de l'allèle D dans le déterminisme de l'IM, surtout chez les sujets

à bas risque d'IM (Ruiz J. 1994) (Evans A. 1994) (Arbustini E. 1995) (Ludwig E. 1995) (Talmud P. 1995).

Les Odds Ratio entre les génotypes et la survenue de l'IM estimés pour l'ensemble de ces études sont résumés dans le Tableau 5.

	Cas (%)			Témoins (%)			p(D)	p(H-W)	Odds Ratio
	DD	ID	II	DD	ID	II			
<i>Populations caucasiennes</i>	32	48	20	29	50	22	0.54	0.76	1.18
<i>Populations japonaises</i>	39	35	26	19	40	41	0.39	0.004	2.55
<i>Total</i>	33	47	20	28	49	23	0.53	0.18	1.26

Tableau 5 : Distribution des génotypes et des fréquences alléliques dans différentes études; p (H-W) : exclusion de l'hypothèse de Hardy-Weinberg (d'après Samani *et al*).

Cependant, si bien souvent le rôle majeur de l'allèle D est reconnu dans le déterminisme de l'IM, l'implication de cet allèle comme facteur de risque dans la pathologie coronaire n'est pas démontré.

En se basant sur des critères cliniques, certaines études montrent que le polymorphisme de délétion de l'ECA constitue un facteur de risque de la maladie coronaire (Nakai K. 1994) (Mattu R.1995) (Arbustini E. 1995). Cependant, lorsque la ségrégation des cas et des témoins est effectuée selon des critères angiographiques ou scintigraphiques, aucun lien entre l'allèle D et la maladie coronaire ne peut être mis en évidence (études de Ludwig, de Talmud, de Friedl et de Miettinen) (Tableau 6).

Une augmentation du taux d'ECA plasmatique mesuré chez des souris transgéniques prédisposées au développement d'une plaque d'athérome (souris « knock-out » pour le gène de l'Apo E), n'affecte en rien la taille ou la complexité de la plaque d'athérome dans ce modèle animal (Krege J. 1997). Cette étude chez ces souris transgéniques permet de vérifier les résultats précédents ne permettant pas de mettre en évidence de relation entre la présence de l'allèle D et la formation de la plaque d'athérome.

L'allèle D ne semble donc pas impliqué dans l'étiologie de l'athérosclérose et n'intervient ni dans la sévérité ni dans la complexité de la sténose, mais cet allèle constitue néanmoins un facteur de risque majeur de la survenue de l'IM.

d) Mesure de l'impact de l'allèle D sur la survenue de l'IM dans de grands échantillons

Le nombre de sujets dans chaque étude est important pour évaluer le risque d'IM associé au génotype DD et est discuté dans de nombreux travaux. Pour un Odds Ratio de 1.26 (Odds Ratio estimé lors de la méta-analyse de Samani), le risque d'IM assumé par le génotype DD est d'environ 26%. Environ 1400 sujets sont nécessaires dans chaque groupe d'une enquête cas/témoins pour observer une différence entre les génotypes DD et ID/II avec une puissance de 80% et une probabilité de 0.05. Si l'impact du génotype reste faible, plus de 5000 individus dans chaque groupe sont nécessaires pour observer une différence entre les génotypes II et ID (Samani N. 1996b). Cependant, la fréquence du génotype DD observée dans un groupe de 1250 médecins américains de sexe masculin avec une CHD ne diffère pas significativement de celle considérée chez 2340 sujets témoins (Lindpaintner K. 1995).

Deux autres grands échantillons d'une population danoise ont été utilisés pour déterminer l'existence d'une association entre l'allèle D et l'IM : une étude cas/témoins de l'infarctus du myocarde et des maladies ischémiques sur 10150 individus et, une étude rétrospective sur 7263 patients survivants d'IM (Agerholm-Larsen B. 1997). Dans ces deux études, la présence de l'allèle D du gène de l'ECA ne confère aucune augmentation significative du risque de cardiopathie ischémique ou d'infarctus du myocarde. L'influence de l'allèle D sur le risque d'infarctus constitue un problème complexe et controversé (Teo K. 1995).

Ces résultats soulèvent une ambiguïté quant à l'association retrouvée de façon relativement homogène dans les études Cas/Témoins entre le polymorphisme I/D et le risque de survenue d'IM.

Il est nécessaire d'effectuer d'autres études prospectives sur d'autres grands échantillons de population pour étudier cette association.

Etudes	Population	Groupes de sujets	Caractérisation des cas	Résultats
<i>Evans et al</i>	Hommes caucasiens	- 214 cas décédés de CHD - témoins de l'étude ECTIM (Belfast).	Les cas sont classés en IM possibles et IM certains, selon les symptômes classiques.	Association entre l'allèle D et l'IM/mort subite (DD/II, OR=2.2; ID/II, OR=1.8, p=0.001).
<i>Leatham et al</i>	Hommes et femmes caucasiens	- 108 IM - 348 témoins.	Patients consécutifs, pas d'angiographie réalisée sur ces patients.	Fréquence augmentée des sujets DD dans le groupe des sujets survivants d'IM, comparativement au groupe des témoins (p=0.024).
<i>Bohn et al</i>	Hommes et femmes caucasiens	- 234 survivants d'IM - 366 témoins.	Survivants d'IM environ 4 ans après le dernier IM, pas d'angiographie sur ces sujets.	Fréquence augmentée des sujets DD chez les sujets à bas risque d'IM mais résultat non significatif.
<i>Ludwig et al</i>	Hommes et femmes caucasiens	- 697 cas dont 462 CAD+ - 203 témoins.	Angiographie uniquement pour les cas. Les témoins sont des donneurs de sang locaux.	Association entre l'allèle D et IM chez les patients avec une sténose significative >60% (OR = 1.59, p=0.02), chez les hommes CAD+ (OR=1.40, p=0.263). Pas d'association entre l'allèle D et le développement de l'athérosclérose.
<i>Talmud et al</i>	Caucasiens	- 23 individus avec un traitement hypolipémiant - 50 autres avaient un taux bas de cholestérol.	482 segments coronaires sont obtenus à partir de ces sujets et analysés angiographiquement.	Association du génotype DD et IM chez les sujets à bas risque. Lien du génotype avec la progression de CAD chez les sujets avec des taux bas de LDL, mais résultat non significatif.
<i>Ruiz et al</i>	Caucasiens, hommes et femmes NIDDM	- 316 sujets dont 132 cas avec un IM et 46 avec une sténose significative - 184 témoins.	Sujets survivants d'IM (défini selon critères classiques). Seuls 46 sujets avec une CHD ont bénéficié d'une angiographie.	Pour la population générale, liaison entre le génotype DD et CHD (DD/II, OR =2.35; ID/II, OR=1.14, p<0.007). Chez les hommes <65 ans (DD/II, OR=3.88, ID/II OR=1.76, p<0.005).
<i>Mattu et al</i>	1226 hommes caucasiens	- 107 CAD possibles - 297 CAD - 822 témoins.	Sujets CAD+ définis selon les critères classiques. Aucune angiographie ou scintigraphie n'est effectuée, témoins asymptomatiques.	Chez les sujets à faible risque de CAD (n=135), association entre l'allèle D et CAD (DD/II, OR= 2.75 p<0.01).
<i>Arbustini et al</i>	Hommes caucasiens	- 388 cas dont 255 CAD+ et 133 CAD- - 290 témoins.	286 des 388 cas ont eu une angiographie lors de leur séjour hospitalier pour définir leur statut coronarien.	Association entre l'allèle D et la CAD (DD/II; OR=5.78, p<0.001; ID/II OR=2.39, p=0.006). Association entre l'allèle D et l'IM (DD/II OR=2.56, p=0.007; ID/II OR=1.96, p=0.056).
<i>Fiedl et al</i>	Hommes et femmes australiens caucasiens	- 315 CHD+ - 149 témoins.	300 des 315 survivants d'IM et ont des lésions coronaires angiographiquement sévères.	Pas d'association entre l'allèle D et l'incidence de CAD.
<i>Miettinen et al</i>	Caucasiens	- 55 IM sévères - 35 sujets avec une angine de poitrine - 50 témoins.	Les patients avec une angine de poitrine ont bénéficié d'une scintigraphie.	Pas d'association de l'allèle D et CHD, mais la population est jeune (âge moyen = 45 ans).

Tableau 6 : Caractéristiques de différentes études de l'association entre le polymorphisme I/D et les pathologies cardio-vasculaires. CHD+=CAD+= présence d'une maladie coronaire; CHD-= CAD- = absence de maladie coronaire

1.4 Influence du polymorphisme I/D de l'ECA sur la prévalence d'autres pathologies cardiologiques

Vingt à 40 % de la pression sanguine interindividuelle serait déterminée génétiquement (Jeunemaitre X. 1992) C'est le système rénine-angiotensine qui constitue une cible privilégiée d'agents pharmacologiques antihypertenseurs et qui est de loin le système qui fournit le plus de gènes candidats à la variation de la pression sanguine.

L'hypothèse la plus souvent formulée quant au contrôle génétique de la pression sanguine est que le polymorphisme I/D de l'ECA à travers les taux plasmatiques d'ECA influencerait les concentrations de l'angiotensine II et de la bradykinine dans la circulation locale et périphérique.

Cependant, la plupart des études visant à vérifier cette hypothèse ont démontré qu'il n'existe aucune corrélation entre la présence d'un allèle D et une augmentation de la pression sanguine (Jeunemaitre X. 1992) (Thibonnier M. 1995) (Lachurié M. 1995). Une implication de l'allèle D dans le déterminisme génétique de **l'hypertension** n'est retrouvée que dans quelques études : une étude où la population est d'origine afro-américaine et une étude japonaise (Morise T. 1994). Une étude effectuée dans une population caucasienne montre qu'il existe une variation de la fréquence des sujets DD hypertendus en fonction de l'âge, cette fréquence étant diminuée chez les sujets âgés. L'homozygotie pour l'allèle D constituerait un risque augmenté de mort prématurée chez les patients avec une forme sévère d'hypertension (Morris B. 1994)

Les études des déterminants génétiques de l'hypertension se sont portées sur d'autres gènes du système rénine-angiotensine tels que le gène de l'angiotensinogène. En effet, deux variants du gène de l'angiotensinogène dont le polymorphisme T235 ont une fréquence augmentée chez les sujets hypertendus (Jeunemaitre X. 1992).

L'hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) est un processus compensatoire qui représente une adaptation au stress de la paroi vasculaire due à une augmentation de la pression sanguine.

Une réduction de l'hypertrophie ventriculaire gauche ainsi qu'une diminution des taux de mortalité et de morbidité après administration de thérapies antihypertensives, telles que les inhibiteurs de l'ECA, sont couramment observées (Brunel P. 1996) (Pfeffer M. 1992). L'allèle D du gène de l'ECA constituerait un facteur de risque d'HVG (Schunkert H. 1994) (O'Kane K. 1995) (Perticone F. 1997) (Iwai N. 1994) ou de dilatation ventriculaire chez les sujets

hypertendus (Pinto Y. 1995) (Oosterga M. 1997). Cependant, l'existence de cette association entre la présence de l'allèle D et l'HVG est controversée, puisqu'elle n'est pas retrouvée chez les sujets non hypertendus (Lindpaintner N. 1996).

Le génotype DD a aussi été décrit comme constituant un facteur de risque de **cardiomyopathie dilatée** (Raynolds M. 1993) (Marian A. 1993).

Une des conséquences de l'hypertension artérielle est la survenue **d'accident vasculaire cérébral**. Dans le cadre de la recherche de facteurs de risque d'origine génétique des pathologies cérébrovasculaires, l'allèle D a été décrit comme étant un facteur de risque indépendant d'accident ischémique cérébrovasculaire (Margaglione M. 1996) (Kario K. 1996).

Enfin, l'allèle D constitue un facteur de risque majeur de **néphropathie** chez les sujets diabétiques non-insulino dépendants (NIDDM) (Ohno T. 1996) ou diabétiques insulino-dépendants (IDDM) (Marre M. 1994) (Doria A. 1994a), alors que cet allèle n'intervient en rien dans le syndrome de résistance à l'insuline (Katsuya T. 1995) (Panahloo A. 1995). De plus, les patients porteurs du génotype DD et présentant une néphropathie à IgA auraient une évolution de la maladie plus sévère (Harden P. 1995).

II Le récepteur de type 1 de l'angiotensine II

L'angiotensine II agit en se couplant à des récepteurs membranaires spécifiques. On en connaît trois types : les récepteurs de l'angiotensine II de type 1 (AT1), de type 2 (AT2) et de type 3 (AT3). Ces récepteurs ont des localisations tissulaires et des effets physiologiques différents. Seules, les distributions et les fonctions physiologiques des récepteurs de type 1 et 2 sont connues. Le récepteur de type 2 est plus abondamment exprimé dans les tissus embryonnaires et fœtaux et semble intervenir en situation de réparation tissulaire, alors que chez l'adulte le récepteur de type 1 est le récepteur dominant et est responsable de la majorité des effets cardio-vasculaires exercés par l'angiotensine II (Brunel P. 1996).

II.1 Constitution

L'AT1 est un récepteur de la membrane cellulaire qui appartient à la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires. Ce récepteur est couplé à une protéine G et la liaison de l'angiotensine II à l'AT1 aboutit à l'activation de la phospholipase C (PLC). Cette enzyme entraîne la synthèse de deux messagers intracellulaires, à savoir le diacylglycérol (DAG) et l'inositol 1,4,5-triphosphate (IP3).

Le récepteur AT1 est une protéine de 359 acides aminés, dont la partie C-terminale est intra-cellulaire et la partie N-terminale extra-cellulaire. La liaison entre l'angiotensine II et l'AT1 est spécifique et s'effectue par l'intermédiaire de ponts disulfures (Griendling K. 1993).

II.2 Rôle physiologique

a) Distribution tissulaire de l'AT1

L'AT1 est exprimé dans de nombreux tissus tels que le poumon, le rein, les glandes surrénales et majoritairement dans le tissu cardiaque. Ce récepteur est responsable de la majorité des effets de l'angiotensine II au niveau cardio-vasculaire, rénal et du système nerveux central (Sabri A. 1997). Dans le modèle murin, deux sous-types de ce récepteur ont été décrits, les récepteurs AT1a et AT1b qui présentent 98% d'homologies de séquences (Haywood G. 1997).

b) AT1 et vasoconstriction

Le système rénine-angiotensine est fortement impliqué dans le contrôle du tonus vasomoteur. Cette vasoconstriction de l'artère est endothélio-dépendante et est régie par la fixation spécifique de l'angiotensine II au récepteur AT1 (Caputo L. 1995). Ce couplage - angiotensine II/AT1- entraîne une augmentation de la concentration intracellulaire en GMPc (Caputo L. 1995).

II.3 Génétique

Le gène de l'AT1, qui correspond au récepteur AT1a, a pu être localisé sur le chromosome 3 en position 3q21-q25 (Curnow K. 1992). Ce gène, d'une longueur totale de 55Kb, comprend 5 exons dont seul l'exon 5 de 1080 paires de bases contient la séquence codante des 359 acides aminés qui composent la séquence peptidique du récepteur (Rolfs A. 1994). La séquence de ce gène a un haut degré d'homologie avec les gènes *ATI* bovin et murin et comprend au niveau de sa partie 5' trois codons start et au niveau de sa partie 3' non transcrite six signaux de polyadénylation ATTTA qui pourraient être responsables de l'instabilité de l'ARN messenger transcrit à partir de ce gène (Takayanagi R. 1992.) (Furuta H. 1992).

II.4 Polymorphismes du gène de l'AT1

Des antagonistes sélectifs de AT1 existent et inhibent la plupart des effets vasculaires de l'angiotensine II. L'action anti-hypertensive d'un composé comme le losartan a pu être retrouvée dans des modèles animaux ou lors d'essais cliniques. L'implication de cet agent dans le traitement de l'hypertension permet de supposer que l'AT1 participe à la variation de la pression sanguine sous l'action de l'angiotensine II, et que des variants génétiques du gène de l'AT1 pourraient être à l'origine de cette maladie (Eberhardt R. 1993).

Plusieurs polymorphismes de l'*ATI* ont été décrits. Il s'agit, pour la portion 5' du gène, de modifications nucléotidiques intervenant à la hauteur des acides aminés en position 3, 6, 29, 45, 62, et 191 (Rolfs A. 1994) et au niveau de la partie 3' du gène, de substitutions nucléotidiques constituées par :

- le remplacement d'une thymine par une cytosine en position 573
- d'une adénine en guanine en position 1062
- d'une adénine en cytosine en position 1166
- d'une guanine en thymine en position 1517
- d'une adénine en guanine en position 1878 (Bonnardeaux A. 1994).

Parmi tous ces polymorphismes, seule la transition A/C 1166 a été montrée comme ayant un effet potentiel dans la maladie coronaire. La fréquence de l'allèle C de ce polymorphisme dans la population générale est de 0.28.

II.5 Polymorphisme A/C 1166 et maladie cardio-vasculaire



a) Polymorphisme A/C 1166 et hypertension

Il existe une augmentation significative de la fréquence du variant C 1166 chez les patients hypertendus par rapport aux patients non hypertendus. L'effet de cette mutation sur la prévalence de l'hypertension est renforcé chez les patients hypertendus présentant des antécédents familiaux d'hypertension et davantage encore chez les sujets développant précocement la maladie (Bonnardeaux A. 1994).

Cette ingérence du polymorphisme A/C 1166 dans la sévérité de l'hypertension a pu être récemment confirmée dans une étude de 108 sujets caucasiens hypertendus avec au moins deux parents hypertendus et une apparition précoce de la maladie (Wang W. 1997).

Ces résultats suggèrent que l'allèle C 1166 constitue, de manière identique au variant T235 du gène de l'angiotensinogène, un déterminant génétique majeur des formes sévères de l'hypertension (Jeunemaitre X. 1992). Cependant aucune association entre l'allèle C 1166 et les formes primaires de l'hypertension n'a pu être décrite (Benetos A. 1995) (Tiret L. 1994).

b) Polymorphisme A/C 1166 et survenue de l'infarctus du myocarde

Un effet synergique de l'allèle C 1166 de l'AT1 et de l'allèle D de l'ECA augmentant le risque de survenue de l'infarctus du myocarde a été décrit dans une étude cas/témoins de l'infarctus du myocarde, l'étude ECTIM. Le risque d'apparition de cette pathologie associé à la présence de ces deux allèles est augmenté chez les sujets avec un faible risque de survenue d'infarctus du myocarde (Tiret L. 1994). Les résultats d'une étude japonaise confirment le fait que le génotype DD soit associé à la survenue de l'infarctus du myocarde, mais semblent montrer que l'allèle C constituerait plutôt un facteur de risque de la sévérité de la sténose coronaire (Nakauchi Y. 1997).

Là encore, il semblerait donc que l'allèle C 1166 augmente le risque de survenue de l'infarctus du myocarde relatif à l'allèle D, surtout chez les patients à faible risque d'infarctus (Tiret L. 1994).

Ces données sont encore une fois contradictoires et il existe actuellement relativement peu d'études d'association entre le polymorphisme A/C 1166 du récepteur AT1 et les différentes pathologies cardio-vasculaires.

Le blocage de l'AT1 par le losartan, antagoniste spécifique de l'AT1, prévient le remodelage vasculaire associé à l'hypertension et peut être administré en prévention d'une hypertrophie cardiaque à la place des inhibiteurs de l'ECA (Ruzicka M. 1995); l'utilisation du losartan chez des souris transgéniques Apo E (modèle animal avec une hypercholestérolémie sévère et une athérosclérose) inhibe l'oxydation des LDL chez ces animaux (Keidar S. 1997). Ces deux dernières observations suggèraient que l'AT1 puisse intervenir dans d'autres pathologies cardio-vasculaires telles que l'infarctus du myocarde et l'hypertension. D'autres études épidémiologiques visant à étudier l'influence du polymorphisme A/C 1166 dans la pathologie coronaire sont donc nécessaires pour essayer d'aborder ces problèmes.

Travaux Personnels

Le polymorphisme A/C 1166 du gène du récepteur de type 1 de l'angiotensine II est associé à la vasoconstriction coronaire.

Présentation du travail

Le spasme coronaire est un élément essentiel de la physiopathologie de l'infarctus du myocarde (Maseri A. 1975). Ce phénomène pourrait avoir un déterminisme génétique, c'est-à-dire que des sujets sont prédisposés dans certaines conditions d'environnement à développer un spasme coronaire. Ainsi une association a été décrite entre le polymorphisme I/D de l'ECA et le risque de spasme coronaire (Oike J. 1995).

Dans le cadre de l'étude de la vasomotricité coronaire, *nous nous sommes intéressés à la recherche d'une association avec le polymorphisme A/C 1166 de l'AT1, ainsi qu'avec le polymorphisme I/D de l'ECA.*

Notre population d'étude est constituée de 140 patients consécutifs ne présentant à l'angiographie aucune lésion coronaire. Ce groupe de patients est composé par 68% d'hommes et d'âge moyen 54 ans. Tous les patients avec une cardiomyopathie dilatée, un antécédent d'IM ou une pathologie au niveau des valves cardiaques ont été exclus.

Chaque patient a subi un test de provocation de la vasoconstriction par injection de deux doses successives de maléate de méthylergonovine, suivie de l'injection de deux doses successives de dinitrate d'isosorbide (ISDN) pour assurer une vasodilatation maximale. Une mesure, assistée par ordinateur du calibre de la lumière de l'artère est effectuée avant et après chaque injection de produit au niveau proximal et au niveau distal de l'artère.

Présentation des résultats

Les fréquences alléliques pour les allèles I et D de l'ECA sont respectivement de 0.57 et 0.43 et celles des allèles A et C sont respectivement de 0.70 et 0.30. Les distributions génotypiques de ces deux polymorphismes sont en équilibre de Hardy-Weinberg. Avant la perfusion des produits, il n'existe aucune différence des diamètres distaux et proximaux selon les différents groupes de génotypes. Aucun patient n'a développé de spasme occlusif sous maléate de méthylergonovine.

Les résultats de cette étude montrent que les réponses vasoconstrictrices et vasodilatatrices au test ne diffèrent pas selon le génotype de l'ECA. Cependant, il apparaît que les sujets porteurs du génotype CC de l'AT1 présentent une vasoconstriction maximale accrue au niveau des segments distaux par rapport aux sujets porteurs des génotypes AC et AA (22.9%, 11.5% et 11.3% respectivement, $p < 0.009$).

Cette augmentation de la vasoconstriction chez les sujets homozygotes pour l'allèle C est indépendante de l'âge, du sexe, des antécédents familiaux de maladie coronaire, du profil lipidique, du diabète, de l'hypertension et du tabagisme.

Le génotype CC constitue un facteur de risque indépendant de l'augmentation de la vasoconstriction coronaire. Son effet s'exprime sur un mode récessif.

Aucun effet synergique sur la vasomotricité coronaire entre les génotypes de l'*ECA* et de l'*AT1* n'a été trouvé.

Discussion des résultats

En divisant les patients selon leur risque d'IM, on observe que l'association entre le génotype CC et l'augmentation de la vasoconstriction est renforcée chez les sujets à bas risque d'IM.

Contrairement aux résultats de Oike *et al*, nous n'observons aucune relation entre le polymorphisme de l'*ECA* et une augmentation de la vasoconstriction. Cela peut être dû à une différence dans la constitution des populations. En effet, aucun des patients de notre étude ne présentait de lésion coronaire ni de spasme occlusif en réponse à la provocation de la vasoconstriction à l'inverse de l'étude japonaise.

L'influence du génotype CC sur la vasoconstriction pourrait s'effectuer au niveau de la cellule musculaire lisse. La contraction angiotensine II-dépendante est déterminée au niveau des cellules endothéliales par l'intermédiaire des récepteurs de l'angiotensine II de type 1 (Caputo L. 1995b). Après la liaison de l'angiotensine II à l'*AT1*, le récepteur est internalisé, il est "down-régulé".

L'hypothèse la plus probable est qu'il existe un déséquilibre de liaison entre une mutation fonctionnelle et le polymorphisme A/C 1166. Une localisation possible de cette mutation fonctionnelle serait la partie C-terminale de l'*AT1*. En effet, il existe au niveau de la partie carboxy-terminale de la protéine *AT1*, un motif Ser³³⁵-Thr³³⁶-Leu³³⁷ qui est responsable de l'internalisation du récepteur. Ce motif correspond à une séquence nucléotidique située à environ 200 paires de bases de la mutation A/C 1166 (Hunyady L. 1994).

Dans ce cas, la vasoconstriction accrue angiotensine II-dépendante observée chez les sujets porteurs du génotype CC serait le reflet d'une mutation causale localisée au niveau de la portion Ser³³⁵-Thr³³⁶-Leu³³⁷. Des études complémentaires sont nécessaires pour vérifier cette hypothèse.

The Angiotensin II Type 1 Receptor Gene Polymorphism Is Associated With Coronary Artery Vasoconstriction

CAROLE AMANT, BS, MARTIAL HAMON, MD,* CHRISTOPHE BAUTERS, MD,* FLORENCE RICHARD, MD, NICOLE HELBECQUE, PhD, EUGÈNE P. McFADDEN, MRCPI,* XAVIER ESCUDERO, MD,* JEAN-MARC LABLANCHE, MD,* PHILIPPE AMOUYEL, MD, PhD, MICHEL E. BERTRAND, MD*

Lille, France

Objectives. This study sought to assess the potential association of the angiotensin-converting enzyme (ACE) and angiotensin II type 1 (AT1) receptor gene polymorphisms on coronary vasomotion in humans.

Background. Abnormal coronary vasomotion plays a role in the clinical expression of coronary atherosclerosis. The components of the renin-angiotensin system are important determinants of vasomotor tone. Furthermore, epidemiologic evidence suggests that these components are involved in the pathogenesis of coronary artery disease. Indeed, two genetic polymorphisms of the ACE and AT1 receptor genes were synergistically associated with the occurrence of myocardial infarction. The influence of these genetic polymorphisms on the risk of myocardial infarction may be related, at least in part, to a deleterious effect on coronary vasomotion.

Methods. We studied the response of angiographically normal

human coronary arteries after intravenous injection of methylergonovine maleate, a potent vasoconstrictor whose effects have been previously explored in various aspects of coronary artery disease. We characterized the ACE and AT1 receptor genotypes in a consecutive series of 140 patients with normal coronary arteries. Coronary vasomotion was assessed with quantitative coronary angiography.

Results. No effect of the ACE gene polymorphism was detected. Conversely, the patients carrying the AT1 receptor CC genotype (n = 13) had significantly greater vasoconstriction in distal coronary vessels (p < 0.009).

Conclusions. The AT1 receptor gene polymorphism is associated with coronary vasomotion in humans.

(*J Am Coll Cardiol* 1997;29:486-90)

©1997 by the American College of Cardiology

The clinical manifestations of coronary artery disease are not linearly related to the extent of coronary atherosclerosis. Indeed, acute myocardial infarction generally occurs at atherosclerotic plaques that do not significantly narrow the coronary artery lumen (1). The ultimate step in the pathogenesis of acute myocardial infarction is the formation of occlusive thrombus in a coronary artery at the site of a ruptured atherosclerotic plaque (2); however, evidence of plaque rupture is common at autopsy in patients dying of noncardiac causes, suggesting that plaque rupture is a necessary but not the sole factor involved in coronary artery occlusion (3).

Intense vasoconstriction at the site of plaque rupture may also be an important contributory factor; direct evidence that this is so has been provided by angiographic observations during acute infarction (4).

The components of the renin-angiotensin system, involved in blood pressure regulation and vascular smooth muscle cell proliferation, are important determinants of vasomotor tone (5). Angiotensin-converting enzyme (ACE), a key component of the renin-angiotensin system, is involved in the generation of angiotensin II, a potent vasoconstrictor peptide, and in the degradation of bradykinin, a potent vasodilator (6). The circulating and cellular levels of ACE are partly genetically determined through the insertion/deletion polymorphism of the gene coding for ACE (ACE) (7,8). Subjects bearing the ACE deletion (D) allele have a higher level of circulating enzymes than subjects bearing the insertion (I) allele. Recent studies (9-11) have suggested that ACE D allele bearers may have a higher risk of myocardial infarction and sudden death.

The effects of angiotensin II are exerted through the activation of specific high affinity receptors. Most of the cardiovascular effects of angiotensin II are mediated by the angiotensin II type 1 (AT1) receptor, expressed by vascular smooth muscle cells (12). Recently, a polymorphism located in the 3' untranslated

From the CJF INSERM 95-05, Institut Pasteur de Lille and *Service de Cardiologie B et Hémodynamique, Hôpital Cardiologique, Lille, France. Dr. Hamon was supported by a grant from the Société Française de Cardiologie, Paris, and Ms. Amant by the Conseil Régional du Nord-Pas de Calais, Lille, France. This work was supported by grants from the Direction de la Recherche et des Etudes Doctorales, Lille; the Centre Hospitalier Universitaire de Lille, Lille; the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Paris; and the Institut Pasteur de Lille, Lille, France.

Manuscript received July 8, 1996; revised manuscript received October 9, 1996, accepted November 12, 1996.

Address for correspondence: Dr. Philippe Amouyel, Service d'Epidémiologie et de Santé Publique/INSERM CJF 95-05, Institut Pasteur de Lille, 1 rue Calmette, 59019 Lille Cedex, France.

Abbreviations and Acronyms

A/C	= adenine/cytosine
ACE	= angiotensin-converting enzyme
AT ₁	= angiotensin II type 1 receptor
GLM	= general linear models
I/D	= insertion/deletion
ISDN	= isosorbide dinitrate

lated region of the AT₁ receptor gene (*AT₁*) (corresponding to an adenine/cytosine (A/C) base substitution at the 1166 position) has been shown (13) to modify the association of the I/D ACE polymorphism with the occurrence of myocardial infarction. The AT₁ receptor C allele increased synergistically the risk of myocardial infarction in subjects carrying the ACE D allele. The interaction of these two genetic susceptibility risk factors on the occurrence of myocardial infarction could be related to a deleterious effect on coronary vasomotion. To explore this hypothesis, we analyzed the vasomotor responses of angiographically normal coronary arteries to methylergonovine maleate, the most commonly used vasoconstrictor stimulus in clinical practice (14), and to isosorbide dinitrate (ISDN), an endothelium-independent smooth muscle dilator.

Methods

Patients. We studied patients admitted for diagnostic coronary angiography who were found to have an angiographically normal coronary tree. The study included 140 such patients recruited consecutively. Age, gender, body mass index, family and personal history of coronary artery disease, and drug and tobacco consumption were recorded. Total cholesterol and triglyceride plasma levels were measured by enzymatic methods (Boehringer Mannheim, Germany) adapted to a Hitachi 717 analyzer. Patients with dilated cardiomyopathy or a history of myocardial infarction or who had valvular heart disease were excluded.

Angiography and provocative testing. All drugs were discontinued 48 h before angiography. After diagnostic coronary angiography, an appropriate view of a coronary artery was selected, and a baseline arteriogram was obtained. Methylergonovine maleate (100 µg) was injected intravenously, and an angiogram was obtained 3 min later. An additional dose of methylergonovine maleate (300 µg) was then injected, and another angiogram was recorded 3 min later. After that, 200 µg of ISDN was injected into the coronary artery, and another angiogram was recorded 2 min later. Finally, 2 mg of ISDN was injected into the coronary artery, and a final angiogram was recorded 2 min later.

Quantitative coronary angiographic analysis. The coronary angiograms were analyzed with the CAESAR System (Computer Assisted Evaluation of Stenosis and Restenosis), a computerized automatic analysis system (15). The angiographic catheter was used for calibration. The mean diameters of proximal and distal segments, identified by their distance

from side branches or from the origin of the vessel, were determined. Maximal response to methylergonovine maleate and ISDN was expressed relative to baseline diameter after 300 µg of methylergonovine maleate and 2 mg of ISDN, according to the formula: Maximal constriction by 300 µg of methylergonovine maleate = [(Diameter after ergonovine - Baseline diameter)/Baseline diameter] × 100 (%), and Maximal dilation by 2 mg of ISDN = [(Diameter after ISDN - Baseline diameter)/Baseline diameter] × 100 (%).

Genetic analyses. Genomic DNA was extracted from white blood cells. The ACE fragment (8) containing the I/D sequence and AT₁ receptor fragment (13) containing the A/C 1166 substitution were amplified with a Perkin Elmer DNA thermal cycler and Thermus aquaticus DNA polymerase (Amersham). The ACE polymorphism was detected as previously described, except for addition of dimethylsulfoxide to enhance amplification of the ACE I allele (16). The AT₁ receptor A/C polymorphism was analyzed by allele-specific oligonucleotide hybridizations after amplification (13).

Statistical analyses. Statistical analyses were performed with the SAS Software release 6.10 (SAS Institute Inc.). Mean value ± SD were calculated; error of the mean (SEM) was used to plot quantitative data. Quantitative variables were compared according to the ACE genotypes (i.e., II, ID, DD) and the AT₁ receptor genotypes (i.e., AA, AC, CC). Given the unequal number of observations for each group of genotype, we performed an analysis of variance within the framework of general linear models (GLM procedure). This GLM procedure was also used to conduct a multivariate analysis of covariance to take into account the potential effect of quantitative and qualitative confounding factors, and to test for interaction (crossed effects) between the two polymorphisms. A synergistic effect between the two genetic variables was tested by including both variables simultaneously in the model together with the interaction between the ACE and AT₁ receptor genotypes. In these multivariate models, the normal distribution of the residues was verified; the estimate of the coefficients and standard errors from the multivariate analysis were computed for each variable. The genetic variables were tested with 2 degrees of freedom. Significance levels were set at p < 0.01.

Results

Patients. Sixty-eight percent of our patients were male and had a mean age of 54 ± 10 years; 27% were smokers; 12% had diabetes mellitus; 48% had systemic hypertension; and 41% had a family history of coronary artery disease. The frequencies of the ACE D and I alleles were 0.57 and 0.43, respectively; the frequencies of the AT₁ receptor A and C alleles were 0.70 and 0.30, respectively. These frequencies were close to values reported in other white patient groups (9,13). Genotype distributions of both polymorphisms were in Hardy-Weinberg equilibrium. Proximal and distal baseline segment diameters were similar among the different groups of genotypes (Table 1). In the whole cohort, proximal and distal segments constricted in response to methylergonovine maleate and relaxed

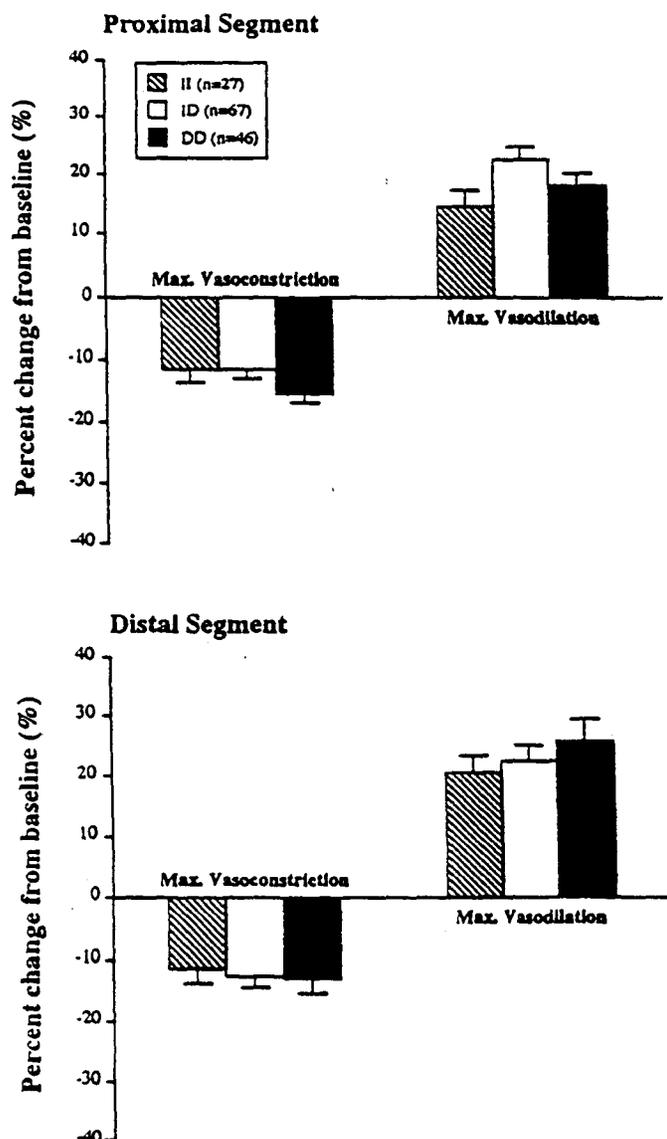
Table 1. Baseline Diameters of Proximal and Distal Coronary Segments as a Function of ACE and AT₁ Receptor Genotypes

	ACE Genotypes			AT ₁ Receptor Genotypes		
	II (n = 27)	ID (n = 67)	DD (n = 46)	AA (n = 67)	AC (n = 60)	CC (n = 13)
Proximal segment (mm)	3.43 ± 0.72	3.31 ± 0.77	3.49 ± 0.84	3.32 ± 0.80	3.44 ± 0.77	3.54 ± 0.78
Distal segment (mm)	2.33 ± 0.54	2.44 ± 0.65	2.31 ± 0.50	2.35 ± 0.61	2.39 ± 0.57	2.45 ± 0.47

Data presented are mean value ± SD. A = adenine; ACE = angiotensin-converting enzyme; AT₁ = angiotensin II type 1 receptor; C = cytosine; D = deletion; I = insertion.

after ISDN. No patient developed occlusive epicardial spasm. No differences in vasoconstrictor or vasodilator responses were observed in subgroups with different ACE genotypes (Fig. 1). However, patients who had the AT₁ receptor CC genotype had significantly greater maximal vasoconstriction ($p < 0.009$) in distal coronary segments than patients with the AA or AC genotypes (22.9%, 11.3% and 11.5%, respectively) (Fig. 2).

Figure 1. Vasoreactivity of proximal and distal coronary segments according to ACE genotypes. Max. = maximal.



This enhanced constriction was independent (adjusted test, $p = 0.008$) of age, gender, family history of coronary heart disease, plasma lipid levels, diabetes, systemic hypertension and cigarette consumption (Table 2). Maximal vasodilation in response to ISDN did not differ among the different groups of

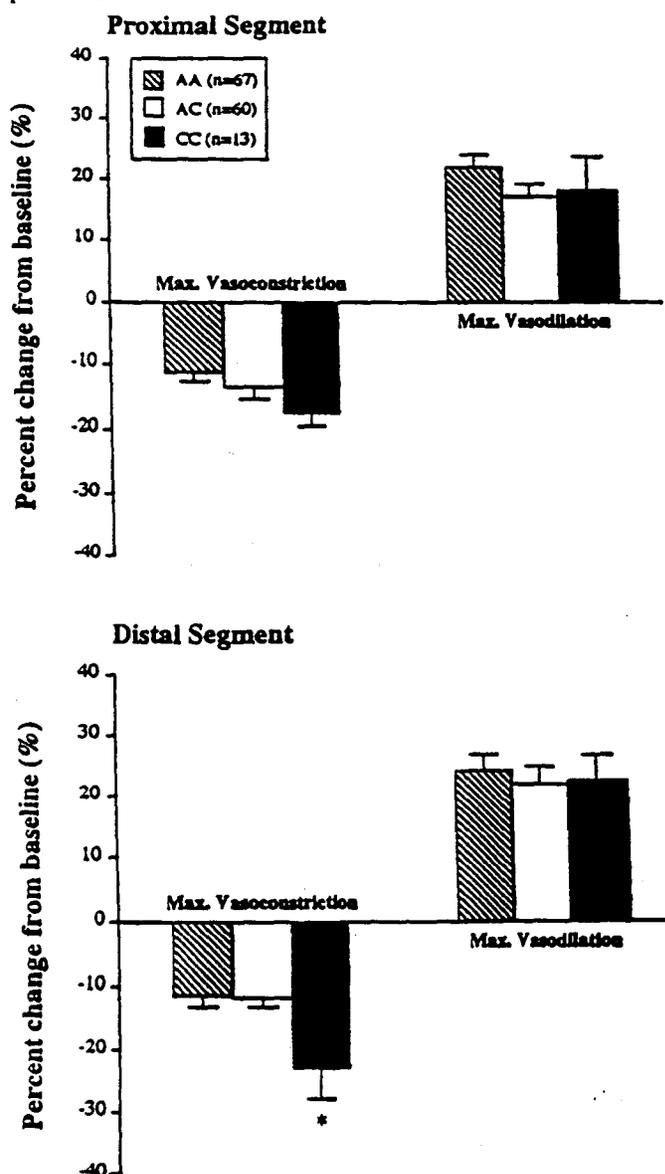
Figure 2. Vasoreactivity of proximal and distal coronary segments according to AT₁ receptor genotypes. Max. = maximal. *adjusted test, $p = 0.008$.

Table 2. Multivariate Analysis of Maximal Vasoconstriction on *AT1* Receptor Genotypes and Covariables

Independent Variable	Coefficient	SE	df	F Value	p Value
Age (yr)	-0.13	0.13	1	1.11	0.294
Male gender	7.18	3.53	1	4.15	0.044
Family history of CAD	-1.01	2.48	1	0.17	0.685
Total cholesterol (g/liter)	4.19	2.98	1	1.98	0.162
Triglycerides (g/liter)	-1.50	0.87	1	2.96	0.088
Diabetes	-0.80	3.82	1	0.04	0.835
Systemic hypertension	-2.03	2.42	1	0.70	0.403
Smoking status	-5.28	3.37	1	2.45	0.120
<i>AT1</i> receptor genotype					
CC	12.84	4.05	2	5.11	0.008
AC	1.44	2.50			

CAD = coronary artery disease; df = degrees of freedom; SE = standard error of the coefficient; other abbreviations as in Table 1.

genotypes. No significant association between the *AT1* receptor genotypes and systemic hypertension existed in this sample. No significant interaction on coronary vasomotion could be detected between *ACE* and *AT1* receptor genotypes.

Discussion

Our results suggest that subjects with the *AT1* receptor CC genotype had an exaggerated constrictor response to methylergonovine maleate, a vasoconstrictor agent used to explore coronary vasomotion in clinical practice. By contrast, no effect of the *ACE* genotype on coronary vasomotion could be detected.

These results are at variance with those of a Japanese study (17) reporting that the *ACE* but not the *AT1* receptor polymorphism was associated with coronary artery spasm. Although Japanese study and ours relate to coronary vasomotion, they addressed different issues in a different ethnic background. Indeed, the case-control study developed by Oike et al. (17) recruited specific contrasted groups of patients: The cases presented a total occlusive spasm during ergonovine provocation and significant ST segment alterations, whereas the controls had no reaction after the provocative test. Conversely, none of our patients developed occlusive spasm. Moreover, the normal distributions of the vasomotor tone indexes allowed us to perform a quantitative analysis. The differences in ethnic background may also account for the different results: In the Japanese study, the *ACE* D allele frequency was 0.36, consistent with other Japanese reports (18) but significantly lower than those in white patients (0.56) (9). The frequency reported in the Japanese cohort for the C allele of the *AT1* receptor was 0.09, significantly lower than that observed in white patients (0.30) (13). Finally, the *AT1* receptor CC genotype was totally absent in the Japanese study, and consequently, its effect on vasomotion could not be tested.

Potential mechanisms. We previously reported (14) the effects of methylergonovine maleate on the coronary circulation in patients with diverse clinical manifestations of coronary artery disease. Localized segmental hypereactivity in the

infarct-related vessel was observed in 20% of patients with recent myocardial infarction. The influence of the *AT1* receptor CC genotype on coronary artery vasomotion in response to methylergonovine maleate may be related to an effect on smooth muscle cells. Methylergonovine maleate has a direct constrictor effect on vascular smooth muscle cells due to a stimulant effect on alpha-adrenergic and serotonergic receptors (19). These arterial smooth muscle cells express *AT1* receptors that mediate most of the known vascular effects of angiotensin II, a potent vasoconstrictor peptide (12).

In our patients, the influence of the *AT1* receptor polymorphism on coronary vasomotion was observed predominantly in distal coronary segments. This observation is consistent with previous studies (20) that have documented a heterogeneous response in the coronary tree to vasoactive stimuli: Distal coronary segments have greater vasoreactivity in response to ergonovine and nitrates than proximal segments.

This influence on coronary vasoconstriction was observed in subjects homozygous for the C allele of the *AT1* receptor polymorphism, suggesting a recessive effect. Conversely, no effect of *ACE* gene polymorphism on coronary vasomotion was detected. However, because methylergonovine maleate predominantly acts through endothelium-independent direct smooth muscle cell constriction (19), we cannot exclude an effect of the *ACE* genotype on endothelium-dependent responses.

A recent study (21) described an increased frequency of the *AT1* receptor C allele in subjects with essential hypertension. We were not able to detect this association in our sample. Given the small effect reported for this polymorphism on hypertension, our study was lacking statistical power to draw any conclusion. However, the enhanced vasoconstriction associated with the *AT1* receptor polymorphism may partly account for high blood pressure levels in C allele bearers. A recent report (22) has associated the *AT1* receptor CC genotype with aortic stiffness in hypertensive patients. Our observation of increased vasoconstriction in *AT1* receptor CC genotype bearers could support the hypothesis that this increased aortic

stiffness may reflect an excessive constrictor response of systemic resistance vessels in such patients.

Conclusions. The present study demonstrates that the *AT1* receptor genotype is associated with exaggerated coronary vasoconstriction. Given the low frequency of the *C* allele and *CC* genotypes in human populations, further investigations are needed to confirm these results and to clarify the possible mechanisms involved in this phenomenon. In particular, it is important to differentiate between a direct but less probable role of the *AT1* receptor C1166 mutation and a strong linkage disequilibrium of this polymorphism with a causal variant (13,23). However, this observation might explain, at least in part, the synergistic effect of this genetic polymorphism together with the *ACE I/D* polymorphism on the occurrence of myocardial infarction.

We thank Claudine Mercier and Valérie Codron for excellent scientific and technical assistance.

References

- Little WC, Constantinescu M, Applegate RJ, et al. Can coronary angiography predict the site of a subsequent myocardial infarction in patients with mild-to-moderate coronary artery disease? *Circulation* 1988;78:1157-66.
- DeWood MA, Spores J, Notske R, et al. Prevalence of total coronary occlusion during early hours of transmural myocardial infarction. *N Engl J Med* 1980;303:897-902.
- Davies MJ, Bland MJ, Hangartner WR, Angelini A, Thomas AC. Factors influencing the presence or absence of acute coronary thrombi in sudden death. *Eur Heart J* 1989;10:203-8.
- Hackett D, Davies G, Chierchia S, Maseri A. Intermittent coronary occlusion in acute myocardial infarction: value of combined thrombolytic and vasodilator therapy. *N Engl J Med* 1987;317:1055-9.
- Lee MA, Böhm M, Paul M, Ganten D. Tissue renin-angiotensin systems. Their role in cardiovascular disease. *Circulation* 1993;87 Suppl IV:IV-7-13.
- Erdős E, Skidgel RA. The angiotensin I-converting enzyme. *Lab Invest* 1987;56:345-8.
- 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 of the variance of serum levels. *J Clin Invest* 1990;86:1343-6.
- Tiret L, Rigat B, Visvikis S, et al. Evidence from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin converting enzyme gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet* 1992;51:197-205.
- Cambien F, Poirier O, Lecerf L, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992;359:641-4.
- Evans AE, Poirier O, Kee F, et al. Polymorphisms of the angiotensin-converting enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease. *Q J Med* 1994;87:211-4.
- Teo KK. Angiotensin converting enzyme genotypes and disease: conflicting results from research leave the picture unclear. *BMJ* 1995;311:763-4.
- Viswanathan M, Strömberg C, Seltzer A, Saavedra JM. Balloon angioplasty enhances the expression of angiotensin II AT1 receptors in neointima of rat aorta. *J Clin Invest* 1992;90:1707-12.
- Tiret L, Bonnardeaux A, Poirier O, et al. Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction. *Lancet* 1994;344:910-3.
- Bertrand M, Lablanche JM, Tilmant PY, et al. Frequency of provoked coronary arterial spasm in 1089 consecutive patients undergoing coronary arteriography. *Circulation* 1982;65:1299-306.
- Bertrand M, Lablanche JM, Bauters C, Leroy F, McFadden E. Discordant results of visual and quantitative estimates of stenosis severity before and after angioplasty. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1993;28:1-6.
- Fogarty DG, Maxwell AP, Doherty CC, Hugues AE, Nevin NC. ACE gene typing. *Lancet* 1994;343:851.
- Oike Y, Hata A, Ogata Y, Numata Y, Shido K, Kondo K. Angiotensin converting enzyme as a genetic risk factor for coronary artery spasm: implication in the pathogenesis of myocardial infarction. *J Clin Invest* 1995;96:2975-9.
- Iwai N, Ohmichi N, Nakamura Y, Kinoshita M. DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1994;90:2622-8.
- Maseri A, Davies G, Hackett D, Kaski JC. Coronary artery spasm and vasoconstriction: the case for a distinction. *Circulation* 1990;81:1983-91.
- Tousoulis D, Kaski JC, Bogaty P, et al. Reactivity of proximal and distal angiographically normal and stenotic coronary segments in chronic stable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1991;67:1195-200.
- Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. *Hypertension* 1994;24:63-9.
- Benetos A, Gautier S, Ricard S, et al. Influence of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphisms on aortic stiffness in normotensive and hypertensive patients. *Circulation* 1996;94:698-703.
- Hunyady L, Bor M, Balla T, Catt KJ. Identification of a cytoplasmic Ser-Thr-Leu motif that determines agonist-induced internalization of the AT1 angiotensin receptor. *J Biol Chem* 1994;269:31378-82.

Le polymorphisme du gène du récepteur de l'angiotensine II de type 1 est associé à une augmentation de la réactivité vasculaire dans l'artère mammaire humaine *in vitro*.

Présentation du travail

Nos résultats précédents montraient que les sujets porteurs du génotype CC du gène de l'AT1 présentaient une augmentation de la vasoconstriction angiotensine II-dépendante.

Pour valider ces résultats d'association, il est important de pouvoir obtenir des résultats homogènes dans des systèmes expérimentaux. L'occasion de vérifier notre observation de l'effet de l'allèle C sur la vasoconstriction nous a été fournie, grâce à une collaboration avec l'équipe du Professeur Lévy.

Dans une étude *in vitro*, 43 anneaux d'artères mammaires humaines sont isolés et perfusés séparément avec deux doses croissantes de phényléphrine (0.1 à 10 $\mu\text{mol/L}$), puis avec une troisième dose de phényléphrine après prétraitement des tissus avec de l'angiotensine II. La valeur de la contraction vasculaire induite par la phényléphrine avant et après traitement par l'angiotensine II est mesurée.

L'objectif était de mesurer dans cette étude *l'influence du polymorphisme A/C 1166 du gène de l'AT1 sur la contraction in vitro du vaisseau.*

Présentation des résultats

Contraction induite par la phényléphrine

Les contractions maximales après perfusion par la phényléphrine apparaissent augmentées dans les artères de patients porteurs du génotype AC ou CC par rapport aux artères des patients porteurs du génotype AA (réponse maximale : 1.47 ± 0.07 contre 1.22 ± 0.06 mN/mg respectivement, $p < 0.001$). Les sujets porteurs de l'allèle C présente donc un risque augmenté de contraction du vaisseau accrue par rapport au sujets porteurs du génotype AA.

Contraction après l'addition d'angiotensine II consécutivement au traitement par la phényléphrine

Au niveau de tous les anneaux artériels et quel que soit le génotype du patient, l'angiotensine II induit une potentialisation de la contraction dépendante de la phényléphrine. Cette potentialisation due à l'angiotensine II est cependant plus faible dans les artères de sujets porteurs des génotypes AC ou CC par rapport à celles de sujets AA (24 ± 5 contre $42 \pm 7\%$ respectivement, $p < 0.01$).

A des doses physiologiques, l'angiotensine II n'est pas un vasoconstricteur direct mais potentialise les réponses à la stimulation des récepteurs de type $\alpha 1$ -adrénergique; c'est ce qui est illustré dans cette expérience.

Une augmentation chronique de la potentialisation à l'angiotensine II traduit une sensibilité aux agonistes de la phényléphrine et une "down-regulation" des récepteurs responsables de la contraction, les récepteurs AT1 après la perfusion des anneaux artériels à la phényléphrine.

Discussion des résultats

Nous pouvons émettre l'hypothèse qu'au niveau des anneaux artériels de sujets porteurs de l'allèle C, après la stimulation par l'angiotensine II, peu de récepteurs AT1 seraient "down-régulés". Il resterait donc à la surface des cellules endothéliales de ces anneaux artériels un nombre moindre de récepteurs AT1 libres par rapport aux anneaux de sujets porteurs du génotype AA. Ce qui expliquerait une réponse à la perfusion à la phényléphrine après l'action de l'angiotensine II moins importante dans les anneaux des sujets porteurs de l'allèle C.

Ces résultats vont dans le sens de l'hypothèse exposée lors de l'étude précédente, c'est-à-dire que les sujets porteurs du génotype CC ont une vasoconstriction coronaire augmentée probablement liée à un défaut de "down-regulation" des récepteurs responsables de la contraction, les récepteurs AT1.

Il semblerait que la contraction de base est augmentée chez les sujets porteurs de l'allèle C et correspond à une sensibilité moindre aux variations du flux sanguin. Chez les sujets homozygotes pour l'allèle C, une diminution de la sensibilité aux flux sanguins constituerait un facteur de risque augmenté d'hypertension (Caputo L. 1995a).

Ces résultats suggèrent que la capacité contractile est augmentée chez les sujets porteurs de l'allèle C, et que la "down-regulation" des récepteurs AT1 est diminuée chez les sujets porteurs de l'allèle C du gène de l'AT1.

Des études complémentaires *in vitro* sont nécessaires pour mettre en évidence cette diminution de la capacité de "down-regulation" des récepteurs AT1 de patients porteurs du génotype CC.

ANGIOTENSIN II TYPE 1 RECEPTOR GENE POLYMORPHISM IS
ASSOCIATED WITH AN INCREASED VASCULAR REACTIVITY IN HUMAN
MAMMARY ARTERY IN VITRO.

Daniel Henrion, Amant C^{**}, Joëlle Benessiano* J, Philip I[#], Chatel D[§], Ulrich Hwas [§],
Geneviève Durand*, Amouyel P^{**}, Bernard I Lévy

Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) U 141,
IFR Circulation, Université Paris VII, Hôpital Lariboisière, Paris, France

and

*Laboratoire de Biochimie et [#]Service d'Anesthésie-Réanimation, [§] Service de
Chirurgie Cardiaque, Hôpital Xavier Bichat, Paris, France

and

^{**}Service d'Epidémiologie et de Santé Publique, Institut Pasteur, Lille, France.

condensed title: AT1 receptor gene polymorphism and vascular tone

Address for Correspondence:

D. Henrion, PhD

INSERM U 141

41 Bd de la Chapelle

75475 Paris, cedex 10, FRANCE

Phone: (331) 42 85 86 72

FAX: (331) 42 81 31 28

e-mail: daniel.henrion@insem.lrb.ap-hop-paris.fr

Abstract

A gene polymorphism of the angiotensin II type 1 receptor has been described (A to C transversion at position 1166). Beside the epidemiological studies which will determine if a relation exists between the polymorphism and some cardiovascular diseases, no biological study providing mechanisms which could support such an association has been conducted. At subthreshold concentrations, within the physiological range, angiotensin II (AII) potentiates alpha-adrenergic-dependent vascular tone. We investigated phenylephrine-induced tone and its amplification by AII (10 pmol/L) in human internal mammary artery rings mounted in organ baths. We performed concentration-response curves to phenylephrine (0.1 to 100 μ M) before and after pretreatment with AII (10 pmol/L). Patients had the genotype AA (n=22, age 62 \pm 5) or the A to C transversion (AC/CC, n=21, age 60 \pm 4). Contractions to phenylephrine (0.1 to 100 μ M) were significantly higher in rings from AC/CC than from AA patients (maximum response: 1.47 \pm 0.07 vs 1.22 \pm 0.06 mN/mg, P<0.001). AII (10 pM) induced a significant potentiation of phenylephrine-induced contraction (8 \pm 2 to 51 \pm 9% increase in tone, P<0.001). Potentiation due to AII was lower in the AC/CC than in the AA group (24 \pm 5 vs 42 \pm 7%, P<0.01), suggesting a down-regulation of AII-potentiation. Indeed, if the increased responses to phenylephrine results from a chronic amplification by AII, then this AII-induced potentiation might be down-regulated. These changes in vascular reactivity might be of interest in the understanding of the relation between a possible higher probability of cardiovascular disorder and the genetic polymorphism of the angiotensin II type 1 receptor.

Key Words: Blood vessels, Angiotensin II, Phenylephrine, AT1 receptor.

Abbreviations: ACE: Angiotensin I converting enzyme, Angiotensin II: AII, Angiotensin II type 1: AT1.

Introduction

Angiotensin II (AII) is a potent pressor and aldosterone secretion regulator hormone. Angiotensin II acts through at least two receptors, the type 1 (AT1) and the type 2 receptors (1). A genetic polymorphism of the AT1 receptor has been described as a A to C base substitution at 1166 position (2). This A to C substitution increases the risk of myocardial infarction (3). The AT1 receptor C allele is also correlated with a higher aortic stiffness in hypertensive subjects (4) and with an increased vasoconstrictor responsiveness in the human coronary artery (5). Angiotensin II, at physiological concentrations (6), is not directly vasoconstrictor but strongly potentiates the contractile response of blood vessels to α_1 -adrenoreceptor stimulation (7-18), clonidine (10), thrombin (10) and histamine (9). This phenomenon of potentiation has been described in human (8,12,19) and represents a mechanism for AII-induced tone at physiological concentrations. Our hypothesis was that a change in vascular reactivity in patients with the A to C mutation might be the consequence of a higher chronic potentiating effect of AII. This would imply a down-regulation of the AII potentiating effect, and thus a decreased acute AII-potentiation of vascular tone in vitro (16) and an increased reactivity to agonist such as phenylephrine, as observed in rats submitted to a chronic infusion of angiotensin II which increases vascular tone through the potentiating effect of angiotensin II (16). In this study, the chronically increased potentiating effect of angiotensin II induced a down-regulation of the phenomenon and thus a decreased acute potentiation in vitro. To test the hypothesis that angiotensin II-induced potentiation of vascular tone might be different in patients with the A to C substitution, we used human mammary artery segments from patients undergoing cardiac bypass surgery. Arterial segments were isolated and mounted in vitro in a myograph allowing the measurement of the arterial wall force. Both AII-induced potentiation of phenylephrine-induced contraction were studied.

Materials and methods

Isolated artery preparation

In undergoing bypass surgery, excess material of internal mammary artery was stored in ice-cold physiological salt solution containing penicilline (100 IU/L) and streptomycine (100 IU/L).

Ring segments of internal mammary artery, cleaned free of fat and connective tissues, 3 mm in length, were mounted between two stainless steel wires in 3 ml organ baths containing a physiological salt solution of the following composition (in mmol/L): 135.0, NaCl, 15.0, NaHCO₃, 4.6 KCl, 1.5, CaCl₂, 1.2, MgSO₄, 11.0, glucose, 10.0, N-2-hydroxy-ethylpiperazine-N-2-ethylsulfonic acid (HEPES). The pH was 7.4 and the solution was bubbled with 95% O₂ and 5% CO₂. A physiological salt solution containing K⁺ 125 mmol/L was prepared using the formula described above with 14.4 mmol/L NaCl and 125 mmol/L KCl. One wire was attached to a fixed support while the second wire was connected to a moveable holder supporting a Grass FT.03 tension transducer (Grass, Quincy, MA) so that isometric force measurements could be collected by a Biopac data acquisition and analysis system (Biopac MP 100, LaJolla, CA, USA). The arterial segments were allowed to recover for 30 min during which time the physiological salt solution was replaced at 15-min intervals. Following this recovery period, a preload resulting in optimal stretch, was applied to the arterial segments which were allowed to equilibrate for an additional 90 min.

Experimental protocols

Two arterial segments were isolated from each sample and concentration-response curves to phenylephrine were performed, preceded by the determination of the maximum response to K⁺ (125 mmol/L) and by the determination of the dilator capacity of acetylcholine (detailed below). At the end of the experiment ring segments of arteries were blotted dry and weighed.

In each of the two arterial segments, isolated from one mammary artery, three concentration-response curves to phenylephrine were obtained by cumulative addition of phenylephrine (0.1 to 10 $\mu\text{mol/L}$) to the bath solution. The third concentration-response curve to phenylephrine was made after pretreatment of the tissues with AII (10 pmol/L) or the solvent (physiological salt solution, control group) for 10 min (fig. 1) (9,13,16).

Changes in response to phenylephrine after addition of AII (10 nmol/L) were estimated by comparing the third to the second concentration-response curve to phenylephrine (fig 1). For each concentration of phenylephrine the difference was calculated as changes in tension (mN/mg tissue) or as % change due to AII (20). In the control arterial segment the change in tension due to phenylephrine between the third to the second concentration-response curve was considered as a time-control. Data is expressed as mN per mg tissue . EC_{50} and E_{MAX} were calculated individually for each concentration response curve using the equation:

$$E = (E_{\text{MAX}} \times C^m) / (EC^m + C^m)$$

where E is the contraction, E_{MAX} is the maximum contraction, C is the concentration, EC is the EC_{50} (concentration of agonist required to induce half the maximum response) and m is Hill's coefficient (21).

Response to acetylcholine (10 $\mu\text{mol/L}$) was tested after precontraction of the arterial segments with phenylephrine (1 $\mu\text{mol/L}$). Data were expressed as % dilation of phenylephrine-induced precontraction.

Determination of the genotype

Genomic DNA was prepared from frozen peripheral blood with standard procedures (22). The AT1 receptor fragment containing the A/C 1166 substitution was amplified, as previously described, on the basis of polymerase-chain-reaction (PCR) amplification with a Perkin Elmer DNA thermal cycler and Thermus Aquaticus DNA polymerase (Amersham). The AT1 A/C polymorphism was analyzed by allele-specific oligonucleotide hybridization after amplification (3).

Subjects were then classified, according to the absence of A or C base in position 1166.

Statistical analysis

Results are expressed as mean \pm S.E.M. Comparisons between groups were made using a one factor analysis of variance (ANOVA) followed by a Bonferonni's test when significant or by two factor ANOVA for repeated measures to compare the concentration-response curves. A probability level of $P < 0.05$ was considered significant.

Drugs

Drugs were purchased from Sigma Co. (L'Isle D'Abeau Chesnes, France).

Results

In mammary artery ring segments, the contractile response to K^+ (125 mmol/L) was not significantly changed by the genotype as well as in the different experimental groups (table 1). Acetylcholine (10 μ mol/L) induced a dilation of phenylephrine (1 μ mol/L)-precontracted rings in both groups. No significant difference was found between groups (table 1).

Phenylephrine (0.1 to 100 μ mol/L) induced a concentration-dependent contraction of mammary artery ring segments. The response to phenylephrine (0.1 to 100 μ mol/L) was significantly higher in mammary artery ring segments from patients with the AC/CC genotype as compared to patients with the AA genotype (fig. 2). The maximum response to phenylephrine was 1.47 ± 0.07 N/mg in segments from patient with the AC/CC genotype as compare to 1.22 ± 0.06 N/mg (n=21 patients) in patients with the AA genotype (n=22 patients, $P < 0.001$). The sensitivity to phenylephrine, as assessed by a decreased EC_{50} , was also significantly increased in the AC/CC group as compared to the AA group (5.2 ± 0.50 vs 3.0 ± 0.33 μ mol/L, $P < 0.001$).

Angiotensin II (10 pmol/L) produced a significant potentiation of phenylephrine-induced tone (Fig. 3). The expression of this amplification as % of the previous response to phenylephrine showed that AII (10 pmol/L) potentiated preferentially the concentrations of phenylephrine ranging from 0.1 to 3 μ mol/L (fig 3). The expression of this amplification as increases in tone due to AII allowed a similar conclusion (e.g., with phenylephrine tone increased by 0.18 ± 0.05 mN/mg after AII, $P < 0.0001$ vs solvent: decrease in tone by 0.07 ± 0.05 mN/mg, n=43). Angiotensin II (10 pmol/L)-potentiation of phenylephrine (0.1 to 100 μ mol/L)-induced tone was significantly higher in mammary artery ring segments from patients with the AA genotype as compared to ring segments from patients with the AC/CC genotype (fig. 4).

Discussion

This study provides evidences that the genotype AC/CC of the AII type 1 receptor was associated with a change in vascular reactivity. The A to C mutation was associated with an increased acute responsiveness to phenylephrine and to a decreased acute potentiating effect of a subthreshold concentration of AII in human mammary artery ring segments.

We found an increased responsiveness to phenylephrine in the mammary artery ring segments from patients with the C base in position 1166. This observation is consistent with a previous work in which the vascular reactivity was increased in coronary arteries from patients with CC genotype (5). Furthermore, the A to C mutation has been associated to an increased probability of myocardial infarction in patients with the deletion genotype for the ACE (3). The A to C mutation is variously associated with hypertension (2,23) and is a strong determinant of aortic stiffness in hypertensive patient (4). Interestingly such changes in response to contractile agonists has also been demonstrated in hypertension (24,25). The increased responsiveness to phenylephrine in the mammary artery might be due to a chronic increase of the potentiating effect of AII. Previous studies have demonstrated that sub-contractile concentrations of AII potentiate the contractile response to sympathetic nerve stimulation (7,8,14,15), norepinephrine (11,13,17), clonidine (10), thrombin (10) and histamine (9). Furthermore we have recently reported that endogenous AII acts *in vivo* to potentiate phenylephrine induced tone in the rat mesenteric bed (11) and that locally produced AII acts on downstream located vessels to potentiate phenylephrine-induced tone (26). A chronic increase in the potentiating effect of AII might induce a sensitization of the contractile apparatus to agonists such as phenylephrine and a down-regulation of the potentiation phenomenon, which would be consistent with our present results showing a decreased acute AII potentiation. Potentiation of agonist-induced tone by either AII has a low calcium requirement and depends on protein kinase C activation (9,10,13,20). In the present study we found in human mammary artery segments a

potentiation by AII of the whole range of concentrations of phenylephrine tested but also that a higher potentiation affected the low concentrations of phenylephrine. This is in agreement with our previous observations in rat and rabbit vessels (13,16,20).

We conclude that the AC/CC genotype was associated with a change in vascular reactivity which might result from a chronic increase in AII-potentiation of adrenergic vascular tone.

References:

1. Timmermans PBMWM, Wong PC, Chiu AT, Herblin WF, Benfield P, Carini DJ, Lee RJ, Wexler RR, Saye JAM, Smith RD. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev* 1993; 45: 205-250.
2. Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, Fery I, Charru A, Clauser A, Tiret L, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. *Hypertension* 1994; 24: 63-69.
3. Tiret L, Bonnardeaux A, Poirier O, Ricard S, Marquez-Vidal P, Evans A, Arveiler D, Luc G, Kee F, Ducimetière F, Soubrier F, Cambien F. Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction. *The Lancet* 1994; 344: 910-913.
4. Benetos A, Gauthier S, Ricard S, Topouchian J, Asmar R, Poirier O, Lorosa E, Guize L, Safar M, Soubrier F, Cambien F. Influence of the angiotensin-converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms on aortic stiffness in normotensive and hypertensive patients. *Circulation* 1996; 94: 698-703.
5. Amant C, Hamon M, Bauters C, Richard F, Helbecque N, Mc Fadden EP, Escudo X, Lablanche JM, Amouyel P, Bertrand P. The angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism is associated with coronary artery vasoconstriction. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29, 486-490.

6. Simon D, Romestand B, Huang H, Badouaille G, Fehrentz JA, Pau B, Marchand J, Corvol P. Direct, simplified and sensitive assay of angiotensin II in plasma extracts performed with a high-affinity monoclonal antibody. *Clin Chem* 1992; 38: 1963-1967.
7. Day MD, Moore AF. Interaction of angiotensin II with noradrenaline and other spasmogens on rabbit isolated aortic strips. *Archs Int Pharmacodyn Ther* 1987; 219: 29-35.
8. Lyons D, Webster J, Benjamin N. Angiotensin II. Adrenergic sympathetic constrictor actions in humans. *Circulation* 1995; 91: 1457-1460.
9. Henrion D, Laher I, Laporte R, Bevan JA. Angiotensin II amplifies arterial contractile response to norepinephrine without increasing $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx: role of protein kinase C. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 261: 835-842.
10. Laher I, Thompson LP, Gagne L. Protein kinase C as a modulator of response amplification in vascular smooth muscle. *Blood Vessels* 1990; 27: 333-340.
11. Qiu HY, Henrion D, Lévy BI. Endogenous angiotensin II potentiates phenylephrine-induced tone in normotensive and hypertensive rats. *Hypertension* 1994; 24: 317-321.
12. Seidelin PH, Collier JG, Struthers AD, Webb DJ. Angiotensin II augments sympathetically mediated arteriolar constriction in man. *Clin Sci* 1991; 81: 261-266.

13. Henrion D, Laher I, Laporte R, Bevan JA. Further evidence from an elastic artery that angiotensin II amplifies noradrenaline-induced contraction through activation of protein kinase C. *Eur J Pharmacol* 1992; 224: 13-20.
14. Weber MA, Purdy RE, Stupecky SL, Prins BA. Augmentation of sympathomimetic arterial contraction by angiotensin II: a novel mechanism, *J Vasc Med Biol* 1989; 1, 7-15.
15. Duckles SP. Angiotensin II potentiates responses of the rabbit basilar artery to adrenergic nerve stimulation. *Life Sci* 1981; 28: 40-47.
16. Dowell FJ, Henrion D, Benessiano J, Poitevin P, Lévy BI. Chronic infusion of low dose angiotensin II potentiates the in vitro adrenergic response. *J Hypertens* 1996; 14: 177-182.
17. Vanhoutte PM, Verbeuren TJ, Webb RC. Local modulation of adrenergic neuroeffector interaction in the blood vessel wall. *Physiol Rev* 1981; 61: 151-159.
18. Haynes WG, Hand MF, Johnstone HA, Padfield PL, Webb DJ. Direct and sympathetically mediated venoconstriction in essential hypertension. *J Clin Invest* 1993; 94: 1359-1364.
19. Smith DHG, Neutel JM, Weber MA. Effects of angiotensin II on pressure responses to norepinephrine in human. *Life Sci* 1991; 48: 2413-2421.
20. Henrion D, Laher I. Potentiation of norepinephrine-induced contractions by endothelin-1 in the rabbit aorta. *Hypertension* 1993; 22: 78-83.

21. Michaelis L, Menten T. Die kinetic der invertinwirkung. *Biochem Z* 1993; 49: 333-342
22. Leadon SA, Cerutti PA. A rapid and mild procedure for the isolation of DNA from mammalian cells. *Anal Biochem* 1992; 120: 282-288.
23. Castellano M, Muiesan ML, Beschi M, Rizzoni D, Cinelli A, Salvati M, Pasisni G, Porteri E, Bettoni G, Zulli RA, Gabiti-Rosei E. Angiotensin II type 1 receptor A/C1166 polymorphism. relationships with blood pressure and cardiovascular structure. *Hypertension* 1996; 28: 1076-1080.
24. Kähönen M, Arvola P, Mäkinen H, Pörst I. Antihypertensive therapy and arterial function in experimental hypertension. *Gen Pharmacol* 1996; 27: 221-238.
25. Chin JPF, Dart AM. Hypertension. in *Pharmacology of vascular smooth muscle*. Garland CJ, Angus JA, ed. Oxford Univ Press; Oxford; 1996; 387-401.
26. Henrion D, Benessiano J, Lévy BI. In vitro modulation of a resistance artery diameter by the tissue renin-angiotensin system of a donor artery. *Circ Res* 1997; 80: 189-195.

Table 1: Contractile responses to potassium (K^+ 125 mmol/L) and dilator responses to acetylcholine (Ach, 10 μ mol/L) in human internal mammary artery segments from patients with the AA or the AC/CC genotype. Contraction to potassium and dilation to acetylcholine were performed before and after the experimental protocol designed to test the AII-potential of phenylephrine-induced tone. Dilation to acetylcholine (10 μ mol/L) was obtained after precontraction of the artery segments with phenylephrine (1 μ mol/L). Data are mean \pm sem.

	<u>AA</u>	<u>AC/CC</u>
<u>Before the experimental protocol:</u>		
K^+ (125 mmol/L) (mN/mg tissue)	1.81 \pm 0.22	1.69 \pm 0.22
Ach (10 μ mol/L) (% dilation)	72 \pm 6	77 \pm 5 (AII)
<u>After the experimental protocol:</u>		
K^+ (125 mmol/L) (mN/mg tissue)	2.05 \pm 0.23	1.80 \pm 0.2
Ach (10 μ mol/L) (% dilation)	66 \pm 7	72 \pm 6

Number of patients was 22 (AA genotype) and 21 (genotypes AC or CC).

Legends

Figure 1: Schematical representation of the experimental protocol performed on ring segments of human internal mammary arteries. Several concentration-response curves for phenylephrine (PE) were conducted at 60 min interval. Angiotensin II (10 pmol/L) or the solvent (physiological salt solution) were added to the bath solution 10 min before the last concentration-response curve for phenylephrine. W = washout.

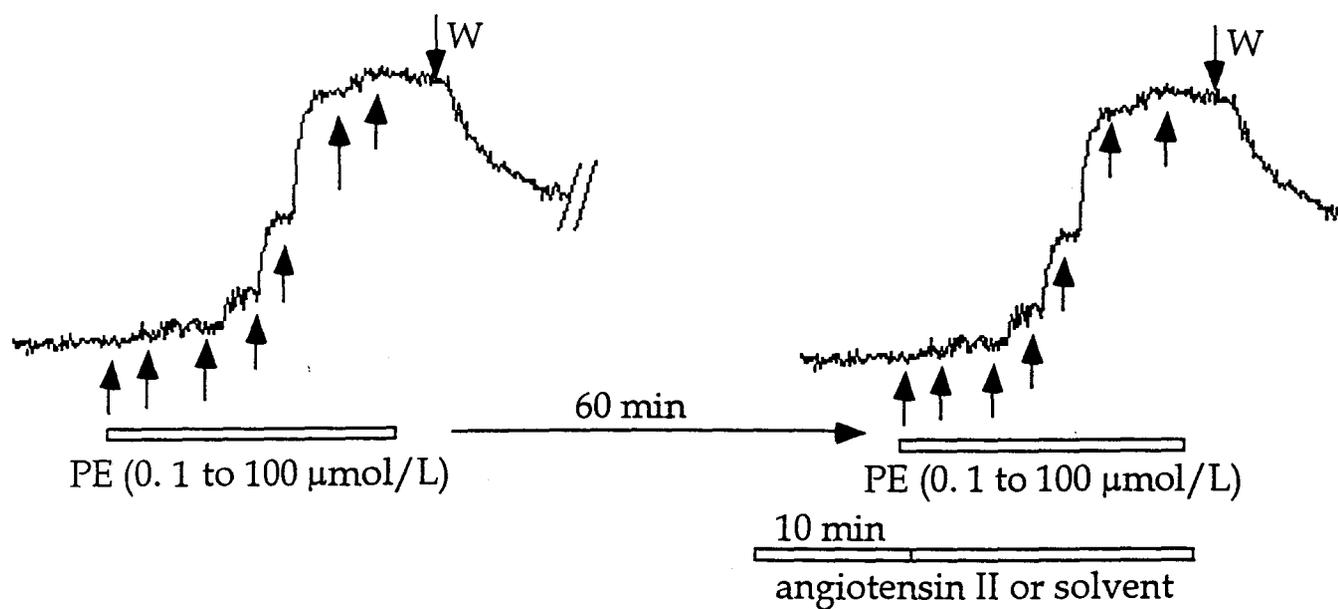


Figure 2: Concentration-response curves for phenylephrine in human internal mammary artery ring segments from patients with AA genotype (n=22 patients) or the AC/CC genotypes (n=21 patients) of angiotensin II type 1 receptor. Means \pm S.E.M. are represented.

*P < 0.0003, two factor ANOVA for repeated measurements, AC/CC vs AA.

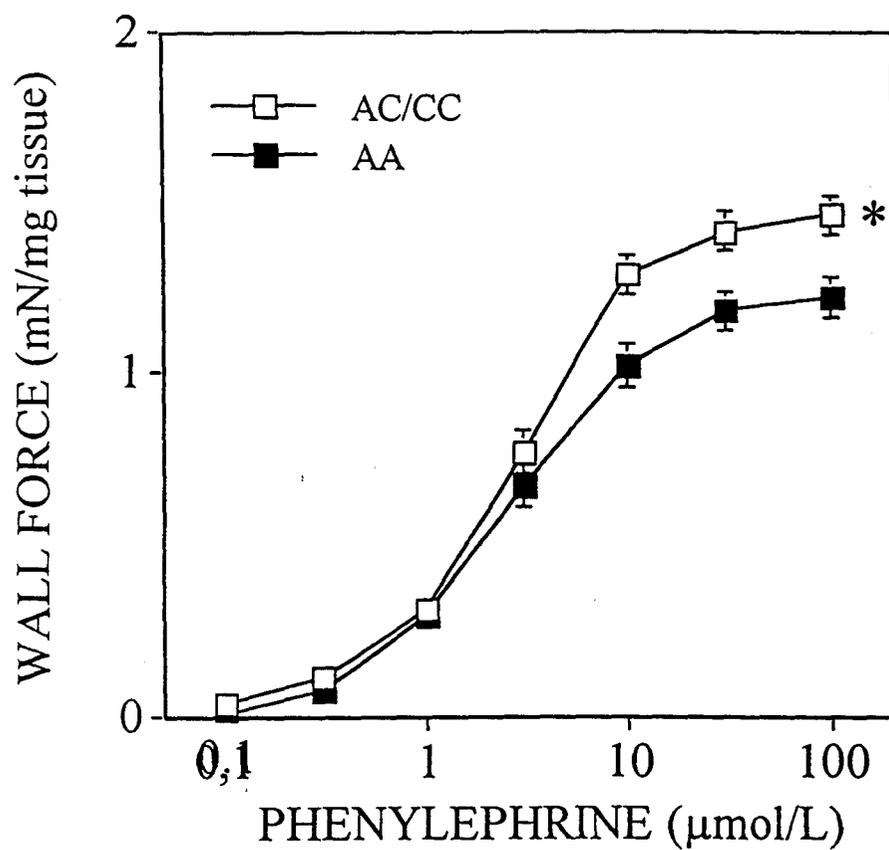


Figure 3: Concentration-response curves to phenylephrine in human internal mammary artery ring segments in the presence of angiotensin II (ANG II, 10 pmol/L). In the lower panel concentration-response curves for phenylephrine are expressed as percentage of the previous response to phenylephrine. As shown in figure 1 a concentration-response curve to phenylephrine was performed before and after the addition of ANG II to the bath solution. The response to each concentration of phenylephrine in the second curve is expressed as a percentage (%) of the corresponding response in the first curve. Means \pm S.E.M. are represented. Number of patients was 43 (22 with the AA genotype and 21 with the AC or CC genotypes).

*P < 0.0001, two factor ANOVA for repeated measurements, compared to control.

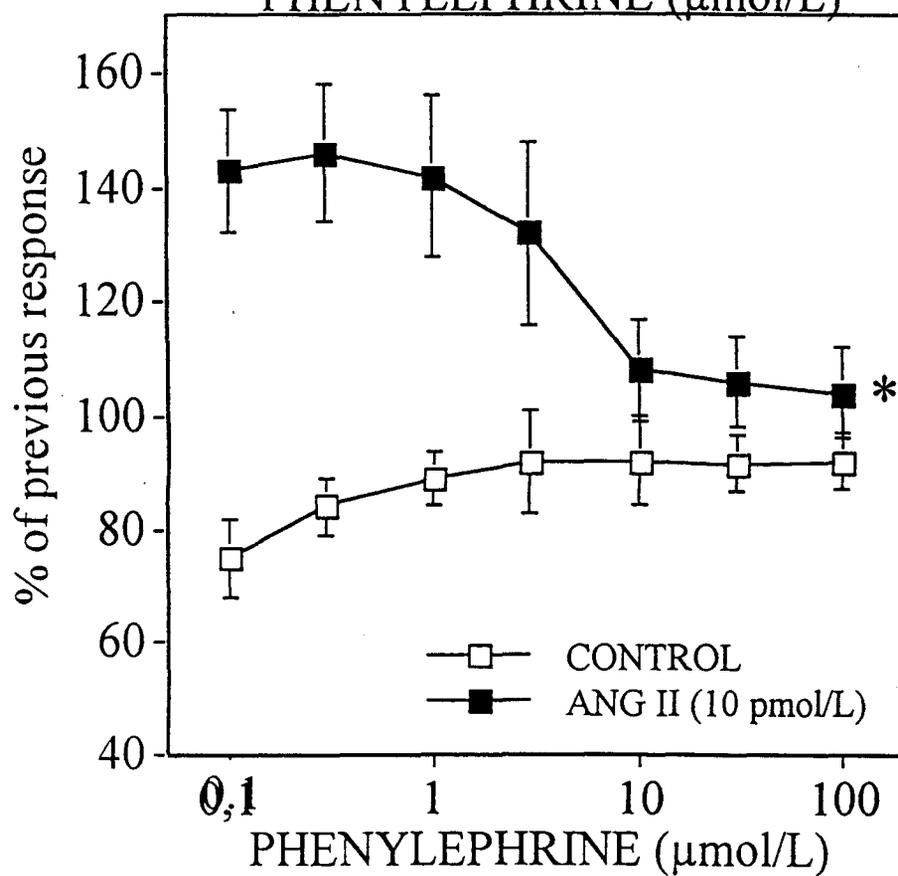
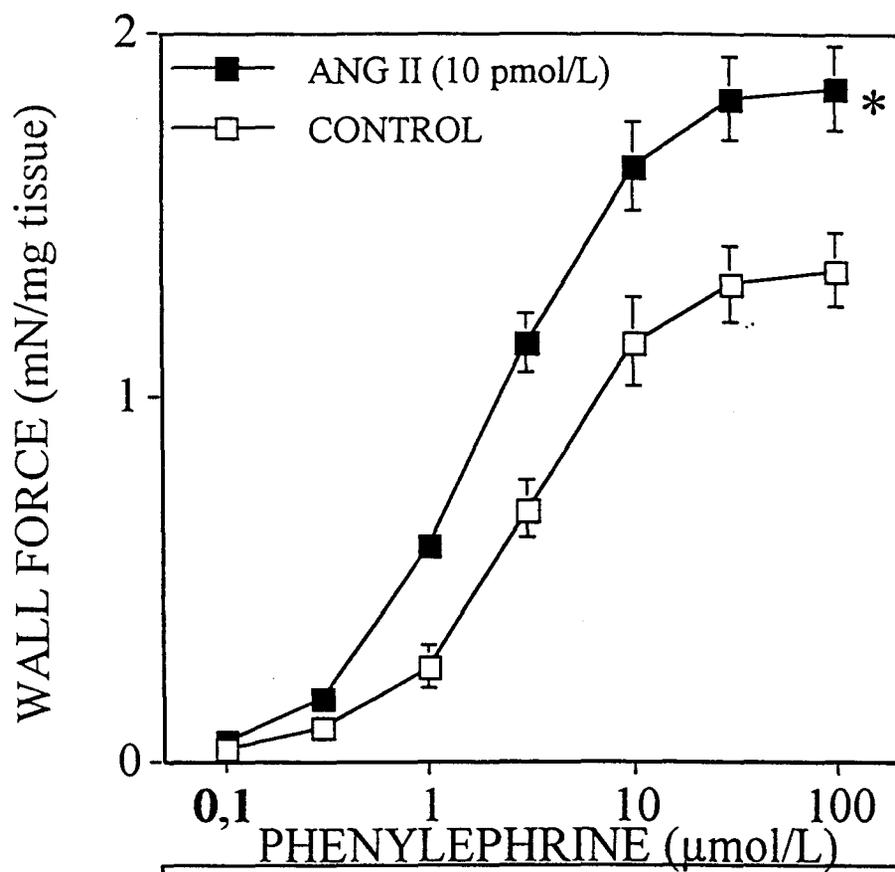
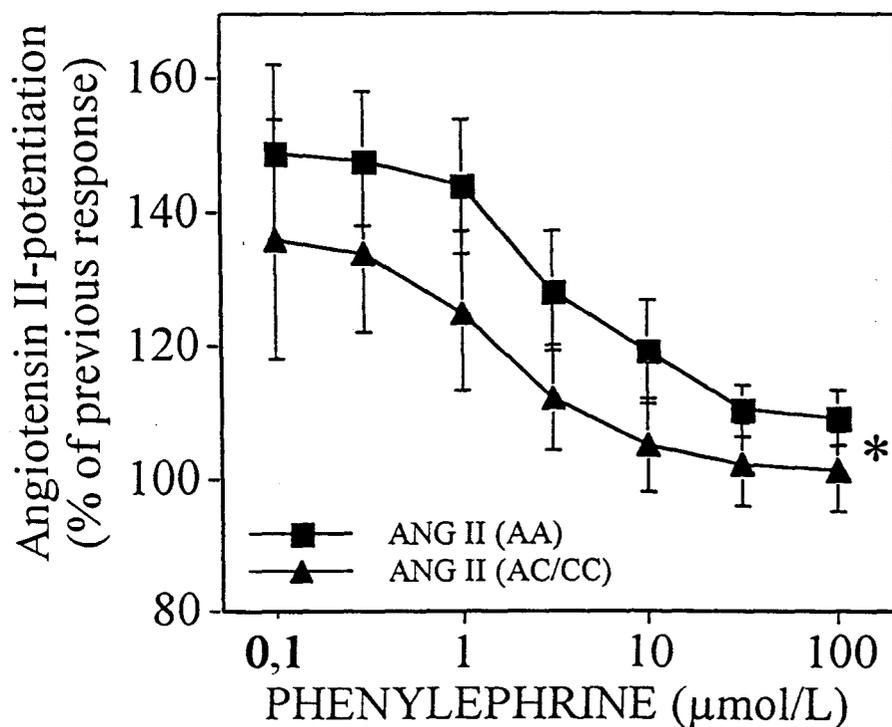


Figure 4: Effect of the AA and AC/CC genotype on concentration-response curves for phenylephrine in the presence of angiotensin II (ANG II, 10 pmol/L). Concentration-response curves for phenylephrine are expressed as % of the previous response to phenylephrine (as shown in fig. 1). Artery segments were obtained from patients with the AA genotype (n=22) or the AC/CC genotype (n=21) of angiotensin II type 1 receptor. Means \pm sem are given.

*P < 0.0001, two factor ANOVA for repeated measurements, compared to control (solvent).

#P < 0.005, two factor ANOVA for repeated measurements, AC/CC compared to AA.



Absence de relation entre le polymorphisme de délétion du gène de l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine I et le rétrécissement de la lumière du vaisseau, au contrôle d'angioplastie.

Présentation du travail

Le principal objectif de cette étude est de vérifier si *l'allèle D du gène de l'ECA constitue un facteur de risque de resténose après angioplastie conventionnelle.*

En effet, les travaux d'Ohishi *et al* publiés en 1993, et argumentés par Kaski (Kaski J. 1993), suggéraient que le polymorphisme I/D de l'ECA contribuait au déterminisme génétique de la resténose (Ohishi M. 1993). Dans une population de 82 sujets bénéficiant d'une angioplastie en urgence après un infarctus du myocarde aigu, cette équipe démontrait que le génotype DD était plus fréquent dans le groupe des sujets présentant au contrôle de l'angioplastie, une resténose significative (c'est à dire une réduction de la lumière du vaisseau >50% comparée au diamètre de la lumière juste après l'angioplastie).

La population qui compose notre étude comprend 118 patients consécutifs ne présentant lors de l'angioplastie qu'un seul vaisseau lésé. Pour chaque sujet, l'angioplastie a été réalisée avec succès. La taille de la lumière du vaisseau a été systématiquement déterminée par une angiographie quantitative juste après la procédure et au contrôle soit 3 à 9 mois après l'angioplastie.

Une étude de la taille de la lumière de l'artère au contrôle en fonction du génotype de l'ECA et de la variation de la fréquence du génotype de l'ECA en fonction de la présence ou non d'une resténose significative a été réalisée.

Présentation des résultats

Dans cette étude nous n'avons pu mettre en évidence de corrélation entre le génotype de l'ECA et la taille de la lumière du vaisseau mesurée au contrôle ni d'association entre le polymorphisme du gène de l'ECA et la présence ou non d'une resténose significative.

Notre observation nous amène à conclure à **l'absence d'influence du polymorphisme I/D de l'ECA dans la survenue et dans le développement de la resténose.**

Discussion des résultats

Ces données ont été confirmées par les résultats d'analyses de l'impact du génotype de l'ECA sur la resténose effectuées par d'autres auteurs (Samani N. 1995) (Haberbosch W.

1997). En effet, aucune association entre la présence de l'allèle D et une resténose après angioplastie n'a pu être retrouvée dans ces deux études.

Plusieurs hypothèses pourraient expliquer l'absence d'association entre l'allèle D et le phénomène de resténose dans notre étude.

1. *L'allèle D ne constituerait pas un facteur de risque de la resténose*, ce qui n'exclut pas l'influence d'un autre polymorphisme du gène de l'ECA.

2. *L'allèle D constituerait un facteur de risque de resténose*, mais qui n'aurait pu être mis en évidence dans cette étude. En effet, la resténose est la résultante de quatre mécanismes : le recalibrage chronique, la formation du thrombus, le phénomène de remodelage et l'hyperplasie néo-intimale.

L'angiotensine II permet la prolifération des cellules musculaires lisses et contribue à la thromolyse en augmentant la synthèse du PAI-1. Une élévation de la synthèse de l'angiotensine II, faisant suite à une augmentation de la concentration plasmatique en ECA associée à l'allèle D, pourrait intervenir dans le phénomène de développement de la resténose en participant à l'hyperplasie néo-intimale et/ou à la formation du thrombus post-angioplastique. Dans ce cas, l'implication de l'allèle D dans le phénomène de resténose ne peut être détectée dans notre étude car elle pourrait être masquée par le mécanisme de remodelage qui intervient dans 65% de la réduction de la lumière post-angioplastique.

3. Enfin, *notre population d'étude n'est pas comparable à celle d'Ohishi*, la sélection des sujets dans l'étude japonaise pourrait être à l'origine de l'implication de l'allèle D en tant que facteur de risque de la resténose. En effet, notre population d'étude était composée pour un tiers de sujets ayant eu un infarctus du myocarde récent, un mois avant la procédure.

L'originalité de ce travail réside dans le fait que tous les patients qui composent notre population d'étude sont consécutifs, c'est à dire sans sélection préalable sur des critères de morphologie de la sténose et ont tous été systématiquement contrôlés angiographiquement même en l'absence de signes cliniques de récurrence de la maladie coronaire. La mesure de la lumière des artères avant et après l'angioplastie a été réalisée par angiographie quantitative contrairement à l'étude japonaise.

En revanche, la population d'étude d'Ohishi était constituée de patients ayant eu une angioplastie en urgence lors d'un infarctus du myocarde aigu connu pour être un facteur de risque d'occlusion. Ce dernier phénomène pourrait expliquer l'effet observé des études d'Ohishi comme nous allons le montrer dans le travail suivant.

Relation Between the Deletion Polymorphism of the Angiotensin-Converting Enzyme Gene and Late Luminal Narrowing After Coronary Angioplasty

Martial Hamon, MD; Christophe Bauters, MD; Carole Amant, BS;
Eugène P. McFadden, MRCPI; Nicole Helbecque, PhD; Jean-Marc Lablanche, MD;
Michel E. Bertrand, MD; Philippe Amouyel, MD, PhD

Background The insertion/deletion (*I/D*) polymorphism of the angiotensin-converting enzyme (*ACE*) gene has been implicated in the pathogenesis of coronary artery disease. The deletion allele is strongly associated with the level of circulating *ACE* and is a potent risk factor for myocardial infarction. Recently, the deletion allele was also associated with the occurrence of visually diagnosed restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA) in a selected population of patients with acute myocardial infarction.

Methods and Results We investigated the influence of the *ACE I/D* polymorphism on the occurrence of restenosis after PTCA with the use of quantitative coronary angiography. *ACE I/D* genotypes were characterized in 118 consecutive patients who had one-vessel disease and were undergoing systematic angiographic follow-up. Coronary angiograms were analyzed before and after PTCA and at follow-up (7.4 ± 3.0 months).

Before PTCA, there were no clinical or angiographic differences among the three groups of genotypes (*DD*, $n=39$; *ID*, $n=62$; *II*, $n=17$). After PTCA, the mean differences in minimal luminal diameter between post-PTCA and pre-PTCA angiograms (acute gain) were identical in the three groups, as was the mean percent residual stenosis. At follow-up angiography, the mean difference in minimal coronary luminal diameter between post-PTCA and follow-up angiograms (late loss) was not significantly different in the three groups of genotypes. The percentage of patients with restenosis defined as a $>50\%$ stenosis was identical in the three groups.

Conclusions In this quantitative study, the *I/D* polymorphism of the *ACE* gene had no influence on the occurrence of restenosis after coronary angioplasty. (*Circulation*. 1995;92:296-299.)

Key Words • angiotensin • enzymes • genes • angioplasty • stenosis

Recurrent narrowing of treated coronary artery after initially successful percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA) is a major limitation of this method of myocardial revascularization.¹ The identification of risk factors for restenosis could help to prevent and reduce the impact of this phenomenon. Experimental studies support the hypothesis that the renin-angiotensin system plays a major role in the pathogenesis of restenosis; in animal models, the renin-angiotensin system is implicated in the arterial response that follows angioplasty,^{2,3} and angiotensin I-converting enzyme (*ACE*) inhibitors prevent neointimal thickening after balloon denudation.⁴ The plasma and cellular levels of *ACE* are associated with an insertion/deletion (*I/D*) polymorphism in the *ACE* gene, and the presence of the *D* allele of the *ACE* gene is associated with higher levels of plasma *ACE*.⁵⁻⁷ This allele is also a risk factor for myocardial infarction.⁸ Recently, the presence of the *D* allele was found to be a

potent risk factor for qualitatively assessed restenosis after angioplasty of the infarct-related vessel.⁹

To assess the impact of the *D* allele of the *ACE* gene as a restenosis risk factor, we estimated with quantitative angiography the occurrence of restenosis in a series of 118 patients with one-vessel disease who underwent a successful angioplasty procedure.

Methods

Population

In a routine follow-up program of cardiac catheterization after PTCA, we recruited 118 consecutive patients with one-vessel disease who had previously undergone a successful angioplasty procedure. Angioplasty was performed according to the standard technique in our laboratory, as previously described.¹⁰ The procedure was considered successful when the residual luminal narrowing in the dilated segment, immediately after angioplasty, was estimated visually to be $<50\%$ and when no major complication (ECG or enzymatic evidence of myocardial infarction, need for bypass surgery during hospitalization, or in-hospital death) occurred. Angiography was performed in at least two projections, after the intracoronary injection of isosorbide dinitrate (2 mg), just before and immediately after angioplasty. These projections were recorded in our database, and the follow-up angiogram was performed, after the intracoronary injection of isosorbide dinitrate, in the same projections.

Qualitative Angiographic Analyses

The qualitative analyses were performed independently by two experienced interventional cardiologists. Disagreements

Received November 8, 1994; revision received January 23, 1995; accepted January 30, 1995.

From University and CHRU de Lille (M.H., C.B., E.P.M., J.-M.L., M.E.B., P.A.) and Institut Pasteur de Lille (C.A., N.H., P.A.), Lille, France.

Correspondence to Michel Bertrand, MD, Service de Cardiologie B, Hôpital Cardiologique, Boulevard du Professeur J Leclercq, 59037 Lille, France.

© 1995 American Heart Association, Inc.

were resolved by an additional joint reading. Lesions were classified as concentric (symmetric narrowing, with an identical or almost identical appearance in orthogonal projections) or eccentric (asymmetric narrowing, with the stenotic lumen appearing to lie within the outer half of the "normal" lumen of the vessel in at least one projection). The presence of calcification or thrombus (a discrete intraluminal filling defect) was also noted. The antegrade blood flow before angioplasty was graded using the classification of the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) Study group.¹¹ Lesions were classified in accordance with the American Heart Association/American College of Cardiology (AHA/ACC) classification as modified by Ellis et al.¹²

Quantitative Coronary Angiography

Quantitative computer-assisted angiographic measurements of the dilated lesion were performed on angiograms obtained just before angioplasty, immediately after angioplasty, and at follow-up. Measurements were performed on end-diastolic frames with use of the CAESAR (Computer-Assisted Evaluation of Stenosis and Restenosis) system. The 35-mm cinefilm was projected with a 35AX projector, and the cine frame selected for analysis was scanned with a high-resolution (matrix, 1024×1024 pixels) video camera. The signal produced by the video camera was digitized and displayed on a video monitor. Regions of interest were chosen in the vessel, and a centerline was traced manually with a light pencil. The diameter of the coronary catheter was used to convert the imaging data from pixels to millimeters. The mean diameters of proximal and distal reference segments and the minimum diameter of the stenotic segment were measured. We have previously determined the accuracy and the precision of the CAESAR system.¹³

Serum Lipid and Lipoprotein Analysis

At follow-up, serum total cholesterol and triglyceride levels were measured by enzymatic methods (Boehringer Mannheim FRG). Cholesterol was measured in the HDL-containing supernatant after sodium phosphotungstate/magnesium chloride precipitation (Boehringer Mannheim FRG). An estimate of the LDL-cholesterol was computed according to Friedewald's formula. Apolipoproteins AI and B were quantified by the use of immunonephelometry (Behringwerke).

Genetic Study

At follow-up, venous blood samples were collected in Vacutainer tubes containing EDTA anticoagulant. Genomic DNA was prepared from white blood cells as previously described.¹⁴ The ACE gene fragment containing sequence was amplified with a Perkin-Elmer DNA thermal cycler and *Thermus aquaticus* DNA polymerase (Amersham) with the use of the primer sequences previously described.¹⁵ Reaction products were analyzed on agarose gel for allele identification.

Statistical Analysis

Statistical analyses were performed with SAS software, version 6.08 (SAS Institute Inc). Mean and SD values of quantitative data were calculated. Quantitative data were compared with a general linear model according to the ACE genotypes (ie, *DD*, *ID*, *II*). Qualitative data were tested with the use of Pearson's χ^2 test.

Results

Most of the 118 patients were smokers (72%). The mean serum LDL-cholesterol level was 123±31 mg/dL, and the mean serum HDL-cholesterol level was 43±12 mg/dL. A family history of coronary artery disease was observed in 38% of the patients. The overall population had good left ventricular function (mean ejection fraction, 0.62±0.14). One third of the patients had PTCA

TABLE 1. Clinical Characteristics

	<i>DD</i> (n=39)	<i>ID</i> (n=62)	<i>II</i> (n=17)
Age, y	52.9±10.7	59.9±9.5*	52.7±12.1
Men/women, n	35/4	50/12	16/1
Total cholesterol, mg/dL	222±37	221±40	224±40
Triglycerides, mg/dL	167±64	176±141	193±108
LDL, mg/dL	126±29	122±0.34	119±30
HDL, mg/dL	43±12	43±11	43±15
Apo AI, mg/dL	93±18	99±22	98±26
Apo B, mg/dL	99±22	99±28	98±26
Smokers, %	85	63	77
Diabetes mellitus, %	21	26	6
Systemic hypertension, %	39	27	41
Family history of CAD, %	31	45	29
Recent (<1 mo) MI, %	33	43	25
Unstable angina, %	24	22	39
LVEF, %	60.9±13.9	62.3±14.6	65.1±12.2
LVEDVI, mL/m ²	77.1±27.6	75.3±21.6	72.7±13.2

Apo indicates apolipoprotein; CAD, coronary artery disease; MI, myocardial infarction; LVEF, left ventricular ejection fraction; and LVEDVI, left ventricular end-diastolic volume index.

* $P<.05$.

for unstable angina, and a similar proportion had experienced an acute myocardial infarction in the month before PTCA. Of the 118 patients, 39 had the *DD* genotype (33%), 62 had the *ID* genotype (53%), and 17 had the *II* genotype (14%). These genotype frequencies were compatible with the Hardy-Weinberg distribution. The clinical characteristics for the three groups of genotypes are presented in Table 1. Except for age, which was higher in the *ID* patients, there were no statistically significant differences among genotypes.

The angiographic characteristics of the dilated lesions are summarized in Table 2. Most of the lesions were located in the left anterior descending or right coronary artery and were classified as type A or B1 according to the ACC/AHA classification modified by Ellis et al¹²; the majority of the stenoses were in arteries that had TIMI grade 3 flow. All the angiographic characteristics were similar among the three groups of genotypes.

The follow-up period (from PTCA to follow-up angiogram) was 7.4±3.0 months for the overall population and did not differ significantly among groups (*DD*, 7.6±4.0 months; *ID*, 7.4±2.5 months; *II*, 7.1±1.8 months). The medications taken by the patients during this follow-up period were similar for the three groups; 21% of the patients were treated with an ACE inhibitor (*DD*, 20%; *ID*, 23%; *II*, 18%).

The results of quantitative coronary angiography did not show any differences among groups in reference diameter, minimal luminal diameter, or percent diameter stenosis before angioplasty (Table 3). Immediately after the PTCA procedure, the minimal luminal diameter, percent diameter stenosis, and amount of acute gain were similar in the three genotypes. At follow-up angiography, the minimal luminal diameter, percent diameter stenosis, and late loss were not statistically different in the three groups of genotypes. Finally, when restenosis was categorized from the quantitative data and defined as a >50% stenosis at follow-up, no differences in the percentages of restenosis were observed among the three genotypes. At follow-up, the proportion of patients with total occlusion was similar in the three groups of genotypes. When the patients with total occlusion were

TABLE 2. Angiographic Characteristics

	DD (n=39)	ID (n=62)	II (n=17)
Lesion location			
Left anterior descending artery	49	47	41
Right coronary artery	43	40	41
Left circumflex artery	8	13	18
AHA/ACC classification*			
A	56	43	41
B1	34	43	41
B2	5	9	18
C	5	5	...
Lesion morphology			
Eccentric stenosis	37	51	47
Calcification	8	2	...
Angulation >45°C	5	5	...
Thrombus	8	7	6
Ulceration	8	7	6
Irregularity	8	18	23
Bifurcation	3	2	...
TIMI grade			
0	5	2	6
1	...	2	...
2	...	6	6
3	95	90	88

AHA/ACC indicates American Heart Association/American College of Cardiology; and TIMI, Thrombolysis in Myocardial Infarction Trial.

*Modified by Ellis et al.¹²

All numbers indicate percent values.

excluded, the late loss again was not statistically different in the three groups of genotypes (*DD*, 0.35 ± 0.70 mm; *ID*, 0.39 ± 0.53 mm; *II*, 0.31 ± 0.58 mm).

Discussion

In this quantitative study, the deletion polymorphism of the *ACE* gene had no influence on the occurrence of restenosis after coronary angioplasty. No significant differences were observed for any of the confounding factors tested. Regardless of the criterion used for assessing restenosis at follow-up (eg, minimal luminal diameter, percent stenosis, late loss, net gain, presence of a >50% diameter stenosis), no differences were observed among the three genotypes. These results suggest that the *D* allele of the *ACE* gene is not a major

TABLE 3. Quantitative Angiography

	DD (n=39)	ID (n=62)	II (n=17)
Reference diameter, mm			
Before angioplasty	3.19±0.54	3.12±0.62	2.93±0.46
After angioplasty	3.18±0.64	3.12±0.56	2.97±0.46
Follow-up	3.30±0.59	3.19±0.63	2.97±0.57
Minimal luminal diameter, mm			
Before angioplasty	0.85±0.39	0.83±0.39	0.80±0.36
After angioplasty	2.09±0.45	2.12±0.44	1.95±0.43
Follow-up	1.66±0.76	1.72±0.70	1.55±0.58
Diameter stenosis, %			
Before angioplasty	72±12	72±11	73±11
After angioplasty	30±10	29±10	33±13
Follow-up	48±20	46±18	47±21
Immediate gain, mm	1.25±0.51	1.29±0.47	1.15±0.48
Late loss, mm	0.43±0.78	0.41±0.55	0.40±0.67
Net gain, mm	0.82±0.73	0.89±0.68	0.75±0.38
Stenosis >50% at follow-up, %	44	32	47
Total occlusion at follow-up, %	5	2	6

risk factor for restenosis after PTCA. Contrary to the observation reported by Ohishi et al⁹ in a smaller sample, the incidence of restenosis in the present study was similar for the three genotypes. Several explanations may account for this discrepancy. First, the 82 consecutive patients in the study of Ohishi et al⁹ had visual assessment of restenosis performed, which was arbitrarily defined as a >50% stenosis at follow-up; the shortcomings associated with visual analysis of coronary angiograms are now universally recognized, and the use of quantitative angiography allows better accuracy and reproducibility.¹³ Second, Ohishi et al⁹ included only patients who had emergency PTCA for an acute myocardial infarction; PTCA in this setting has been associated with a significant proportion of reocclusion,¹⁶ which is less frequently observed after elective PTCA.¹⁷

When we compared the genotypic and allelic distributions in the present study population with the results obtained in the ECTIM study⁸ and the study of Ohishi et al⁹ (Table 4), the distributions of genotypes and alleles in the patients with myocardial infarction in the ECTIM study and in our patients were comparable. In contrast, Ohishi et al⁹ found a higher frequency of *D* alleles due to the lower frequency of *ID* genotypes. Moreover, due to this deficit in heterozygotes, the genotype distribution was not compatible with the Hardy-Weinberg equilibrium ($P < .05$). This heterozygote deficit may be related to ethnic differences or to amplification confusion between *ID* and *DD* genotypes, as previously described.¹⁸

Although the relative contributions of the mechanisms leading to restenosis after PTCA in humans are not yet fully determined,¹ experimental and clinical studies have demonstrated the importance of neointimal hyperplasia.¹⁹ There are numerous experimental observations suggesting that an inhibition of ACE reduces neointimal hyperplasia in response to experimental balloon angioplasty.^{4,20} Potential mechanisms by which ACE inhibition may reduce neointimal hyperplasia in these models are related to the role of this enzyme in the formation of angiotensin II, a potent growth factor for smooth muscle cells,²¹ and in the degradation of bradykinin, a growth inhibitor for smooth muscle cells.²² However, two recent randomized trials (MERCATOR²³ and MARCATOR²⁴) failed to demonstrate a beneficial effect of ACE inhibition on the occurrence of angiographic restenosis after angioplasty in humans. One potential explanation for these discrepancies might be the relatively low doses of ACE inhibitor used in the clinical trials compared with the experimental studies, which were unable to achieve a significant inhibition of tissue ACE.²⁰ In humans, the levels of plasma and cellular ACE are strongly genetically determined^{5,6,25}; the *DD* genotype is associated with a higher level of ACE than either the *ID* or *II* genotype.⁵ Based on these studies, we hypothesized that the *DD* genotype might be a risk factor for restenosis after a successful angioplasty procedure. Our results suggested that such an effect, if any, was unlikely to be of major clinical significance or that an interaction with other genes or environmental risk factors could mask this association. A limitation of the present study relates to the number of patients included. However, given the strength of the relation described by Ohishi et al⁹ in a smaller group, one would expect to see significant differences among the groups in a sample of this size.

TABLE 4. Distribution of Angiotensin-Converting Enzyme Genotypes and Alleles in Different Studies

	Present Study			Ohishi et al ⁹			ECTIM Study ⁴	
	All	>50%	≤50%	All	>50%	≤50%	Control Subjects	Patients
DD	39 (33)*	17 (37)	22 (30)	37 (45)	21 (66)	16 (32)	200 (27)	197 (32)
ID	62 (53)	21 (46)	41 (58)	24 (29)	7 (22)	17 (34)	390 (53)	309 (51)
II	17 (14)	8 (17)	9 (12)	21 (26)	4 (13)	17 (34)	143 (20)	104 (17)
D/II	0.59/0.41†	0.60/0.40	0.59/0.41	0.60/0.40	0.77/0.23	0.49/0.51	0.54/0.46	0.58/0.42

*Number of subjects and (in parentheses) percent for each genotype.

†Allele frequencies.

Acknowledgments

This work was supported in part by a grant from the Direction de la Recherche et des Etudes Doctorales and Institut Pasteur de Lille. We thank Thierry Brousseau and Odile Vidal for their excellent assistance.

References

- Gibbons GH, Dzau VJ. The emerging concept of vascular remodeling. *N Engl J Med*. 1994;330:1431-1438.
- Viswanathan M, Stromberg C, Seitzer A, Saavedra JM. Balloon angioplasty enhances the expression of angiotensin II AT1 receptors in neointima of rat aorta. *J Clin Invest*. 1992;90:1707-1712.
- Rakugi H, Kim DK, Krieger JE, Wang DS, Dzau VJ, Pratt RE. Induction of angiotensin converting enzyme in the neointima after vascular injury: possible role in restenosis. *J Clin Invest*. 1994;93:339-346.
- Powell JS, Clozel JP, Müller RK, Kuhn H, Hefti F, Hosang M, Baumgartner HR. Inhibitors of angiotensin-converting enzyme prevent myointimal proliferation after vascular injury. *Science*. 1989;245:186-188.
- Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest*. 1990;86:1343-1346.
- Costerousse O, Allegrini J, Lopez M, Alhenc-Gelas F. Angiotensin-converting enzyme in human circulating mononuclear cells: genetic polymorphism of expression in T lymphocytes. *Biochem J*. 1993;290:33-40.
- Cambien F, Costerousse O, Tiret L, Poirier O, Lecerf L, Gonzales MF, Evans A, Arveiler D, Cambou JP, Luc G, Rakotovao R, Ducimetiere P, Soubrier F, Alhenc-Gelas F. Plasma level and gene polymorphism of angiotensin-converting enzyme in relation to myocardial infarction. *Circulation*. 1994;90:669-676.
- Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou J-P, Arveiler D, Luc G, Bard J-M, Bara L, Ricard S, Tiret L, Amouyel P, Alhenc-Gelas F, Soubrier F. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature*. 1992;359:641-644.
- Ohishi M, Fujii K, Minamino T, Higaki J, Kamitani A, Rakugi H, Zhao Y, Mikami H, Miki T, Ogihara T. A potent genetic risk factor for restenosis. *Nat Genet*. 1993;5:324-325. Letter.
- Bauters C, Lablanche JM, McFadden EP, Leroy F, Bertrand ME. Clinical characteristics and angiographic follow-up of patients undergoing early or late repeat dilation for a first restenosis. *J Am Coll Cardiol*. 1992;20:845-848.
- The TIMI Study Group. Comparison of invasive and conservative strategies after treatment with intravenous tissue plasminogen activator in acute myocardial infarction: results of the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) phase II trial. *N Engl J Med*. 1989;320:618-627.
- Ellis SG, Vandormael MG, Cowley MJ, DiSciascio G, Deligonul U, Topol EJ, Bulle TM. Coronary morphology and clinical determinants of procedural outcome with multivessel coronary artery disease: implications for patient selection. *Circulation*. 1990;82:1193-1202.
- Bertrand ME, Lablanche JM, Bauters C, Leroy F, McFadden EP. Discordant results of visual and quantitative estimates of stenosis severity before and after angioplasty. *Cathet Cardiovasc Diagn*. 1993;28:1-6.
- Marcadet A, O'Connell P, Cohen D. Standardized Southern blot workshop technique. In: Dupont B, ed. *Histocompatibility Testing, Vol 1*. New York, NY: Springer; 1987:553-560.
- Tiret L, Rigat B, Visikis S, Breda C, Corvol P, Cambien F, Soubrier F. Evidence from combined segregation and linkage analysis that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet*. 1992;51:197-205.
- Brodie BR, Grines CL, Ivanhoe R, Knopf W, Taylor G, O'Keefe J, Weintraub RA, Berdan LG, Tchong JE, Woodlief LH, Califf RM, O'Neil WW. Six-month clinical and angiographic follow-up after direct angioplasty for acute myocardial infarction: final results from the Primary Angioplasty registry. *Circulation*. 1994;90:156-162.
- Rensing BJ, Hermans WRM, Deckers JW, de Feyter PJ, Tijssen JGP, Serruys PW. Lumen narrowing after percutaneous transluminal coronary balloon angioplasty follows a near gaussian distribution: a quantitative angiographic study in 1,445 successfully dilated lesions. *J Am Coll Cardiol*. 1992;19:939-945.
- Fogarty DG, Maxwell AP, Doherty CC, Hughes AE, Nevin NC. ACE gene typing. *Lancet*. 1994;243:851. Letter.
- Liu MW, Roubin GS, King S. Restenosis after coronary angioplasty: potential biologic determinants and role of intimal hyperplasia. *Circulation*. 1989;79:1374-1384.
- Rakugi H, Wang DS, Dzau VJ, Pratt RE. Potential importance of tissue angiotensin-converting enzyme inhibition in preventing neointima formation. *Circulation*. 1994;90:449-455.
- Daemen MJAP, Lombardi DM, Bosman FT, Schwartz SM. Angiotensin II induces smooth muscle cell proliferation in the normal and injured rat arterial wall. *Circ Res*. 1991;68:450-456.
- Farhry RD, Carretero OA, Ho KL, Scicli AG. Role of kinins and nitric oxide in the effects of angiotensin converting enzyme inhibitors on neointima formation. *Circ Res*. 1993;72:1202-1210.
- The MERCATOR Study Group. Does the new angiotensin converting enzyme inhibitor cilazapril prevent restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty? The results of the MERCATOR study: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Circulation*. 1992;86:100-111.
- Faxon DP, on behalf of the MARCATOR Investigators. Angiotensin converting enzyme inhibition and restenosis: the final results of the MARCATOR trial. *Circulation*. 1992;86(suppl I):I-53. Abstract.
- Cambien F, Alhenc-Gelas F, Herbeth B, Andre JL, Rakotovao R, Gonzales MF, Allegrini J, Bloch C. Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: the Nancy study. *Am J Hum Genet*. 1988;43:774-780.

Le polymorphisme I/D de l'ECA est un facteur de risque d'occlusion totale de l'artère coronaire après angioplastie.

Présentation du travail

L'occlusion chronique après angioplastie est un phénomène indépendant du rétrécissement progressif de la lumière du vaisseau et constitue une complication grave de la resténose. La formation de l'occlusion chronique est encore mal connue. Il semblerait pourtant que le développement d'un thrombus et une fibrose intense expliquerait ce rétrécissement accéléré de la lumière de l'artère. L'activation des plaquettes ainsi qu'une inhibition de la fibrinolyse interviendrait de façon prépondérante dans ce processus (Durrieu-Jaïs C. 1996).

Dans une population de 291 patients consécutifs présentant une seule lésion à l'angiographie et ayant bénéficié d'une angioplastie avec succès, nous nous sommes intéressés à l'étude des facteurs génétiques qui influencent la formation de ce mécanisme particulier de la resténose, l'occlusion. Nous avons donc étudié *l'influence du polymorphisme d'Insertion/Délétion du gène de l'ECA sur la survenue d'une occlusion totale du vaisseau après angioplastie.*

Présentation des résultats

Nous n'avions pas été en mesure de confirmer les résultats de l'étude d'Ohishi *et al* suggérant que l'allèle D du gène de l'ECA constituait un facteur de risque augmenté de resténose post-angioplastique au sein de notre population de sujets (Ohishi M. 1993). Aucune association entre le génotype de l'ECA et la taille de la lumière du vaisseau mesurée au contrôle ni d'association entre le polymorphisme du gène de l'ECA et la présence ou non d'une resténose significative n'ont pu être mises en évidence dans cette population.

Une angioplastie effectuée après un infarctus en phase aiguë au site même de la lésion responsable de la survenue de l'infarctus constitue un facteur de risque augmenté de resténose après l'angioplastie et plus particulièrement d'occlusion complète du vaisseau au contrôle de l'angioplastie (Bauters C. 1995).

Nous avons donc réévalué l'association entre l'allèle D et la resténose post-angioplastie au niveau d'un sous-groupe de notre population initiale, constitué par les patients présentant au contrôle une occlusion totale du vaisseau.

Il apparaît que la fréquence du génotype DD est augmentée dans ce groupe avec occlusion par rapport au reste de la population. Le risque (estimé par l'Odds ratio) d'occlusion totale chez les sujets porteurs du génotype DD comparés à ceux porteurs du génotype II ou ID est de 3.17 (Intervalle de confiance à 95% [1.11-8.99]). Cet Odds ratio est obtenu après ajustement sur le sexe et l'âge, et sur les paramètres influençant le risque d'occlusion totale tels que la survenue d'un infarctus du myocarde récent, la présence de vaisseaux collatéraux, un diamètre du vaisseau de référence petit et la présence d'une occlusion avant l'angioplastie. L'estimation de l'Odds ratio de l'occlusion en fonction du génotype de l'*ECA* ajustée sur la survenue de l'infarctus du myocarde nous permet de mesurer l'impact réel du génotype DD sur la survenue d'une occlusion en écartant l'influence de la survenue d'un infarctus du myocarde récent.

Ces résultats suggèrent que **le génotype DD constitue donc un facteur de risque majeur et indépendant d'occlusion après angioplastie.**

Discussion des résultats

Nous pouvons donc confirmer une de nos hypothèses exposée précédemment considérant que l'allèle D est bien impliqué dans la formation de la resténose post-angioplastie, mais que cette relation ne pouvait être mise en évidence dans notre population initiale.

En effet, plusieurs mécanismes interviennent dans la formation de la resténose, tels que le remodelage, la formation d'un thrombus et l'hyperplasie néo-intimale. La participation du remodelage dans le développement de la resténose s'élève à environ 65%. Dans le cas d'une occlusion totale chronique, le remodelage serait supplanté par les autres mécanismes et principalement par un mécanisme rapide qui serait différent de l'hyperplasie néo-intimale, une fibrose intense et la formation d'un thrombus.

Nous démontrons ici que le génotype DD est impliqué dans le déterminisme génétique de l'occlusion totale post-angioplastie. Nous pouvons donc émettre *l'hypothèse d'une association entre le polymorphisme I/D du gène de l'ECA et une inhibition de la fibrinolyse.*

En effet, une diminution de l'activité fibrinolytique associée à une augmentation de l'activité du PAI-1 intervient 6 heures après l'angioplastie et contribue à la formation d'un

thrombus (Shi Y. 1992). De plus, l'infusion d'angiotensine II conduit à une augmentation du taux circulant de PAI-1 en activant la synthèse de PAI-1 par les cellules endothéliales (Ridker P. 1993).

La fonction principale du PAI-1 est l'inhibition du mécanisme de fibrinolyse par l'intermédiaire de l'inhibition du t-PA. Une augmentation du taux plasmatique de PAI-1 associée à une augmentation de l'activité du PAI-1-angiotensine II-dépendante mène à une augmentation des niveaux de fibrinogène en amont du t-PA. De plus, une augmentation du taux de fibrinogène observée après l'angioplastie constitue un facteur de risque majeur de resténose par occlusion (Montalescot G. 1995) (Figure 11).

Nous pouvons donc supposer que les sujets porteurs du génotype DD avec une augmentation du taux circulant d'angiotensine II associé à une augmentation du taux plasmatique d'ECA, présentent une activité du PAI-1 post-angioplastie accrue par l'augmentation des niveaux d'angiotensine II.

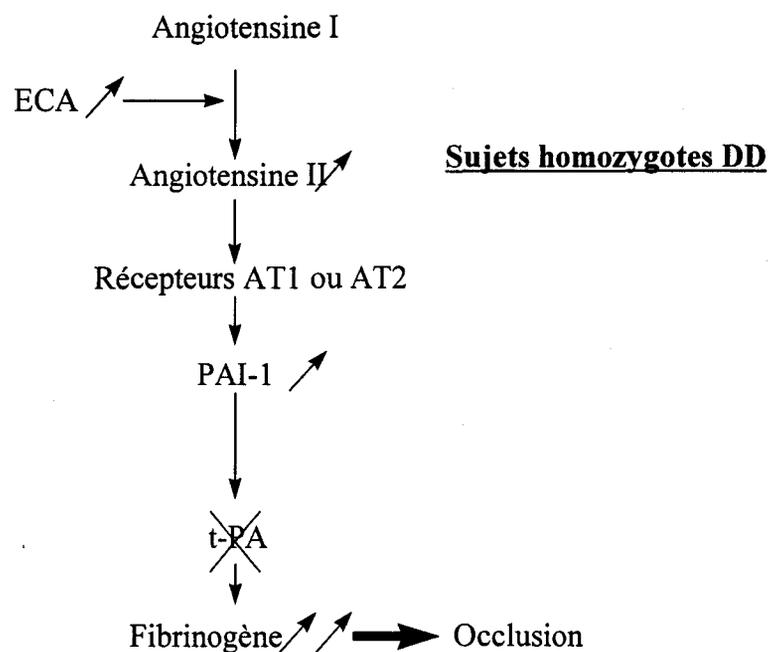


Figure 11 : Hypothèse de contribution de l'allèle D à la formation de l'occlusion totale après angioplastie, chez les sujets DD.

L'originalité de ce travail réside dans le fait que pour la première fois il ne s'agit pas d'une étude du déterminisme génétique de la resténose en général, mais d'une étude du déterminisme génétique d'un mécanisme précis de la resténose, l'occlusion. Cependant, du fait de la subdivision des groupes de sujets, le nombre d'effectifs dans chaque groupe est restreint.

Nous avons donc mis en évidence dans cette étude que le génotype DD ne constituerait un facteur de risque de resténose, qu'au niveau de certains mécanismes de développement de la resténose, à savoir la formation massive d'un thrombus et une fibrose massive après angioplastie conventionnelle. Il faudra donc élargir nos investigations quant à la détermination de l'impact de l'allèle D sur le développement de la resténose au niveau d'autres mécanismes de formation tels que l'hyperplasie néo-intimale observée seule et le remodelage.

ACE Polymorphism, a Genetic Predictor of Occlusion After Coronary Angioplasty

Martial Hamon, MD, Carole Amant, MSc, Christophe Bauters, MD, Jean-Marc Lablanche, MD, Michel Bertrand, MD, and Philippe Amouyel, MD, PhD

Percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA) is a widely used technique for myocardial revascularization in patients with coronary atherosclerotic lesions, but remains limited by a high rate of restenosis at the dilated site in the months following a successful procedure. Animal experiments suggest that the components of the renin-angiotensin system, in particular the angiotensin-converting enzyme (ACE), play a major role in this process. Recently, the insertion/deletion (I/D) poly-

morphism of the ACE gene (*ACE*) has been suggested to be a risk factor for myocardial infarction.¹ The *ACE* D allele, associated with increased levels of the tissular and circulating enzyme, was also reported to be a potent risk factor of visually assessed restenosis in patients treated by emergency PTCA for acute myocardial infarction.² However, 2 recent studies based on quantitative coronary angiography measurements with a larger number of nonselected patients were unable to confirm this initial report.^{3,4} Because PTCA of infarct-related lesions is associated with a higher rate of angiographic recurrence due to the frequent occurrence of complete vessel occlusion in such patients,⁵ we investigated whether the *ACE* D allele might influence the incidence of total occlusion after PTCA and consequently might account for these discrepancies.

From the Service de Cardiologie B et Hémodynamique, Hôpital Cardiologique de Lille, and Service d'Epidémiologie et de Santé Publique CJF INSERM 95-05, Institut Pasteur de Lille, Lille, France. Dr. Hamon's address is: Dr Martial Hamon, Service de Cardiologie B et Hémodynamique, Hôpital Cardiologique, Bd du Professeur J. Leclercq, 59037 Lille Cedex, France. Manuscript received March 1, 1996; revised manuscript received and accepted April 11, 1996.

...
 In a routine follow-up program of cardiac catheterization after percutaneous transluminal coronary angioplasty, we recruited 291 consecutive patients with 1-vessel disease who had previously undergone a successful angioplasty procedure. The procedure was considered successful when the residual luminal narrowing in the dilated segment, immediately after angioplasty, was estimated visually to be <50% and when no major complication (electrocardiographic or enzymatic evidence of myocardial infarction, the need for bypass surgery during hospitalization, or in-hospital death) occurred. Angiography was performed in at least 2 projections, after the intracoronary injection of isosorbide dinitrate (2 mg), just before and immediately after angioplasty. These projections were recorded in our database and the follow-up angiogram was recorded, after the intracoronary injection of isosorbide dinitrate, in the same projections.

Quantitative computer-assisted angiographic measurements of the dilated lesion were performed on angiograms obtained just before angioplasty, immediately after angioplasty, and at follow-up. Measurements were performed on end-diastolic frames with use of the Computer Assisted Evaluation of Stenosis And Restenosis System. The 35-mm cine film was projected with a 35AX projector (Tagarno, Denmark), and the cine frame selected for analysis was scanned with a high-resolution (matrix 1,024 × 1,024 pixels) videocamera. The signal produced by the videocamera was digitized and displayed on a video monitor. Regions of interest were chosen in the vessel and a center line was manually traced with use of a light pencil. The diameter of the coronary catheter was used to convert the imaging data from pixels to millimeters. The mean diameters of proximal and distal reference segments and the minimum diameter of the stenotic segment were measured as previously described.³

At follow-up, venous blood samples were collected in Vacutainer tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid anticoagulant. Genomic deoxyribonucleic acid (DNA) was prepared from white blood cells. The ACE gene fragment containing sequence was amplified with a Perkin Elmer DNA thermal cycler and *Thermus aquaticus* DNA polymerase (Amersham) using the primer sequences previously described.¹ Reaction products were analyzed on agarose gel, for allele identification using adjunction of dimethyl sulfoxide for better detection of I alleles.

Statistical analyses were performed with SAS Software (release 6.08; SAS Institute, Cary, North Carolina). Means ± SDs of quantitative data were calculated. Quantitative data were compared with a general linear model according to the ACE genotypes (i.e., DD, ID, and II). Qualitative data were tested using Pearson's chi-square test.

...
 The genotype frequencies were 34%, 50%, and 16% for DD, ID, and II, respectively, in the overall population and were compatible with the Hardy-Weinberg equilibrium. No clinical or angiographic difference was observed between genotypes before and immediately after PTCA. At follow-up angiography, quantitative angiographic data were not different according to genotypes. When restenosis was categorized from quantitative data as >50% stenosis at follow-up, no differences in restenosis rates were observed among genotypes, as previously published.^{3,4} However, total occlusion at follow-up was observed in 17 patients (6%) and the DD genotype was significantly more frequent in these patients (Table I). The odds ratio (an estimate of the relative risk of total occlusion between subjects with the DD genotype and those with the ID or the II genotypes) was 3.17 (95% confidence interval [1.11 to 8.99]) after adjustment for known risk factors of total occlusion at follow-up, such as recent myocardial infarction, presence of collateral vessels, small reference diameter, and total occlusion before PTCA.

It has been suggested that 2 distinct mechanisms may account for recurrent stenosis after PTCA of infarct-related lesions: progressive luminal renarrowing as documented after angioplasty of stable lesions, and reocclusion in the months after infarction. Our findings that the ACE DD genotype is associated more frequently with occlusion at follow-up may explain the result of the study of Ohishi et al.² In this study, only patients with acute myocardial infarction were included, and PTCA in this setting was associated with a high rate of restenosis due in large part to reocclusion that could be influenced by the DD genotype. The DD genotype is associated with increased levels of circulating ACE implicated in angiotensin II formation and bradykinin degradation. Angiotensin II is able to promote smooth muscle cell proliferation and intimal thickening after balloon arterial injury, but it is also a potent vasocon-

TABLE I Distribution of ACE Genotypes

Genotypes	With Occlusion (n = 17)	Without Occlusion (n = 274)
DD	10 (59)*	90 (33)
ID	4 (24)	140 (51)
II	3 (17)	44 (16)
D/I	0.71/0.29†	0.58/0.42
Odds ratio (DD/ID + II)	3.17 (1.11-8.99)‡	

*Number of subjects (percentage) for each genotype.
 †Allele frequencies.
 ‡Odds ratio and 95% confidence interval adjusted for age, gender, recent myocardial infarction, presence of collateral vessels, proximal reference diameter, and total occlusion before percutaneous transluminal coronary angioplasty (p < 0.03).

strictor and promotes increased plasma plasminogen activator-inhibitor 1 levels in humans.⁶ This last effect may constitute a potential link between the renin angiotensin system and thrombosis that plays a major role in the occurrence of acute myocardial infarction and occlusion after initial successful PTCA.

We conclude that the ACE I/D polymorphism has no effect on progressive luminal renarrowing after conventional angioplasty but may be implicated in a distinct mechanism of restenosis (i.e., thrombosis and occlusion) that could explain the discrepancies among previously published studies.

1. Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambous J-P, Arveiler D, Luc G, Bard J-M, Bara L, Ricard S, Tiret L, Amouyel P, Alhenc-Gelas

F, Soubrier F. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992;359:641-644.

2. Ohishi M, Fujii K, Minamino H, Higaki, Kamitani A, Rakugi H, Zhao Y, Mikami H, Miki T, Ogihara T. A potent genetic risk factor for restenosis. *Nat Genet.* 1993;5:324-325.

3. Hamon M, Bauters C, Amant C, Mc Fadden EP, Helbecque N, Lablanche J-M, Bertrand ME, Amouyel P. Relation between the deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and late luminal narrowing after coronary angioplasty. *Circulation* 1995;92:296-299.

4. Samani NJ, Martin DS, Brack M, Cullen J, Chauhan A, Lodwick D, Harley A, Swales JD, de Bono DP, Gershlick AH. Insertion/deletion in the angiotensin-converting enzyme gene and risk of restenosis after coronary angioplasty. *Lancet* 1995;345:1013-1016.

5. Bauters C, Khanoyan P, Mc Fadden E, Quandalle P, Lablanche J-M, Bertrand M. Restenosis after delayed coronary angioplasty of the culprit vessel in patients with a recent myocardial infarction. *Circulation* 1995;91:1410-1418.

6. Ridker PM, Gaboury CL, Conlin PR, Seely EW, Williams GH, Vaughan DE. Stimulation of plasminogen activator inhibitor in vivo by infusion of angiotensin II. *Circulation* 1993;87:1969-1973.

L'allèle D du gène de l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine I est un facteur de risque majeur de la resténose après angioplastie avec pose de stent.

Présentation du travail

L'utilisation d'endoprothèse coronaire ou stent lors de l'angioplastie réduit la resténose en évitant les phénomènes de retour élastique et de remodelage (Dusaillant G. 1995). La pose du stent lors de l'angioplastie est aussi efficace dans le traitement des occlusions chroniques (Sirnes P J. 1996). Cependant l'utilisation du stent en prévention de la resténose n'empêche pas la formation de l'hyperplasie néo-intimale.

Les résultats que nous avons obtenus lors des précédentes études montraient que l'allèle D pourrait être impliqué dans le déterminisme génétique de la resténose au niveau d'un de ses processus particuliers, l'occlusion chronique. Nous avons donc élargi nos recherches à la caractérisation des déterminants génétiques d'un mécanisme important de la resténose, l'hyperplasie néo-intimale.

Dans une population de 146 patients causasiens consécutifs ayant tous bénéficié d'une angioplastie réussie avec pose de stent de type Palmaz Schatz, nous avons mesuré *l'influence du polymorphisme I/D du gène de l'ECA sur le rétrécissement de la lumière du vaisseau au contrôle et sur la survenue d'une resténose*. Ces 146 patients ont tous bénéficié d'une angiographie quantitative avant, juste après et au contrôle de l'angioplastie. La pose d'endoprothèses coronaires a été effectuée sur 158 lésions chez ces 146 patients. Cette population est composée à 84% d'hommes d'âge moyen 60 ans.

Présentation des résultats

Dans l'ensemble de la population les fréquences des génotypes DD, ID et II de l'ECA sont respectivement de 30%, 51% et 19%. Ces fréquences génotypiques sont en équilibre de Hardy-Weinberg. Lors de l'angioplastie et juste après cette intervention, aucune différence du diamètre de la lumière au site d'angioplastie n'existe entre les trois groupes de génotypes DD, ID et II. Au contrôle, la perte de la lumière du vaisseau au niveau de chaque site d'angioplastie est plus importante chez les sujets porteurs du génotype DD ($0.89 \pm 0.61 \text{mm}$) que chez les sujets ID ($0.60 \pm 0.52 \text{mm}$), présentant eux-mêmes une perte de lumière du vaisseau plus importante que les sujets porteurs du génotype II ($0.40 \pm 0.53 \text{mm}$) ($p < 0.0001$).

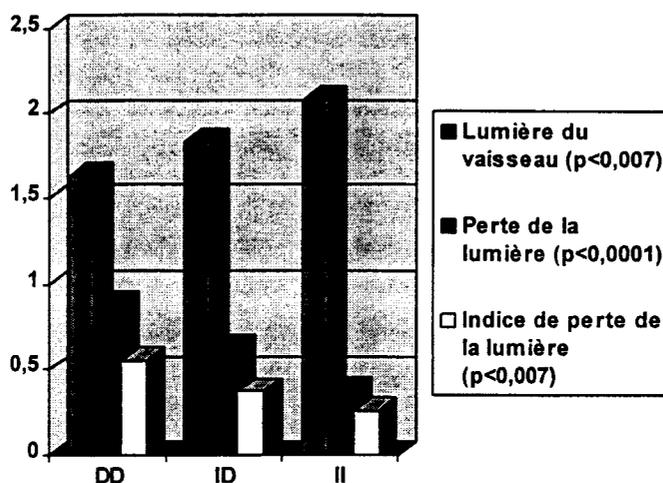


Figure 12 : Variation de la lumière du vaisseau, de la perte de lumière et de l'indice de perte de la lumière en fonction des génotypes de l'ECA.

Ces résultats sont indépendants des facteurs de risque classiques de resténose comme le diabète, l'angor instable, la survenue d'un infarctus, le tabagisme et l'hypertension. Le risque relatif d'une resténose significative mesuré par l'Odds ratio est de 2.00 par allèle D (Intervalle de confiance à 95% : 1.03-3.88, $p < 0.04$). Nous pouvons noter que dans cette étude tous les patients avaient reçu le même type de stent.

Ces résultats suggèrent que **l'allèle D constitue un facteur de risque majeur et indépendant de resténose après angioplastie avec pose de stent. Et que le risque d'observer une resténose après angioplastie avec pose de stent est multiplié par deux par allèle D.** Ces résultats ont pu être confirmés par les résultats équivalents d'une équipe italienne (Dellavalle A. 1997).

Actuellement, la population est élargie à 300 sujets consécutifs ayant bénéficié d'une angioplastie avec pose de stent de type Palmaz Schatz. Une nouvelle analyse nous a montré que les résultats présentés ci-dessus restent valables.

Discussion des résultats

Une exposition chronique de la paroi des artères carotides à de fortes doses d' ECA provoque un changement de la structure de la paroi du vaisseau. On observe dans ces conditions un épaississement de la couche intima/média et ce indépendamment des facteurs de risque classiques de l'athérosclérose (Bonithon-Kopp C. 1994). L'allèle D associé à une augmentation du taux circulant d'ECA constitue un facteur de risque d'un épaississement de la couche intima/média carotidienne (Castellano M. 1995).

D'autres travaux ont montré que la perfusion prolongée de section d'artères athéromateuses ou non par de l'angiotensine II stimule la synthèse d'ADN dans les cellules musculaires lisses. Cet effet de l'angiotensine II est plus marqué dans les CML de la néo-intima par rapport aux CML de la média ou des CML provenant de la paroi d'un vaisseau sain (Daemen M. 1991). L'angiotensine II intervient dans l'hypertrophie des CML et induit la production de PDGF-A qui exerce une stimulation autocrine de la croissance de ces cellules (Naftilan A. 1989, 1992). D'autre part, la fixation de l'angiotensine II sur les récepteurs AT1 des CML concourt à une stimulation de la migration des CML de la média vers l'intima (Liu G. 1997).

Les sujets porteurs de l'allèle D présentent une augmentation des concentrations d'angiotensine II tissulaire associée à une augmentation de l'activité et de la concentration d'ECA tissulaire. Nous pouvons supposer que cette augmentation de la concentration de l'angiotensine II tissulaire active par les récepteurs AT1 des CML, la migration de ces cellules de la média vers l'intima. Puis, lorsque ces cellules ont atteint l'intima, elles sont soumises à une augmentation des taux circulants d'angiotensine II, prolifèrent et forment l'hyperplasie néo-intimale.

Nous avons donc trouvé un déterminant génétique d'un mécanisme majeur de la resténose. Ce résultat nécessite d'être confirmé par d'autres études épidémiologiques. Des études physiologiques sont aussi nécessaires pour comprendre les mécanismes qui régissent l'incidence de l'allèle D sur l'hyperplasie néo-intimale.

L'application de ce résultat est d'un intérêt considérable puisque le génotypage de l'ECA pourra permettre d'identifier les sujets à haut risque de resténose après angiographie avec pose de stent. D'autre part, l'utilisation d'inhibiteurs de l'ECA chez ces patients pourrait théoriquement permettre de réguler ce phénomène de resténose.

Cependant, il nous reste à déterminer le facteur génétique responsable du remodelage.

D Allele of the Angiotensin I-Converting Enzyme Is a Major Risk Factor for Restenosis After Coronary Stenting

Carole Amant, BS; Christophe Bauters, MD; Jean-Christophe Bodart, MD;
Jean-Marc Lablanche, MD; Gilles Grollier, MD; Nicolas Danchin, MD; Martial Hamon, MD;
Florence Richard, MD; Nicole Helbecque, PhD; Eugène P. McFadden, MRCPI;
Philippe Amouyel, MD, PhD; Michel E. Bertrand, MD

Background Although intracoronary stent implantation significantly reduces restenosis compared with balloon angioplasty, a minority of patients still develop restenosis predominantly due to neointimal hyperplasia. Experimental studies suggest that the renin-angiotensin system is involved in neointimal hyperplasia after arterial injury. In humans, the plasma and cellular levels of ACE are associated with an *I/D* genetic polymorphism in the *ACE* gene, *DD* patients having higher levels.

Methods and Results We investigated a possible relation between the *ACE I/D* polymorphism and restenosis in 146 patients who underwent successful implantation of a Palmaz-Schatz stent and had 6-month follow-up angiography. The minimal lumen diameter (MLD) before and after the procedure did not differ significantly among the three groups of genotypes (*DD*, *ID*, and *II*). At follow-up, MLD had a significant

inverse relationship to the number of *D* alleles present (*DD*, 1.65 ± 0.71 mm; *ID*, 1.84 ± 0.60 mm; *II*, 2.05 ± 0.61 mm; $P < .007$). Late luminal loss during the follow-up period was significantly related to the number of *D* alleles (*DD*, 0.89 ± 0.61 mm; *ID*, 0.60 ± 0.52 mm; *II*, 0.40 ± 0.53 mm; $P < .0001$). The relative risk of restenosis (defined as a $>50\%$ diameter stenosis at follow-up) approximated by the adjusted odds ratio was 2.00 per number of *D* alleles (95% confidence interval, 1.03 to 3.88, $P < .04$).

Conclusions The *ACE I/D* polymorphism influences the level of late luminal loss after coronary stent implantation. These results suggest that the renin-angiotensin system may be implicated in the pathogenesis of restenosis after coronary stenting. (*Circulation*. 1997;96:56-60.)

Key Words • angiotensin • coronary disease • genetics

Coronary angioplasty has become an established treatment for patients with coronary artery disease, but it remains plagued by the problem of restenosis.^{1,2} On the basis of experimental studies, restenosis was initially considered to be solely due to neointimal hyperplasia in response to balloon injury.^{2,3} Subsequent insights from intracoronary ultrasound studies in humans show that chronic remodeling (vessel constriction) rather than neointimal hyperplasia is the major mechanism of restenosis.⁴ Intracoronary stent implantation has been shown to significantly reduce angiographic restenosis in humans^{5,6}; the better long-term angiographic result is due to a better immediate result and to the abolition of chronic remodeling despite an increase in neointimal thickening.⁷ Stent implantation thus provides a model in which the occurrence of restenosis is related primarily to neointimal hyperplasia.

The renin-angiotensin system has been implicated in the pathogenesis of neointimal hyperplasia.⁸ The activation of ACE is a critical step in this process: several

reports have demonstrated the ability of ACE inhibitors to block neointimal thickening in rat, guinea pig, and

See p 12

rabbit.^{9,10} In humans, the level of plasma ACE is partly under genetic control.¹¹ Plasma and cellular levels of ACE are associated with an *I/D* polymorphism in the *ACE* gene^{12,13}: *DD* genotype bearers have higher levels of ACE than either *ID* or *II* genotype bearers.

The present study was designed to determine whether the *ACE I/D* polymorphism influences angiographic restenosis after coronary stenting. We analyzed, with quantitative coronary angiography, the occurrence of restenosis in consecutive patients who underwent successful coronary stenting.

Methods

Study Population

Between April 1994 and December 1995, 171 consecutive white patients underwent successful implantation of a Palmaz-Schatz stent in our institution. Coronary stenting was performed as a bailout procedure after failed balloon angioplasty, or because there was a suboptimal result after balloon angioplasty, or electively. All the patients were prospectively asked to undergo systematic 6-month angiographic follow-up, which was actually performed in 146 patients (85%). Coronary stenting was performed at 158 lesions in these 146 patients by standard techniques, as previously described.¹⁴

Received November 4, 1996; revision received January 30, 1997; accepted February 3, 1997.

From INSERM CJF 95-05, Institut Pasteur de Lille (C.A., F.R., N.H., P.A.); University and CHRU de Lille (C.B., J.-C.B., J.-M.L., M.H., F.R., E.P.M., P.A., M.E.B.); University and CHRU de Caen (G.G.); and University and CHRU de Nancy (N.D.), France.

Correspondence to M.E. Bertrand, MD, Service de Cardiologie B, Hôpital Cardiologique, Blvd du Professeur J Leclercq, 59037 Lille Cedex, France.

© 1997 American Heart Association, Inc.

Selected Abbreviations and Acronyms

D = deletion polymorphism
I = insertion polymorphism
 MLD = minimal lumen diameter
 PTCA = percutaneous transluminal coronary angioplasty

Angiographic Analysis

Quantitative computer-assisted angiographic measurements were performed on end-diastolic frames with use of the CAESAR (Computer-Assisted Evaluation of Stenosis and Restenosis) system. A detailed description of this system has been reported previously.¹⁵ We routinely perform angiography in at least two projections after the intracoronary injection of isosorbide dinitrate (2 mg). These projections are recorded in our database, and the follow-up angiogram is performed, after injection of isosorbide dinitrate, in the same projections. The following definitions were used: the acute gain associated with the procedure was defined as the difference between the MLD immediately after stent implantation and the MLD before the procedure; the late loss during the follow-up period as the difference between the MLD immediately after stent implantation and the MLD at follow-up; the net gain as the difference between the acute gain and the late loss; and the loss index as the ratio of late loss to acute gain. To define restenosis, we used a categorical approach with the classic criterion of >50% diameter stenosis at follow-up.^{5,6}

Genetic Study

Genomic DNA was extracted from white blood cells.¹⁶ The *ACE* fragment containing the *I/D* polymorphism was amplified with a Perkin-Elmer DNA thermal cycler and *Thermus aquaticus* DNA polymerase (Amersham). *ACE* polymorphism was detected as previously described,¹⁷ except for addition of DMSO to enhance amplification of the *ACE I* allele.^{18,19} Reaction products were analyzed on agarose gel for allele identification. To avoid mistyping of *ACE* polymorphism,^{19,20} all patients were re-genotyped with a three-primer system²¹; the amplification products were run on 4% NuSieve agarose gels (FMC BioProducts). Both techniques yielded identical results.

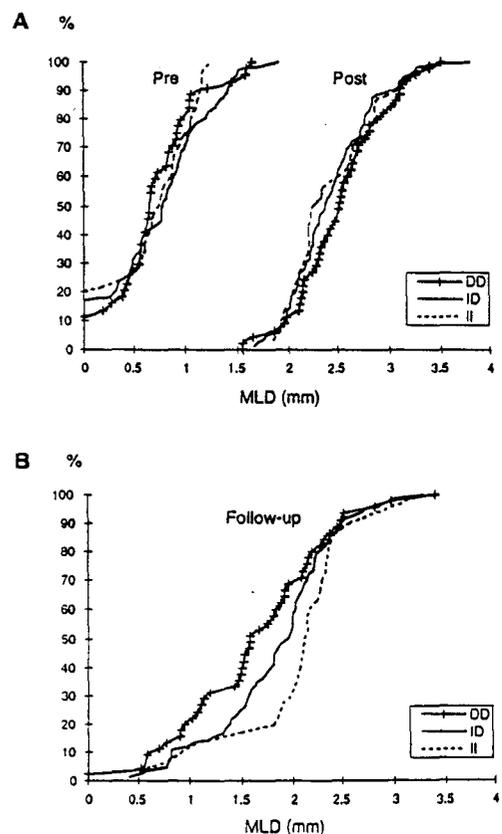
Statistical Analysis

Statistical analyses were performed with SAS software, version 6.10 (SAS Institute Inc). Mean and SD values of quantitative data were calculated. Quantitative data were compared with a general linear model according to the *ACE* genotypes. Subjects were categorized in three classes according to their genotype (ie, *DD*, *ID*, and *II*). Statistical analyses were performed per lesion ($n=158$) and per patient (only one lesion for each subject; $n=146$). For the per-patient analysis, when more than one lesion was stented, the first treated lesion was selected. The tests were performed assuming an allele-dose effect. The effects of the *D* allele on MLD at follow-up, diameter stenosis at follow-up, late loss, net gain, and loss index were adjusted for diabetes, unstable angina, previous myocardial infarction, ACE inhibitor treatment, reference diameter, MLD after PTCA, indication for stenting, and number of stents. Adjusted mean and SEM values of quantitative data were calculated. Qualitative data were tested by Pearson's χ^2 test and Mantel-Haenszel linear test. Adjusted odds ratios were computed from a multivariate logistic regression model to provide an estimate of the relative risk of restenosis. In the logistic regression model, restenosis was defined as a diameter stenosis >50% at follow-up; the same confounding covariates as for the quantitative angiographic variables were used.

Results

The mean age of the patients was 60 ± 10 years; 84% were men. Thirty-six percent had unstable angina, and 38% had experienced a previous myocardial infarction. Coronary stenting was performed as a bailout procedure after failed balloon angioplasty in 12%; because there was a suboptimal result after balloon angioplasty in 72%; and electively in 16%. Eighty-four percent of the lesions were treated with a single stent, 14% with two stents, and 2% with three stents. Of the 146 patients, 30% had the *DD* genotype, 51% had the *ID* genotype, and 19% had the *II* genotype. These genotype frequencies were compatible with the Hardy-Weinberg distribution and close to values reported in other white populations of French origin.^{17,22} The baseline characteristics for the three groups of patients are shown in Table 1. There were no statistically significant differences among genotypes.

The results of quantitative coronary angiography for the 158 lesions are shown in Table 2 and the Figure. There were no significant differences in reference diameter among the three groups of genotypes at any of the three time points studied (before the procedure, after the procedure, and at 6-month follow-up). The MLD before and after the procedure and the acute gain did not differ significantly among the three groups. At follow-up angiography, the MLD had a significant inverse relationship to the number of *D* alleles ($P<.007$). Late loss during the follow-up period was more than twofold greater in the *DD* (0.89 ± 0.61 mm) than in the *II*



Cumulative distribution curves of MLD before stenting and immediately after stenting (A) and at follow-up (B) as a function of the *ACE I/D* genotype.

TABLE 1. Baseline Characteristics

	DD	ID	II
No. of patients	43	75	28
Age, y	58±11	60±11	61±9
Males, %	81	84	86
Smokers, %	65	64	86
Hypertension, %	30	39	43
Body mass index, kg/m ²	27.4±4.4	26.5±3.8	28.1±3.9
Diabetes, %	30	16	14
Total cholesterol, mg/dL	198±45	194±40	190±47
Triglycerides, mg/dL	163±87	144±51	153±63
Family history of CAD, %	28	48	50
Previous MI, %	44	33	39
Unstable angina, %	35	39	29
ACE-inhibitor treatment, %	49	33	36
No. of lesions*	45	83	30
Stented vessel, %			
Right coronary artery	35	33	27
Left anterior descending artery	51	52	47
Left circumflex artery	7	8	23
Saphenous vein graft	7	7	3
Stent indication, %			
Bailout	18	7	13
Suboptimal result	64	75	74
Elective	18	18	13
Number of stents, %			
1	82	86	80
2	16	12	17
3	2	2	3

CAD indicates coronary artery disease; MI, myocardial infarction.
*158 lesions treated in 146 patients.

group (0.40 ± 0.53 mm), the *ID* group being intermediate (0.60 ± 0.52 mm) ($P<.0001$). Similar results were obtained when the analysis was performed per patient (one lesion per patient): the MLD at follow-up was 1.63 ± 0.69 , 1.83 ± 0.60 , and 2.08 ± 0.57 mm for *DD*, *ID*, and *II* patients, respectively ($P<.004$); the late loss during the follow-up period was 0.88 ± 0.58 , 0.62 ± 0.52 , and 0.38 ± 0.53 mm for *DD*, *ID*, and *II* patients, respectively ($P<.0002$).

All these results were homogeneous across covariates (smoking, diabetes, hypertension, unstable angina, pre-

vious myocardial infarction, ACE inhibitor treatment, indication for stenting). The quantitative angiographic variables adjusted for diabetes, unstable angina, previous myocardial infarction, ACE inhibitor treatment, reference diameter, MLD after PTCA, indication for stenting, and number of stents are presented in Table 3. The association of the number of *D* alleles with the restenotic process was independent of other risk factors known to influence this phenomenon. The relative risk of restenosis (defined as a >50% diameter stenosis at follow-up) approximated by the adjusted odds ratio was

TABLE 2. Quantitative Angiography

	DD (n=45)	ID (n=83)	II (n=30)	P
Reference diameter, mm				
Before	3.00±0.49	2.92±0.47	3.11±0.47	NS
After	3.01±0.51	2.94±0.49	3.11±0.47	NS
Follow-up	2.92±0.47	2.96±0.49	3.08±0.40	NS
MLD, mm				
Before	0.73±0.47	0.76±0.49	0.69±0.41	NS
After	2.54±0.45	2.44±0.42	2.45±0.44	NS
Follow-up	1.65±0.71	1.84±0.60	2.05±0.61	<.007
Diameter stenosis, %				
Before	74±15	73±16	75±16	NS
After	8±9	11±11	15±11	NS
Follow-up	39±23	33±19	29±18	<.06
Acute gain, mm	1.82±0.59	1.68±0.48	1.76±0.68	NS
Late loss, mm	0.89±0.61	0.60±0.52	0.40±0.53	<.0001
Net gain, mm	0.93±0.77	1.08±0.61	1.36±0.82	<.02
Loss index	0.55±0.44	0.37±0.32	0.26±0.39	<.007
Diameter stenosis >50% at follow-up, %	29	17	13	<.08

Values are mean±SD.

TABLE 3. Quantitative Angiography Adjusted for Covariates

	DD (n=45)	ID (n=83)	II (n=30)	P*
MLD at follow-up, mm	1.39±0.12	1.67±0.12	1.90±0.14	<.0001
Diameter stenosis at follow-up, %	49±4	41±4	35±5	<.003
Late loss, mm	1.08±0.12	0.80±0.12	0.57±0.14	<.0001
Net gain, mm	0.71±0.16	0.96±0.15	1.29±0.18	<.0006
Loss index	0.70±0.09	0.50±0.08	0.37±0.10	<.0002

Values are adjusted mean±SEM.

*Adjusted test.

2.00 per number of *D* alleles (95% CI, 1.03 to 3.88, $P<.04$).

Discussion

Our results show that the *ACE I/D* polymorphism is an independent predictor of the degree of late luminal narrowing after coronary stenting. Late loss increased significantly as the number of *D* alleles increased.

We and others have previously shown that the *ACE I/D* polymorphism was not associated with restenosis after conventional balloon angioplasty.^{22,23} Moreover, two recent randomized trials (MERCATOR²⁴ and MARCATOR²⁵) have failed to demonstrate any beneficial effect of ACE inhibition on the occurrence of angiographic restenosis after balloon angioplasty. New insights into the mechanisms of restenosis after balloon angioplasty help to explain why drugs that effectively prevented neointimal hyperplasia in experimental studies have consistently failed in the clinical setting. Recent experimental^{26,27} and clinical⁴ studies have suggested that the contribution of neointimal hyperplasia to restenosis after balloon angioplasty is relatively limited and that lumen renarrowing is in fact related primarily to vessel remodeling (ie, chronic sclerosis with vessel constriction). Conversely, because the stent prevents the remodeling process, restenosis after coronary stenting is primarily a consequence of neointimal hyperplasia within the stent.⁷ Thus, factors that directly affect the degree of neointimal hyperplasia will be more likely to influence restenosis after coronary stenting than restenosis after balloon angioplasty.

Multiple factors have been implicated in the pathogenesis of neointimal hyperplasia.²⁸ Among these, the renin-angiotensin system is of particular interest, because pharmacological inhibitors are now clinically available. Administration of ACE inhibitors in rat, guinea pig, and rabbit inhibits neointimal development after arterial balloon denudation.^{9,10} Potential mechanisms by which ACE inhibition reduces neointimal hyperplasia in these models may be related to the role of this enzyme in the formation of angiotensin II, a potent growth factor for smooth muscle cells,²⁹ and in the degradation of bradykinin, a growth inhibitor for smooth muscle cells.³⁰ The implication of ACE in neointimal hyperplasia has been further supported by gene transfer studies showing that overexpression of the *ACE* gene increased DNA synthesis in the rat carotid artery.³¹

In humans, the level of plasma ACE is stable in an individual but is highly variable between individuals.¹² A high proportion of the interindividual variability of plasma ACE concentration is determined by a major gene effect.¹¹ The *I/D* polymorphism located in intron 16 of the *ACE* gene is associated with plasma ACE levels and activity¹⁷: the mean plasma ACE level in *DD*

subjects is about twice that of *II* subjects, heterozygotes having intermediate levels.¹² This increased activity of ACE may account for the higher degree of neointimal thickening observed in *D* allele bearers. It has recently been suggested that long-term exposure to high levels of plasma ACE may be involved in structural changes in the arterial wall.^{32,33} In one study, high plasma concentrations of ACE were associated with a statistically significant increase of common carotid artery intima-media thickening.³² Another study reported an association between the *DD* genotype and the extent of common carotid artery intima-media thickening.³³ Our results, which demonstrate that the *ACE I/D* polymorphism is associated with neointimal hyperplasia in human coronary arteries, are consistent with these previous observations.

In conclusion, the *D* allele of the *ACE* gene is associated with a greater late luminal loss after intracoronary stent implantation. Although further studies are needed to confirm this observation in independent populations, these findings have two potential clinical implications: first, they may help to identify patients who are at particular risk of restenosis after coronary stenting; second, they identify a population in which the effects of drugs such as ACE inhibitors could be tested.

Acknowledgments

Carole Amant was supported by the Conseil Régional du Nord-Pas de Calais. This work was supported in part by a grant from the Direction de la Recherche et des Etudes Doctorales, by the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), and by the Institut Pasteur de Lille. We thank Claudine Mercier and Valérie Codron for their excellent scientific and technical assistance.

References

- McBride W, Lange RA, Hillis LD. Restenosis after successful coronary angioplasty: pathophysiology and prevention. *N Engl J Med*. 1988;318:1734-1737.
- Liu MW, Roubin GS, King SB III. Restenosis after coronary angioplasty: potential biologic determinants and role of intimal hyperplasia. *Circulation*. 1989;79:1374-1387.
- Austin GE, Norman NB, Hollman J, Tabei S, Phillips VF. Intimal proliferation of smooth muscle cells as an explanation for recurrent coronary artery stenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol*. 1985;6:369-375.
- Mintz GS, Popma JJ, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Wong SC, Hong MK, Kovach JA, Leon MB. Arterial remodeling after coronary angioplasty: a serial intravascular ultrasound study. *Circulation*. 1996;75:299-306.
- Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, Emanuelsson H, Marco J, Legrand V, Materne P, Belardi J, Sigwart U, Colombo A, Goy JJ, van den Heuvel P, Delcan J, Morel MA, for the Benestent Study Group. A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 1994;331:489-495.
- Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, Detre K, Veltri L, Ricci D, Nobuyoshi M, Cleman M, Heuser R,

- Almond D, Teirstein PS, Fish RD, Colombo A, Brinker J, Moses J, Shaknovich A, Hirshfeld J, Bailey S, Ellis S, Rake R, Goldberg S, for the Stent Restenosis Study Investigators. A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. *N Engl J Med*. 1994;331:496-501.
7. Hoffmann R, Mintz GS, Dussaillant GR, Popma JJ, Pichard AD, Satler LF, Kent KM, Griffin J, Leon M. Patterns and mechanisms of in-stent restenosis: a serial intravascular ultrasound study. *Circulation*. 1996;94:1247-1254.
 8. Pratt RE, Dzau VJ. Pharmacological strategies to prevent restenosis: lessons learned from blockade of the renin-angiotensin system. *Circulation*. 1996;93:848-852.
 9. Powell JS, Clozel JP, Muller RKM, Kuhn H, Hefti F, Hosang M, Baumgartner HR. Inhibitors of angiotensin-converting enzyme prevent myointimal proliferation after vascular injury. *Science*. 1989;245:186-188.
 10. Clozel JP, Hess P, Michael C, Schietinger K, Baumgartner HR. Inhibition of converting enzyme and neointima formation after vascular injury in rabbits and guinea pigs. *Hypertension*. 1991;18(suppl 1):I-155-I-159.
 11. Cambien F, Alhenc-Gelas F, Herbeth B, Andre JL, Rakotoao R, Gonzales MF, Allegrini J, Bloch C. Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: the Nancy study. *Am J Hum Genet*. 1988;43:774-780.
 12. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest*. 1990;86:1343-1346.
 13. Costerousse O, Allegrini J, Lopez M, Alhenc-Gelas F. Angiotensin-converting enzyme in human circulating mononuclear cells: genetic polymorphism of expression in T lymphocytes. *Biochem J*. 1993;290:33-40.
 14. Van Belle E, Mc Fadden EP, Lablanche JM, Bateurs C, Hamon M, Bertrand ME. Two-pronged antiplatelet therapy with aspirin and ticlopidine without systemic anticoagulation: an alternative therapeutic strategy after bailout stent implantation. *Coron Artery Dis*. 1995;6:341-345.
 15. Bertrand ME, Lablanche JM, Bateurs C, Leroy F, Mc Fadden EP. Discordant results of visual and quantitative estimates of stenosis severity before and after coronary angioplasty. *Cathet Cardiovasc Diagn*. 1993;28:1-6.
 16. Marcadet A, O'Connell P, Cohen D. Standardized Southern blot workshop technique. In: Dupont B, ed. *Histocompatibility Testing*. New York, NY: Springer-Verlag; 1987:553-560.
 17. Tiret L, Rigat B, Visikis S, Breda C, Corvol P, Cambien F, Soubrier F. Evidence from combined segregation and linkage analysis that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet*. 1992;51:197-205.
 18. Fogarty DG, Maxwell AP, Doherty CC, Hugues AE, Nevin NC. ACE gene typing. *Lancet*. 1994;343:851. Letter.
 19. Shanmugam V, Sell KW, Saha BK. Mistyping ACE heterozygotes. *PCR Methods Appl*. 1993;3:120-121.
 20. Dutka DP, Morgan K. ACE gene and cardiovascular disease. *Circulation*. 1996;94:1787. Letter.
 21. Evans AE, Poirier O, Kee F, Lecerf L, McCrum E, Falconer T, Crane J, O'Rourke DF, Cambien F. Polymorphisms of the angiotensin-converting enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease. *Q J Med*. 1994;87:211-214.
 22. Hamon M, Bateurs C, Amant C, Mc Fadden EP, Helbecque N, Lablanche JM, Bertrand ME, Amouyel P. Relation between the deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and late luminal narrowing after coronary angioplasty. *Circulation*. 1995;92:296-299.
 23. Samani NJ, Martin DS, Brack M, Cullen J, Chauhan A, Lodwick D, Harley A, Swales JD, de Borno DP, Gershlick AH. Insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene and risk of restenosis after coronary angioplasty. *Lancet*. 1995;345:1013-1016.
 24. The MERCATOR Study Group. Does the new angiotensin converting enzyme inhibitor cilazapril prevent restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty? Results of the MERCATOR study: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Circulation*. 1992;86:100-110.
 25. The MARCATOR Study Group. Effect of high dose angiotensin-converting enzyme inhibition on restenosis: final results of the MARCATOR study, a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial of cilazapril. *J Am Coll Cardiol*. 1995;25:362-369.
 26. Kakuta T, Currier JW, Haudenschild CC, Ryan TJ, Faxon DP. Differences in compensatory vessel enlargement, not intimal formation, account for restenosis after angioplasty in the hypercholesterolemic rabbit model. *Circulation*. 1994;89:2809-2815.
 27. Lafont A, Guzman LA, Whitlow PL, Goormastic M, Cornhill JF, Chisolm GM. Restenosis after experimental angioplasty: intimal, medial, and adventitial changes associated with constrictive remodeling. *Circ Res*. 1995;76:996-1002.
 28. Schwartz SM, deBlois D, O'Brien ERM. The intima: soil for atherosclerosis and restenosis. *Circ Res*. 1995;77:445-465.
 29. Daemen MJAP, Lombardi DM, Bosman FT, Schwartz SM. Angiotensin II induces smooth muscle cell proliferation in the normal and injured rat arterial wall. *Circ Res*. 1991;68:450-456.
 30. Farhy RD, Carretero OA, Ho KL, Scidi AG. Role of kinins and nitric oxide in the effects of angiotensin converting enzyme inhibitors on neointima formation. *Circ Res*. 1993;72:1202-1210.
 31. Morishita R, Gibbons GH, Ellison KE, Lee W, Zhang L, Yu H, Kaneda Y, Ogihara T, Dzau V. Evidence for direct local effect of angiotensin in vascular hypertrophy: in vivo gene transfer of angiotensin converting enzyme. *J Clin Invest*. 1994;94:978-984.
 32. Bonithon-Kopp C, Ducimetiere P, Touboul PJ, Feve JM, Billaud E, Courbon D, Heraud V. Plasma angiotensin-converting enzyme activity and carotid wall thickening. *Circulation*. 1994;89:952-954.
 33. Castellano M, Muiesan ML, Rizzoni D, Beschi M, Pasini G, Cinelli A, Salvetti M, Porteri E, Bettoni G, Kreuzer R, Lindpaintner K, Rosei EA. Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and arterial wall thickness in a general population: the Vobarno Study. *Circulation*. 1995;91:2721-2724.

Discussion

La maladie coronaire est une maladie chronique multifactorielle dans le développement de laquelle participent plusieurs mécanismes pathologiques, des troubles de la vasomotricité et la formation de lésions coronariennes, l'athérosclérose. De nombreuses études épidémiologiques se sont intéressées à la caractérisation de facteurs de prédisposition au développement de cette maladie, qu'ils soient génétiques, biologiques ou environnementaux.

Le but de notre travail était la détermination des facteurs de risque génétiques de cette maladie. Pour cela, nous nous sommes alors intéressés à la recherche de ces déterminants génétiques au sein de chaque mécanisme concourant au développement de la maladie coronaire, à savoir l'athérosclérose et une vasoconstriction accrue.

Etant donné la complexité du processus d'athérosclérose, nous nous sommes focalisés sur un mécanisme qui aboutit lui aussi à une sténose des artères coronaires, mais dont le mode de survenue est lié à une procédure thérapeutique, la resténose. Ce phénomène plus facilement "contrôlable" que l'athérosclérose constitue un événement important en cardiologie. Quoiqu'aboutissant aux mêmes résultats, il s'avère que les mécanismes de formation de la plaque d'athérome diffèrent des mécanismes de formation de la resténose.

Nous avons aussi observé l'impact de gènes candidats sur la vasomotricité coronaire au sein d'une population de sujets ayant subi un test de provocation.

La mesure précise du diamètre de la lumière du vaisseau s'effectue grâce à l'utilisation de la coronarographie ou de l'échographie endocoronaire. Cette technique n'est pas sans risque pour le patient, surtout si elle est doublée d'un test de provocation du vasospasme et/ou d'une angioplastie. Cette technique récente n'est actuellement pas applicable pour un examen en routine. Un des points forts de notre travail a été la quantification assistée par ordinateur des lésions coronariennes, réduisant les risques d'erreur de mesure liés à la subjectivité de l'observateur.

Notre population d'étude des facteurs génétiques prédisposant à la survenue du vasospasme et/ou de la resténose après angioplastie n'est constituée que de sujets ayant bénéficié en routine d'une coronarographie. Nos études ont donc comparé la moyenne des diamètres de la lumière des vaisseaux dans différentes conditions expérimentales entre plusieurs groupes de sujets.

De nombreuses études épidémiologiques se sont intéressées au déterminisme génétique et biologique de la resténose. La resténose est une pathologie multifactorielle et, du fait de la complexité des mécanismes qui la composent, seuls des paramètres biologiques impliqués dans le déterminisme de cette pathologie ont pu être mis en évidence. Ainsi, il a pu être décrit qu'une

augmentation des taux plasmatiques de fibrinogène, de t-PA et une augmentation de la concentration sérique de Lipoprotéine (a) semblaient constituer des facteurs de risque de resténose (Montalescot G. 1995) (Benchimol D. 1993) (Hearn J. 1992).

Cependant, aucun facteur de susceptibilité génétique de la resténose n'a pu être mis en évidence. L'influence des polymorphismes du gène de la méthylène tétra hydrofolate réductase, du gène de la paraoxonase et de celui de l'apolipoprotéine E sur l'apparition de la resténose après angioplastie a été étudiée sans succès. (Van Bockxmeer F. 1997) (Serrato M. 1995) (Samani N. 1996a).

Quatre grands mécanismes interviennent dans le développement de la resténose. Il s'agit du recalibrage élastique de l'artère, de la formation du thrombus, de l'hyperplasie néo-intimale et du remodelage. Dans le travail présenté ici, nous avons cherché à voir l'influence des gènes du système rénine-angiotensine sur chacun de ces mécanismes.

Nous avons choisi d'étudier ce système, car une augmentation de l'activité et des taux plasmatiques de l'ECA est observée chez les sujets porteurs de l'allèle D du polymorphisme d'Insertion/Délétion du gène de l'ECA. L'allèle D a pu être décrit comme un facteur de risque de survenue d'infarctus du myocarde. De plus, l'angiotensine II a pu être décrite comme impliquée dans la prolifération des cellules musculaires lisses et dans l'augmentation de la synthèse de PAI-1 par les cellules endothéliales. Le gène de l'ECA constituait donc un bon gène candidat de la resténose après angioplastie.

Cependant nous n'avons pas été en mesure de mettre en évidence d'association entre l'allèle D et le développement de la resténose après angioplastie conventionnelle, c'est à dire quand le processus de formation de la resténose était regardé dans son ensemble et majoritairement dû au remodelage vasculaire.

En décomposant le processus de formation de la resténose, nous avons montré que l'allèle D constitue un facteur de risque majeur de fibrose excessive associée à la formation d'un thrombus. Nous avons pu aussi démontrer que l'allèle D constitue un facteur de risque d'hyperplasie néo-intimale mis en évidence par le développement de la resténose après angioplastie avec pose de stent.

Nous pouvons émettre une hypothèse quant à la formation de l'hyperplasie néo-intimale sous la dépendance de l'allèle D.

Dans la média, les CML expriment majoritairement à leur surface des AT1 par rapport aux AT2. Immédiatement après la blessure de la paroi par le ballonnet d'angioplastie, l'angiotensine II

tissulaire se fixerait sur les récepteurs AT1 des CML ce qui induirait le changement de phénotype de ces cellules (Viswanathan M. J. 1992).

Il a pu être démontré que l'allèle D était impliqué dans le déterminisme des cardiopathies ischémiques qui sont caractérisées par une augmentation de la quantité de chaîne lourde β de la myosine dans les myocytes. Il a pu être aussi démontré qu'une augmentation de la synthèse par les CML de chaîne lourde β de la myosine était associée au changement de phénotype des CML. Ces deux observations confortent notre hypothèse, selon laquelle, suite à l'endommagement de la paroi par le ballonnet d'angoplastie, un plus grand nombre de CML modifieraient leur phénotype chez les sujets porteurs de l'allèle D de l'*ECA* par rapport aux sujets non porteurs.

Après le changement de phénotype des CML induit par la fixation de l'angiotensine II sur l'AT1 des CML (Sabri A. 1997), nous pouvons supposer que ces cellules puissent migrer de la média vers l'intima. Elles se retrouveraient alors au niveau de l'intima, où elles seraient soumises à l'action de l'angiotensine II qui se trouverait à un taux augmenté chez les sujets DD en relation avec une augmentation de l'activité de l'*ECA*.

Il a été démontré que des concentrations élevées d'angiotensine II conduisent à la "down-regulation" de l'AT1 au niveau des CML, ce qui entraîne une sur-expression de l'AT2 à la surface de ces cellules (Haywood G. 1997) (Asano K. 1997). Il s'en suit la fixation de l'angiotensine II sur les récepteurs AT2 à la surface des CML puis, l'hypertrophie et à la prolifération des CML (Sabri A. 1997). Dans ce cas, cette fixation de l'angiotensine II sur les récepteurs AT2 des CML pourrait conduire à la formation de la néo-intima en synthétisant les composants de la matrice extracellulaire. De plus, les récepteurs AT2 n'ont pas au sein de leur séquence peptidique de motif responsable de la "down-regulation" comme les récepteurs AT1, ce qui maintiendrait l'effet mitogène de l'angiotensine II (Figure 13).

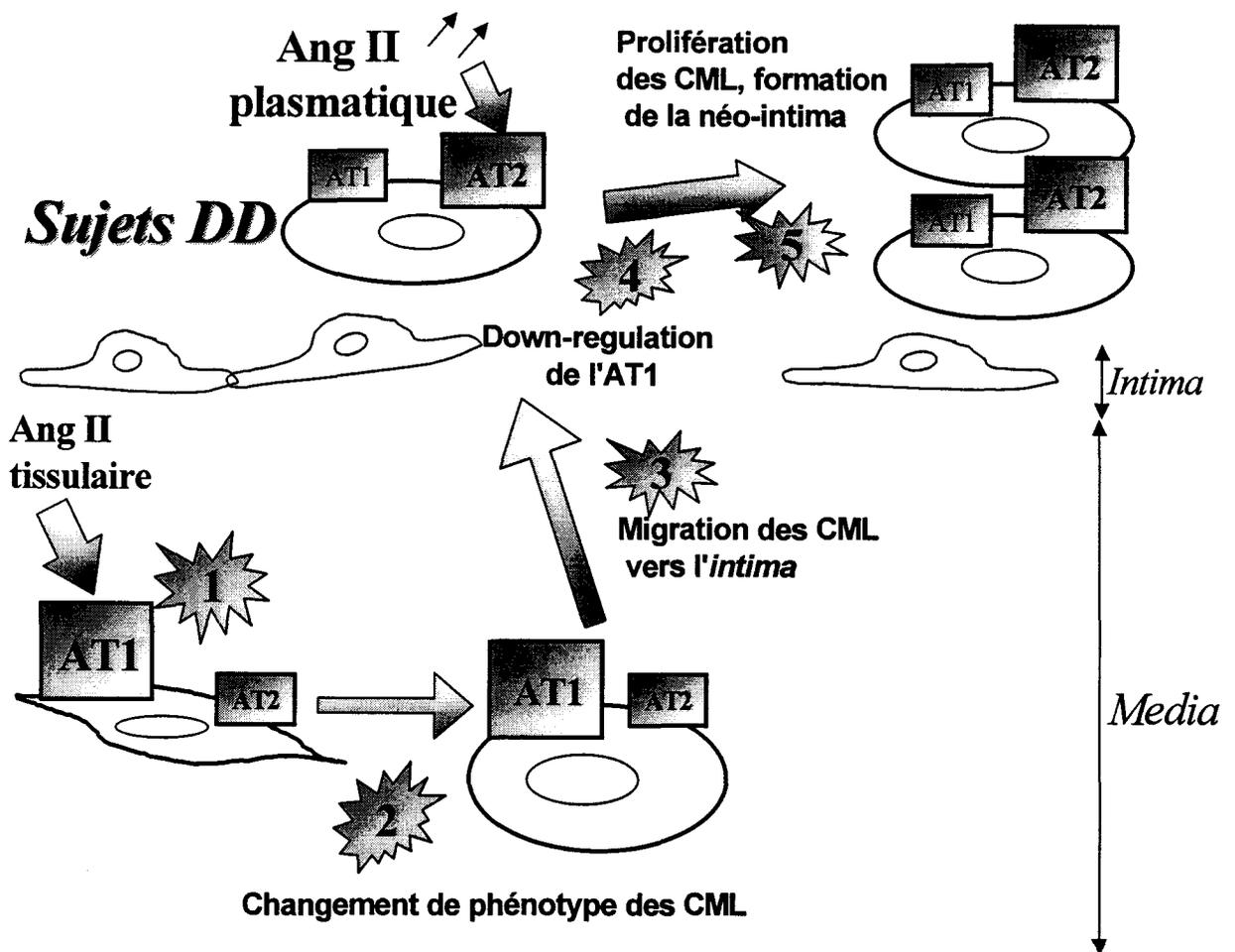


Figure 13 : Hypothèse de formation de l'hyperplasie néo-intimale chez un sujet DD.

D'autre part, une augmentation de la concentration plasmatique en angiotensine II conduit à une production endothéliale accrue de PAI-1. Cette augmentation de la concentration en PAI-1 contribuerait à l'inhibition de la fibrinolyse et à la formation d'un thrombus ainsi qu'à une fibrose. En ces termes, l'allèle D constitue un déterminant génétique majeur de l'hyperplasie néo-intimale et de la formation d'une occlusion chronique.

Nous avons donc pu mettre en évidence un facteur de risque génétique du développement d'une fibrose accrue et de l'hyperplasie néo-intimale post-angioplastie. Cependant, nous n'avons pas été en mesure de trouver un facteur de risque génétique du phénomène de remodelage.

D'autre part, nos résultats suggèrent que l'allèle D est responsable de 60% des cas de resténose post-angioplastie après pose de stent. Il nous faut donc élargir nos recherches à d'autres gènes candidats de la resténose tels que des gènes impliqués dans le mécanisme de la fibrinolyse (gène du PAI-1), d'autres gènes du système rénine-angiotensine (gène de l'angiotensinogène) et des gènes de protéines d'adhésion plaquettaire (gène de la glycoprotéine GPIIb/IIIa).

La plupart des études épidémiologiques des facteurs génétiques de la vasomotricité se rapportaient aux manifestations cliniques d'une vasomotricité dysfonctionnelle à savoir la survenue du spasme et l'hypertension. Dans un souci de prévention des dérèglements physiologiques que peut entraîner une vasoconstriction accrue, nous avons recherché des gènes candidats associés à la dysfonction de la vasomotricité. Là aussi, nous nous sommes plus particulièrement intéressés aux gènes impliqués dans le système rénine-angiotensine, notamment au polymorphisme I/D du gène de l'ECA et au polymorphisme A/C 1166 de gène de l'AT1. En effet, tous les effets directs vasoconstricteurs de l'angiotensine II s'effectuent par l'intermédiaire de l'AT1.

Nos résultats montrent que l'allèle C est fortement impliqué dans le déterminisme génétique de la vasoconstriction coronaire accrue.

L'implication de l'allèle C dans l'accroissement de la vasoconstriction pourrait s'effectuer comme nous l'avons signalé précédemment par un défaut de "down-regulation" de ce récepteur après fixation d'angiotensine II. Chez les sujets homozygotes AA, les récepteurs AT1 endothéliaux sont internalisés après fixation de l'angiotensine II, ce qui permet d'éviter une augmentation de la vasoconstriction. Par contre, chez les sujets porteurs du génotype CC de l'AT1, la "down-regulation" du récepteur est diminuée. De ce fait on observe une fixation massive de l'angiotensine II sur les récepteurs de l'angiotensine II responsables de la vasomotricité, les récepteurs AT1.

Il faudrait aussi élargir nos investigations à d'autres gènes candidats tels que ceux déjà décrits comme impliqués dans le déterminisme génétique de l'hypertension.

Conclusion

Du fait des répercussions graves que peut entraîner le développement de la maladie coronaire, il est important d'en prévenir la formation et d'identifier les sujets à haut risque de développer la maladie. Dans cette optique nous voulions déterminer les facteurs de susceptibilité génétique de la maladie coronaire en utilisant la formation de la resténose comme modèle d'étude.

Nous nous sommes donc intéressés à la détermination des facteurs de risque génétiques de la resténose après angioplastie et des facteurs de risque génétiques d'une vasoconstriction accrue en étudiant des gènes candidats impliqués dans le développement de ces deux phénomènes.

Nous avons alors étudié l'influence de polymorphismes de gènes du système rénine-angiotensine c'est à dire du polymorphisme I/D de l'*ECA* et du polymorphisme A/C 1166 de l'*ATI*. Nous avons pu mettre en évidence que l'allèle D n'est pas un facteur de risque de resténose mais un facteur de risque majeur d'occlusion après angioplastie conventionnelle. Mais, en revanche, après pose de stent, la présence de cet allèle D explique plus de 60% des cas de resténose. Nous avons pu démontrer aussi que l'allèle C de l'*ATI* était lié à une augmentation significative de la vasoconstriction des artères coronaires après un test de provocation à l'ergonovine.

Cliniquement, ces résultats sont intéressants car ils permettent d'identifier les patients à haut risque de resténose et/ou de vasoconstriction augmentée dans le but de prévenir les accidents coronaires graves qui pourraient survenir, tels qu'un infarctus post-angioplastie ou qu'un vasospasme. De plus, ces résultats permettent d'envisager chez les sujets à risque la prescription d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I et d'antagonistes du récepteur AT1 comme le losartan pour essayer de limiter la resténose post-angioplastie avec pose de stent et une vasoconstriction accrue sous réserve de vérification.

Cependant d'autres études sont nécessaires pour vérifier nos résultats tant au niveau épidémiologique qu'aux niveaux clinique et physiologique.

Données Bibliographiques

Bauters C., Lablanche J., Mc Fadden E., Leroy F., Bertrand M. Clinical Characteristics and Angiographic Follow-Up of Patients Undergoing Early or Late Repeat Dilatation for a First Restenosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1992, 20 : 845-848.

Bauters C., Passart F., Lablanche J., Mc Fadden E., Hamon M., Bertrand M. Restenosis after coronary angioplasty for rapidly progressive coronary stenosis. *Eur. Heart. J.* 1996, 17 : 1671-1677.

Benchimol D., Bonnet J., Benchimol H., Drouillet F., Duplaa C., Couffinhal T., Desgranges C., Bricaud H. Biological risk factors for restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Int. J. Cardiol.* 1993, 38 : 7-18.

Benetos A., Topouchain J., Ricard S., Gautier S., Bonnardeaux A., Asmar R., Poirier O., Soubrier F., Safar M., Cambien F. Influence of Angiotensin II type 1 Receptor Polymorphism on Aortic Stiffness in Never-Treated Hypertensive patients. *Hypertension.* 1995, 26 : 44-47.

Benlian P. Génétique et dyslipidémies : l'approche du gène candidat. Paris : INSERM, 1996.

Berg K. Genetics of coronary heart disease and its risk factors. Molecular approaches to human polygenic disease. Wiley, Chichester. 1987 : 14-33.

Bohn M., Berge K., Bakken A., Erikssen J., Berg K. Insertion/deletion (I/D) polymorphism at the locus for angiotensin I-converting enzyme and myocardial infarction. *Clin. Genet.* 1993, 44 : 292-297.

Bonithon-Kopp C., Ducimetière P., Touboul P., Fève J., Billaud E., Courbon D., Héraud V. Plasma Angiotensin-Converting Enzyme Activity and Carotid Wall Thickening. *Circulation.* 1994, 89 : 952-954.

Bonnardeaux A., Davies E., Jeunemaitre X., Féry I., Charru A., Clauser E., Tiret L., Cambien F., Corvol P., Soubrier F. Angiotensin II Type 1 Receptor Gene Polymorphisms in Human Essential Hypertension. *Hypertension.* 1994, 24 : 63-69.

Bourachot M., Elhadad S., Guyon P., Barthes L., Lancelin B. Les différents types de stent coronaire. *La Presse Médicale.* 1997, 26 : 536-540.

Brousseau T., Amouyel P., Vidal O., Cambou J., Luc G., Evans A., Arveiler D., Fruchart J., Cambien F. (TTA)_n repeat polymorphism of the HMG-CoA reductase gene and its association with myocardial infarction and lipoprotein levels : the ECTIM study. *Bull. Mol. Biol. Med.* 1995, 20 : 27-29.

Brunel P., Agabiti-Rosei E. Effects of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors on the Heart and Vessels in Clinical and Experimental Hypertension. A Review. *Clin. Drug. Invest.* 1996, 12 : 226-243.

Caldwell P., Seegal B., Hsu K., Das M., Soffer R. Angiotensin-converting enzyme : vascular endothelial localization. *Science.* 1976, 191 : 1050-1051.

Cambien F. The angiotensin-converting enzyme (ACE) genetic polymorphism : its relationship with plasma ACE level and myocardial infarction. *Clin. Genet.* 1994a, 46 : 94-101.

Cambien F., Alhenc-Gelas F., Herbeth B., Andre J., Rakotovo R., Gonzales M., Allegrini J., Bloch C. Familial Resemblance of Plasma Angiotensin-converting Enzyme Level : The Nancy Study. *Am. J. Hum. Genet.* 1988, 43 : 774-780.

Cambien F., Costerousse L., Tired L., Poirier L., Lecerf L., Gonzales M., Evans A., Arveiler D., Cambou J., Luc G., Rakotovo R., Ducimetière P., Soubrier F., Alhenc-Gelas F. Plasma Level and Gene Polymorphism of Angiotensin-Converting Enzyme in Relation to Myocardial Infarction. *Circulation.* 1994b, 90 : 669-676.

Cambien F., Poirier O., Lecerf L., Evans A., Cambou J., Arveiler D., Luc G., Bard J., Bara L., Ricard S., Tired L., Amouyel P., Alhenc-Gelas F., Soubrier F. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature.* 1992, 359 : 641-644.

Cambien F., Poirier O., Mallet C., Tired L. Coronary heart disease and genetics : an epidemiologist's view. *Mol. Med. Today.* 1997 : 197-203.

Campbell G., Campbell J., Manderson J., Horrigan S. Rennick R. Arterial Smooth Muscle. A Multifunctional Mesenchymal Cell. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1988, 112 : 977-986.

Campbell J., Campbell G. Endothelial cell influences on vascular smooth muscle phenotype. *Ann. Rev. Physiol.* 1986, 48 : 295-306.

Caputo L., Benessiano J., Boulanger C., Lévy B. Angiotensin II Increases cGMP Content Via Endothelial Angiotensin II AT1 Subtype Receptors in the Rat Carotid Artery. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1995, 15 : 1646-1651.

Caputo L., Tedgui A., Lévy B. Control of Carotid Vasomotor Tone by Local Renin-Angiotensin System in Normotensive and Spontaneously Hypertensive Rats. Role of Endothelium and Flow. *Circ. Res.* 1995, 77 : 303-309.

Carmeliet P., Collen D. Role of the Plasminogen/Plasmin System in Thrombosis, Hemostasis, Restenosis and Atherosclerosis. Evaluation in Transgenic Animals. *Trends Cardiovasc. Med.* 1995, 5 : 117-122.

Castellano M., Mujesan M., Rizzoni D., Beshi M., Pasini G., Cinelli A., Salvetti M., Porteri E., Bettoni G., Kreutz R., Lindpaintner K., Agabiti Rosei E. Angiotensin-Converting Enzyme I/D Polymorphism and Arterial Wall Thickness in a General Population. The Vobarno Study. *Circulation.* 1995, 91 : 2721-2724.

Celermajer D. Endothelial Dysfunction : Does It Matter? Is It Reversible? *J. Am. Coll. Cardiol.* 1997, 30 : 325-333.

Chamley-Campbell J., Campbell G. What controls smooth muscle phenotype? *Atherosclerosis.* 1981, 40 : 347-357.

Clowes A., Clowes M., Fingerle J., Reidy M. Kinetics of cellular proliferation after arterial injury. V. Role of acute distension in the induction of smooth muscle proliferation. *Lab. Invest.* 1989, 60(3): 360-364.

- Costerousse O.**, Allegrini J., Lopez M., Alhenc-Gelas F. Angiotensin I-converting enzyme in human circulating mononuclear cells : genetic polymorphism of expression in T-lymphocytes. *Biochem. J.* 1993, 290 : 33-40.
- Cowan D.**, Langille L. Cellular and molecular biology of vascular remodeling. *Curr. Opin. Lipidol.* 1996, 7 : 94-100.
- Curnow K.**, Pascoe L., White P. Genetic Analysis of the Human Type-1 Angiotensin II Receptor. *Mol. Endocrinol.* 1992, 7 : 1113-1118.
- Daemen M.**, Lombardi D., Bosman F., Schwartz S. Angiotensin II Induces Smooth Muscle Cell Proliferation in the Normal and Injured Rat Arterial Wall. *Circ. Res.* 1991, 68 : 450-456.
- Daley S.**, Gotlieb A. Fibroblast Growth Factor Receptor-1 Expression Is Associated with Neointimal Formation *in vitro*. *Am. J. Pathol.* 1996, 148 : 1193-1202.
- De Groote P.**, Bauters C., Mc Fadden E., Lablanche J., Leroy F., Bertrand M. Local Lesion-Related Factors and Restenosis After Coronary Angioplasty. Evidence From a Quantitative Angiographic Study in Patients With Unstable Angina Undergoing Double-Vessel Angioplasty. *Circulation.* 1995, 91 : 968-972.
- De Mey J.**, Schiffers P. Effects of the Endothelium on Growth Responses in Arteries. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1993, 21 : S22-S25.
- Dejana E.** Endothelial Cell Adhesive Receptors. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1993, 21: 18-21.
- Dellavalle A.**, Steffenino G., Ribichini F., Matullo G., Colajanni E., Vado A., Uslenghi E., Piazza A. The Absence of D Allele of the ACE ID Genotype Prevents Restenosis After Coronary Stenting : A Quantitative Angiographic Study.
- Di Mario C.**, Gil R., Camenzind E., Ozaki Y., Von Birgelen C., Umans V., De Jaegere P., De Feyter P., Roeland J., Serruyis P. Quantitative Assessment with Intracoronary Ultrasound of the Mechanisms of Restenosis After Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty and Directional Coronary Atherectomy. *Am. J. Cardiol.* 1995, 75 : 772-777.
- Doria A.**, Warram J., Krolewski A. Genetic Predisposition to Diabetic Nephropathy. Evidence for a Role of the Angiotensin I-Converting Enzyme gene. *Diabetes.* 1994a. 43 : 690-695.
- Doria A.**, Warram J., Krolewski A. Molecular Characterization of a DDEI Melting Polymorphism at the Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) Locus. *Hum. Mutation.* 1994b. 4 : 155-157.
- Durrieu-Jaïs C.**, Macchi L., Bihou C., Coste P., Besse P., Nurden P., Nurden A. Etude de l'activation plaquettaire après angioplastie coronaire. Influence sur l'occlusion aiguë et la resténose. *Archives des maladies du coeur et des vaisseaux;* 1996, 10 : 1259-1265.
- Dussailant G.**, Mintz G., Pichard A., Kent K., Satler L., Popma J., Wong C., Leon M. Small Stent Size and Intimal Hyperplasia Contribute to Restenosis : A Volumetric Intravascular Ultrasound Analysis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995, 26 : 720-724.

Eberhardt R., Kevak R., Kang P., Frishman W. Angiotensin II Receptor Blockade : An Innovative Approach to Cardiovascular Pharmacotherapy. *J. Clin. Pharmacol.* 1993, 33 : 1023-1038.

Escargueil-Blanc I., Meilhac O., Pieraggi M., Arnal J., Salvayre R., Nègre-Salvayre A. Oxidized LDLs Induce Massive Apoptosis of Cultured Human Endothelial Cells Through a Calcium-Dependent Pathway. Prevention by Aurintricarboxylic Acid. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997, 17 : 331-339.

Evans A., Poirier O., Kee F., Lecerf L., McCrum E., Falconer T., Crane J., O'Rourke D., Cambien F. Polymorphisms of the angiotensin-converting-enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease. *QJM.* 1994, 87 : 211-214.

Feingold J. Le déséquilibre de liaison. *Médecine/Sciences.* 1991, 2 : 161-168.

Fischman D., Leon M., Baim D., Schatz R., Savage M., Penn I., Detre K., Veltri L., Ricci D., Nobuyoshi M., Cleman M., Heuser R., Almond D., Teirstein P., Fish D., Colombo A., Brinker J., Moses J., Shaknovich A., Hirsfeld J., Bailey S., Ellis S., Rake R., Goldberg S. For the Stent Restenosis Study Investigators. A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. *N. Engl. J. Med.* 1994, 331 : 496-501.

Flavahan N. Atherosclerosis or Lipoprotein-Induced Endothelial Dysfunction. Potential mechanisms Underlying Reduction in EDRF/Nitric Oxide Activity. *Circulation.* 1992, 85 : 1927-1938.

Foley D., Melkert R., Serruys P. on behalf of the CARPORT, MERCATOR, MARCATOR and PARK Investigators. Influence of Coronary Vessel Size on Renarrowing Process and Late Angiographic Outcome After Successful Balloon Angioplasty. *Circulation.* 1994, 90 : 1239-1251.

Friedl W., Krempler F., Paulweber B., Pichler M., Sandhofer F. A deletion polymorphism in the angiotensin converting enzyme gene is not associated with coronary heart disease in an Austrian population. *Atherosclerosis.* 1995, 112 : 137-143.

Frishman W., Huberfeld S., Okin S., Wang Y., Kumar A., Shareef B. Serotonin and Serotonin Antagonism in Cardiovascular and Non-Cardiovascular Disease. *J. Clin. Pharmacol.* 1995, 35 : 541-572.

Fruchart J., Duriez P. Free radicals and atherosclerosis. *Free Radical Damage and its Control.* Ed : Rice-Evans C. and Burdon R. Elsevier Science B. V. 1994.

Furchgott R., Zawadzki J. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980, 288 : 373-376.

Furuta H., Guo D., Inagami T. Molecular cloning and sequencing of the gene encoding human angiotensin II type 1 receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992, 183 : 8-13.

Galle J., Bassenge E., Busse R. Oxidized Low Density Lipoproteins Potentiate Vasoconstrictions to Various Agonists by Direct Interaction With Vascular Smooth Muscle. *Circ. Res.* 1990, 66 : 1287-1293.

- Ganz P., Alexander W.** New Insights into the Cellular Mechanisms of Vasospasm. *Am. J. Cardiol.* 1985, 56 : 11-15.
- Gibbons G., Dzau V.** The emerging concept of vascular remodeling. *N. Engl. J. Med.* 1994, 330 : 1431-1438.
- Goligorsky M., Tsukahara H., Magazine H., Andersen T., Malik A., Bahou W.** Termination of Endothelin Signaling : Role of Nitric Oxide. *J. Cell. Physiol.* 1994, 158 : 485-494.
- Griendling K., Alexander R.** The Angiotensin (AT₁) Receptor. *Seminars in Nephrology.* 1993, 13 : 558-566.
- Guyon P., Boughezela E., Elhadad S., Larrazet F., Bourachot M., Dib J., Lancelin B.** Pourquoi autant de stents? *La Presse Médicale.* 1997, 26 : 526-531.
- Guzman L., Mick M., Arnold A., Whitlow P.** Role of Intimal Hyperplasia and Arterial Remodeling After Balloon Angioplasty. An Experimental Study in the Atherosclerotic Rabbit Model. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1996, 16 : 479-487.
- Haberbosch W., Bohle R., Franke F., Danilov S., Alhenc-Gelas F., Braun-Dullaus R., Hölschermann H., Waas W., Tillmanns H., Gardemann A.** The expression of angiotensin-I converting enzyme in human atherosclerotic plaques is not related to the deletion/insertion polymorphism but to the risk of restenosis after coronary interventions. *Atherosclerosis.* 1997, 130 : 203-213.
- Harden P., Geddes C., Rowe P., Mc Ilroy J., Bouton-Jones M., Rodger R., Junor B., Briggs J., Connell J., Jardine A.** Polymorphisms in angiotensin-converting-enzyme gene and progression of IgA nephropathy. *Lancet.* 1995, 345 : 1540-1542.
- Hart C., Clowes A.** Platelet-Derived Growth Factor and Arterial Response to Injury. *Circulation.* 1997, 95 : 555-556.
- Hays J., Hamill D., Defelice C., Raizner A.** Coronary Artery Spasm Culminating in Thrombosis Following Ergonovine Stimulation. *Catheterization and Cardiovascular Diagnosis.* 1993, 28 : 221-224.
- Haywood G., Gullestad L., Katsuya T., Hutchinson H., Pratt R., Horiuchi M., Fowler M.** AT₁ and AT₂ Angiotensin Receptor Gene Expression in Human Heart Failure. *Circulation.* 1997, 95 : 1201-1206.
- Hearn J., Donohue B., Ba'albaki H., Douglas J., King III S., Lembo N., Roubin G., Sgoutas D.** Usefulness of Serum Lipoprotein (a) as a Predictor of Restenosis After Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty. *Am. J. Cardiol.* 1992, 69 : 736-739.
- Heinle H., Veigel C., Tries S.** The influence of oxidatively modified low density lipoprotein on parameters of energy metabolism and contractile function of arterial smooth muscle. *Free Rad. Res. Comm.* 1990, 11 : 281-286.
- Hickey K., Rubanyi G., Paul. R., Highsmith R.** Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 1985, 248 : 550-556.

- Hoff H., O'Neil J.** Oxidation of LDL : Role in Atherogenesis. *Klin. Wochenschr.* 1991, 69 : 1032-1038.
- Hoffmann R., Mintz G., Dussailant G., Popma J., Pichard A., Satler L., Kent K., Griffin J., Leon M.** Patterns and Mechanisms of In-Stent Restenosis. A Serial Intravascular Ultrasound Study. *Circulation.* 1996, 94 : 1247-1254.
- Horie H., Takahashi M., Izumi M., Takaoka A., Fujita T., Sakamoto T., Kito O., Okamura H., Kinoshita M.** Association of an acute reduction in lipoprotein(a) with coronary artery restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Circulation.* 1997, 96(1) : 166-173.
- Hoshio A., Shirota K., Sawada Y., Fukuki M., Doi T., Kotake H., Mashiba H., Kasahara T., Endo S.** Comparison of Coronary Responses to Intracoronary and Intraaortic Ergonovine and Isosorbide Dinitrate in Patients with A Typical Chest Pain. *Am. J. Cardiol.* 1992, 70 : 1004-1009.
- Hubert C., Houot A., Corvol P., Soubrier F.** Structure of the Angiotensin I-Converting Enzyme Gene. Two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene. *J. Biol. Chem.* 1991, 226 : 15377-15383.
- Hunyady L., Bor M., Balla T., Catt K.** Identification of a Cytoplasmic Ser-Thr-Leu Motif That Determines Agonist-Induced Internalization of the AT1 Angiotensin Receptor. *J. Biol. Chem.* 1994, 269 : 31378-31382.
- Iwai N., Ohmichi N., Nakamura Y., Kinoshita M.** DD Genotype of The Angiotensin-Converting Enzyme Gene Is a Risk Factor for Left Ventricular Hypertrophy. *Circulation.* 1994, 90 : 2622-2628.
- Jeffreys A., Wilson V., Thein S.** Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature.* 1985, 314 : 67-73.
- Jeunemaitre X., Lifton R., Hunt S., Williams R., Lalouel M.** Absence of linkage between the angiotensin converting enzyme locus and human essential hypertension. *Nature Genetics .* 1992, 1 : 72-74.
- Kario K., Kanai N., Saito K., Nago N., Matsuo T., Shimada K.** Ischemic Stroke and the Gene for Angiotensin-Converting Enzyme in Japanese Hypertensives. *Circulation.* 1996, 93 : 1630-1633.
- Kaski J.** Are polymorphisms in the ACE gene a potent genetic risk factor for restenosis? *Br. Heart J.* 1994, 72 : 101.
- Katsuya T., Horiuchi M., Koike G., Pratt R., Dzau V., Reaven G.** Relations Between Deletion Polymorphism of the Angiotensin-Converting Enzyme Gene and Insulin Resistance, Glucose Intolerance, Hyperinsulinemia, and Dyslipidemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1995, 15 : 779-782.
- Katusic Z., Shepherd J.** Endothelium-derived vasoactive factors : II. Endothelium-dependent contraction. *Hypertension.* 1991, (Suppl III) : 86-92.
- Keidar S., Attias J., Smith J., Breslow J., Hayek T.** The Angiotensin-II Receptor Antagonist, Losartan, Inhibits LDL Lipid Peroxidation and Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997, 26 : 622-625.

- Kimura T.**, Kaburagi S., Tamura T., Yokoi H., Nakagawa Y., Yokoi H., Hamasaki N., Nosaka H., Nobuyoshi M., Mintz G., Popma J., Leon M. Remodeling of Human Coronary Arteries Undergoing Coronary Angioplasty or Atherectomy. *Circulation*. 1997, 96 : 475-483.
- Koolman J.**, Röhm K. Atlas de Poche de Biochimie. Ed : Médecine-Sciences. Flammarion. 1997.
- Krege J.**, Moyer J., Langenbach L., Peng L., Zhang S., Maeda N., Reddick R., Smithies O. Angiotensin-Converting Enzyme Gene and Atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997, 17 : 1245-1250.
- Krejcy K.**, Schwarzacher S., Ferber W., Plesch C., Cybulsky M., Weidinger F. Expression of VCAM-1 in rabbit iliac arteries is associated with vasodilator dysfunction of regenerated endothelium following balloon injury. *Atherosclerosis*. 1996, 122 : 59-67.
- Kuga T.**, Egashira K., Inou T., Takeshita A. Correlation of Basal Coronary Artery Tone With Constrictive Response to Ergonovine in Patients With Variant Angina. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1993, 22 : 144-150.
- Lablanche J.**, Delforge D., Thieuleux F., Fourrier J., Traisnel G., Bertrand M. La vasomotricité coronaire chez l'homme. Description d'une méthode de quantification et valeurs normales. *Arch. Mal. Coeur*. 1986, 1 : 13-20.
- Lablanche J.**, Leroy F., Bauters C., Bertrand M. Dérivés nitrés et vasomotricité coronaire. *Arch. Mal. Coeur*. 1992, 85 (I) : 73-76.
- Lachurié M.**, Azizi M., Guyene T., Alhenc-Gelas F., Ménard J. Angiotensin-Converting Enzyme Gene Polymorphism Has No Influence on the Circulating Renin-Angiotensin-Aldosterone System or Blood Pressure in Normotensive Subjects. *Circulation*. 1995, 91 : 2933-2942.
- Lafont A.**, Guzman L., Whitlow P., Goormastic M., Cornhill J., Chisolm G. Restenosis After Experimental Angioplasty. Intimal, Medial, and Adventitial Changes Associated With Constrictive Remodeling. *Circ. Res.* 1995, 76 : 996-1002.
- Landau C.**, Lange R., Hillis D. Percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Medical Progress*. 1994, 330 : 981-993.
- Leatham E.**, Barley J., Redwod S., Hussein W., Carter N., Jeffery S., Bath P., Camm A. Angiotensin-1 converting enzyme (ACE) polymorphism in patients presenting with infarction or unstable angina. *J. Hum. Hypertens.* 1994, 8 : 635-638.
- Levine G.**, Frei B., Koulouris S., Gerhard M., Keaney J., Vita J. Ascorbic Acid Reverses Endothelial Vasomotor Dysfunction in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation*. 1996, 93 : 11007-11013.
- Libby P.**, Sukhova G., Kranzhöfer R., Tanaka H. Cellular activation in restenosis following angioplasty. *Atherosclerosis X*. Ed : Woodford F., Davignon J., Sniderman A. 1995, 690-693.
- Lin J.**, Zhu Y., Liao H., Kobari Y., Groszek L., Stemerman M. Induction of vascular cell adhesion molecule-1 by low-density lipoprotein. *Atherosclerosis*. 1996, 127 : 185-194.

Lindpaintner K., Lee M., Larson M., Rao S., Pfeffer M., Ordovas J., Schaefer E., Wilson A., Wilson P., Vasan R., Myers R., Levy D. Absence of association or genetic linkage between the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular mass. *N. Engl. J. Med.* 1996, 334 : 1023-1028.

Lindpaintner K., Pfeffer M., Kreutz R., Stampfer M., Grodstein F., Lamotte F., Buring J., Hennekens C. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N. Engl. J. Med.* 1995, 332 : 706-711.

Liu G., Espinosa E., Oemar B., Lüscher T. Bimodal Effects of Angiotensin II on Migration of Human and Rat Smooth Muscle Cells. Direct Stimulation and Indirect Inhibition Via Transforming Growth Factor- β 1. *Arterioscler. Throm. Vasc. Biol.* 1997, 17 : 1251-1257.

Loskutoff D., Edgington T. An Inhibitor of Plasminogen Activator in Rabbit Endothelial Cells. *The Journal of Biological Chemistry* 1981, 256 : 4142-4145.

Loskutoff D., Edgington T. Synthesis of a fibrinolytic activator and inhibitor by endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1977, 74 : 3903-3907.

Love M., Haynes W., Gray G., Webb D., Murray J. Vasodilator Effects of Endothelin-Converting Enzyme Inhibition and Endothelin ET_A Receptor Blockade in Chronic Heart Failure Patients Treated With ACE Inhibitors. *Circulation.* 1996, 94 : 2131-2137.

Ludwig E., Corneli P., Anderson J., Marshall H., Lalouel J., Ward R. Angiotensin-Converting Enzyme Gene Polymorphism Is Associated With Myocardial Infarction but Not With Development of Coronary Stenosis. *Circulation.* 1995, 91 : 2120-2124.

Lüscher T. Endothelial control of vascular tone and growth. *Clin. and Exper. Hypertension-Theory and Practice.* 1990, A12 : 897-902.

Lüscher T., Noll G. Endothelium Dysfunction in the Coronary Circulation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1994, 24 : 16-26.

Lüscher T., Wenzel R., Noll G. Local regulation of the coronary circulation in health and disease : role of nitric oxide and endothelin. *Eur. Heart J.* 1995, 16 : 51-58.

Mac Alpin R. Contribution of Dynamic Vascular Wall Thickening to Luminal Narrowing During Coronary Arterial Constriction. *Circulation.* 1980, 60 : 296-301.

Margaglione M., Celentano E., Grandone E., Vecchione G., Cappucci G., Giuliani N., Colaizzo D., Panico S., Mancini F., Di Minno G. Deletion Polymorphism in the Angiotensin-Converting Enzyme Gene in Patients With a History of Ischemic Stroke. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1996, 16 : 304-309.

Marian A., Yu Q., Workman R., Greve G., Roberts R. Angiotensin-converting enzyme polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death. *Lancet.* 1993, 342 : 1085-1086.

Marre M., Bernadet P., Gallois Y., Savagner F., Guyene T., Hallab M., Cambien F., Passa P., Alhenc-Gelas F. Relationships Between Angiotensin I Converting Enzyme Gene Polymorphism, Plasma Levels, and Diabetic Retinal and Renal Complications. *Diabetes.* 1994, 43 : 384-388.

Masaki T. Endothelins : Homeostasis and Compensatory Actions in the Circulatory and Endocrine Systems. *Endocrine Reviews*. 1993, 14 : 256-268.

Maseri A., Mimmo R., Chierchia S., Marchesi C., Pesola A., L'Abbate A. Coronary artery spasm as a cause of acute myocardial ischemia in man . *Chest*. 1975, 68 : 6625-6633.

Mattu R., Needham E., Galton D., Frangos E., Clark A., Caulfield M. A DNA variant at the Angiotensin-Converting Enzyme Gene locus Associates With Coronary Artery Disease in the Caerphilly Heart Study. *Circulation*. 1995, 91 : 270-274.

Mc Fadden E., Clarke J., Davies G., Kaski J., Haider A., Maseri A. Effect of intracoronary serotonin on coronary vessels in patients with stable angina and patients with variant angina. *N. Engl. J. Med.* 1991, 324 : 648-654.

Mc. Fadden E., Bauters C., Lablanche J., Quandalle P., Leroy F., Bertrand M. Response of Human Coronary Arteries to Serotonin After Injury by Coronary Angioplasty. *Circulation*. 1993, 88 : 2076-2085.

Miettinen H., Korpela K., Hämäläinen L., Kontula K. Polymorphisms of the apolipoprotein and angiotensin converting enzyme genes in young North Karelian patients with coronary heart disease. *Hum. Genet.* 1994, 94 : 189-192.

Mintz G., Kovach J., Pichard A., Kent K., Satler L., Popma J., Painter J., Morgan K., Leon M. Geometric Remodeling is the Predominant Mechanism of Clinical Restenosis After Coronary Angioplasty (abstr). *J. Am. Coll. Cardiol.* 1994 : 138A.

Mintz G., Popma J., Pichard A., Kent K., Satler L., Wong C., Hong M., Kovach J., Leon M. Arterial Remodeling after Coronary Angioplasty. A Serial Intravascular Ultrasound Study. *Circulation*. 1996, 94 : 35-43.

Montalescot G., Ankri A., Vicaut E., Drobinski G., Grosgeat Y., Thomas D. Fibrinogen After Coronary Angioplasty as a Risk Factor for restenosis. *Circulation*. 1995, 92 : 31-38.

Morise T., Takeuchi Y., Takeda R. Angiotensin-converting enzyme polymorphism and essential hypertension. *Lancet*. 1994, 343 : 125.

Morris B., Zee R., Schrader A. Different Frequencies of Angiotensin-converting Enzyme Genotypes in Older Hypertensive Individuals. *J. Clin. Invest.* 1994, 94 : 1085-1089.

Mügge A., Förstermann U., Lichten P. Platelets, Endothelium-Dependent Responses and Atherosclerosis. *Annals of Medicine*. 1991, 23 : 545-550.

Naftilan A. The Role of Angiotensin II in Vascular Smooth Muscle Cell Growth. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1992, 20 (Suppl 1) : 37-40.

Naftilan A., Pratt R., Dzau V. Induction of Platelet-Derived Growth Factor A-Chain and *c-myc* Gene Expressions by Angiotensin II in Cultured Rat Vascular Smooth Muscle Cells. *J. Clin. Invest.* 1989, 83 : 1419-1424.

- Nakai K.**, Itoh C., Miura Y., Hotta K., Musha T., Itoh T., Miyakawa T., Iwasaki R., Hiramori K. Deletion Polymorphism of The Angiotensin I-Converting Enzyme Gene Is Associated With Serum ACE Concentration and Increased Risk for CAD in the Japanese. *Circulation*. 1994, 90 : 2199-2202.
- Nakauchi Y.**, Suehiro T., Yamamoto M., Yasuoka N., Arie K., Kumon Y., Hamashige N., Hashimoto K. Significance of angiotensin I-converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms as risk factors for coronary heart disease. *Atherosclerosis*. 1996, 125 : 161-169.
- O'Brien E.**, Alpers C., Stewart D., Ferguson M., Tran N., Gordon D., Benditt E., Hinohara T., Simpson J., Schwartz S. Proliferation in Primary and Restenotic Coronary Atherectomy Tissue. Implications for Antiproliferative Therapy. *Circ. Res.* 1993, 73 : 223-231.
- O'Kane K.**, Prasad N., Johnstone H., Macleod C., McMahon A., MacDonald T., Webb D. Left Ventricular Hypertrophy in Essential Hypertension Depends on ACE Genotype. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995 Abstract : 729-733.
- Ohishi M.**, Fujii K., Minamino T., Higaki J., Kamitani A., Rakugi H., Zhao Y., Mikami H., Miki T., Ogihara T. A potent genetic risk factor for restenosis. *Nat. Genet.* 1993, 5 : 324-325.
- Ohno T.**, Kawazu S., Tomono S. Association Analyses of the Polymorphisms of Angiotensin-Converting Enzyme and Angiotensinogen Genes With Diabetic Nephropathy in Japanese Non-Insulin-Dependent Diabetics. *Metabolism*. 1996, 45 : 218-222.
- Oike Y.**, Hata A., Ogata Y., Numata Y., Shido K., Kondo K. Angiotensin Converting Enzyme as a Genetic Risk Factor for Coronary Artery Spasm. Implication in the Pathogenesis of Myocardial Infarction. *J. Clin. Invest.* 1995, 96 : 2975-2979.
- Olson N.**, Chao S., Lindner V., Reidy M. Intimal Smooth Muscle Cell Proliferation after Balloon Catheter Injury. The Role of Basic Fibroblast Growth Factor. *Am. J. Pathol.* 1992, 140 : 1017-1023.
- Oosterga M.**, Voors A., De Kam P., Schunkert H., Pinto Y., Kingma H., Van Gilst W. Plasma Angiotensin-Converting Enzyme Activity and Left Ventricular Dilatation After Myocardial Infarction. *Circulation*. 1997, 95 : 2607-2609.
- Panahloo A.**, Andès C., Mohamed-Ali V., Gould M., Talmud P., Humphries S., Yudkin J. The Insertion Allele of the ACE Gene I/D Polymorphism. A Candidate Gene for Insulin Resistance? *Circulation*. 1995, 92 : 3390-3393.
- Pauletto P.**, Sartore S., Pessina A. Smooth-muscle-cell proliferation and differentiation in neointima formation and vascular restenosis. *Clin. Science* 1994, 87 : 467-479.
- Perticone F.**, Ceravolo R., Cosco C., Trapasso M., Zingone A., Malatesta P., Perrotti N., Tramontano D., Mattioli P. Deletion Polymorphism of Angiotensin-Converting Enzyme Gene And Left Ventricular Hypertrophy in Southern Italian Patients. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1997, 29 (2) : 365-369.
- Pfeffer M.**, Braunwald E., Moyer L., Basta L., Brown E., Uddy T., Davis B., Geltman E., Goldman S., Flaker G., Klein M., Lamas G., Packer M., Rouleau J., Rouleau J., Rutherford J., Wertimer J., Hawkins M. on behalf of the SAVE Investigators. Effect of Captopril on mortality and morbidity in

patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the Survival and ventricular Enlargement Trial. *New England Journal of Medicine*. 1992, 327 : 669-677.

Pickering G. Vascular Spasm. *Lancet*. 1950, 10 : 845-850.

Pinto Y., Van Gilst W., Kingma H., Schunkert H. Deletion-Type Allele of the Angiotensin-Converting Enzyme Gene Is Associated With Progressive Ventricular Dilation After Anterior Myocardial Infarction. *J. Am. Coll. Cardiol*. 1995, 25 : 1622-1626.

Popma J., Califf R., Topol E. Clinical Trials of Restenosis After Coronary Angioplasty. *Circulation*. 1991, 84 : 1426-1436.

Prinzmetal M., Kennamer R., Merliss R., Wada T., Bor N. Angina Pectoris I. A Variant Form of Angina Pectoris. *Am. J. Med.* 1959, 59 : 375-388.

Pyörälä K., De Backer G., Graham I., Poole-Wilson P., Wood D. on behalf of the Task Force. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Recommendations of the Task Force of The European Society of Cardiology and European Atherosclerosis Society and European Society of Hypertension. *Eur. Heart J*. 1994, 15 : 1300-1331.

Quyyumi A., Dakak N., Mulcahy D., Andrews N., Husain S., Panza J., Cannon III R. Nitric Oxide Activity in the Atherosclerotic Human Coronary Circulation. *J. Am. Coll. Cardiol*. 1997, 29 : 308-317.

Rabbani L., Edelman E., Ganz P., Selwyn A., Loscalzo J., Bittl J. Relation of Restenosis After Excimer Laser Angioplasty to Fasting Insulin Levels. *Am. J. Cardiol*. 1994, 73 : 323-327.

Radomski M., Palmer R., Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet*. 1987a, 2 : 1057-1058.

Radomski M., Palmer R., Moncada S. The anti-aggregating properties of vascular endothelium : interactions between prostacyclin and nitric oxide. *Br. J. Pharmac*. 1987b, 92 : 639-647.

Raynolds M., Bristow M., Bush E., Abraham W., Lowes B., Zisman L., Taft C., Perryman M. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet*. 1993, 342 : 1073-1075.

Ridker P., Gaboury C., Conlin P., Seely E., Williams G., Vaughan D. Stimulation of Plasminogen Activator Inhibitor In Vivo by Infusion of Angiotensin II. Evidence of a Potential Interaction Between the Renin-Angiotensin System and Fibrinolytic Function. *Circulation*. 1993, 87 : 1969-1973.

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 : 1343-1346.

Rigat B., Hubert C., Corvol P., Soubrier F. PCR deletion of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1)(dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucleic Acids Res*. 1992, 20 : 1433.

Rogers C., Welt F., Karnovsky M., Edelman E. Monocyte Recruitment and Neointimal Hyperplasia in Rabbits. Coupled Inhibitory Effects of Heparin. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1996, 16 : 1312-1318.

Rolfs A., Weber-Rolfs I., Regitz-Zagrosek V., Kallisch H., Riedel K., Fleck E. Genetic polymorphisms of the angiotensin II type 1 (AT1) receptor gene. *Eur. Heart J.* 1994, 15 (Supplement D) : 108-112.

Ross R. The Pathogenesis of Atherosclerosis - an Update. *N. Engl. J. Med.* 1986 : 488-500.

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis : a perspective for the 1990s. *Nature.* 1993, 362 : 801-809.

Ross R., The pathogenesis of atherosclerosis- An update. *N. Engl. J. Med.* 1996, 314 (8) : 488-500.

Rubanyi G. The Role of Endothelium in Cardiovascular Homeostasis and Diseases. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1993, 22 : S1-S14.

Ruiz J., Blanché H., Cohen N., Velho G., Cambien F., Cohen D., Passa P., Froguel P. Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is strongly associated with coronary heart disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994, 91 : 3662-3665.

Ruzicka M., Leenen F. Relevance of Blockade of Cardiac and Circulatory Angiotensin-Converting Enzyme for the Prevention of Volume Overload-Induced Cardiac Hypertrophy. *Circulation.* 1995, 91 : 16-19.

Sabri A., Levy B., Poitevin P., Caputo L., Faggini E., Marotte F., Rappaport L., Samuel J. Differential Roles of AT1 and AT2 Receptor Subtypes in Vascular Trophic and Phenotypic Changes in Response to Stimulation With Angiotensin II. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997, 17 : 257-264.

Sachinidis A., Locher R., Mengden T., Steiner A., Vetter W. Vasoconstriction : a novel activity for Low Density Lipoprotein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1989, 163 : 315-320.

Samani N., Martin D., Brack M., Cullen J., Chauhan A., Lodwick D., Harley A., Swales J., De Bono D., Gershlick A. Insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene and risk of restenosis after coronary angioplasty. *Lancet.* 1995, 345 : 1013-1016.

Samani N., Martin D., Brack M., Cullen J., Wallis R., Lodwick D., Chauhan A., Harley A., Thompson J., Gershlick A., De Bono D. Apolipoprotein E polymorphism does not predict risk of restenosis after coronary angioplasty. *Atherosclerosis.* 1996a, 125 : 209-216.

Samani N., Thompson J., O'Toole L., Channer K., Woods K. A Meta-Analysis of the Association of the Deletion Allele of the Angiotensin-Converting Enzyme Gene With Myocardial Infarction. *Circulation;* 1996b, 94 : 708-712.

Schmidt K., Graier W., Kostner G., Mayer B., Kukoverz W. Activation of soluble guanylate cyclase by nitrovasodilators is inhibited by oxidized Low-Density Lipoprotein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1990, 172 : 614-619.

Schmitz H., Erbel R., Meyer J., Von Essen R. Influence of vessel dilatation on restenosis after successful percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Am. Heart J.* 1996, 131 : 884-891.

Schunkert H., Hense H., Holmer S., Stender M., Perz S., Keil U., Lorell B., Riegger G. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N. Engl. J. Med.* 1994, 330 : 1634-1638.

Schwartz S. Smooth Muscle Migration in Atherosclerosis and Restenosis. *J. Clin. Invest.* 1997, 99 : 2814-2816.

Scott-Burden T., Vanhoutte P. The Endothelium as a Regulator of Vascular Smooth Muscle Proliferation. *Circulation.* 1993, 87 : 51-55.

Serrato M., Marian A. A Variant of Human Paraoxonase/Arylesterase (*HUMAPONA*) Gene Is a Risk Factor for Coronary Artery Disease. *J. Clin. Invest.* 1995, 96 : 3005-3008.

Serruys P., De Jaegere P., Kiemeneij F., Macaya C., Rutsch W., Heyndrickx G., Emanuelsson H., Marco J., Legrand V., Materne P., Belardi J., Sigwart U., Colombo A., Goy J., Van Den Heuvel P., Delcan J., Morel M. For the Benestent Study Group. A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. *N. Engl. J. Med.* 1994, 331 : 489-495.

Severs N., Robenek H. Constituents of the arterial wall and atherosclerotic plaque : an introduction to atherosclerosis. Cell interactions in atherosclerosis. Robenek H., Severs N. Ed : CRC. 1992.

Shah P., Pastenak R. The role of lipids in restenosis following angioplasty. *Curr. Opin. Lipidol.* 1993, 4 : 310-313.

Shi Y., Nardone D., Hernandez-Martinez A., Walinsky P., Bjornsson T., Zalewski A. Fibrinolytic Activity After Vessel Wall Injury. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1992, 19 : 441-443.

Simons M., Leclerc G., Safian R., Isner J., Weir L., Baim D. Relation between activated smooth-muscle cells in coronary-artery lesions and restenosis after atherectomy. *N. Engl. J. Med.* 1993, 328 : 608-613.

Sirnes P., Golf S., Myreng Y. Stenting in chronic total occlusion (SICCO) : A multicenter, randomized, controlled study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996, 2 (Suppl. A) : 732-735 Abstract : 139 (A).

Skeggs L., Dorer F., Kahn J., Lentz K., Levine M. Experimental renal hypertension : The discovery of the renin-angiotensin system, in Soffer R. (Ed) : *Biochemical Regulation of Blood Pressure*. New York, NY, Wiley. 1981 : 3-38.

Speir E., Modali R., Huang E., Leon M., Shawl F., Finkel T., Epstein S. Potential Role of Human Cytomegalovirus and p53 Interaction in Coronary Restenosis. *Science.* 1994, 265 : 391-394.

Stern D., Brett J., Harris K., Nawroth P. Participation of Endothelial Cells in the Protein C-Protein S Anticoagulant Pathway : The Synthesis and Release of Protein S. *J. Cell Biol.* 1986, 102 : 1971-1978.

Stewart D., Monge J. Hyperlipidemia and endothelial dysfunction. *Curr. Opin. Lipidol.* 1993, 4 : 319-324.

Takayanagi R., Ohnaka K., Sakai Y., Nakao R., Yanase T., Haji M., Inagami T., Furuta H., Gou D., Nakamuta M., Nawata H. Molecular cloning, sequence analysis and expression of a cDNA encoding human Type-1 Angiotensin II Receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*; 1992, 183 (2) : 910-916.

Talmud P., Watts G., McBride S., Mandalia S., Brunt J., Coltart D., Lewis B., Humphries S. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and the course of angiographically defined coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 1995, 114 : 133-135.

Tatineni S., Kern M., Aguirre F. The effect of ergonovine on coronary vasodilatory reserve in patients with angiographically normal coronary arteries. *Am. Heart. J.* 1992, 123 : 617-620.

Tedgui A. Endothelial permeability under physiological and pathological conditions. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 1996, 54: 27-29.

Teo K. Angiotensin converting enzyme genotypes and disease. Conflicting results from research leave the picture unclear. *BMJ*. 1995, 311 : 763-764.

Thibonnier M., Schork N. The genetics of hypertension. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1995, 5 : 362-370.

Tiret L., Bonnardeaux A., Poirier O., Ricard S., Marques-Vidal P., Evans A., Arveiler D., Luc G., Kee F., Ducimetière P., Soubrier F., Cambien F. Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction. *The Lancet*. 1994, 344 : 910-913.

Tiret L., Kee F., Poirier O., Nicaud V., Lecerf L., Evans A., Cambou J., Arveiler D., Luc G., Amouyel P., Cambien F. Deletion polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene associated with parental history of myocardial infarction. *Lancet*. 1993, 341 : 991-992.

Tiret L., Rigat B., Visvikis S., Breda C., Corvol P., Cambien F., Soubrier F. Evidence from Combined Segregation and Linkage Analysis That a Variant of the Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) Gene Controls Plasma ACE Levels. *Am. J. Hum. Genet.* 1992, 51 : 197-205.

Tronc F., Wassef M., Esposito B., Glagov S., Tedgui A. Role of NO in Flow-Induced Remodeling of the Rabbit Common Carotid Artery. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1996, 16 : 1256-1262.

Tunstall-Pedoe H., Kuulasmaa K., Amouyel P., Arveiler D., Rajakangas A., Pajak A. On behalf of the WHO MONICA Project. Myocardial Infarction and coronary deaths in the World Health Organization Monica Project. Registration procedures, event rates and case fatality in 38 populations from 21 countries in 4 continents. *Circulation*. 1994, 90 : 583-612.

Van Belle E., Mc Fadden E., Lablanche J., Bauters C., Hamon M., Bertrand M. Two-prolonged antiplatelet therapy with aspirin and ticlopidine without systemic anticoagulation : an alternative therapeutic strategy after bailout stent implantation. *Coronary Artery Disease*. 1995, 6 : 341-345.

Van Bockxmeer F., Mamotte C., Vasikaran S., Taylor R. Methylene tetrahydrofolate Reductase Gene and Coronary Artery Disease. *Circulation*. 1997, 95 : 21-23.

Villard E., Tired L., Visvikis S., Rakotavao R., Cambien F., Soubrier F. Identification of New Polymorphisms of the Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) Gene, and Study of Their Relationship to Plasma ACE Levels by Two-QTL Segregation-Linkage Analysis. *Am. J. Hum. Genet.* 1996, 58 : 1268-1278.

Vita J., Treasure C., Nabel E., McLenachan J., Fish D., Yeung A., Vekshtein V., Selwyn A., Ganz P. Coronary Vasomotor Response to Acetylcholine Relates to Risk Factors for Coronary Artery Disease. *Circulation.* 1990, 81 : 491-497.

Wang W., Mc Credie R., Wilcken D. Genotype Distribution of Angiotensin-Converting Enzyme Polymorphism in Australian Healthy and Coronary Populations and Relevance to Myocardial Infarction and Coronary Artery Disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1996, 16 : 115-119.

Wang W., Zee R., Morris B. Association of angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism with essential hypertension. *Clin. Genet.* 1997, 51 : 31-34.

Wight T. The Vascular Extracellular Matrix. Atherosclerosis and Coronary Disease. Ed : Fuster V., Ross R., Topol E. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996.

Witztum J. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet.* 1994, 344 : 793-795.

Yamamoto H., Imazu M., Yamabe T., Ueda H., Hattori Y., Yamakido M. Risk factors for restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty : Role of lipoprotein (a). *Am. Heart J.* 1995, 130 : 1168-1173.

Zeiber A., Schächinger V., Hohnloser S., Saubier B., Just H. Coronary Atherosclerotic Wall Thickening and Vascular Reactivity in Humans. Elevated High-Density Lipoprotein Levels Ameliorate Abnormal Vasoconstriction in Early Atherosclerosis. *Circulation.* 1994, 89 : 2525-2532.

Zempo N., Koyama N., Kenagy R., Lea H., Clowes A. Regulation of vascular smooth muscle cell migration and proliferation in vitro and in injured rat arteries by a synthetic matrix metalloproteinase inhibitor. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1996, 16(1) : 28-33.

Zhou Y., Leon M., Waclawiw M., Popma J., Yu Z., Finkel T., Epstein S. Association between prior cytomegalovirus infection and the risk of restenosis after coronary atherectomy. *N. Engl. J. Med.* 1996, 335 : 624-630.



Résumé

L'insuffisance coronaire et l'infarctus du myocarde sont les premières causes de mortalité et de morbidité dans les pays industrialisés.

Comme dans la plupart des maladies multifactorielles, de nombreux facteurs de risque prédisposent au développement et à la survenue de la maladie coronaire. Il s'agit des facteurs de risque environnementaux et des facteurs de susceptibilité génétique.

Dans le travail présenté ici, nous nous sommes focalisés sur des gènes candidats issus du système rénine-angiotensine. Les études développées ont consisté à mesurer le degré d'implication de ce système dans les phénomènes de resténose et de vasoconstriction accrue.

Nos résultats suggèrent que l'allèle D du gène de l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine I (*ECA*) constitue un facteur de risque majeur d'occlusion après angioplastie conventionnelle et de resténose après angioplastie avec pose d'endoprothèse coronaire, le stent. Nous avons aussi mis en évidence que l'allèle C du gène du récepteur de l'angiotensine II de type 1 (*ATI*) est lié à une vasoconstriction coronaire augmentée.

Cliniquement, ces résultats sont intéressants car ils permettent d'identifier les patients à haut risque de resténose et/ou de vasoconstriction augmentée dans le but de prévenir les accidents coronaires graves qui pourraient survenir, tels qu'un infarctus post-angioplastie ou un vasospasme.

Cependant d'autres études sont nécessaires pour vérifier nos résultats tant au niveau épidémiologique qu'aux niveaux clinique et physiologique.