



HAL
open science

Les greffons vasculaires en chirurgie coronaire

Olivier Fouquet

► **To cite this version:**

Olivier Fouquet. Les greffons vasculaires en chirurgie coronaire. Médecine humaine et pathologie. Université d'Angers, 2019. Français. NNT : 2019ANGE0039 . tel-03034432

HAL Id: tel-03034432

<https://theses.hal.science/tel-03034432>

Submitted on 1 Dec 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE D'ANGERS
COMUE UNIVERSITE BRETAGNE LOIRE

ECOLE DOCTORALE N° 605
Biologie Santé
Spécialité : « *Physiologie Humaine* »

Par

Olivier FOUQUET

« **Les greffons vasculaires en chirurgie coronaire** »

Thèse présentée et soutenue à Angers, le 18 octobre 2019

Unité de recherche : Laboratoire MitoVasc – Equipe CarMe : UMR CNRS 6015, INSERM 1083

Thèse N° :

Rapporteurs avant soutenance : Composition du Jury :

André VINCENTELLI PU-PH, Université de Lille II
Olivier BOUCHOT PU-PH, Université de Bourgogne

Hervé CORBINEAU PU-PH, Université Rennes 1
Michel KINDO PU-PH, Université de Strasbourg

Directeur de thèse
Daniel HENRION DR1, UMR CNRS 6015, INSERM 1083

Co-directeur de thèse
Christophe BAUFRETON PU-PH, Université d'Angers

L'auteur du présent document vous autorise à le partager, reproduire, distribuer et communiquer selon les conditions suivantes :



- Vous devez le citer en l'attribuant de la manière indiquée par l'auteur (mais pas d'une manière qui suggérerait qu'il approuve votre utilisation de l'œuvre).
- Vous n'avez pas le droit d'utiliser ce document à des fins commerciales.
- Vous n'avez pas le droit de le modifier, de le transformer ou de l'adapter.

Consulter la licence creative commons complète en français :
<http://creativecommons.org/licences/by-nc-nd/2.0/fr/>



REMERCIEMENTS

La vie est faite de rencontres.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont, de près, comme de loin, contribué à l'élaboration de ce travail et j'exprime toute ma reconnaissance aux membres du jury.

A Monsieur le Docteur Daniel Henrion, directeur de thèse, cher Daniel, merci d'avoir prolongé cette collaboration entre le service et l'unité que tu diriges. Ta gentillesse et tes compétences ont été d'une grande aide dans cette thèse.

A Monsieur le Professeur Christophe Baubretton, co-directeur de thèse, cher Christophe, tu fais en sorte que l'on regarde toujours devant. Tu as été à l'initiative de ce travail, tes compétences en particulier dans le domaine de la CEC sont à l'origine de ces idées. Merci pour ton aide précieuse.

A Monsieur le Professeur André Vincentelli, rapporteur et examinateur, cher André, ma première saphène et ma première mammaire, c'est toi. Tu as été mon directeur de thèse de médecine, te voilà encore aujourd'hui dans mon jury. Au delà de l'admiration que j'ai pour toi, reçois ici toute mon amitié.

A Monsieur le Professeur Olivier Bouchot, rapporteur et examinateur, cher Olivier, un grand merci d'avoir accepté (un peu au dernier moment !) de juger cette thèse. Ton expérience en chirurgie coronaire à cœur battant, t'amènera probablement à avoir un autre regard sur ce travail. Reçois ici toute mon amitié.

A Monsieur le Professeur Hervé Corbineau, examinateur, cher Hervé, mon métier de chirurgien, tel que je le pratique aujourd'hui, a pris ses racines en Bretagne. Ta rigueur et ta dextérité chirurgicales sont pour moi un exemple. J'espère avoir un peu de toi dans ma façon d'opérer.

A Monsieur le Professeur Michel Kindo, examinateur, cher Michel, comme Olivier tu as accepté de venir au dernier moment sur les terres Angevines. Ton investissement pour la réhabilitation accélérée des patients opérés est source d'admiration. Nous espérons pouvoir mettre en place un tel programme proche de ce qui est fait à Strasbourg. Merci de juger ce travail et reçois toute mon amitié.

A mes compagnons de route au quotidien : Patrice, ta sagesse et nos discussions animées sont toujours de vrais moments de plaisirs ; Frédéric, tes compétences chirurgicales et dans le domaine de l'interventionnel sont source d'inspiration, tu as été surtout celui qui a débuté ce travail ; Simon, promis à un bel avenir tu es aussi celui qui amène le côté pétillant au service. Au Professeur Jean-Louis de Brux, qui a dirigé et magnifié le service, je vous souhaite la plus agréable des retraites. Merci à vous et recevez toute mon amitié.

A Laurent, tes conseils avisés, tes relectures de papiers, tes projets, il n'est pas toujours facile de te suivre ! Merci pour ton amitié et ton aide si précieuse. Aux collègues du laboratoire, Céline, Pauline, Agnès, Carole, Tristan, Mathilde, aux étudiants que j'ai encadré, Jean-David, Anna et Philippe et à tous ceux que je ne citerai pas, merci.

A mes amis de ces dernières années, Francis, Erwan, Issam, Gianvito, Sébastien, Marine, Marie, Godefroy, Prune, David.

A mes parents, merci papa pour ta relecture avisée, à mes frères, belles sœurs et leurs enfants.

Merci à toi Hélène, avec qui je partage ma vie aujourd'hui. Les quelques kilomètres qui peuvent parfois nous séparer, ne sont rien à côté de l'amour et de la stabilité que nous avons établi. Tu m'as donné le plus beau des cadeaux qui fait notre bonheur aujourd'hui.

A mes trois enfants, Pierre, Hugo et Agathe. Vous illuminez tout simplement ma vie.

Liste des abbrévations

ATI : Artères Thoraciques Internes

AT: Antithrombine

CEC: Circulation Extra-Corporelle

COX : Cyclo-Oxygénase

FT : Facteur Tissulaire

EDHF: Endothelium Dependent Hyperpolarization Factor

EEP: Energy Equivalent Pression

ICAM 1: Intracellular Adhesion Molecule 1

IH: Intimal Hyperplasia

L-NMMA: N-Monomethyl-L-Arginine

MCP-1: Monocyte Chemotactic Protein 1

MEC: Matrice Extra-Cellulaire

MMP: Metalloprotéase

NO: Monoxyde d'azote

PDGF: Platelet Derived Growth Factor

PECAM 1: Platelet Endothelial Cell Adhesine Molecule 1

PGI2: Prostaglandine E2

ROS: Reactive Oxygen Species

SHE: Surplus Hemodynamic Energy

SIRS: Sydrôme Inflammatoire Systémique

TNF: Tumor Necrosis Factor

VCAM 1: Vascular Cell Adhesine Molecule 1

VGEF: Vascular Endothelial Growth Factor

Liste des articles présentés dans la thèse

1. **Effects of storage solutions used during coronary surgery on arterialized vein graft in a rat model.** Olivier Fouquet, MD^{a,b}, Jean-David Blossier, MD^{b,c}, Simon Dang Van, MD^{a,b}, Pauline Robert^b, Agnès Barbelivien^b, Frédéric Pinaud, MD, PhD^{a,b} et al. *J Cardiac Surg (en Soumission)*
2. **Does a skeletonized internal thoracic artery give fewer postoperative complications than a pedicled artery for patients undergoing coronary bypass grafting?** Fouquet O, Tariel F, Desulauze P, Mével G. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2015 May ;20(5) :663-8
3. **Cardiopulmonary bypass and internal thoracic artery: can roller or centrifugal pumps change vascular reactivity and inflammatory response of the graft?** Olivier Fouquet, MD^{1,2}, Simon Dang Van, MD^{1,2}, Anna Baudry, MD^{1,2}, Philippe Meisnerowski, MD^{1,2}, Pauline Robert², Frédéric Pinaud, MD, PhD^{1,2} et al. *Ann Thorac Surg (en Soumission)*

Communications en rapport avec la thèse

1. Pulsatilité en chirurgie cardiaque *ESEO, Angers 2014*
2. Analyse et quantification de la pulsatilité en circulation extra-corporelle en fonction du type de pompes artérielles pour la chirurgie coronaire. *Seminaire Angevin Interfaces sciences de l'ingénieur/sciences de la santé 14/02/2014*
3. Rôle des solutions de conservation des greffons veineux implantés en position artérielle sur la viabilité, la fonctionnalité endothéliale et l'hyperplasie intimale chez des rats Lewis – *Poster – SFCTCV Nantes 16/06/2016*
4. Impact de la pulsatilité sur les artères thoraciques internes (IPATI). Séminaire d'information de la recherche clinique, *Angers, 14/12/2016*
5. Méthodologie de la Recherche chez l'homme en chirurgie, *2017*
6. Les greffons vasculaires en chirurgie coronaire. *Journées scientifiques Mitovasc 05/10/2017*
7. Circulation extra-corporelle, pulsatilité et microcirculation. *Journées Scientifiques Mitovasc 24/01/2019*

RÉSUMÉ

L'utilisation de greffons artériels (Artère Thoracique Interne (Ati)) et/ou veineux est habituelle au cours de pontages coronaires. 1) L'hyperplasie intimale (HI) d'une veine est un mécanisme adaptatif lorsque la veine est soumise à un flux artériel. Certaines solutions de conservation semblent limiter cette HI dans des études *in vitro*. 2) Deux types de circulation extra-corporelle (CEC) sont utilisables : CEC centrifuge dite non pulsée et CEC à galets dite pulsée. L'absence de pulsatilité est à l'origine d'une réaction inflammatoire systémique et crée une altération du tonus myogénique d'artères intermédiaires chez le rat. L'objectif de ce travail était : 1) comparer les solutés de conservation sur des veines implantées en position aortique chez le rat. 2) évaluer l'impact des flux générés par les pompes de CEC sur la fonctionnalité endothéliale des ATIs et la réaction inflammatoire systémique. 1) L'implantation d'un greffon veineux conservé dans du sérum hépariné ou du sang autologue hépariné ou dans une solution anti-oxydante type GALA était à l'origine d'une hyperplasie intimale entraînant une occlusion du greffon dans plus de 50% des cas. Une réaction inflammatoire pariétale importante était retrouvée au niveau de la veine et de l'aorte abdominale distale. 2) La réactivité vasculaire était conservée quel que soit le type de pompes. Une réponse inflammatoire systémique est observée alors que le niveau d'inflammation n'était pas modifié dans les artères. En conclusion, 1) l'utilisation d'une solution anti-oxydante ne permet pas de réduire significativement le risque d'hyperplasie intimale lorsque le greffon veineux est implanté en position artérielle 2) l'exposition d'une ATi à une pompe centrifuge et à galets ne modifie pas la réactivité vasculaire ni la fonctionnalité endothéliale.

mots-clés : Veine, Solutions de conservation, Hyperplasie Intimale, Artère, Réactivité vasculaire, Pulsatilité

ABSTRACT

Internal thoracic arteries (ITAs) and venous grafts are commonly used in coronary artery bypass grafting. 1) Intimal hyperplasia (IH) constitutes an adaptative mechanism observed when saphenous vein graft is exposed to arterial blood pressure. Storage solutions aiming on decreasing this IH have been identified in previous *in vitro* studies. 2) Cardio pulmonary bypass can be performed using either a centrifugal pump, with a non -pulsatile flow or a roller pump, producing a pulsatile flow. Non pulsatile flow was showed to induce a systemic inflammatory response therefor damaging the myogenic tone of resistance arteries in a rat model. The aims of this study were: 1) To compare the impact of storage solutions on saphenous vein grafts implanted in aortic position in a rat model. 2) To evaluate the impact of the flow generated by pumps on endothelial functionality of ITAs and the systemic inflammatory response. 1) IH and graft thrombosis occurred in more than 50% of cases when venous graft was stored in heparinized saline solution, autologous heparinized blood or GALA anti-oxydant solution, and implanted in arterial position. A parietal inflammatory response was observed in venous graft as well as distal abdominal aorta. 2) Vascular reactivity was conserved whatever the pump used. Systemic inflammatory response was observed while the intraparietal inflammatory was not modified in the graft. To conclude, 1) the use of GALA anti-oxydant solution did not decrease the risk of intimal hyperplasia when venous graft is exposed to arterial blood flow 2) exposure of internal thoracic artery to centrifugal and roller pumps did not affect endothelial functionality nor vascular reactivity.

keywords : Vein, Storage solutions, Intimal Hyperplasia, Artery, Vascular Reactivity, Pulsatility

Présidence de l'université
40 rue de rennes – BP 73532
49035 Angers cedex
Tél. 02 41 96 23 23 | Fax 02 41 96 23 00



ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné(e) FOUQUET Olivier.....
déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une
partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet,
constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.
En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées
pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiant(e) le **06/09/2019**

Docteur Olivier FOUQUET - PH
Pôle Cardio-Vasculaire
Service de Chirurgie Cardiaque - CHU
4, rue Lavoisier
49933 ANGERS CEDEX 9

**Cet engagement de non plagiat doit être signé et joint
à tous les rapports, dossiers, mémoires.**

Présidence de l'université
40 rue de rennes - BP 73532
49035 Angers cedex
Tél. 02 41 96 23 23 | Fax 02 41 96 23 00



3.1.2. Les artères à composante musculaire	49
3.1.3. Les artères intermédiaires	50
3.2. Régulation de la vasomotricité	50
3.2.1. Relaxation des cellules musculaires lisses	50
3.2.1.1. La voie du NO	51
3.2.1.2. Les prostacyclines	53
3.2.1.3. Les facteurs hyperpolarisants	55
3.2.2. Contraction des cellules musculaires lisses	56
3.3. Le tonus mygénique	58
3.4. Dilatation Flux Dépendant	59
4. Pulsatilité et Circulation extra-corporelle	60
4.1. Pulsatilité	60
4.2. Pulsatilité et réponse inflammatoire au cours de la CEC	64
4.2.1. SIRS et CEC	64
4.2.2. Pulsatilité, SIRS et impact clinique	66
4.3. Pulsatilité et microcirculation	67
4.3.1. Preuve de l'existence de la pulsatilité au niveau de la microcirculation	
4.3.2. Impact de la pulsatilité au niveau de la microcirculation et activation endothéliale	
4.3.2.1. Activation endothéliale	68
4.3.2.2. Pulsatilité et réactivité vasculaire	70
Objectif du travail de thèse	71
Résultats	74
Article 1	75
Article 2	100
Article 3	108
Discussion générale	136
Conclusion et perspectives	142
Références	145
Annexes	159

Liste des figures

Figure 1 : Contrôle angiographique de la procédure de Vineberg

Figure 2 : Taux de perméabilité des principaux greffons veineux et artériels

Figure 3 : Fonctionnement d'une veine

Figure 4 : Modalités de dysfonctions des greffons veineux

Figure 5 : Mécanismes de l'hyperplasie intimale

Figure 6 : Coupe histologique d'une veine ; aspect d'une hyperplasie intimale

Figure 7 : Réponse vasculaire à l'agression.

Figure 8 : Schéma du shear-stress au contact des cellules endothéliales

Figure 9 : Les signaux de transductions activés par le shear stress.

Figure 10 : Mécanotransducteurs impliqués dans la transmission du signal du shear stress au niveau d'une cellule endothéliale

Figure 11 : Différents mécanismes d'interaction entre le shear stress, les cellules musculaires lisses et interstitiels

Figure 12 : Les différentes forces hémodynamiques exercées sur la paroi vasculaire

Figure 13 : réponse des cellules endothéliales et musculaires lisses aux forces hémodynamiques

Figure 14 : Rappel de la chronologie des évènements dans l'apparition d'une hyperplasie intimale

Figure 15 : Illustration des différentes modifications de l'architecture de la paroi veineuse en fonction du type de solutions utilisées (HLS : solution salée ; AHB : sang autologue hépariné ; GALA)

Figure 16 : Microscopie électronique (x100 μm) au niveau de la paroi de la veine

Figure 17 : Facteurs vasorelaxants synthétisés par l'endothélium

Figure 18 : Mécanisme de la vasodilatation flux-dépendant médiée par le NO

Figure 19 : Effets multiples du NO endothélial

Figure 20 : Métabolisme de l'acide arachidonique

Figure 21 : Voies de signalisations intracellulaires de la concentration des CMLs

Figure 22 : Evolution de la pression dans la microcirculation

Figure 23 : Vitesse d'écoulement et microcirculation

Figure 24 : Relation entre vitesse d'écoulement et surface d'écoulement

Figure 25 : Schéma simplifié de l'activation du complément

Figure 26 : Activation de la voie de contact.

Figure 27 : Principaux facteurs produits par une cellule endothéliale

Figure 28 : Evolution des marqueurs endothéliaux au cours d'une chirurgie de pontages coronaires à cœur battant (OPCABG), CEC pulsatile (Pulsatile-CPB) et CEC non pulsatile (Linear-CPB).

Figure 29 : Déroulement du travail de thèse

Introduction générale

Depuis la seconde guerre mondiale, les maladies cardiovasculaires constituent la première cause de mortalité dans le monde. Selon les données de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) publiées en 2012, 7,4 millions de personnes sont décédées d'une cardiopathie ischémique ; 6,7 millions d'un accident vasculaire cérébral ischémique. En France, selon le dernier rapport 2014 de l'INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques), les maladies de l'appareil circulatoire constituent 25% des causes totales de mortalité venant juste après les causes tumorales. En 2013, 33400 personnes sont décédées d'une cardiopathie ischémique dont 14000 femmes. L'amélioration de la prévention primaire et de la prise en charge des syndromes coronariens a, cependant, permis une diminution de 22.5% de la mortalité sur les dix dernières années.

Le programme MONICA (Multinational monitoring of trends and determinants of Cardiovascular diseases) de surveillance des cardiopathies ischémiques, mis en place au milieu des années quatre-vingt sous l'égide de l'OMS (*MONICA-Monograph and multimedia sourcebook – World's largest study of Heart disease, stroke, risk factors, and population trends 1979-2002. WHO, Geneva, 2003*), a démontré, en 10 ans, une baisse significative de la mortalité coronaire dans le monde d'environ 2% par an.

Malgré le développement des techniques d'angioplastie coronaire, les pontages coronaires gardent une place prépondérante dans la prise en charge de la maladie coronaire. En 2014, la Société Française de Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire édite son rapport d'activité issu de la base de données élémentaires. Entre le 01/01/2012 et le 31/12/2012, 14884 patients ont été opérés de pontages coronaires avec un taux de mortalité de 1,97% quel que soit le degré d'urgence.

L'utilisation d'artères de petits calibres telles que les artères thoraciques internes (ATI) et de veines saphènes internes constitue les greffons vasculaires les plus usuels dans cette activité chirurgicale. La perméabilité du greffon vasculaire à long terme dépend de facteurs multiples.

Les greffons saphènes restent largement utilisés avec un risque d'occlusion, survenant la première année, estimé entre 15% et 26% selon les auteurs (1). L'hyperplasie myo-intimale à l'origine des sténoses et occlusion des greffons saphènes (ou « maladie du greffon »), est la résultante de l'accumulation des cellules musculaires lisses et de matrice extracellulaire dans l'intima de la veine. Cette hyperplasie intimale est à l'origine des récurrences d'ischémie myocardique (2). L'altération du fonctionnement endothélial résulte de l'activation plaquettaire ; elle joue également un rôle important dans le risque d'occlusion tardive. Plusieurs paramètres ont été retrouvés pour expliquer l'altération de la structure et de la fonction des greffons veineux :

- La qualité du greffon (varices, dilatation)
- Les modalités de prélèvements, à ciel ouvert ou endoscopique, cette dernière méthode ayant débouché sur des résultats médiocres de perméabilité à 1 an (3, 4)
- La durée entre le prélèvement et la reperfusion, correspondant à la durée d'ischémie tissulaire qui peut parfois varier entre 1 à 2 heures (2), et la production de lésions radicalaires in situ (5)
- La composition et la température du liquide de conservation du greffon saphène (2).
- La technique de suture distale des anastomoses coronaires, les anastomoses veineuses séquentielles donnant de moins bons résultats à 1 an de suivi, que les anastomoses termino-latérales simples (6)
- Enfin, le positionnement de l'autogreffe veineuse en position artérielle soumettant l'endothélium à des niveaux de pression pouvant endommager les pontages (5).

Les greffons artériels de leur côté ne sont pas soumis à des variations importantes de pression lors de leur mise en charge en fin de procédure chirurgicale. Les ATI prélevées in situ ne sont pas soumises à une séquence d'ischémie-reperfusion comme peuvent l'être les greffons saphènes.

En 2012, 85,9% des procédures de revascularisation coronaire ont été réalisées sous circulation extra-corporelle (CEC) selon les données Epicard. Les pompes de perfusion artérielle en CEC sont :

- Occlusives : encore largement utilisées, elles sont constituées de 2 galets qui tournent autour d'un tuyau en PVC provoquant un flux par compression du sang
- Non-occlusives : par étirement ou centrifuge, entraînent moins d'hémolyse et sont issues de l'assistance mécanique.

Les pompes à galets produisent un flux pulsé (7) et peuvent être réglées pour renforcer ou non le débit pulsé. La pulsatilité d'un flux dépend plus du gradient d'énergie que du gradient de pression (8). Durant l'opération, l'utilisation d'une pompe centrifuge générant un flux non pulsé est associée à une augmentation de la réponse inflammatoire (activation du complément et des neutrophiles) et ce pour des raisons encore mal élucidées (9). Une récente étude a montré, sur un modèle in vitro, que la perte de pulsatilité dans une artère mésentérique de rat (artère de résistance), indépendamment du flux ou de la pression, génère après 30 minutes une réponse inflammatoire pariétale liée à un stress oxydatif pouvant être supprimé par l'utilisation d'anti-oxydant (tempol) (10). Lors d'une CEC pour pontage, la phase opératoire pendant laquelle la pulsatilité générée par le cœur est abolie correspond à celle du clampage aortique lorsque l'activité cardiaque native a cessé du fait de la cardioplégie. La pulsatilité résiduelle dans le système vasculaire au cours du clampage aortique est donc sous la seule dépendance de la pompe artérielle utilisée. Watarida et al. ont montré chez des patients opérés de pontages aorto-coronariens que l'élévation des concentrations circulantes d'endotoxine circulante était corrélée à la durée de clampage en présence d'une CEC non pulsatile (11).

Préambule :

Les greffons artériels et veineux font partis de notre quotidien de chirurgien.

Une veine qui trempe pendant plusieurs minutes dans un liquide sur le coin de la table, connaît-elle déjà un processus de détérioration ? La façon de prélever une artère thoracique interne peut-elle influencer les résultats postopératoires de mes patients ? Lorsque l'arbre vasculaire est dépourvu de tout phénomène pulsatile pendant la phase de clampage aortique, cela a-t-il une incidence sur les greffons artériels implantés chez mes patients ?

Toutes ces questions posées constituent à la genèse de ce travail et peuvent être regroupées sous la question suivante : « peut-on encore améliorer nos pratiques ? »

« L'esprit cherche et c'est le cœur qui trouve ».

George Sand

Rappels historiques et bibliographiques

1. LES PONTAGES CORONAIRES

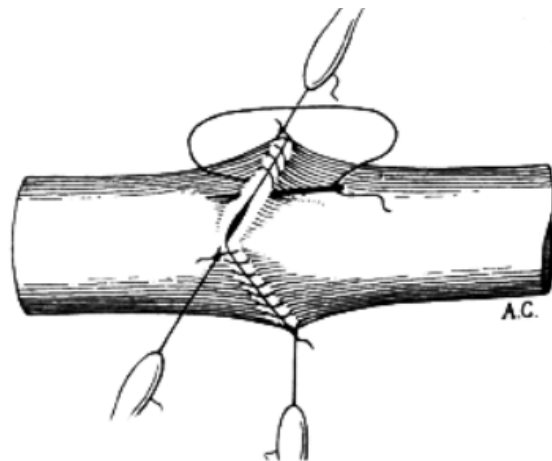
1.1. Historique

La chirurgie cardiaque moderne est née il y a un peu plus de 50 ans. Pourtant les atteintes valvulaires et les cardiopathies congénitales étaient déjà connues dès le début du XXème siècle.

En 1810, Dominique-Jean Larrey, médecin et chirurgien militaire de la *Grande Armée de Napoléon I^{er}*, réalisa sur un champ de bataille le premier drainage péricardique. Ce premier acte sur le cœur s'inscrit pourtant dans un contexte où théologiens et philosophes considèrent le cœur non pas comme un organe mais plutôt comme l'écrivait Pascal, une « *intuition supérieure qui, par opposition à la raison, permet de « sentir » les plus hautes vérités, notamment la présence de Dieu* ». De son côté, *Théodore Billroth*, médecin en 1880, affirma « *qu'un chirurgien qui cherche à suturer les plaies du cœur mérite de perdre la considération de ses confrères* ». De la même façon, *James Paget*, publia en 1897 dans *Surgery of the Chest*, cette phrase : « *la chirurgie du cœur représente la limite offerte par la nature à toutes les chirurgies. Aucune nouvelle méthode ni aucune découverte ne pourra dépasser les difficultés naturelles concernant le cœur* ». Cette publication fait suite à la première suture d'une plaie du ventricule droit réalisée par Ludwig Rehn en 1896 à Francfort.

Ces hommes visionnaires, souvent critiqués et attaqués, ont malgré tout permis de considérer le cœur comme un organe. Le développement des techniques de circulation extra-corporelle (CEC), la chirurgie des valvulopathies et des cardiopathies congénitales a conduit aujourd'hui à considérer la chirurgie cardiaque comme une chirurgie sûre et « *protocolaire* ».

Dans le domaine de la maladie coronaire, Alexis Carrel réalisa, en 1910, les premières anastomoses vasculaires entre l'aorte thoracique descendante et la coronaire gauche, grâce à un segment d'artère carotide sur un chien.



Alexis Carrel (1873-1944)

Vladimir Demikhov, a réalisé en 1952 en Russie une anastomose d'une artère thoracique interne sur la coronaire gauche d'un chien (12, 13)

En clinique humaine, différentes méthodes chirurgicales ont été proposées pour réduire les douleurs angineuses ; certaines d'entre-elles, visant à obtenir la dénervation du cœur en injectant de l'alcool ou des substances nocives dans le tissu nerveux de la région paravertébrale voire en réalisant la résection de ganglions sympathiques (*Mayo et Handley en 1913, Ionescu en 1916* (14)).

Cutler, en 1932, a proposé la réalisation de thyroïdectomie totale ou subtotale, afin de réduire le métabolisme cardiaque. Certains proposèrent l'application de différents tissus, mis en contact avec le myocarde, afin de créer une néovascularisation. On retiendra l'utilisation du muscle grand pectoral, de l'épiploon (Beck) (15), l'estomac, le jéjunum (O'Shaughnessy) (16) ou encore le poumon (Lezius). D'autres, réalisèrent des ligatures du sinus coronaire afin de créer une congestion veineuse et, ainsi, de modifier la microcirculation myocardique (Mercier Fauteux, chirurgien canadien (17)) ou encore, des ligatures d'artères thoraciques internes afin d'augmenter la pression de la perfusion de la circulation collatérale non coronarienne (Fieschi (18)).

Après la seconde guerre mondiale, la première greffe d'une artère thoracique interne (ATI) permettant une revascularisation myocardique, fut réalisée par Vineberg qui enfouissait l'artère dans l'épaisseur du myocarde. Même si on est loin des performances des greffons tels que nous les utilisons de nos jours, des cas de perméabilité des ATIs ont été rapportés en doppler à 25 ans, des angiographies ayant montré le développement d'une microcirculation importante à 10 ans (Figure 1). William Longuemire en 1958, réalisa la première endartériectomie d'une interventriculaire antérieure aidée largement par les premières angiographies coronaires effectuées par Mason Stones. C'est finalement Robert H. Goetz, chirurgien allemand, qui effectua la première implantation d'une ATI sur un Être humain. N'étant pas pro-nazi en 1935, le gouvernement allemand en place refusa de lui délivrer son diplôme de médecine. Il décida de se réfugier alors aux Etats-Unis après un périple Européen. C'est ainsi qu'à New-York, Goetz réalisa l'anastomose d'une ATI droite sur l'artère coronaire droite chez un patient qui survécut pendant 1 an. En URSS, à Leningrad, Vladimir Kolessov procéda au deuxième pontage coronaire utilisant une ATI sur une interventriculaire antérieure. Il publia en 1976, une série de 108 patients opérés. Favaleo, de son côté, réalisa le premier pontage veineux à l'aide d'une veine saphène interne. Quant à Flemma Jonhsen-

Lepley, il effectua le premier pontage séquentiel. Parallèlement, Andréas Gruentzig présenta en novembre 1977, à l'American Heart Association (AHA), les résultats des quatre premières angioplasties coronaires. La chirurgie cardiaque coronaire telle que nous la pratiquons de nos jours, était née.

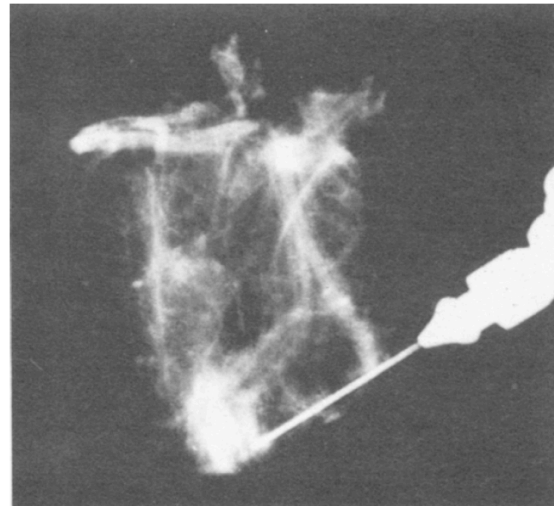


Fig 1. The radiograph included in several of Dr Vineberg's early reports showing filling of multiple coronary arteries 4 months after injection of solution into the implanted left internal mammary artery. (Reprinted from *Can Med Assoc J* 1946;55:117-9, by permission of the publisher.)

THE VALUE OF SURGICAL TREATMENT OF CORONARY ARTERY OCCLUSION BY IMPLANTATION OF THE INTERNAL MAMMARY ARTERY INTO THE VENTRICULAR MYOCARDIUM

An Experimental Study

ARTHUR M. VINEBERG, M.D., and PAUL H. NILOFF, M.D., Montreal, Quebec

Fig 2. Title page from the article in *Surgery, Gynecology and Obstetrics* in 1950 [5]. (By permission of *Surgery, Gynecology & Obstetrics*.)

Figure 1 : contrôle angiographique de la procédure de Vineberg

1.2. Indications et recommandations de la chirurgie coronaire

Les recommandations actuelles de la chirurgie coronaire appliquées en France sont issues des recommandations européennes ESC/ACTS (European society of Cardiology/European Association for Cardio-Thoracic Surgery) de 2018 (19).

Les indications de revascularisation par chirurgie ou angioplastie, dans le cadre d'une maladie coronaire stable prennent en compte : le nombre d'artères atteintes, l'atteinte du tronc commun coronaire gauche et le score SYNTAX et doivent être intégrées au cours d'une discussion de la Heart Team.

Recommendation for the type of revascularization in patients with stable coronary artery disease with suitable coronary anatomy for both procedures and low predicted surgical mortality^d

Recommendations according to extent of CAD	CABG		PCI	
	Class ^a	Level ^b	Class ^a	Level ^b
One-vessel CAD				
Without proximal LAD stenosis.	IIb	C	I	C
With proximal LAD stenosis. ^{68,101,139-144}	I	A	I	A
Two-vessel CAD				
Without proximal LAD stenosis.	IIb	C	I	C
With proximal LAD stenosis. ^{68,70,73}	I	B	I	C
Left main CAD				
Left main disease with low SYNTAX score (0 - 22). ^{69,121,122,124,145-148}	I	A	I	A
Left main disease with intermediate SYNTAX score (23 - 32). ^{69,121,122,124,145-148}	I	A	IIa	A
Left main disease with high SYNTAX score (≥ 33). ^{c 69,121,122,124,146-148}	I	A	III	B
Three-vessel CAD without diabetes mellitus				
Three-vessel disease with low SYNTAX score (0 - 22). ^{102,105,121,123,124,135,149}	I	A	I	A
Three-vessel disease with intermediate or high SYNTAX score (>22). ^{c 102,105,121,123,124,135,149}	I	A	III	A
Three-vessel CAD with diabetes mellitus				
Three-vessel disease with low SYNTAX score 0-22. ^{102,105,121,123,124,135,150-157}	I	A	IIb	A
Three-vessel disease with intermediate or high SYNTAX score (>22). ^{c 102,105,121,123,124,135,150-157}	I	A	III	A

SYNTAX score calculation information is available at <http://www.syntaxscore.com>.

CABG = coronary artery bypass grafting; CAD = coronary artery disease; LAD = left anterior descending coronary artery; PCI = percutaneous coronary intervention; SYNTAX = Synergy between Percutaneous Coronary Intervention with TAXUS and Cardiac Surgery.

^aClass of recommendation.

^bLevel of evidence.

^cPCI should be considered if the Heart Team is concerned about the surgical risk or if the patient refuses CABG after adequate counselling by the Heart Team.

^dFor example, absence of previous cardiac surgery, severe morbidities, frailty, or immobility precluding CABG (also see Table 5).

© ESC 2018

Dans le cadre de syndrome coronarien aigu sans ou avec sus-décalage du segment ST (NSTEMI/STEMI) le choix de la technique de revascularisation dépend des possibilités techniques de l'angioplastie et du degré d'urgence après appréciation de la Heart team.

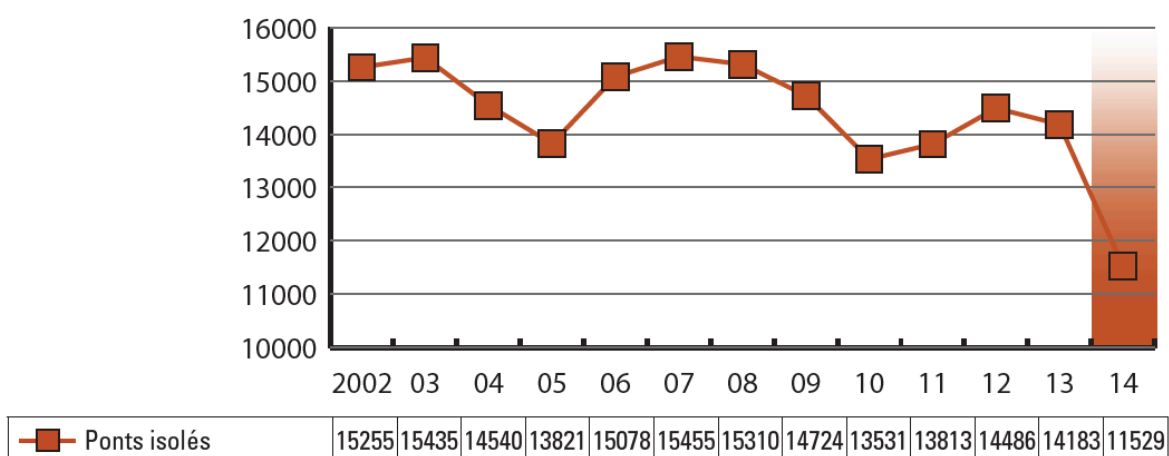
1.3. Résultats de la chirurgie coronaire en France

Les résultats concernant l'activité, la mortalité et le nombre d'artères revascularisées par patient en France sont issus de la base de données élémentaires de la Société Française de Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire (SFCTCV) éditée en 2016 sur les chiffres d'activité de l'année civile 2014.

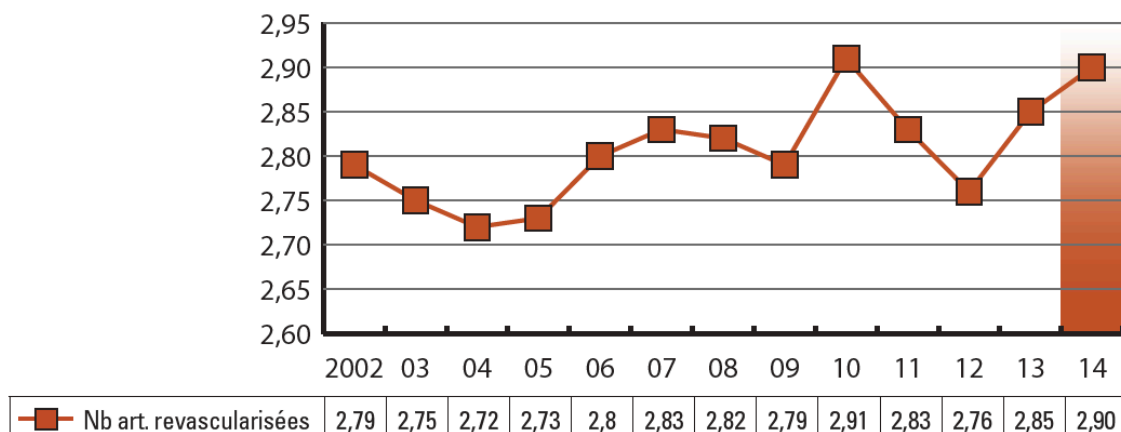
Du 01/01/2014 au 31/12/2014, 11529 patients ont été opérés de pontage coronaire isolé (données issues des centres ayant participé au registre EPICARD) dont 10350 sous circulation extra-corporelle (CEC) et 1179 sans CEC. La mortalité 0-30 jours était de 1,42% quel que soit le degré d'urgence. Le nombre d'artères revascularisées par patient était de 2,9.

Les différents diagrammes présentés ci-dessous montrent l'évolution de cette chirurgie au cours de la dernière décennie.

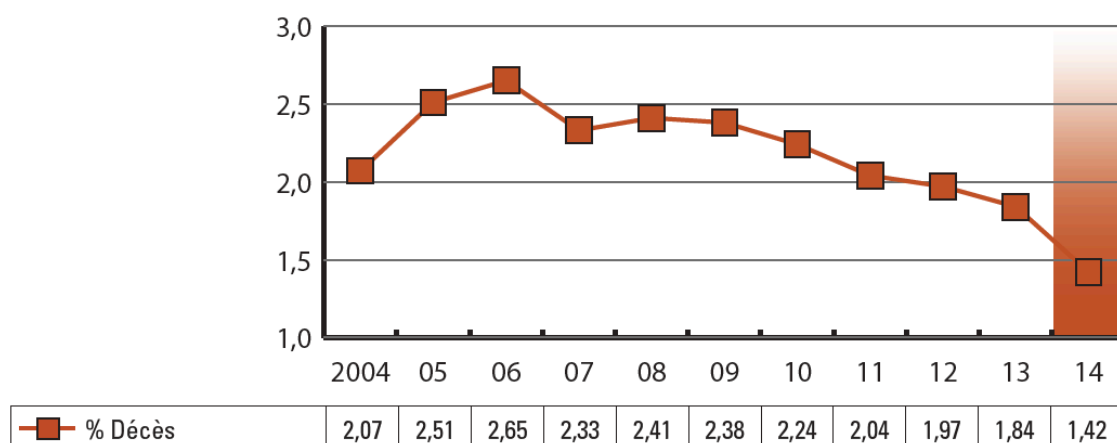
Nombre de pontages isolés/année



Nombre d'artères revascularisées



Pontages isolés : décès (%)



1.4. Les greffons vasculaires en chirurgie coronaire

Usuellement 3 artères et une veine peuvent être utilisées comme greffon vasculaire en chirurgie coronaire : les artères thoraciques internes (ATIs), ou artères mammaires internes ; les artères radiales ; l'artère gastro-épiploïque et la veine saphène interne. Seuls les ATIs et les veines saphènes internes seront étudiées, car elles sont les plus fréquemment utilisées. La figure 2 rapporte le taux de perméabilité des greffons vasculaires en chirurgie coronaire issu des dernières recommandations ESC 2018.

Table 9 Graft patency after CABG

Graft	Patency at 1 year	Patency at 4-5 years	Patency at ≥10 years	References
Saphenous vein graft	75-95%	65-85%	32-71%	473-477
Radial artery	92-96%	90%	63-83%	473,474,478-480
Left IMA	>95%	90-95%	88-95%	475,480
Right IMA	>95%	>90%	65-90%	475

CABG = coronary artery bypass grafting; IMA = internal mammary artery.

Figure 2 : taux de perméabilité des principaux greffons veineux et artériels

En 2011, la base de données élémentaires de la SFCTCV rapporte que 58,7% des procédures ont été associées à l'utilisation des 2 ATIs (tendance en augmentation), 35,4% avec une seule ATI et 5,8% de greffons saphènes uniquement. L'utilisation des 2 greffons ATIs concerne moins de 4% des patients revascularisés aux Etats-Unis, cette tendance s'expliquant par un risque augmenté d'infection du site opératoire en cas de prélèvement de deux ATIs et du risque de procès qui en découle (24).

2. LES GREFFONS VEINEUX

La fonction d'une veine est d'assurer le retour du sang veineux vers le cœur. La progression du sang dans la colonne veineuse est assurée par le mouvement des masses musculaires qui chassent le sang, les valvules issues de l'intima permettant de diriger le flux (Figure 3). La pression négative intra-thoracique complète le retour du sang veineux dans le cœur lors des mouvements inspiratoires.

Sur le plan architectural, la veine a les mêmes caractéristiques qu'une artère mais avec cependant une plus grande compliance, qui permet de déformer largement leur volume.

L'intima est composé d'un endothélium, doublé d'une basale et d'un tissu conjonctif sous-endothélial qui va s'épaissir en même temps que le calibre de la veine. La média est composée en proportion variable de fibres musculaires lisses, fibres de collagène et élastique. La limitante élastique interne est discontinue, la limitante élastique externe n'étant pas visible. L'adventice des plus grosses veines peut parfois contenir quelques fibres musculaires lisses longitudinales et des vasa vasorum.

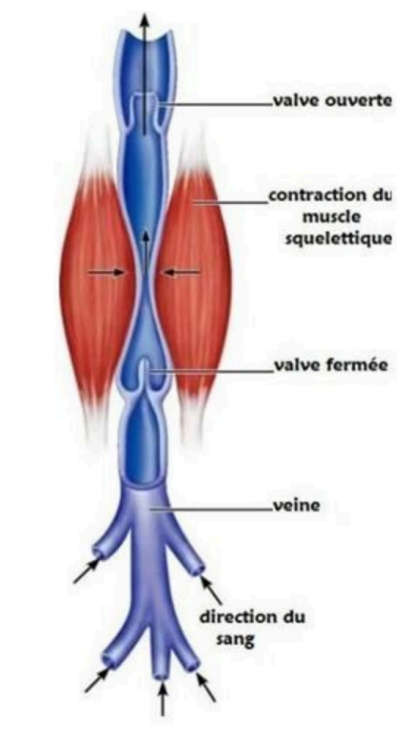


Figure 3. Fonctionnement d'une veine

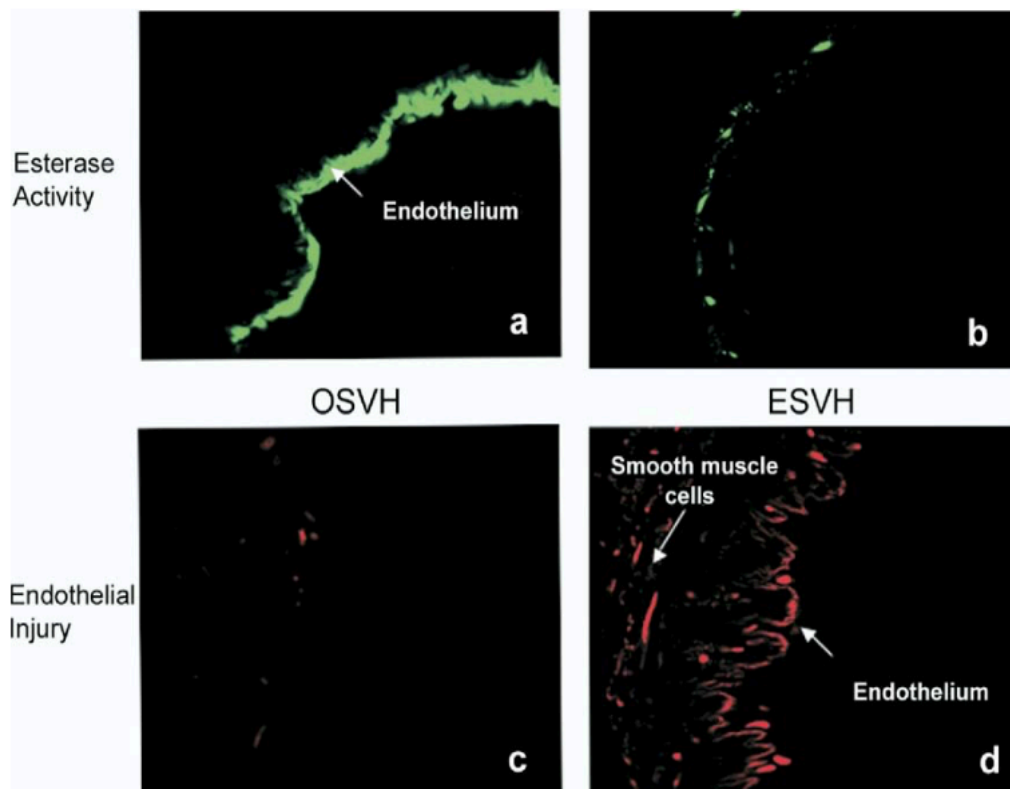
Par conséquent, et de façon chronique, la veine est soumise à un niveau de shear stress relativement bas alors qu'une fois implantée en position artérielle, elle est soumise à un haut niveau de shear stress haut entraînant une réaction inflammatoire au niveau endothélial.

Greffon largement utilisé, la veine saphène interne expose alors à un risque d'occlusion important et à un risque de résurgence d'ischémie myocardique.

2.1. Modalités de dysfonction des greffons saphène

Ces dysfonctions de greffons veineux ou « maladie du greffon » peuvent être expliquées par plusieurs paramètres :

- La qualité structurelle de la veine (varices, dilatation)
- Les modalités de prélèvement, à ciel ouvert ou techniques endoscopiques (4). L'étude de Rousou L et al. a montré que l'injection de CO₂ sous pression afin d'exposer la veine, entraînait une altération de la mobilisation du calcium en réponse à la bradykinine et de la production de NO (immunofluorescence, Western Blot)



OSVH : Open Saphenous Vein Harvest *ESVH : Endoscopic Saphenous Vein Harvest*

L'immunofluorescence a montré une altération de la viabilité endothéliale et de la membrane dans les régions endothéliales et des cellules musculaires lisses (26).

Plus récemment, Ninos Samano et al. ont montré des résultats de perméabilité à 16 ans, lorsque la veine était prélevée avec son pédicule adipeux et ses vasa vasorum ("The no-touch

saphenous vein”) (27).

- La durée entre le prélèvement et la reperfusion correspondant à la durée d’ischémie tissulaire qui peut parfois varier entre 1 et 2 heures (2), la production de radicaux libres in situ associée à une reperfusion entraînant des dommages endothéliaux et des cellules musculaires lisses (22).

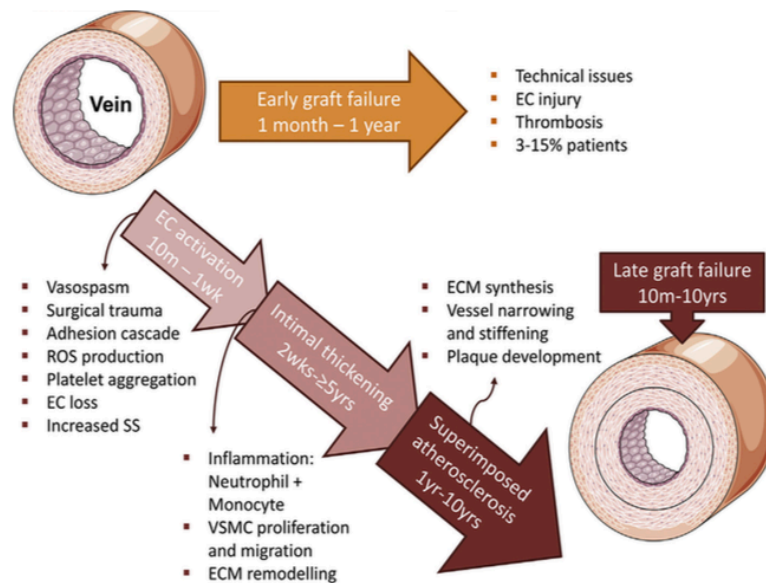
- Les techniques d’anastomose distale des greffons saphènes, les anastomoses séquentielles entraînant de nombreux greffons occlus à 1 an. L’étude randomisée PREVENT IV (Project of Ex-Vivo Vein Graft Engineering via Transfection) a permis de comparer la perméabilité des greffons en fonction du nombre d’anastomose distale ; les pontages séquentiels veineux montrant plus de dysfonction lorsque le contrôle angiographique était réalisé et plus d’évènements cardiaques majeurs à 5 ans. (6).

- L’implantation d’une veine soumise initialement à un système à basse pression en position artérielle, cette « artérialisation » entraîne dès la mise en charge de la veine une dénudation endothéliale au 1^{er} jour avec l’accumulation d’agrégats plaquettaires en surface, ainsi qu’une apoptose et nécrose des cellules musculaires lisses dans la média. Il est également observé une prolifération de monocytes, prolifération cellulaire intense au 7^{ème} jour. Ces éléments constituent la genèse de l’hyperplasie myointimale. (23)

- Les solutés de conservation des greffons veineux : lorsque la veine a été prélevée celle-ci est ensuite conservée dans une solution de conservation à température ambiante (18-20°C) pendant une durée pouvant varier de 30 min à 2 heures. Les solutés de conservation les plus usuels sont : le sérum hépariné, le sang autologue hépariné ou des solutions anti-oxydantes.

2.2. L’hyperplasie intinale (IH)

Greffon largement utilisé, la veine est soumise au développement d'une inflammation vasculaire, d'une hyperplasie myointimale et d'une athérosclérose accélérée compromettant sa perméabilité. D'un point de vue clinique, les dysfonctions de greffons peuvent se séparer en 2 catégories : les détériorations précoces survenant au cours de la 1^{ère} année post-implantation et concernent 3 à 15% des greffons et les détériorations tardives, les plus fréquentes, survenant dans 50 à 60% des greffons au cours des 10 premières années.



EC: endothelial cells; ROS: reactive oxygen species; ECM: extracellular matrix; VSMC: vascular smooth muscle cell; SS: shear stress; 10m: 10 minutes; 2 wks: 2 weeks; 1 yr: 1 year

(D'après Alexander O Ward (Atherosclerosis 2017)) (24).

Les détériorations précoces sont essentiellement liées à des problèmes techniques survenues au cours de la chirurgie endommageant l'endothélium vasculaire.

2.2.1. Définition

L'IH survient lors de traumatisme de la paroi du vaisseau. Elle se caractérise par la migration des CMLs de la média vers l'intima. L'augmentation et l'activation des MMPs (Matrix-degrading metalloproteinases) facilitent la migration cellulaire et le remodelage de la matrice extra-cellulaire (MEC). Une fois dans l'intima, les CMLs prolifèrent, le tout s'accompagnant d'une augmentation de dépôt de la MEC (collagène, protéoglycanes mais pas d'élastine). (Figure 5)

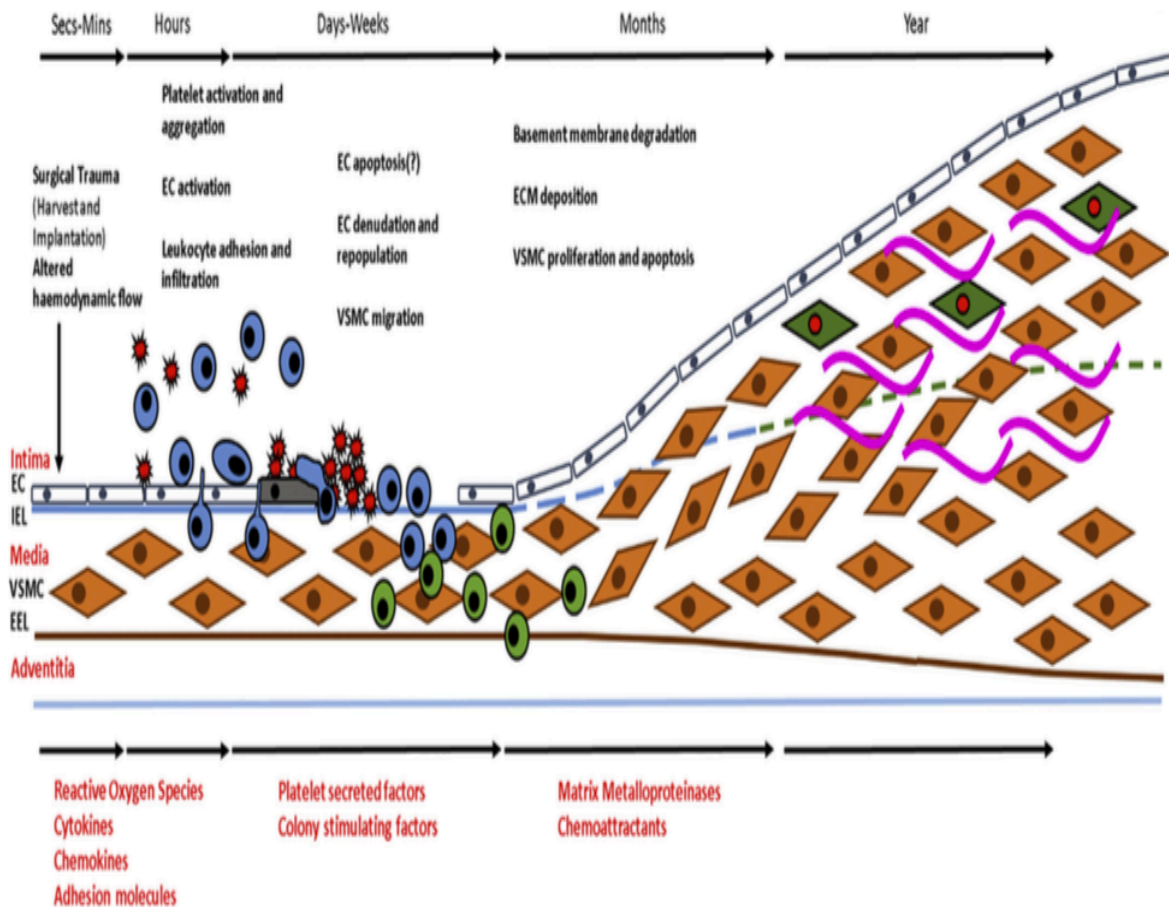


Figure 5 : Mécanismes de l'hyperplasie intimale

D'après Alexander O Ward et al. (Atherosclerosis 2017) (24)

2.2.2. La cinétique de l'hyperplasie myointimale

L'hyperplasie myointimale ou hyperplasie intimale (IH) est considérée comme une réponse à l'agression de la paroi interne du vaisseau. Sa formation peut être décomposée en 3 phases : suraigüe, aiguë ou chronique (Tableau 1). D'un point de vue histologique, l'IH est définie comme une migration et une prolifération anormale des cellules musculaires lisses (CMLs) associées à un remaniement de matrice extra-cellulaire (MEC) (Figure 6). Les CMLs s'amassent entre l'endothélium et la limitante élastique interne. Cette modification de l'architecture vasculaire est une forme de remodelage vasculaire.

	Vessel lumen	Vessel Wall
Stage I : Hyperacute (minutes to hours)	Endothelial cell denudation Platelet aggregation Release of growth promoters	SMC injury Activation of SMCs Proto-oncogene expression
Stage II : Acute (hours to weeks)	Organization of thrombosis Endothelial cell ingrowth Release of growth inhibitors Progenitor cell deposition	Medial SMC replication Medial SMC migration Infiltration of leukocytes Infiltration of adventitial cells Infiltration of progenitor cells Synthesis of growth promoters Synthesis of growth inhibitors
Stage III : Chronic (weeks to months)	Re-endothelization Change in luminal dimensions	Intimal SMC replication Intimal SMC synthesis of ECM Remodeling of ECM Synthesis of growth inhibitors Vessel remodeling

Tableau 1 : Les trois phases de l'hyperplasie intimale (d'après Cronenwett et al. 2010 ; Rutherford's Vascular Surgery)

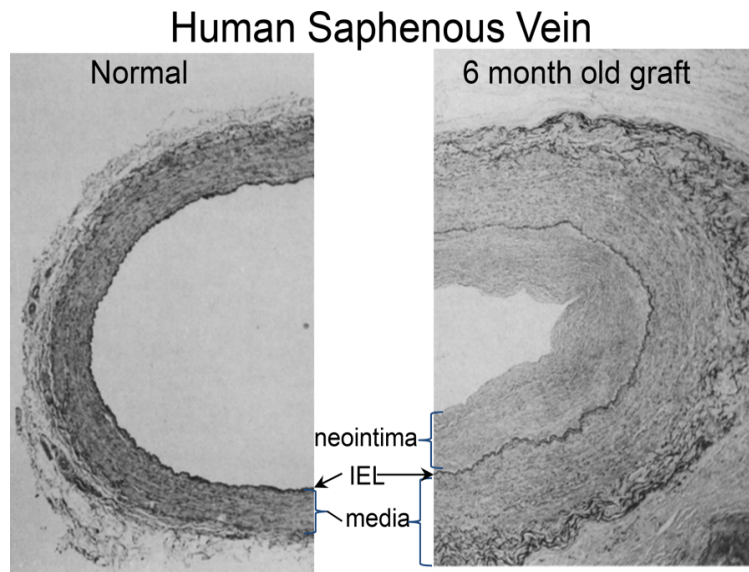


Figure 6 : Coupe histologique d'une veine ; aspect d'une hyperplasie intimale : néointima liée à l'accumulation de cellules musculaires lisses, entraînant une augmentation de l'épaisseur de la paroi et une diminution de la lumière du vaisseau

2.2.3. Rôle de l'endothélium dans l'hyperplasie intimale (Figure 7)

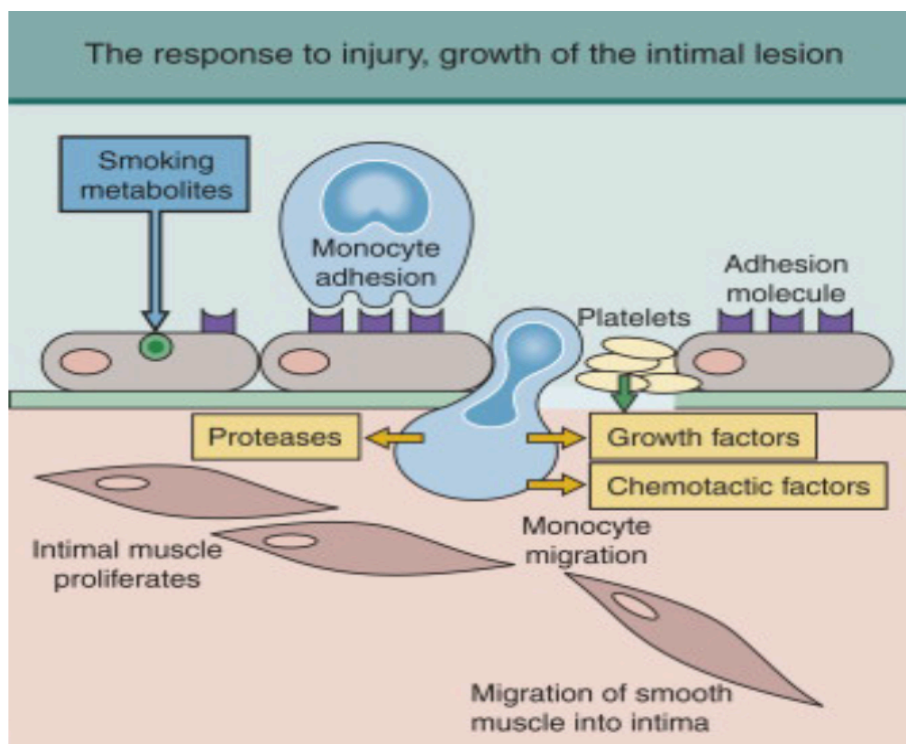


Figure 7. Réponse vasculaire à l'agression. Comprehensive vascular endovascular surgery (Hallet 2009)

Les cellules endothéliales jouent un rôle primordial dans la régulation de l'homéostasie vasculaire, de la protection du vaisseau contre l'inflammation et les phénomènes pro-coagulant. Le NO (nitric oxyde) et les prostaglandines (PGI₂) sont fondamentaux dans le maintien du tonus vasculaire, ainsi que la régulation de la viabilité de l'endothélium et de la prolifération des CMLs. La dérégulation de la balance du NO a de profonds effets sur la paroi du vaisseau particulièrement dans le contexte des dysfonctions des greffons saphènes. Cette dérégulation entraîne une augmentation de la production de ROS (Reactive Oxygen Species) et en particulier de superoxyde (O₂⁻) principalement grâce à eNOS couplée aux actions combinées de NADPH oxydase (NOX) et des enzymes arginases. L'augmentation du superoxyde O₂⁻ est relativement fréquente dans certaines pathologies vasculaires. Elle intervient directement dans la prolifération des CMLs, qui dans un contexte de dysfonction endothéliale constitue un facteur favorisant d'athérosclérose. L'augmentation de O₂⁻ est liée au piégeage de NO sous sa forme peroxynitrite ONOO⁻ et directement régulée par la prolifération des CMLs laquelle débute un environnement propice au développement d'un processus d'athérosclérose (25). Par ailleurs, deux facteurs de transcriptions, KLF2 (lung Kruppel-like factor 2) et Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor), ciblant certains gènes impliqués dans les réponses anti-oxydantes et de défense cellulaire (en particuliers eNOS et HO-1 (heme-oxygenase-1)) jouent un rôle primordial dans le maintien de la balance d'oxydo-réduction. (34)

Une fois activées, les cellules endothéliales initient un processus complexe d'adhésion de molécules, cytokines et un recrutement de cellules inflammatoires. L'activation endothéliale, débutant dès le prélèvement du greffon veineux, liée aux phénomènes de vasospasme, de

traumatisme chirurgical et d'ischémie tissulaire, puis dès que la veine est soudainement soumise au flux artériel. L'activation endothéliale résulte d'une cascade d'adhésion caractérisée par la rapide expression de chémokines MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein 1), l'expression de molécules d'adhésion incluant la famille des sélectines (E-selectin et P-selectin), des molécules d'adhésion cellulaire : ICAM1 (intracellular adhesion molecule 1), PECAM1 (platelet endothelial cell adhesion molecule 1) et VCAM1 (vascular cell adhesion molecule 1) (27, 28).

L'activation initiale de l'endothélium entraîne un recrutement rapide de leucocytes favorisé par les modifications de l'homéostasie du calcium Ca^{2+} et l'activation de RHO (Ras homologue) qui lié aux ligands des récepteurs de la protéine G (GPCRs) entraîne une destruction des lésions serrées entre les cellules endothéliales et les GTPases, alors que l'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire facilite le mouvement de la P-selectin vers la lumière du vaisseau. Ces actions rapides des GPCRs et du calcium facilitent la migration trans-endothéliale des leucocytes. Cette réaction inflammatoire aigüe (réaction de type I) survient environ 10 minutes après le stimulus.

L'activation inflammatoire prolongée des cellules endothéliales nécessite l'action prolongée d'un stress physiologique ou de cytokines telles que MAPKs (Mitogen activated protein kinases) et de facteurs de transcription pro-inflammatoires : NF- κ B (Nuclear factor kappa B) et AP-1 (Activating protein 1), intervenant dans l'expression de certains gènes impliqués dans la réaction inflammatoire, de cytokines, chémokines et de métalloprotéases. Cette réaction inflammatoire survient entre 10 minutes et 24 heures après le traumatisme endothélial.

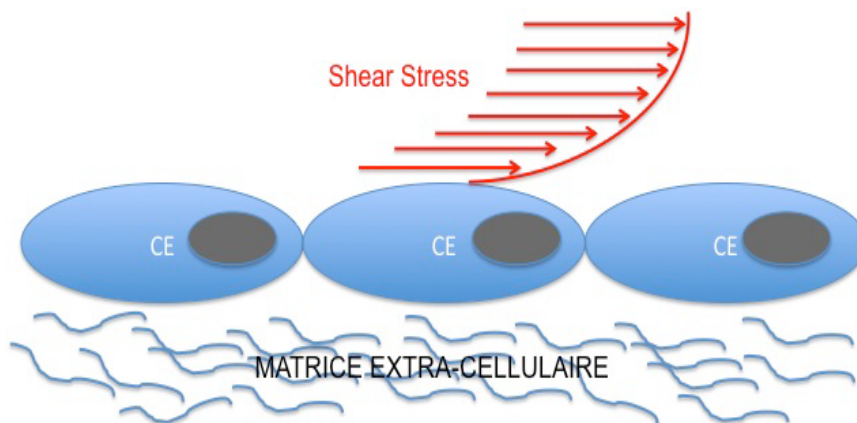
2.3. Les forces hémodynamiques exercées sur la paroi veineuse

L'utilisation d'une veine comme greffon, en vue d'une revascularisation artérielle, impose au vaisseau de changer les modalités des forces hémodynamiques exercées sur sa paroi, telles que le shear stress et le cyclic strain, intégrant débit et pression et agissant comme régulateurs de ces fonctions vasculaires.

2.3.1. Le Shear Stress

2.3.1.1. Définition

Le shear stress (ou contrainte de cisaillement - en Français littéral) est une force de friction résultant de la mise en mouvement du sang, dont le vecteur s'applique tangentiellement sur la paroi (Figure 8).



CE : cellules endothéliales

Figure 8 : Schéma du shear-stress au contact des cellules endothéliales

Sa modélisation mathématique est la suivante : **$\tau = 4\mu Q / \pi r^3$**

τ : shear stress en dyn/cm²

μ : viscosité du fluide en dyn.s/cm²

Q : débit du fluide en ml/s

R : rayon du vaisseau en cm

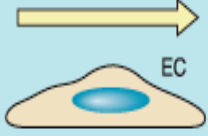

L'intensité du shear stress varie en fonction du cycle cardiaque. Ainsi, dans les artères l'amplitude du shear stress se situe à environ 20 dynes/cm² alors que dans les veines, celui-ci varie entre 1,5 et 6 dynes/cm² (29). Au niveau des bifurcations artérielles ou crosses, la trajectoire du flux sanguin n'est pas rectiligne, le flux laminaire est interrompu au profit de zones de turbulences et de recirculations, elles-mêmes soumises aux variations du cycle cardiaque (30).

2.3.1.2. Shear stress et cellules endothéliales (CE)

La réactivité des cellules endothéliales au shear stress joue un rôle majeur dans les mécanismes impliquant des variations du débit sanguin tels que l'angiogénèse, le remodelage vasculaire et l'athérosclérose (31-33).

En fonction du type de flux, l'impact sur les cellules endothéliales est différent : ainsi, un flux laminaire aura tendance à stabiliser en phase G₀ et G₁ les CE, alors qu'un flux turbulent augmentera le turn-over cellulaire et une diminution du flux provoquera une apoptose cellulaire. Le tableau suivant, résume l'effet du shear stress sur la biologie des CE en fonction du mode d'écoulement du fluide (Tableau 2).

Tableau 2 : Biologie des cellules endothéliales en fonction du mode d'écoulement des fluides – impact du shear stress (34)

	Laminar flow / high shear stress	Disturbed flow / low or reciprocating shear stress
	 EC	
Vasoactivity	Vasodilation	Vasoconstriction
Turnover rate	Low	High
Macromolecular permeability & LDL uptake	Low	High
DNA synthesis	Low	High
Morphology	Elongated & aligned	Polygonal
Expression of adhesion molecules, inflammatory & chemokine genes	Low	High
Expression of antioxidant genes	High	Low
WBC adhesion and platelet aggregation	Inhibition	Promotion
Oxidative stress/ROS	Low	High (Sustained)
VSMC activation	Low	High
Wound repair: Endothelization	Promotion	Retardation
Heterogeneity	Low	High
Fibronectin/fibrinogen deposition	Low	High
Atherosclerosis & thrombosis	Prevention	Promotion

Le signal émis par le shear stress et la réponse qui en découle au niveau de la cellule endothéliale, implique de nombreuses voies de transduction provoquant des modifications morphologiques et fonctionnelles des CE et l'activation de facteurs de transcription (Figure 9)

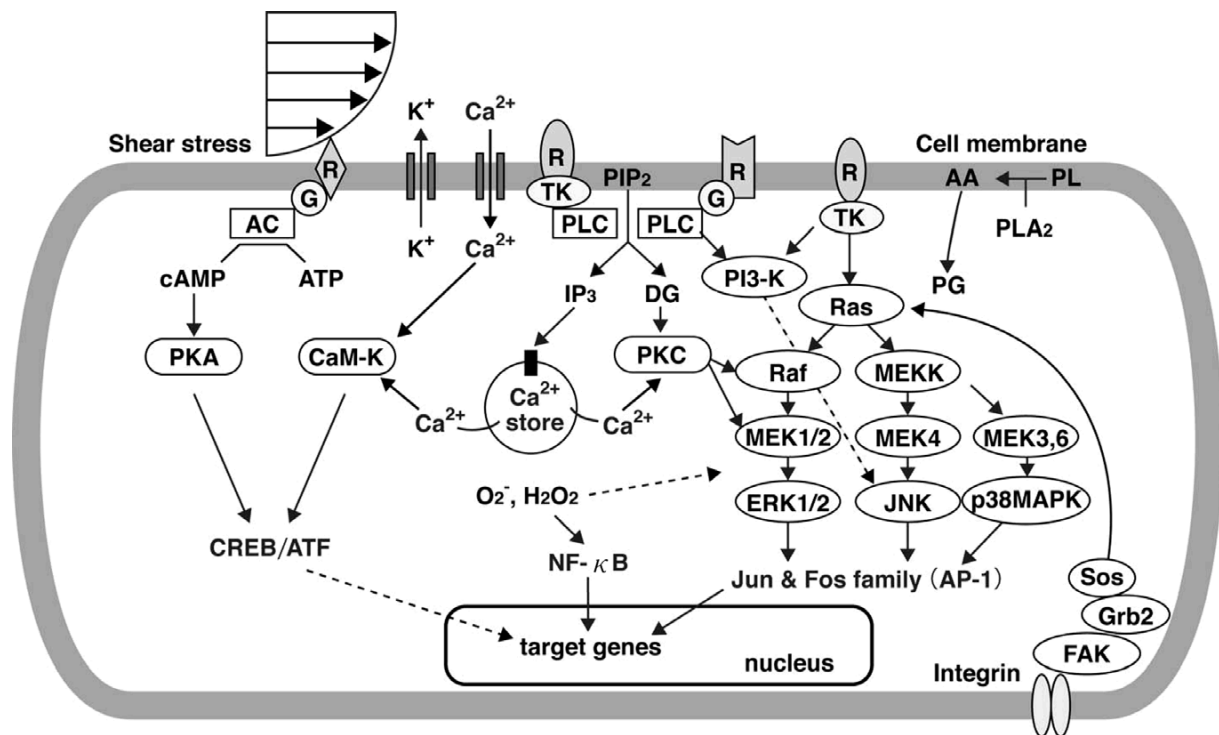


Figure 9 : Les signaux de transductions activés par le shear stress. *R*, *recepteur*; *G*, *protéine G*; *AC*, *adénylate cyclase*; *cAMP*, *adénosine monophosphate cyclique*; *ATP*, *adénosine triphosphate*; *TK*, *tyrosine kinase*; *PL*, *phospholipides*; *PLA2*, *phospholipase A2*; *AA*, *acide arachidonique*; *PG*, *prostaglandine*; *PLC*, *phospholipase C*; *IP3*, *inositol 1,4,5-triphosphate*; *DG*, *1,2-diacylglycerol*; *PKA*, *proteine kinase A*; *CaM-K*, *calmodulin kinase*; *PKC*, *proteine kinase C*; *PI3-K*, *phosphatidylinositol 3-phosphate*; *Ras* and *Raf*, *petite protéine G*; *MEK*, *MAP kinase-ERK kinase*; *MEKK*, *MAP kinase-ERK kinase kinase*; *ERK*, *extracellular signal-regulated kinase*; *JNK*, *c-jun N-terminal kinase*; *p38 MAPK*, *mitogen activated kinase*; *Sos* and *Grb2*, *adaptor proteins*; *FAK*, *focal adhesion kinase*; *O₂⁻* and *H₂O₂*, *reactive oxygen species*; *CREB/ATF*, *cAMP-responsive element-binding protein/activating transcription factor*; *NF-κB*, *nuclear factor κ B*; *Jun & Fos family (AP-1)*, *facteurs de transcription*.

D'après Ando et Yamamoto (35).

La mécanotransduction du signal associe plusieurs récepteurs. Les canaux ioniques impliqués sont K^+ ou Cl^- provoquant en fonction de leur charge une hyper- ou une dépolarisation de la membrane plasmatique (36, 37). Des canaux Ca^{2+} ont également été identifiés tels que les canaux P2X-purinoreceptor (38) et trp (39). Le shear stress peut également entraîner l'activation de récepteurs couplés aux protéines G (40), aux protéines G elles-mêmes (41) et des récepteurs tyrosine kinase comme VEGFR2 (Vascular endothelial growth factor 2) et l'angiopoïétin récepteur TIE-2 (42).

Le shear stress agit également sur les protéines d'adhésion (intégrines, PECAM-1, VE-cadherin) localisées au niveau des jonctions cellules-cellules et cellules-matrice qui participent donc aussi à la mécanotransduction.

Au niveau cellulaire, les microtubules et les filaments d'actine du cytosquelette initient un signal lors de la déformation mécanique de la cellule (43).

Le glycocalyx a également été suspecté d'interagir avec le shear stress, car celui-ci est composé de macromolécules et situé à la surface luminale des CEs sous forme de cils, le flux sanguin balayer ceux-ci et transmettre le signal dans la cellule par l'intermédiaire du cytosquelette (44). Les caveolae, en particulier la protéine caveolin-1 (microdomaine membranaire) sont également impliqués dans la transduction du shear stress. Le schéma ci-dessous illustre les différents mécanotransducteurs de la cellule endothéliale (Figure 10).

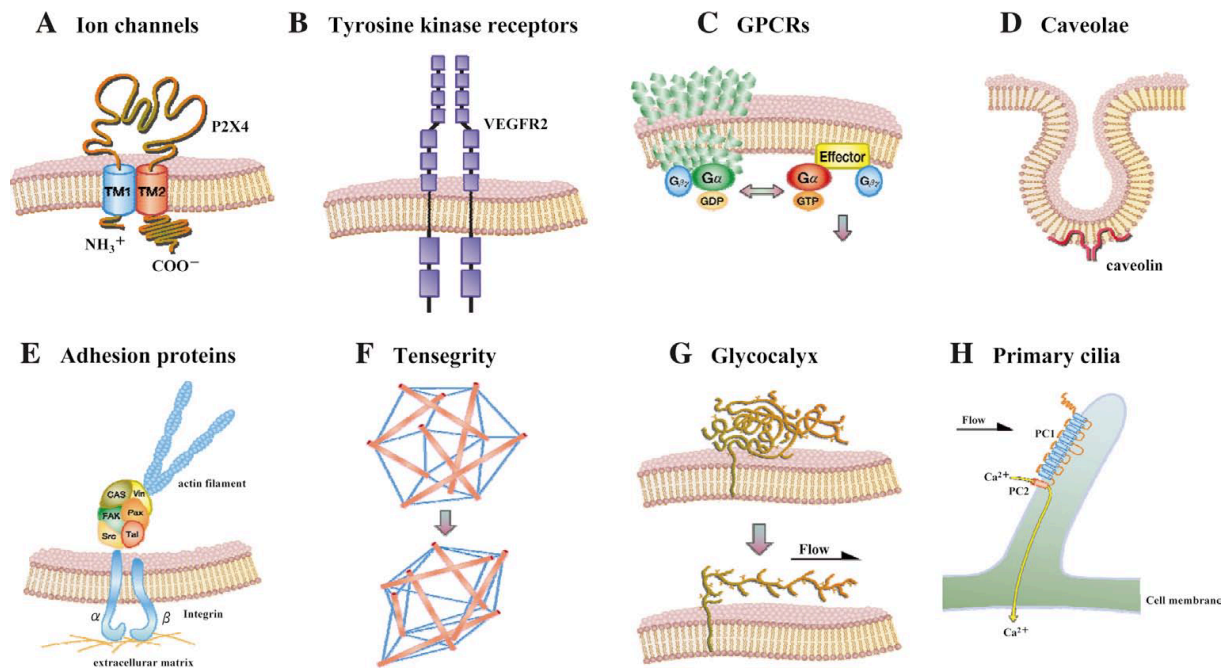


Figure 10 : Mécanotransducteurs impliqués dans la transmission du signal du shear stress au niveau d'une cellule endothéliale (35).

2.3.1.3. Shear stress, cellules musculaires lisses et fibroblastes

Contrairement aux cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses (CMLs) situées dans la média et les fibroblastes situés dans l'adventice ne sont pas directement au contact avec le flux sanguin et donc le shear stress. Ainsi, dans un contexte physiologique, l'interaction entre le shear stress, les CMLs et les fibroblastes ne peut se faire que par l'intermédiaire des CEs.

En condition pathologique, comme une inflammation, une désendothélialisation ou une hyperperméabilité induite du vaisseau, le shear stress peut directement interagir avec les CMLs et les fibroblastes par un flux interstitiel (Figure 11)

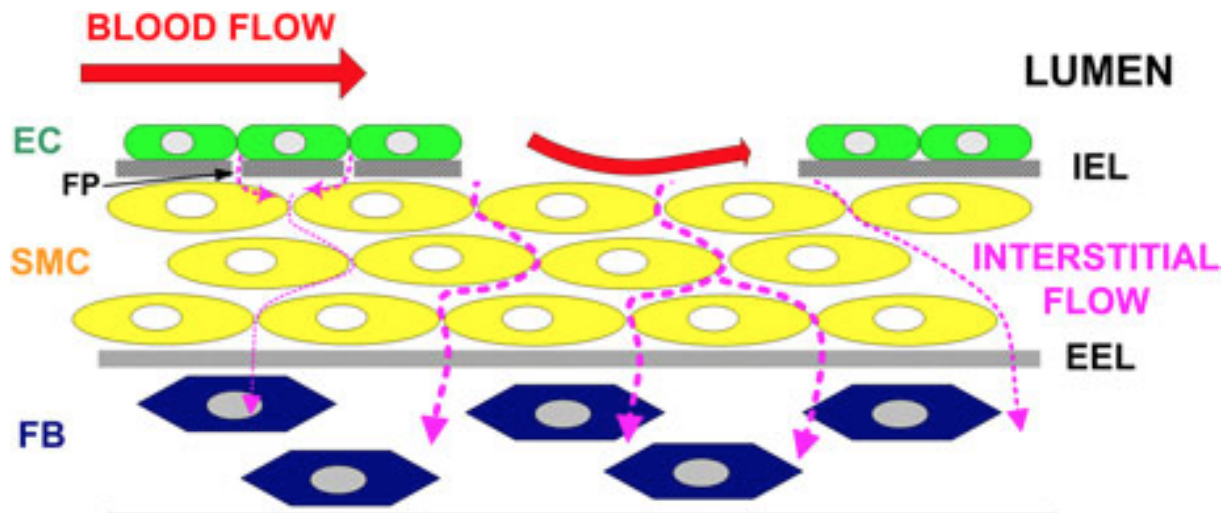


Figure 11 : Différents mécanismes d'interaction entre le shear stress, les cellules musculaires lisses et interstitiels ; EC : cellules endothéliales, SMC : CMLs ; FB : fibroblastes (45)

Au niveau des CMLs, le shear stress entraîne un relargage du PDGF (platelet derived growth factor) et du FGF-2, la production de prostaglandines PGE2 et PGI2 et de NO (46-49).

Lorsque le niveau de shear stress est élevé, il est observé une augmentation de l'expression du tissu plasminogène activator (tPA) alors qu'en cas de faible niveau de shear stress son expression est diminuée (50).

La disposition des CMLs et en particulier leur alignement par rapport au flux jouent un rôle prépondérant. Un shear stress laminaire entraîne une apoptose des CMLs alors qu'un shear stress pulsatile provoque une prolifération des CMLs (51, 52)

Le shear stress régule donc la migration des CMLs et des fibroblastes depuis la média et l'adventice vers l'intima, participant potentiellement à la formation de l'IH. Des études ont montré qu'en présence d'un shear stress laminaire, la migration des CMLs peut être inhibée in vitro par une diminution de l'activité des MMP et du PDGF récepteur β (53). Dans les mêmes conditions mais avec un niveau de shear stress plus élevé, la diminution de l'activité MMP était médiée par le NO (54). D'autres études ont montré qu'en présence d'un shear stress

pulsatile, il existait une activité pro-migratrice des CMLs (55).

La mécanotransduction du shear stress dans les CMLs impliquent de nombreux récepteurs comme les canaux ioniques, le glycocalyx et les intégrines (56).

2.3.2. Le cyclic strain

Le cyclic strain (ou étirement circonférentiel) dépend de la pression transmurale qui est une force cyclique normale, exercée par la pression du volume sanguin sur la paroi du vaisseau (Loi de Pascal). La pression provoque une tension pariétale, les deux forces s'équilibrant selon la valeur du rayon du vaisseau (Loi de Laplace). La paroi du vaisseau va alors se déformer de façon active et passive sous l'effet de la pression et de la tension réalisant un étirement circonférentiel cyclique appelé cyclic strain.

La modélisation mathématique du cyclic strain est la suivante :

$$E_{\theta\theta} = \frac{1}{2} \left[\left(\frac{r}{R_0} \right)^2 - 1 \right]$$

$E_{\theta\theta}$: cyclic strain, valeur de variation par rapport à la valeur de référence, %

r : rayon mesuré

R_0 : rayon de référence

Chez l'homme, des techniques écho-doppler et d'imagerie par résonance magnétique permettent de quantifier le cyclic strain et que le vieillissement entraînait une diminution du cyclic strain du fait de la rigidité du vaisseau.

2.3.2.1. Cyclic strain et cellules endothéliales

L'impact du cyclic strain sur la prolifération des cellules endothéliales varie en fonction des types cellulaires et de son intensité, entraînant soit un effet inhibiteur (57) ou un effet inverse (58).

Sur le plan physiologique, un cyclic strain oscillant entre 6 et 10% n'entraîne pas d'apoptose cellulaire mais diminue l'effet apoptique du $TNF\alpha$ et de la déplétion en sérum. Le cyclic strain a aussi une influence sur la production de substances vasoactives telles que la prostacycline (59), ET-1 (60), tPA (61), l'angiotensine II (62), ROS (63) et MCP-1.

In vivo, les cellules endothéliales sont donc soumises, simultanément au shear stress et au cyclic strain (Figure 12). Il a été montré que l'application simultanée de ces 2 forces entraîne une augmentation de l'expression de eNOS comparable à la seule expression du shear stress (64).

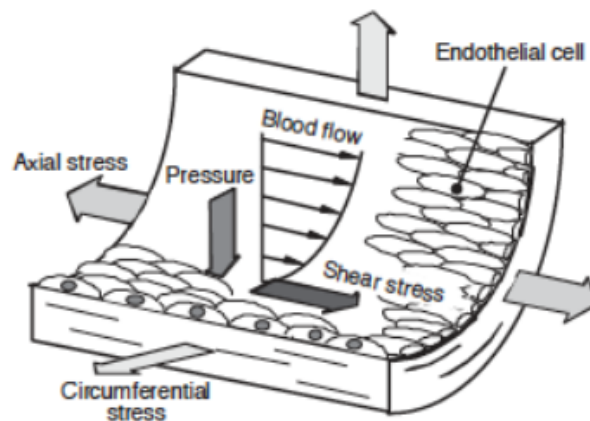


Figure 12 : les différentes forces hémodynamiques exercées sur la paroi vasculaire

(D'après Ohashi 2005)

2.3.2.2. Cyclic strain et cellules musculaires lisses

Le cyclic strain induit une activation des intégrines (jouant un rôle important dans la

signalisation des forces hémodynamiques) par le biais de la MEC faisant intervenir les voies des Rho Kinases (65) et des focal adhesion kinases (66). Mc Gregor et al. ont montré sur des saphènes humaines que le cyclic strain modifiait la réponse vasomotrice des CMLs (67).

Le schéma suivant illustre la réponse des cellules endothéliales et cellules musculaires lisses au shear stress et cyclic strain (Figure 13)

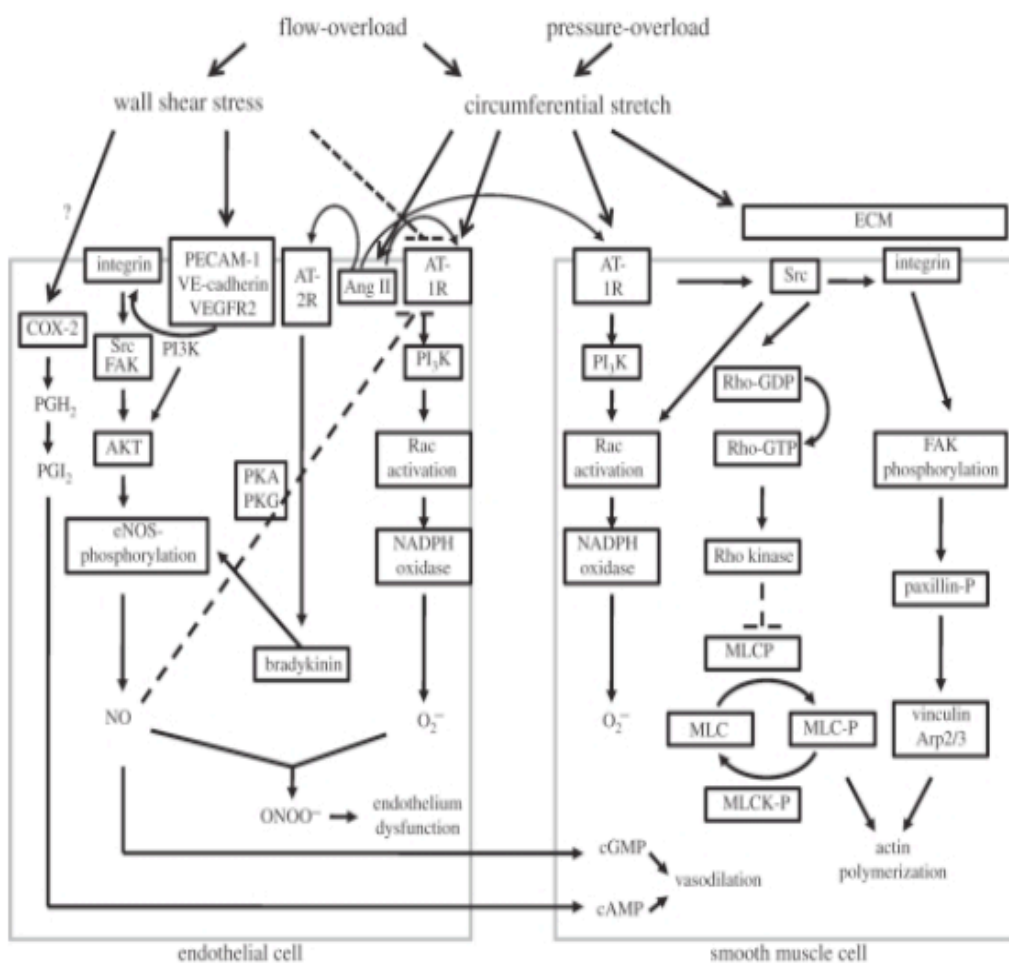


Figure 13 : réponse des cellules endothéliales et musculaires lisses aux forces hémodynamiques (68)

2.4. L'artérialisation veineuse

Lors d'un pontage coronaire, dès que le chirurgien déclame le greffon veineux implanté, des forces hémodynamiques majeures s'exercent instantanément sur la paroi vasculaire, débute alors le processus dit « d'artérialisation veineuse ».

2.4.1. Prélèvement chirurgical de la veine

Il est important de considérer le prélèvement chirurgical comme une atteinte de l'intégrité de la veine. La veine dépourvue des vasa vasorum et de son innervation sympathique connaît une ischémie pariétale. Cette ischémie entraîne un relargage de cytokines inflammatoires (IL-6 et IL-8) qui auront une influence sur le développement de l'IH (69).

Des études cliniques s'intéressant aux pontages veineux ont montré que lorsque la veine était prélevée avec son environnement graisseux et ses vasa vasorum, the « *no-touch technique* », la perméabilité du greffon était meilleure (21). Les pratiques permettant de contrôler l'existence de fuite au niveau des collatérales de la veine en injectant sous pression le liquide de conservation, sont souvent à l'origine d'une désendothélialisation traumatique et favorisent l'IH. (70).

2.4.2. Passage en flux artériel

2.4.2.1. Impact des forces hémodynamiques artérielles sur la paroi veineuse

Lors de la mise en charge du greffon, le shear stress et le cyclic strain artériels s'exercent sur la paroi veineuse. Le cyclic strain entraîne une apoptose puis une prolifération cellulaire. La prolifération des CMLs du fait du cyclic strain artériel est liée à l'activation d'IGF-1R (Insulin like growth factor-1) (71). Les CMLs survivantes vont alors changer de phénotype passant d'un stade contractile à un stade sécréteur et prolifératif.

2.4.2.2. Rôle du NO lors de l'artérialisation veineuse

En condition physiologique, l'endothélium veineux produit grâce à eNOS une petite quantité de NO préservant la paroi des substances produites par les plaquettes, de l'inflammation et de la relaxation des CMLs (72). Lors du passage en flux artériel, l'endothélium veineux n'est plus capable de produire du NO. Plusieurs études expérimentales, ont tenté de montrer qu'une conservation de la production de NO permettait de limiter le développement de l'IH (73) mais une production excessive de NO entraînait l'effet contraire avec une apoptose cellulaire en raison d'une surexpression de substance surperoxyde (74).

2.4.2.3. Rôle des plaquettes et de l'inflammation lors de l'artérialisation veineuse

Les lésions endothéliales entraînent dès les premières minutes de l'artérialisation une réaction plaquettaire : adhésion et agrégation plaquettaire à l'origine d'une libération de cytokines et de facteurs de croissance : PDGF (platelet derived growth factor), TGF- β , IL-1, IL-6, IL-8 et thrombine (75). Par ailleurs, l'adénosine diphosphate va activer la voie de synthèse de l'acide arachidonique produisant la thromboxane A₂, agent chemo-attracteur et mitogène pour les CMLs (76).

Après l'activation plaquettaire survenant dès le début de l'artérialisation, une forte réaction inflammatoire apparaît durant la première semaine au niveau de la paroi. Les plaquettes vont favoriser l'expression de molécules d'adhésion. Les leucocytes circulant au contact de l'endothélium lésé, vont s'attacher et s'activer par l'intermédiaire de la leukocyte surface P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1), ainsi qu'au niveau des plaquettes par la p-selectin. Les leucocytes activés vont alors migrer dans la paroi, grâce à des molécules d'adhérence : MCP-1 (Monocyte chemotactic protein-1), ICAM, Mac-1, GPIIb α . L'intensité de la migration leucocytaire favorise le développement de l'IH. Ainsi, 60% des cellules constituant l'IH ne proviennent pas de la veine dans un modèle expérimental de souris (77).

L'interaction de l'adventice et du milieu environnant participent également à la réaction

inflammatoire et donc au développement de l'IH. Des modèles expérimentaux ont montré que la molécule d'adhésion E-selectin est activée au niveau de l'adventice qui devient alors inflammatoire (78) et qu'en supprimant le contact entre l'adventice et le tissu environnant, il était observé une diminution importante du nombre de CMLs dans la zone d'IH (79).

L'intensité du shear stress influence la sécrétion de cytokines dans un greffon veineux : un shear stress bas augmente la production de cytokine pro-inflammatoire IL-1 β et donc de l'IH, alors qu'un shear stress haut limite l'IH par production IL-10 (80).

Le TNF est une cytokine inflammatoire et intervient sur la mitogénicité des CMLs par costimulation avec d'autres facteurs de croissance et influence donc l'IH dans les pontages veineux. Des études expérimentales, utilisant des agents immunosuppresseurs sur des CMLs de veines saphènes humaines, ont montré une diminution de la production de TNF α (81).

2.4.2.4. Rôle de la coagulation

Les cellules endothéliales ont une place importante dans l'activation de la cascade de la coagulation, par l'intermédiaire du facteur tissulaire (TF) qui joue un rôle de médiateur de la coagulation ; et ce, lorsque l'espace sous-endothélial est exposé au flux sanguin avec la formation de thrombi dans le greffon veineux conduisant à terme à l'IH (82).

Le facteur tissulaire (TF) qui est une glycoprotéine, se trouve dans la paroi veineuse et va se coupler au facteur de la coagulation VII/VIIa. Ce couplage produit alors la libération de facteur Xa et de PDGF par les plaquettes activées qui influencent la mitogénicité des CMLs (83, 84).

Le facteur tissulaire circulant va activer les plaquettes et accélérer la formation de thrombine qui active également la production des CMLs.

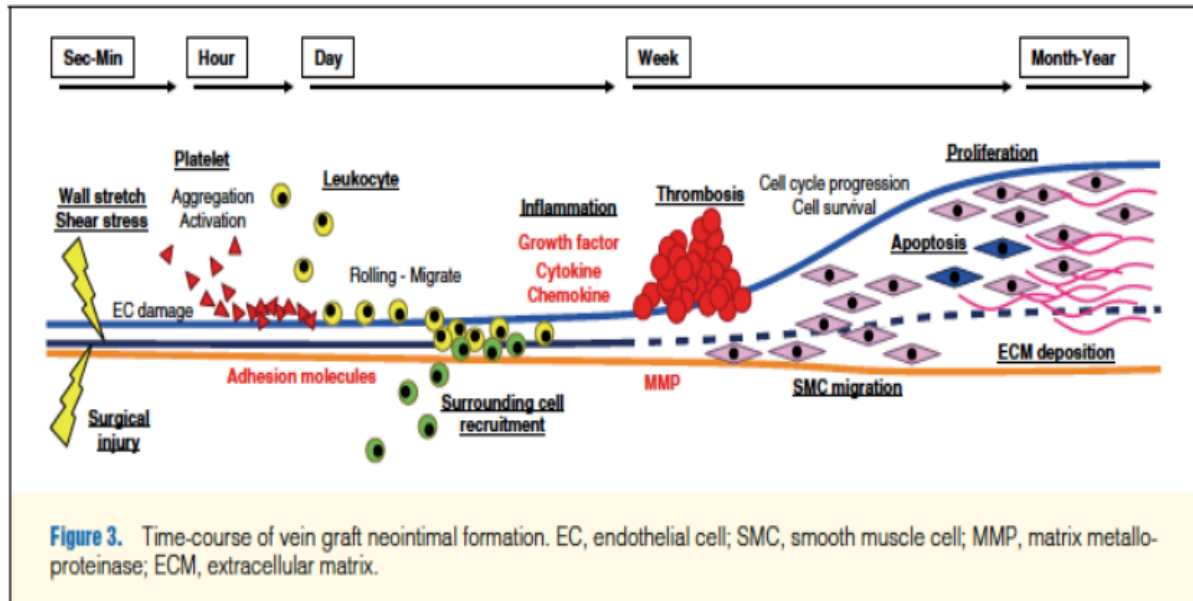


Figure 14 : rappel de la chronologie des évènements dans l'apparition d'une hyperplasie intimale (93)

2.5. Les solutés de conservation des greffons veineux

Lorsque que le greffon veineux saphène interne a été prélevé, le chirurgien va placer celui-ci dans une solution dite de « conservation » à température ambiante (18-20°C) jusqu'à son utilisation pour le pontage.

Usuellement les solutés de conservation peuvent être : le sérum physiologique salé isotonique ou tamponné hépariné, le sang autologue hépariné ou des solutions anti-oxydantes ou de conservation d'organes.

En 2014, Harskamp et al. ont analysé rétrospectivement l'influence des solutions de conservation sur les détériorations des greffons veineux à partir d'une large cohorte de patients issue de l'étude PREVENT IV (Project of Ex-vivo Vein graft Engineering via Transfection). Les greffons étaient stratifiés en 3 groupes en fonction du type de solution de conservation : sérum salé physiologique 0.9% (4.5<pH<7.0 ; 308 mOsm/L) ; sérum salé tamponné (pH=7.4) ; sang autologue hépariné (pH=7.4, 280-310 mOsm/L). Le taux de

dysfonction de greffons était moins important dans le groupe de sérum salé tamponné. Le taux associé de mortalité, d'infarctus du myocarde et de nouvelle revascularisation à 5 ans était plus bas dans ce même groupe (86).

D'autres solutions ont été étudiées :

- Solution de l'université du Wisconsin : développée à partir des années quatre-vingt dans la conservation des organes et en particuliers du pancréas, elle contient des radicaux libres, anions, des glucides et colloïdes permettant de diminuer l'œdème cellulaire. Les bons résultats obtenus avec le pancréas ont permis d'élargir ses indications aux poumons, reins et autres organes solides
- Solution Celsior® IGL (Institut Georges Lopez) : solution de rinçage et de conservation hypothermique utilisée pour le cœur, poumon, rein, foie et pancréas. Il s'agit d'une solution extra-cellulaire (pH=7.3, osmolarité :360 mOsm/L). Le Celsior® réduit les lésions oxydatives par l'ajout d'un agent anti-oxydant tel que le glutathion, l'œdème cellulaire grâce aux « imperméants » que sont le mannitol et l'acide lactobionique, la charge calcique intra-cellulaire grâce à des concentrations élevées en sodium et magnésium. La solution diminue également l'acidose intra-cellulaire grâce au pouvoir tampon de l'histidine.
- Solution dite « GALA » (Société Somaluthion®) actuellement commercialisée sous le nom Duragraft®. Celle-ci a été créée pour diminuer les phénomènes d'ischémie-reperfusion. Les différentes publications concernant la solution GALA détaillaient leur propre composition à partir de quatre composants essentiels : glutathion, acide L-Ascorbique, L-Arginine, glucose (pH=7.4, osmolarité = 309 mOsm/L). Thatte et al. ont évalué l'effet de la solution GALA sur des segments de greffons saphènes humains stockés à 21°C pendant 1 à 24 heures, et ce en les comparant à d'autres solutions usuelles (sérum salé isotonique, sang autologue hépariné) (87).

L'architecture et la viabilité endothéliale étaient conservées à 1, 5 et 24 heures dans le groupe GALA. (Figures 15 et 16).

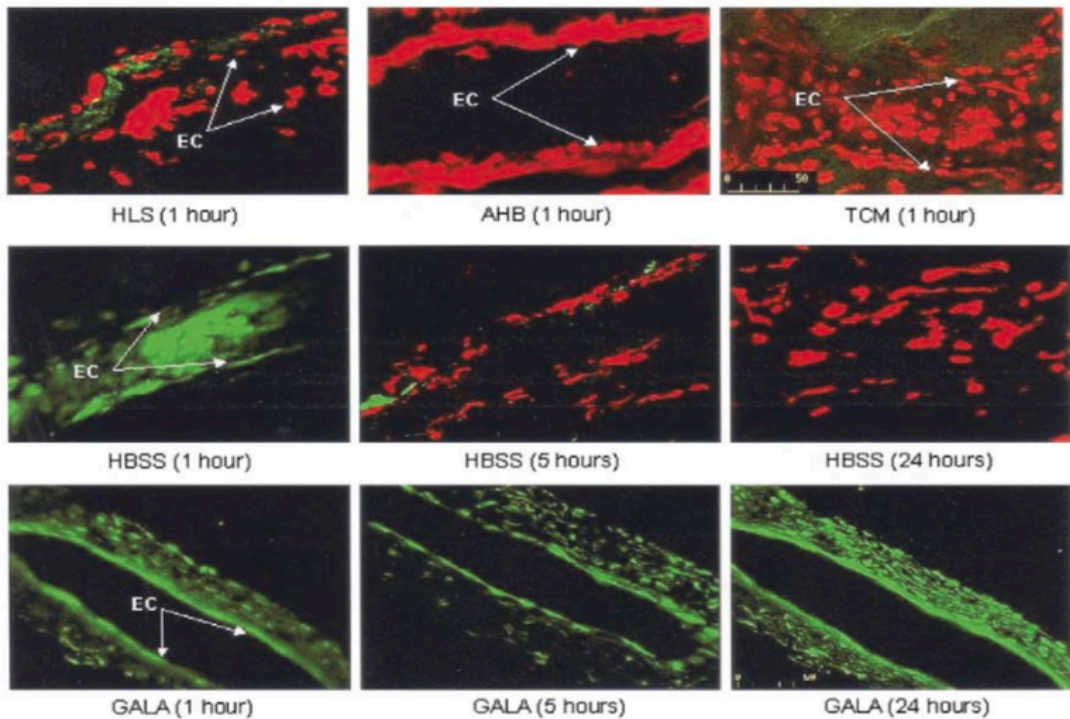


Figure 15 : Illustration des différentes modifications de l'architecture de la paroi veineuse en fonction du type de solutions utilisées (HLS : solution salée ; AHB : sang autologue hépariné ; GALA) (87). La fluorescence verte caractérise la viabilité cellulaire, la fluorescence rouge l'apoptose cellulaire.

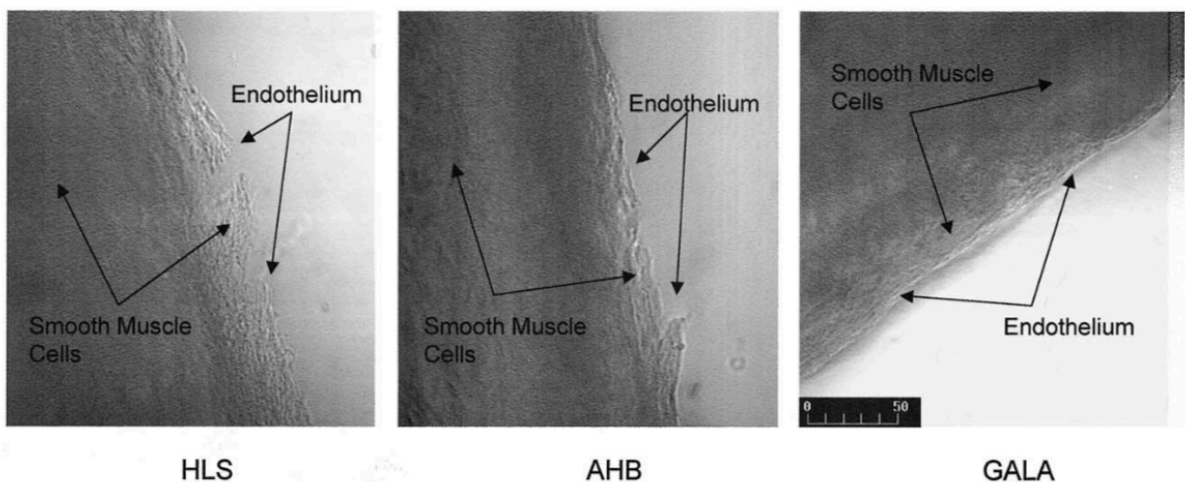


Figure 16 : Microscopie électronique (x100 μ m) au niveau de la paroi de la veine. Des

altérations de la paroi endothéliale et musculaire sont observées dans les groupes HLS et AHB.

3. LES GREFFONS ARTERIELS

3.1. Le réseau artériel

3.1.1. Les artères à composante élastique

Les artères élastiques ou artères de conductance sont les artères présentant les plus gros calibres du réseau artériel : aorte, carotide, artères pulmonaires et sous-clavières. La média de ces artères est constituée de lames élastiques concentriques entre lesquelles se trouvent des fibres de collagène de type I. La forte concentration en fibres élastiques permet à ces artères d'absorber l'onde de pression produite par l'éjection cardiaque, limitant ainsi son influence néfaste au niveau des organes par la différence d'impédance entre les artères de conductance et les artères de résistance. Cette élasticité est importante au niveau de l'aorte, et offre une capacité de réservoir au vaisseau qui peut ainsi stocker temporairement une partie du volume sanguin éjecté lors de la systole pour le restituer lors de la diastole. Cette capacité propre à l'aorte permet alors de former un flux continu.

3.1.2. Les artères à composante musculaire

Contrairement aux artères de conductance, les artères à composante musculaire dites « de résistance » présentent des diamètres beaucoup plus faibles (100 à 300 μm) et une média constituée quasi exclusivement de cellules musculaires lisses (artères mésentériques, coronaires ou cérébrales). Leur structure permet d'obtenir une régulation fine et précise des débits locaux par l'intermédiaire de leur capacité de remodelage. Les nombreux mécanorécepteurs présents à la surface de l'endothélium permettent de capter rapidement les modifications de pression et de flux induisant ainsi en réponse un remodelage de la paroi du vaisseau. Les modifications du flux entraînant des modifications des forces tangentielles de

cisaillements appliquées au niveau de l'endothélium, seront à l'origine de l'augmentation ou de la diminution du diamètre interne du vaisseau et/ou d'un amincissement voire d'une hypertrophie de la paroi. L'objectif est donc d'assurer un rôle protecteur par la régulation des résistances périphériques et de la pression artérielle.

3.1.3. Les artères intermédiaires

Cette catégorie d'artères comprend quant à elle, une grande proportion de cellules musculaires lisses (CML) et joue un rôle prépondérant dans la régulation systémique de la pression artérielle. Parmi ces artères intermédiaires, se trouvent les artères thoraciques internes (A_{ti}), collatérales des artères sous-clavières largement utilisées dans la revascularisation coronaire chirurgicale. Leur sensibilité à la pression, et au débit qui, par l'intermédiaire de forces de cisaillement, stimule l'endothélium et la production d'agents vaso-relaxant comme le NO, est connue (88). Elles restent par ailleurs peu mécanosensibles.

3.2. Régulation de la vasomotricité

L'état de contraction et de relaxation de la CML détermine le tonus vasomoteur et reflète l'équilibre entre les différents facteurs vasorelaxants et vasoconstricteurs. Cet état est contrôlé par des stimuli physiques ou chimiques.

3.2.1. Relaxation des cellules musculaires lisses

La vasodilatation dépendante de l'endothélium fait intervenir 3 voies physiologiques principales (89) : monoxyde d'azote (NO), prostaglandines et la voie de l'Endothelium Dependant Hyperpolarization Factor (EDHF) (Figure 17). Ces vasodilatateurs produits par l'endothélium induisent la relaxation du muscle lisse vasculaire.

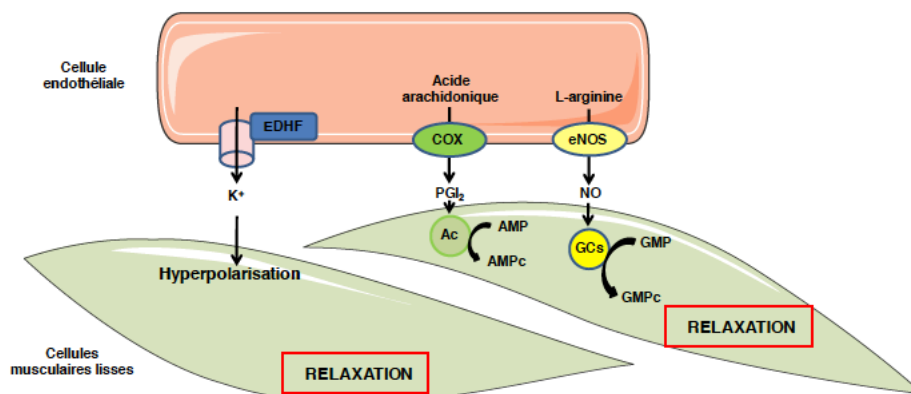


Figure 17 : Facteurs vasorelaxants synthésés par l'endothélium

EDHF : facteurs hyperpolarisants dépendants de l'endothélium ; COX : cyclooxygénase, PGI₂ : prostacycline, AC : adénylate cyclase, ATP : adénosine-5'-triphosphate, AMPc : adénosine-3'5'-monophosphate cyclique ; eNOS : monoxyde d'azote synthétase endothéliale ; NO : monoxyde d'azote, GCs : guanylate cyclase soluble ; GTP : guanosine-5'-triphosphate ; GMPc : guanosine-3'5'-monophosphate cyclique.

3.2.1.1. La voie du NO

En 1980, Furchgott et Zawadzki ont réussi à démontrer que la relaxation des CMLs en réponse à l'acétylcholine était dépendante de l'intégrité anatomique de l'endothélium. Ce facteur relaxant dérivé de l'endothélium a été identifié par la suite comme étant le monoxyde d'azote. Le NO est un gaz qui se diffuse facilement à travers les membranes cellulaires avec une demi-vie très courte (de l'ordre de quelques secondes). Ce dernier est sécrété par les NO-synthétases endothéliales (eNOS) à partir d'O₂ et de L-Arginine en réponse à une augmentation de la concentration intra-cellulaire en calcium (Ca²⁺), provoquée par divers stimuli (fixation d'acétylcholine sur la cellule endothéliale ou augmentation des forces de cisaillement vasculaire comme le shear stress : les forces de cisaillement du flux sanguin laminaire constituent un puissant activateur de la transcription

Dans le système cardio-vasculaire, les effets biologiques du NO endothélial sont multiples et lui confère un rôle vasculo-protecteur majeur (Figure 19). Une fois produit, il diffuse très rapidement à la rencontre des CMLs, des macromolécules et des cellules circulantes sanguines. Il participe ainsi à la relaxation dépendante de l'endothélium des vaisseaux sanguins, en diffusant librement jusqu'aux CMLs où, par activation de la voie du GMPc, il inhibe la contraction. Le NO peut également inhiber la migration, la prolifération et la synthèse de protéines de la MEC, limitant ainsi l'épaississement de l'intima. Le NO exerce également des effets sur la CE où il est capable de moduler le processus angiogénique, en agissant sur la prolifération, la migration et l'apoptose de ces cellules.

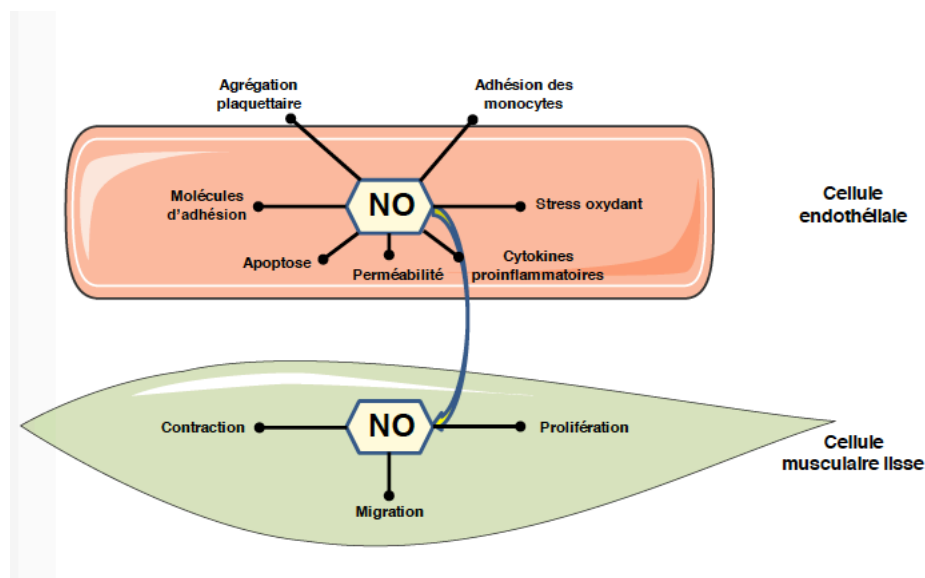


Figure 19 : Effets multiples du NO endothélial (d'après Schini-Kerth) (91)

3.2.1.2. Les prostacyclines

Sous l'action de la phospholipase A2, l'acide arachidonique (AA) est libéré des phospholipides membranaires. L'AA est ensuite métabolisé sous l'action de différentes enzymes, telles que les cyclooxygénases (COX) dont il existe deux isoformes : la COX-1 constitutive et la COX-2 inductible, les lipooxygénases et des enzymes dépendantes du

cytochrome P450. L'AA est ainsi le précurseur des eicosanoïdes, molécules lipidiques qui regroupent les leucotriènes et les prostanoïdes qui sont des médiateurs importants dans la modulation du tonus vasculaire dans les conditions physiologiques (Figure 20). Ces prostanoïdes regroupent la PGI₂, les prostaglandines, telle que la prostaglandine E₂ (PGE₂), la prostaglandine D₂ (PGD₂), la prostaglandine F_{2α} (PGF_{2α}) et le thromboxane A₂ (TXA₂).

La PGI₂, découverte en 1976 par Bunting et al. (92) est un puissant agent vasodilatateur, ainsi qu'un inhibiteur de l'agrégation et de l'adhésion plaquettaire. La PGI₂ inhibe également l'adhésion leucocytaire et la prolifération des CMLs (93-95). La production de PGI₂ est stimulée par divers stimuli tels que l'hypoxie, les forces de cisaillement, ou divers agonistes, sa synthèse étant dépendante de la concentration en calcium cytosolique (96). Il est important de remarquer que la PGI₂ est synthétisée par l'endothélium en réponse aux mêmes impliqués dans la libération du NO, suggérant ainsi une action synergique sur les différentes cellules cibles (97, 98). La PGI₂ va diffuser librement et se fixer sur les récepteurs à la PGI₂ présents sur les cellules cibles (99). Ces récepteurs vont ensuite activer via la protéine G_α, la voie de l'adénylate cyclase-AMPC. D'autre part, la PGI₂ participe également à l'ouverture de différents canaux potassiques renforçant la relaxation des CMLs (100).

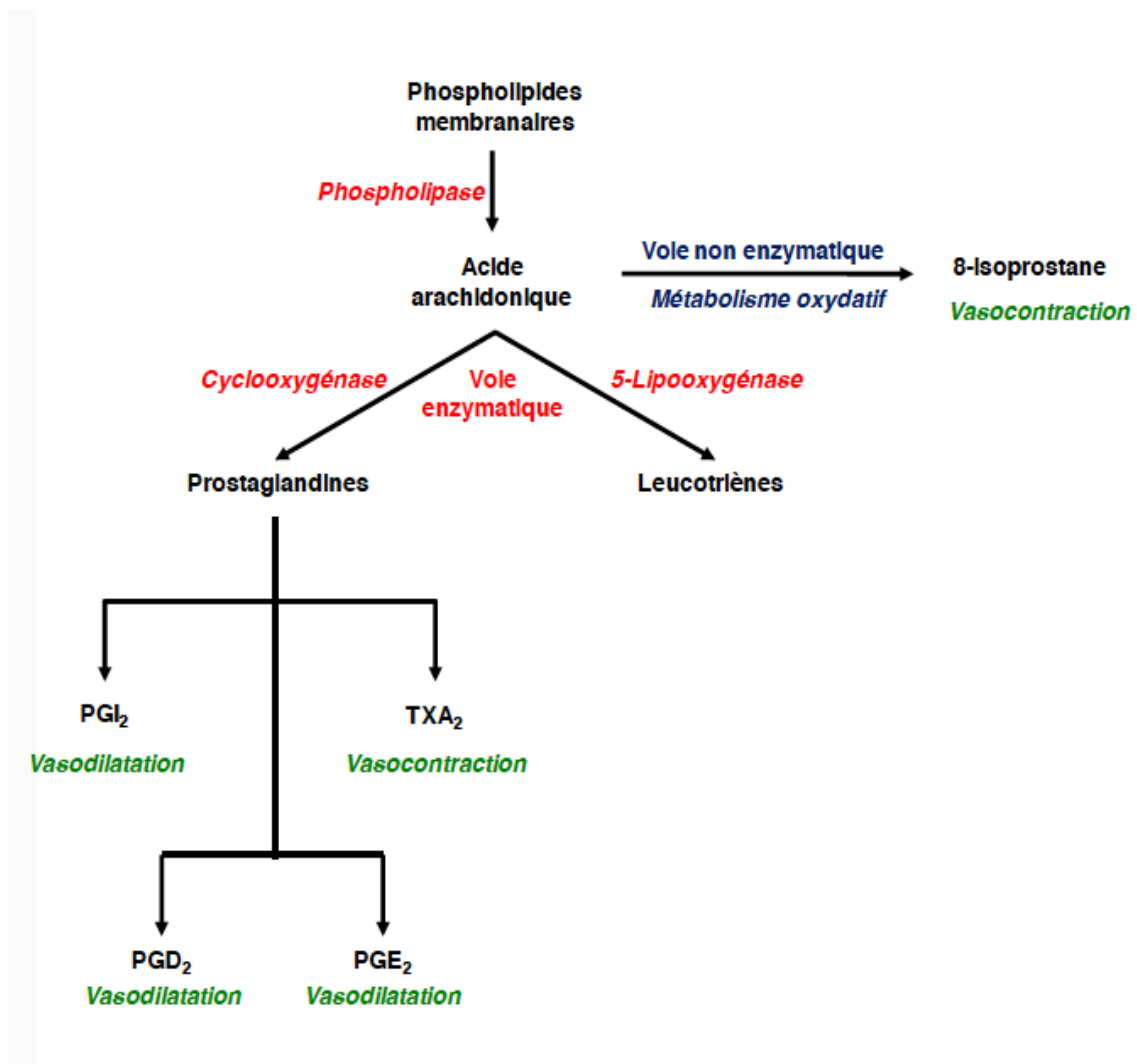


Figure 20 : Métabolisme de l'acide arachidonique

PGI₂ : prostacycline ; TXA₂ : thromboxane A₂ ; PGD₂ : prostaglandine D₂ ; PGE₂ : prostaglandine E₂

3.2.1.3. Les facteurs hyperpolarisants

L'endothélium libère également plusieurs autres facteurs paracrines vasodilatateurs responsables d'une hyperpolarisation des CMLs par activation des canaux potassiques. Les structures chimiques de ces EDHF semblent être variables selon les lits vasculaires. En effet, bien qu'une relaxation dépendante de l'endothélium due aux EDHF ait été rapportée à la fois dans les vaisseaux de conductance (tel que l'aorte) et dans les vaisseaux de résistances

(comme les artères mésentériques), il apparaît que la contribution des EDHF est plus importante dans les petites artères, et semble inversement proportionnelle à la taille du vaisseau (101).

L'importance relative du NO, des prostacyclines et l'EDHF varie suivant les espèces, le lit vasculaire et les stimuli physiologiques ou pharmacologiques utilisés (102), mais il existe des interactions entre les différents facteurs vasorelaxants libérés par l'endothélium. Ainsi, le NO exerce une modulation constante de l'EDHF en inhibant sa synthèse et sa libération (103). Une augmentation de l'EDHF se produit alors dans des situations pathologiques lorsque la biodisponibilité du NO est réduite, ceci permettant de maintenir partiellement les capacités vasorelaxantes de l'endothélium.

3.2.2. Contraction des cellules musculaires lisses

Le taux de contraction des CMLs dépend de la concentration intracellulaire en calcium. La concentration en calcium cytoplasmique étant très faible à l'état basal, le calcium nécessaire provient soit des réserves du réticulum endoplasmique, soit du milieu extracellulaire. Deux voies conduisent ainsi à une augmentation rapide, importante et transitoire du calcium intracellulaire nécessaire à la contraction des CMLs : le couplage électromécanique et le couplage pharmacomécanique (104) (Figure 21).

Le couplage électromécanique consiste en une dépolarisation de la membrane cellulaire provoquant l'ouverture de canaux très sélectifs du calcium, les « voltage-operated channel » (VOC) à travers lesquels le calcium entre dans la cellule pour initier la contraction.

Le couplage pharmacomécanique représente la liaison d'un agoniste à son récepteur membranaire conduisant à une augmentation du calcium intracellulaire, soit par activation de « receptor-operated channel » (ROC), soit par libération du calcium à partir des réserves intracellulaires.

Les récepteurs des agonistes vasoconstricteurs sont couplés à une protéine G, elle-même couplée à une phospholipase C (PLC). La PLC hydrolyse le phosphatidyl-inositol biphosphate (PIP₂) de la bicouche phospholipidique en inositol triphosphate (IP₃) et en diacylglycérol (DAG). L'IP₃ se fixe sur le récepteur canal à l'IP₃ (RIP₃) et permet la libération des réserves calciques du réticulum endoplasmique vers le cytoplasme. Parallèlement, cette hausse en calcium intracellulaire va activer le deuxième récepteur canal présent à la surface du réticulum endoplasmique, le récepteur canal sensible à la ryanodine (RyR), qui participe à l'augmentation générale de calcium intracellulaire. Enfin un mécanisme de libération de calcium induit par le calcium lui-même (« calcium-induced calcium release »), participe à l'amplification de ce phénomène. La formation d'un complexe calcium/calmoduline, suite à l'élévation de la concentration en calcium libre cytosolique permet l'activation de la kinase des chaînes légères de la myosine. Cette enzyme va phosphoryler la chaîne légère de la myosine, stimuler l'activité ATPasique de la myosine permettant l'interaction avec l'actine et donc la contraction des CMLs.

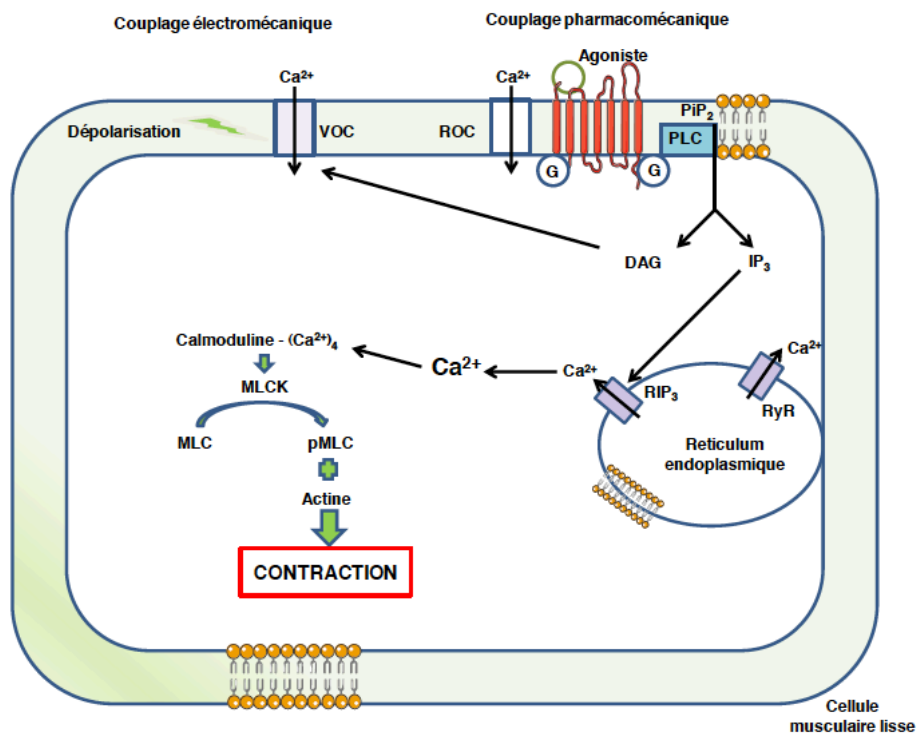


Figure 21 : Voies de signalisations intracellulaires de la concentration des CMLs

VOC : voltage-operated channel ; ROC : receptor-operated channel ; PLC : phospholipase C ; PiP₂ : phosphatidyl-inositol biphosphate ; DAG : diacyglycérol ; IP₃ : inositol triphosphate ; RIP₃ : récepteur canal à l'IP₃ ; RyR : récepteur canal sensible à la ryanodine ; MLCK : kinase des chaînes légères de la myosine ; MLC : chaîne légère de la myosine.

3.3. Le tonus myogénique

L'existence d'une réponse vasculaire locale suite à une augmentation de la pression intraluminale a été décrite en 1902 par W.M. Bayliss (105), c'est la réponse myogénique ou tonus myogénique (TM). Ce tonus vasculaire est un mécanisme indépendant des influences neuronales, métaboliques ou hormonales puisqu'il persiste au niveau des vaisseaux dénervés (106).

Une relation inverse existe entre le diamètre des vaisseaux et l'intensité du TM. Plus les vaisseaux sont petits et plus le TM est élevé (107) en dehors des vaisseaux cérébraux (108).

Le développement d'un TM s'observe surtout dans les vaisseaux d'un diamètre inférieur à 300 μm . In vivo, les variations de pression et de flux sont permanentes ; les réponses myogéniques constamment stimulées. Le TM se développe dans les secondes qui suivent l'augmentation de la pression intraluminale. La réponse myogénique se caractérise par une distension initiale, passive, suivie de deux phases de contraction, l'une transitoire et l'autre soutenue. Au niveau tissulaire, les variations brusques de la pression artérielle entraînent des variations immédiates du débit sanguin. Or, il existe un mécanisme d'autorégulation du débit sanguin permettant de maintenir un débit stable en dépit des importants changements de la pression artérielle. Cette régulation peut être métabolique et myogénique. Le TM permet ainsi une protection des capillaires contre les augmentations excessives de la pression sanguine. En amortissant une pression sanguine trop élevée au niveau des vaisseaux de petits diamètres, ce mécanisme protège ainsi les capillaires.

3.4. Dilatation Flux Dépendante

Le flux sanguin induit à la surface des CE une contrainte tangentielle importante modulant ainsi la fonction et la structure vasculaire. Le flux sanguin induit des forces de cisaillement agissant dans la direction longitudinale à l'interface sang-endothélium (cf chapitre les greffons veineux – Shear stress) : $\tau = \nu \cdot dv/dr$ (ν est la viscosité du sang, v est la vitesse moyenne de l'écoulement et r le rayon vasculaire et dv/dr représentant le taux de cisaillement). Ainsi, une diminution du diamètre du vaisseau ($\uparrow dv/dr$) entraîne une augmentation des forces de cisaillement. L'augmentation des forces de cisaillement tend à déplacer les CE dans le sens de l'écoulement sanguin (109) et entraîne une dilatation du vaisseau ou « dilatation flux-dépendante ». Cette dilatation flux-dépendante est liée à la libération de facteurs endothéliaux, EDRF, à l'origine d'une relaxation du muscle lisse (119).

4. PULSATILITE ET CIRCULATION EXTRA-CORPORELLE

4.1. Pulsatilité

Les caractéristiques du flux entrant dans la canule aortique pendant la phase de clampage et se propageant dans l'arbre vasculaire sont dépendantes du flux généré par la pompe de circulation extra-corporelle (CEC). La génération d'un flux pulsé dépend plus du gradient d'énergie que du gradient de pression (111).

Cependant, lorsque l'on s'intéresse uniquement à la pression dans les conditions physiologiques, il existe clairement une atténuation de la pression pulsée dans la microcirculation artérielle. (Figure 22, 23 et 24). La microcirculation concerne les artérioles de moins de 150 μm et les capillaires qui les suivent après leurs divisions successives. Le diamètre des capillaires, au niveau desquels se produisent les échanges, est d'environ 5 μm .

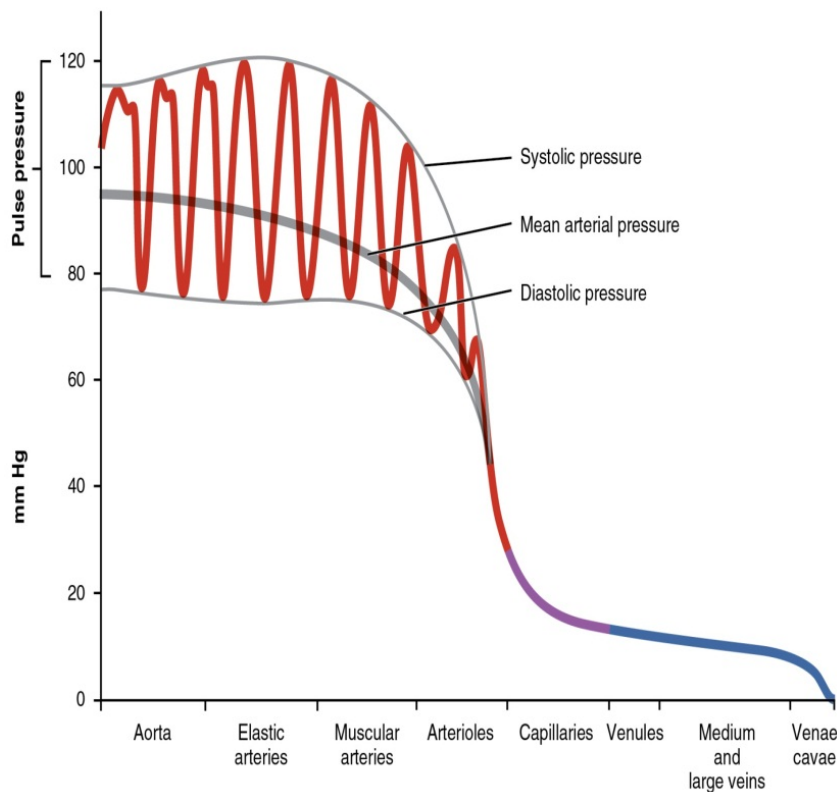


Figure 22 : Evolution de la pression dans la microcirculation Anatomy & Physiology.

J Gordon Betts et al. Openstax, 2017 Rice University

Il existe également une relation étroite entre la vitesse d'écoulement du sang et la surface d'écoulement qui est importante au niveau de la microcirculation artérielle et veineuse.

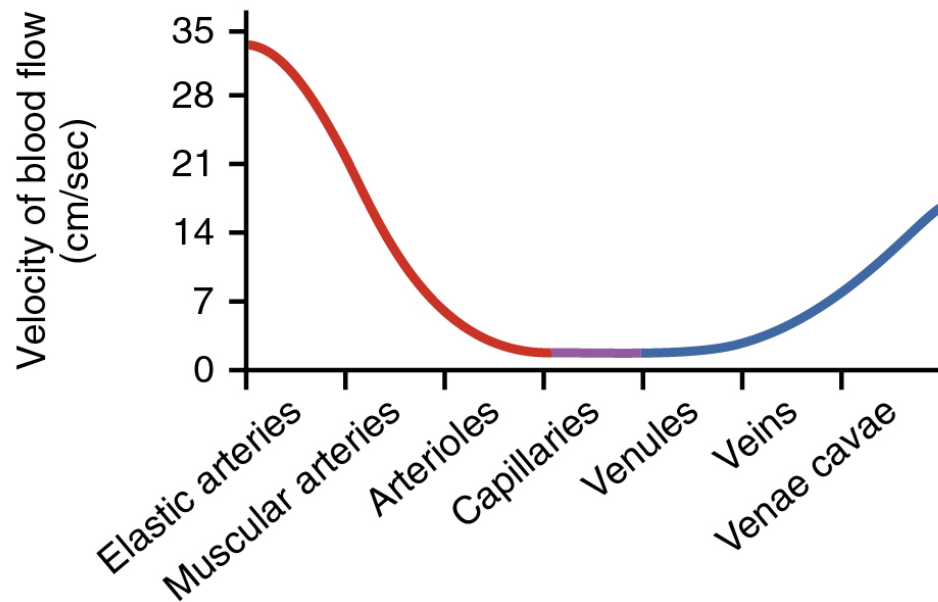
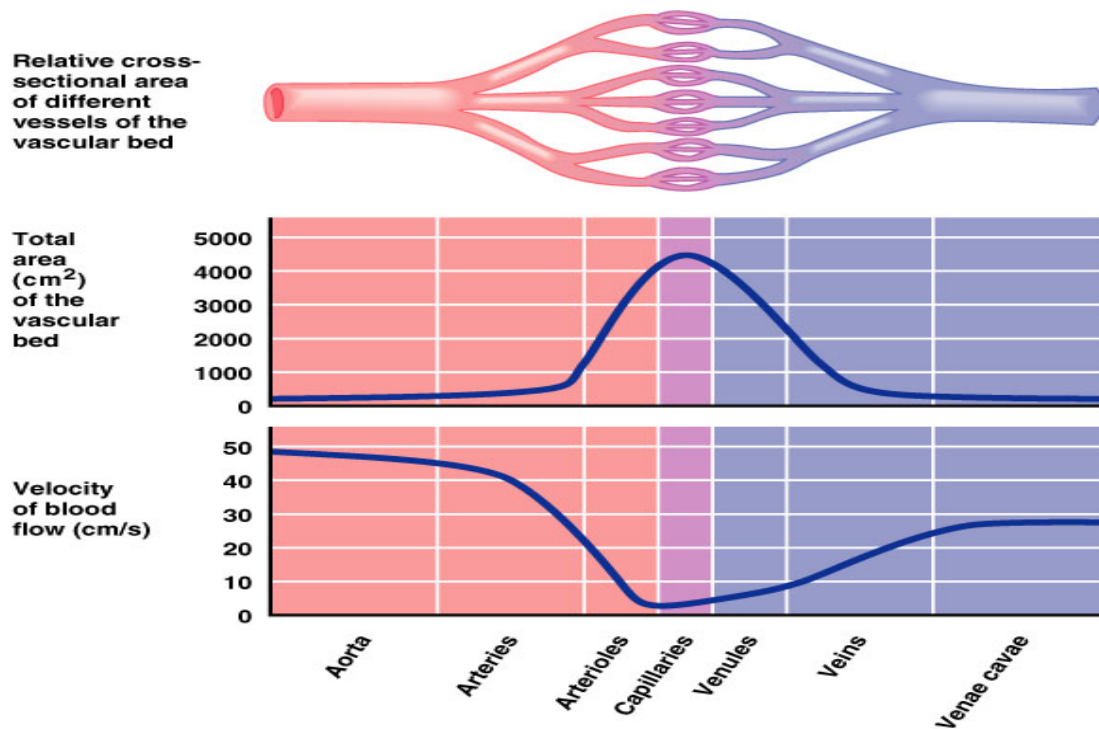


Figure 23 : Vitesse d'écoulement et microcirculation Anatomy & Physiology. J Gordon Betts et al. Openstax, 2017 Rice University



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Figure 24 : Relation entre vitesse d'écoulement et surface d'écoulement

Cette atténuation et donc la persistance d'une onde pulsée dans la microcirculation et les conséquences qui en découlent, restent aujourd'hui controversées. En effet, il existe peu d'outils de mesures fiables permettant de mesurer cette onde d'énergie au niveau de la microcirculation. Les modifications de perfusion tissulaire sont extrêmement hétérogènes au cours d'une CEC en raison du caractère inflammatoire, de la viscosité du sang dépendant du nombre d'érythrocytes, de globules blancs circulants.

A plus grande échelle, il existe cependant des mesures possibles de la pulsativité en particuliers la formule de la pression énergétique (*EEP energy equivalent pression*) proposée en 1966 par Shepard (111) :

$$EEP = \frac{\int f p dt}{\int f dt}$$

f = flux délivré par la pompe ; p = pression artérielle ; dt = l'intégrale est calculée par rapport au temps t . EEP s'exprime en mmHg. Un flux est donc considéré pulsé si $EEP \geq 15-20$

mmHg et un flux est non pulsé si $EEP < 15$ mmHg. La différence entre EEP et la pression artérielle moyenne représente le surplus d'énergie hémodynamique ($SHE = EEP - P_{mean}$).

Ce surplus d'énergie est connu dans le cas des pompes centrifuges (112) ou encore dans les assistances cardiocirculatoires au long cours qui comparaient les systèmes pulsatiles (Thoratec HeartMate XVE ou IVAD) versus non pulsatiles (Thoratec HeartMate II ou MicroMed DeBakey) qui étaient associées à un effondrement (-95%) de SHE (113).

Il est largement admis qu'une pompe à galets délivre un flux pulsatile et qu'une pompe centrifuge délivre un flux non pulsatile. La pompe à galets fonctionne sur le principe de l'occlusion plus ou moins complète d'un tube souple par des galets rotatifs. C'est donc le passage des galets sur le tuyau qui lui confère le caractère pulsatile. Le débit de la pompe est fonction du diamètre du tuyau et de sa circonférence et du nombre de tours/minute de la pompe. La pompe à galets est indépendante de la post-charge. Dans ce cas, l'importance du shear-stress peut avoir des conséquences au niveau des éléments figurés du sang : leucocytes activés si $\tau > 75$ dyn/cm², plaquettes activées si $\tau > 100$ dyn/cm², hémolyses des globules rouges si $\tau > 2000$ dyn/cm². Il existe également un risque de pomper l'air si le réservoir est vide ou de créer un phénomène de cavitation en amont si le flux d'entrée est restreint. La pompe centrifuge propulse le sang par l'action d'une turbine rotative tournant à haute vitesse (1000-3000 rpm) et entraîné par un électro-aimant. La différence de pression entre le centre et la périphérie créée par la force centrifuge à l'intérieur du cône accélère le sang qui est ensuite éjecté. Le flux est donc laminaire et confère à la pompe centrifuge son caractère non pulsatile. Cette pompe traumatise peu les éléments figurés du sang, mais elle est sensible à la pré-charge et post-charge car elle est non occlusive.

Ainsi un shear stress laminaire, généré par une pompe centrifuge, entraîne une apoptose des CMLs (51) alors qu'un shear stress pulsatile (pompe à galets) est à l'origine d'une prolifération des CMLs (52).

Finally, the majority of studies interested in the effects of pulsatility or the absence of pulsatility during a CEC, compare two medical devices: pump vs roller pump centrifuge because there are no tools for permanent measurement of pulsatility.

4.2. Pulsatility and systemic inflammatory response during CEC

4.2.1. Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) and CEC

During a pulsatile or non-pulsatile CEC, a systemic inflammatory response syndrome (SIRS) appears. SIRS is triggered by a series of phenomena: contact of blood with the surfaces of the CEC circuit, contact air-blood, hypothermia, heparinization and the complexes heparin-protamine, ischemia-reperfusion or even the toxins released by the digestive tube. About 20% of patients at low surgical risk develop complications related to SIRS (114): coagulopathy, interstitial liquid accumulation (cerebral edema, deterioration of gas exchange), multiorgan dysfunction (neurological, cardiac, renal and hepatic).

The inflammatory reaction consists of two distinct phases

- Phase precoce : elle démarre au moment du contact du sang avec les matériaux de la CEC et comprend deux composantes distinctes : la voie humorale comprenant la coagulation, le complément et les cytokines (Figure 25) et la voie cellulaire constituée par les globules blancs et l'endothélium (Figure 26).
- Phase tardive : elle est liée aux lésions d'ischémie et de reperfusion et la libération d'endotoxine.

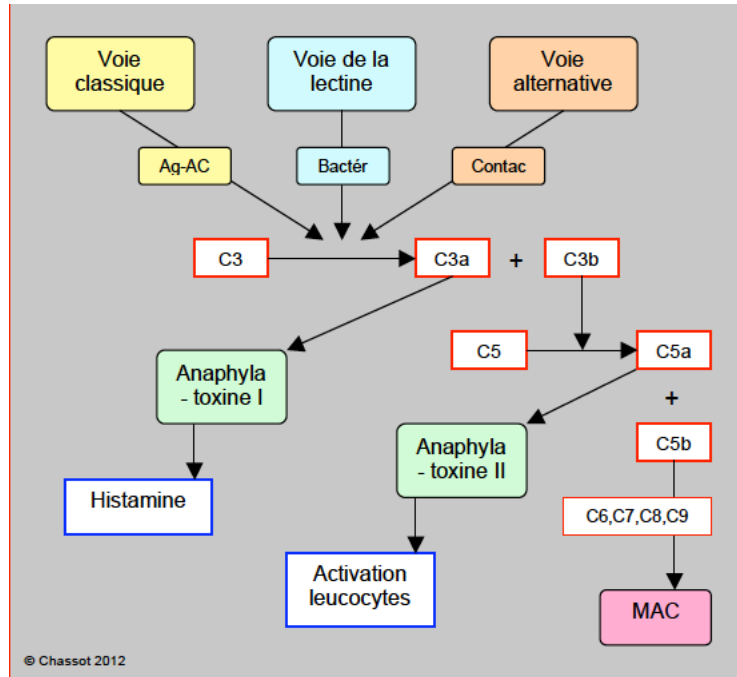


Figure 25 : schéma simplifié de l'activation du complément qui comprend 3 voies initiées par des déclencheurs distincts : voie classique (réaction Ag-Ac), voie alternative (activation directe par contact) et la voie de la lectine (site des membranes bactériennes). *Issu du précis d'anesthésie cardiaque 2013-07 circulation extra-corporelle.*

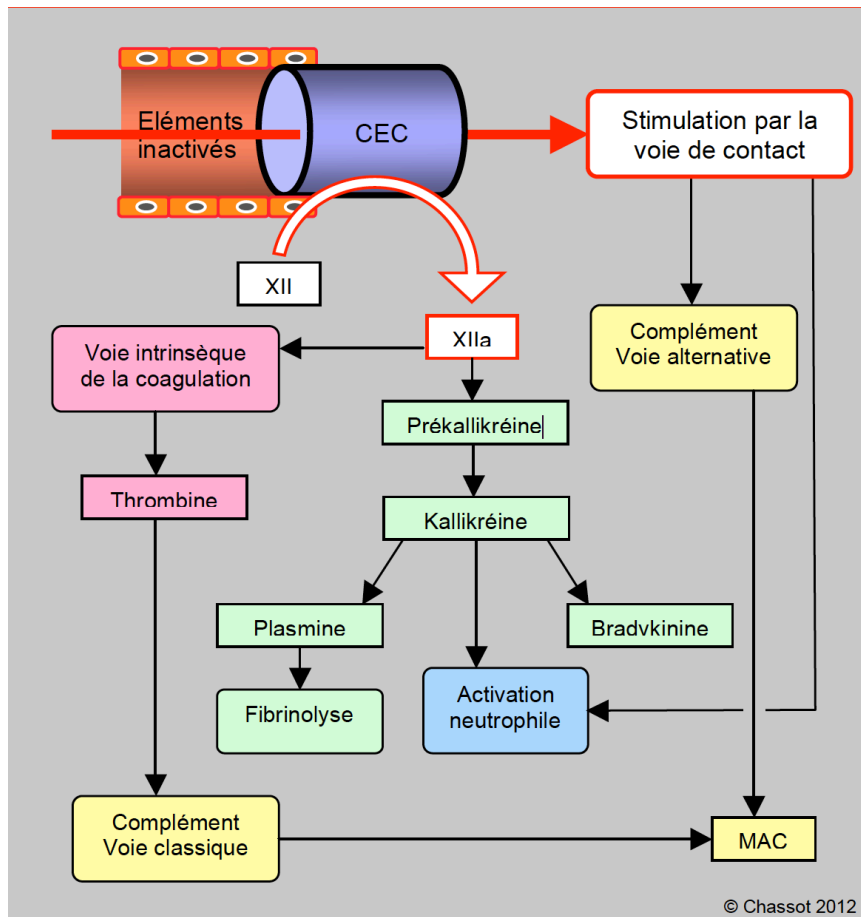


Figure 26 : Activation de la voie de contact. Le Facteur XII se clive en F XIIa (activé) qui transforme la prékallikréine en kallikréine, les kininogènes en bradykine et le facteur XI en F XIa ; ce dernier processus forme la thrombine par la voie intrinsèque de la coagulation. *Issu du précis d'anesthésie cardiaque 2013-07 circulation extra-corporelle.*

4.2.2. Pulsatilité, impact clinique et réponse inflammatoire systémique

La littérature, parfois ancienne, est relativement dense dans ce domaine. Les bénéfices cliniques avancés de la CEC pulsée sont : une meilleure régulation hormonale (angiotensine, aldostérone, catécholamines, thyroïde) (115-117), le maintien d'un flux lymphatique, une diminution de la rétention hydrosodée (118), réduction des IDM (119). Cependant, la publication de Alghambi AA (120) en 2006 qui a réalisé une revue complète de la littérature, a montré qu'il n'y avait pas de preuve clinique de la supériorité d'un flux pulsé vs non pulsé

en termes de mortalité, IDM, d'AVC ou d'insuffisance rénale. Le débat reste toujours ouvert, les partisans des pompes non pulsatiles avancent l'absence de preuves cliniques concrètes et l'excellente tolérance des patients en insuffisance cardiaque terminale et implantés d'une pompe centrifuge (121).

Il existe malgré tout, une preuve évidente du caractère inflammatoire d'un flux non pulsé lorsqu'on s'intéresse à divers marqueurs pro-inflammatoires : activation leucocytaire, cytokines pro-inflammatoires, chaîne terminale du complément (123) ou encore des endotoxines circulantes témoins d'une congestion ou ischémie digestive et corrélées à la durée du clampage aortique et au caractère non pulsatile du flux (11).

4.3. Pulsatilité et microcirculation

4.3.1. Preuve de l'existence de la pulsatilité au niveau de la microcirculation

Comme montré précédemment (Figure 22), il existe une atténuation de la pression pulsée au niveau des artérioles et des capillaires. Cependant, au niveau expérimental, de nombreux auteurs ont rapporté l'existence d'une pulsatilité au niveau de la microcirculation de muscle squelettique (123), pulmonaire (124) ou encore de la conjonctive bulbaire (125). O'Neil montra l'impact local d'un flux non pulsatile au niveau de la microcirculation sublinguale grâce à un système de doppler-laser (OPS=Orthogonal Polarization Spectral Imaging) avec un taux de microvaisseaux perfusés plus importants en cas de flux pulsé et une diminution du nombre de leucocytes locaux activés (126). De la même façon, il a été observé une diminution significative de la perfusion tissulaire de la muqueuse digestive au cours de CEC non pulsé hypothermique en utilisant également un laser doppler. Il existe cependant un biais dans cette étude car la comparaison a été faite entre des groupes CEC en normo- et hypothermie. (127)

4.3.2. Impact de la pulsatilité au niveau de la microcirculation et activation endothéliale

4.3.2.1. Activation endothéliale

Bien que les CE ne rentrent pas directement en contact avec le circuit de CEC, elles sont par contre en contact permanent avec le sang qui y circule et donc les forces qui s'y exercent. Les CE sécrètent plusieurs substances qui sont vasoconstrictrices (endothéline, radicaux libres, thromboxane A2) ou vasodilatatrices (monoxyde d'azote, prostacycline, adénosine, monoxyde de carbone, EDHF) (Figure 27) ;

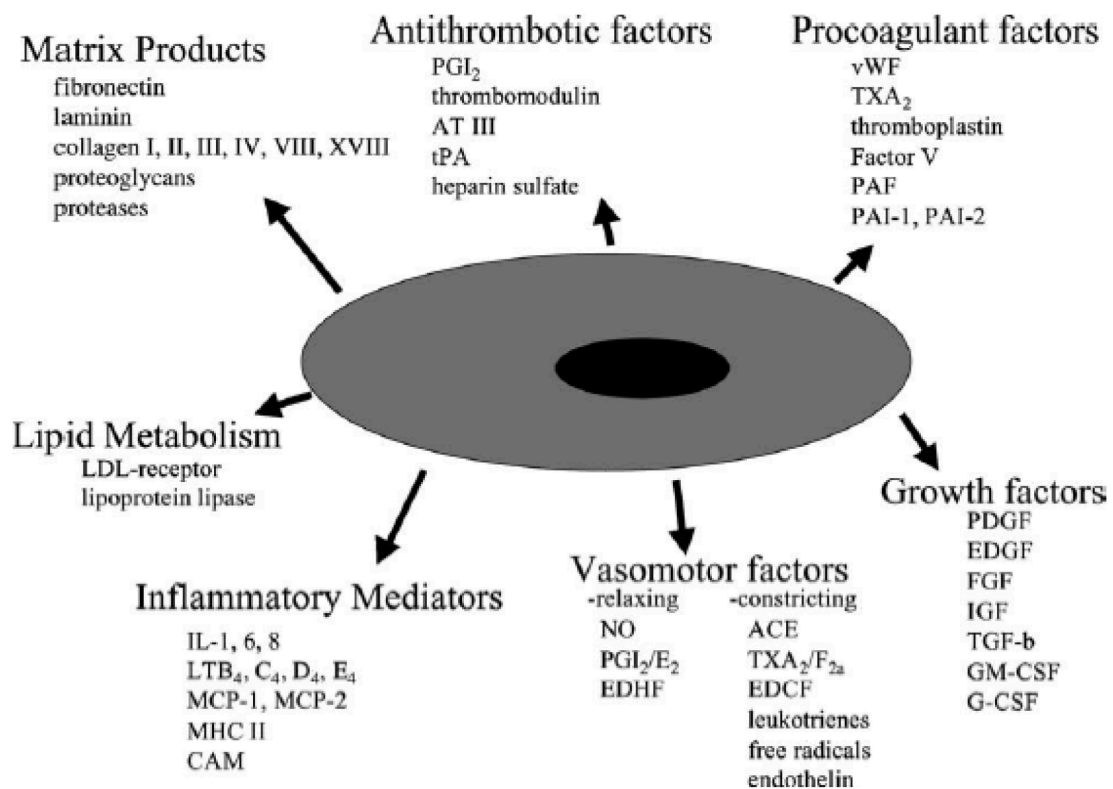


Figure 27 : Principaux facteurs produits par une cellule endothéliale (128)

Au cours de la CEC, les CE vont produire une variété d'agents anticoagulants et hémostatiques (129) dont le sulfate d'héparine, l'AT, la thrombomoduline, la protéine S, le t-PA et enfin l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire FT, un polypeptide monocaténaire qui inhibe le facteur Xa et inhibe le complexe FT-VIIa de la voie extrinsèque (130). Ces substances influencent également le tonus vasomoteur par production ou inactivation du NO, endothéline-1, histamine, noradrénaline et bradykine. L'étude d'Onorati et al. (131) montrait une augmentation des marqueurs d'activation endothéliale (VEGF : vascular growth factor et MCP-1 : monocyte chemo-attractant protein-1) dans les groupes pulsés et non pulsés avec une différence apparaissant entre les 2 dès le début de la CEC (Figure 28).

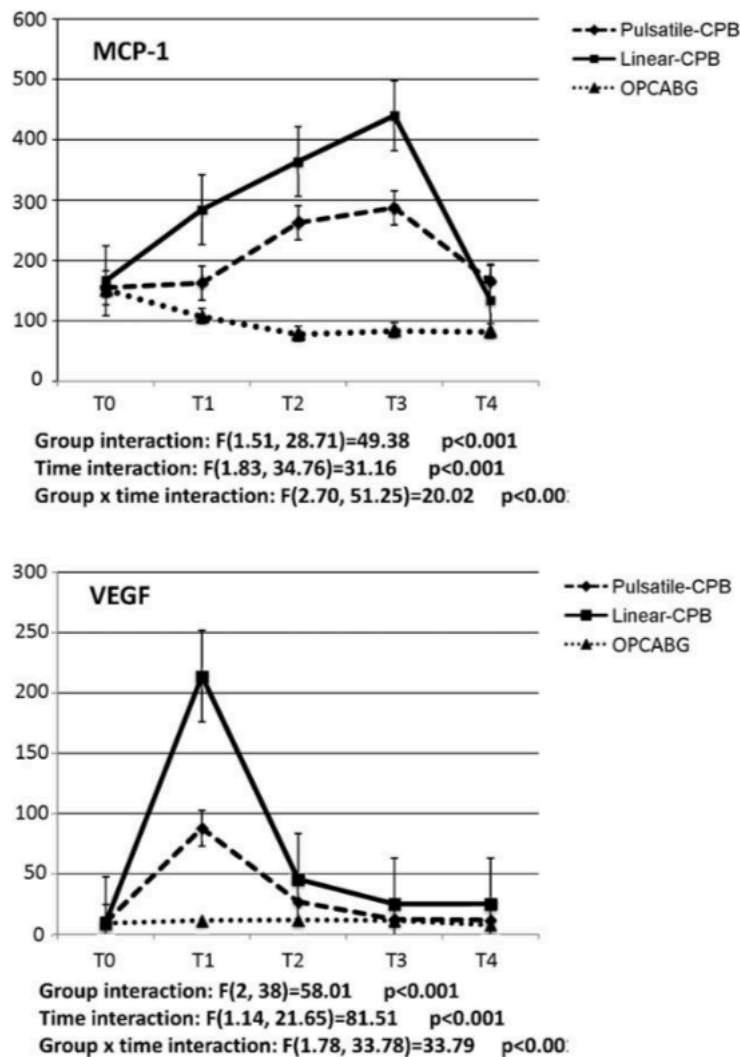


Figure 28 : Evolution des marqueurs endothéliaux au cours d'une chirurgie de pontages

coronaires à cœur battant (OPCABG), CEC pulsatile (Pulsatile-CPB) et CEC non pulsatile (Linear-CPB). T1= avant CEC, T2=fin de chirurgie, T3=H+12, T4=H+24 (ref)

4.3.2.2. Pulsatilité et réactivité vasculaire

L'impact du shear stress sur la paroi vasculaire à l'origine d'une activation des CE et des CMLs va modifier la réactivité vasculaire en particulier au niveau des artères intermédiaires.

L'étude expérimentale réalisée par Pinaud et al. en 2012 (10) a montré, sur des artères mésentériques de rats que la dilatation à un flux pulsé était augmentée et le tonus myogénique était diminué après 180 minutes (soit 3 heures de CEC) en présence d'une perfusion pulsatile.

De la même façon, une réaction inflammatoire intrapariétale (MCP-1, TNF α , stress oxydatif) était observée en présence d'un flux non pulsé dès 30 minutes de CEC. La conclusion de cette étude était que l'absence de pulsatilité dans les artères de résistance induit une réaction inflammatoire locale, une altération du tonus myogénique et dilatation flux dépendante.

Objectifs du travail de thèse

Ce travail de thèse s'est déroulé en trois parties distinctes (Figure 29):

- Etude des solutés de conservation des greffons veineux utilisés en chirurgie coronaire en développant dans un premier temps, un modèle de greffe de veine en position artérielle chez des rats syngéniques. Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire Mitovasc, reconnu pour son expertise sur la microcirculation en particulier artérielle. Dans un second temps, trois groupes de greffons veineux ont été étudiés en fonction de la solution de conservation : Sérum Hépariné, Sang Autologue Hépariné et la solution GALA (Glutathion, Acide Ascorbique, L-Arginine et glucose). Cette dernière solution constitue la solution de référence du service de chirurgie cardiaque du CHU d'Angers depuis 2005 et dont la fabrication est réalisée au sein de la pharmacie hospitalière (Annexe 1). Les principales difficultés de ce projet ont été initialement la mise en place du protocole expérimental, avec un taux de mortalité important dans la population des rats receveurs ce qui a malheureusement limité le nombre de greffons étudiés.

L'article correspondant est en cours de soumission à *Journal of Cardiac Surgery*.

- Revue de la littérature concernant les bénéfices et diminution des complications infectieuses chez les patients opérés de pontages coronaires avec des artères thoraciques internes squelettisées versus pédiculées. Cet article réalisé sous la forme d'un Best-Bet en collaboration avec des étudiants en médecine a été publié à *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*

- Protocole IPATI : Impact des Pompes sur les Artères Thoraciques Internes (ATIs). Quarante-vingt patients programmés pour des pontages coronaires avec utilisation d'au moins une ATI, étaient randomisés en 2 groupes : pompe à galets et pompe centrifuge. Des prélèvements d'ATIs étaient réalisés avant le démarrage de la CEC et juste avant l'anastomose coronaire pendant la phase de clampage aortique. Les prélèvements étaient placés sur myographe afin d'étudier la réactivité vasculaire et une analyse par immunomarquage et RT-PCR permettait

de connaître le statut inflammatoire de la paroi artérielle. Parallèlement, des prélèvements sanguins étaient réalisés au même temps afin de mesurer des marqueurs d'inflammation. Cette étude a été réalisée en collaboration avec le service de chirurgie cardiaque, le laboratoire Mitovasc, le Centre de Ressources Biologiques, le laboratoire d'Immunologie et la Maison de la Recherche Clinique. L'article correspondant est en cours de soumission à *Annals of Thoracic Surgery*

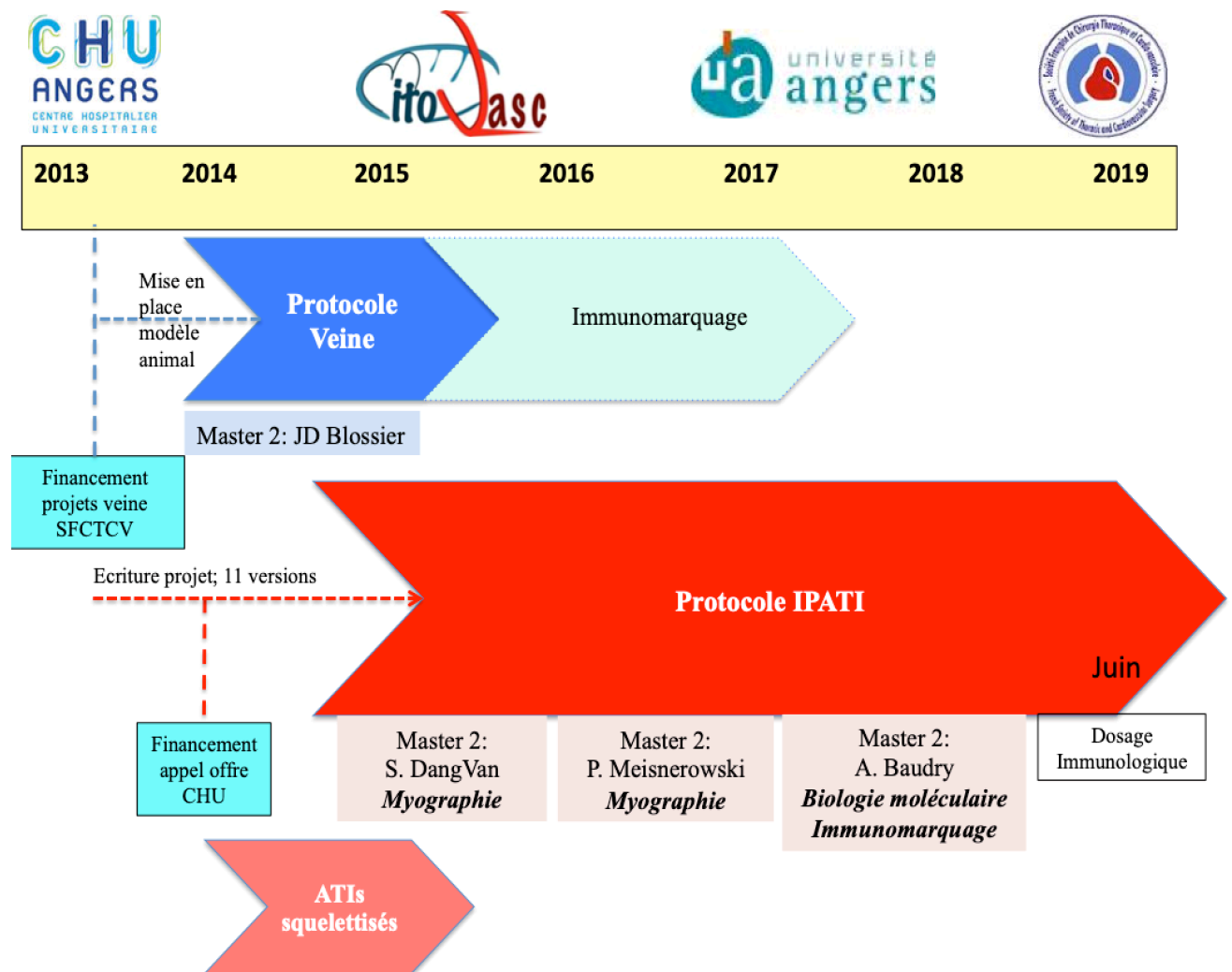


Figure 29 : Déroulement du travail de thèse

Résultats

Article 1

Effects of storage solutions used during coronary surgery on arterialized vein graft in a rat model.

Olivier Fouquet, MD^{a,b}, Jean-David Blossier, MD^{b,c}, Simon Dang Van, MD^{a,b}, Pauline Robert^b, Agnès Barbelivien^b, Frédéric Pinaud, MD, PhD^{a,b}, Patrice Binuani, MD^a, Maroua Eid, MD^a, Daniel Henrion, Pharm, PhD^{b,d}, Christophe Baufreton, MD, PhD^{a,b*}, Laurent Loufrani, PhD^{b,d*}

^a *Department of Cardiac Surgery, CHU Angers, France*

^b *Institute MITOVASC CNRS UMR 6015, INSERM 1083, Angers, France*

^c *Department of Cardiac Surgery, CHU Dupuytren, Limoges, France*

^d *University Hospital of Angers, Angers, France*

Article en soumission

Résumé

Les cardiopathies ischémiques restent la principale cause de décès dans les pays développés et l'augmentation de l'espérance de vie majore son incidence. La chirurgie de revascularisation coronaire est considérée comme le meilleur traitement dans la plupart des cas. Le succès de l'approche chirurgicale dépend du taux de perméabilité à long terme des greffons utilisés. L'utilisation de veines saphènes reste un des greffons les plus usuels mais avec un taux d'occlusion précoce variant de 15% à 26%, en lien avec un dysfonctionnement du greffon. Les principales étiologies d'occlusion précoce sont les erreurs techniques chirurgicales, le faible débit, la thrombose et le vasospasme. À court terme, une défaillance du greffon peut apparaître, caractérisée histologiquement par une hyperplasie de l'intima (IH) correspondant à une prolifération de cellules musculaires lisses (SMC) et un dépôt de matrice extracellulaire (MEC) dans l'intima. Un mécanisme d'athérosclérose est alors observé avec un risque de thrombose veineuse. Afin de préserver la qualité, la viabilité et la fonctionnalité des cellules endothéliales (CE) du greffon saphène (SVG), des solutions de conservation ont été évaluées in vitro. La solution GALA (glutathion, acide L-ascorbique, L-arginine et glucose ; pH = 7,4) comparé à d'autres solutions (sérum physiologique et sang autologue additionné d'héparine) semble maintenir la fonction endothéliale et la viabilité structurelle des greffons pendant 1 à 24 heures de conservation. Quand la veine est exposée à un flux artériel, des forces hémodynamiques telles que le shear stress et cyclic strain s'exercent sur sa paroi entraînant une activation des CE.

Le but de cette étude était d'évaluer les effets des solutions de conservation de la veine saphène : HS (solution héparinée), AHB (solution autologue héparinée) et GALA lorsque'elles sont implantées dans un flux artériel. Nous avons émis l'hypothèse que cette dernière solution pourrait préserver la viabilité structurelle et fonctionnelle endothéliale d'une veine cave inférieure implantée en position aortique dans un modèle de rats syngéniques.

Effects of storage solutions used during coronary surgery on arterialized vein graft in a rat model.

Olivier Fouquet, MD^{a,b}, Jean-David Blossier, MD^{b,c}, Simon Dang Van, MD^{a,b}, Pauline Robert^b, Agnès Barbelivien^b, Frédéric Pinaud, MD, PhD^{a,b}, Patrice Binuani, MD^a, Maroua Eid, MD^a, Daniel Henrion, Pharm, PhD^{b,d}, Christophe Baufreton, MD, PhD^{a,b*}, Laurent Loufrani, PhD^{b,d*}

*The last two authors contributed equally to the study.

^a Department of Cardiac Surgery, CHU Angers, France

^b Institute MITOVASC CNRS UMR 6015, INSERM 1083, Angers, France

^c Department of Cardiac Surgery, CHU Dupuytren, Limoges, France

^d University Hospital of Angers, Angers, France

Corresponding author:

Olivier Fouquet, MD

Department of Cardiac Surgery, University Hospital of Angers, France

4 rue Larrey, 49933 Angers Cedex 9, France

E-mail: olfouquet@chu-angers.fr

Keywords: coronary artery bypass grafting, venous graft, storage solutions, vascular reactivity

Word count: 3787

Abstract

Background: To compare the effects of storage solutions commonly used in coronary artery bypass grafting on the vascular reactivity in vein graft interposed into arterial position in syngeneic rats.

Methods: Twenty-seven male Lewis rats were sacrificed to sample a vein graft implanted 6 weeks ago into abdominal aorta position. The vein grafts were inferior venae cavae initially pretreated with heparinized saline solution (HS) or autologous heparinized blood (AHB) or our referent solution, GALA.

Results: At 6 weeks, graft thrombosis occurred respectively in 22% of AHB group, 62.5% in the HS group and 82.5% in the GALA group. In each group, significant intimal hyperplasia was observed. After 6 weeks, an endothelium-remodeling layer associated with an increase of wall thickness was observed in each group. Endothelium-dependent tone was reduced in the vein graft regardless of the group. No difference was observed concerning the Reactive Oxygen Species (ROS) in vein graft between the different groups. In distal aortic sections, ROS levels were increased in HS and GALA groups.

Conclusions: Storage solutions used in this experimental model of vein graft implanted in arterial position cause graft injury and a complete disappearance of vascular reactivity. GALA solution did not reduce intimal hyperplasia when the vein graft was exposed to arterial flow in a rat model.

INTRODUCTION

Ischemic heart disease remains the leading cause of death (1) in developed countries and higher life expectancy increases its incidence. Coronary artery bypass grafting (CABG) is considered the best treatment in most cases (2). The success of surgical approach depends on the long-term patency rate of the grafts used. Saphenous vein graft remain the most frequently conduit used in CABG but early occlusion rates were reported ranged from 15% to 26% at one year resulting of vein graft dysfunction (3). The principle etiologies of early postoperative graft failure are technical operative errors, low flow, thrombosis and vasospasm. At mild term a graft failure can appear and it is histologically characterized by an intimal hyperplasia (IH) which is a proliferation of smooth muscle cells (SMC) and a deposition of extracellular matrix (ECM) in the intima. An atherosclerosis mechanism is observed with a risk of vein graft thrombosis (4).

To preserve the SVG quality as well as endothelial cells (EC) viability and functionality, some intraoperative graft storage solutions have been evaluated in-vitro (5, 6) and some were developed for vascular conduit preservation (7,8), GALA, being widely recognized in this purpose. Thatte and colleagues evaluated the effect of GALA solution (Glutathione, L-ascorbic acid, L-arginine and glucose ; pH=7.4) compared to other solutions (saline and autologous blood with added heparin). According to this study and using multiphoton imaging (9), GALA maintained the endothelial function and structural viability of the grafts for 1 to 24 hours of storage. A substudy of the PREVENT IV randomized trial demonstrated that buffered saline solution had lower vein graft failure rate studied by angiography 12 to 18 months after surgery and better clinical outcomes compared to saline or autologous blood solutions (10).

When venous graft is exposed to the arterial blood flow, haemodynamic strengths (shear stress (SS) and cyclic strain (CS)) are applied on the vascular wall. The impact of SS on EC depends on the type flow applied on the venous graft. A disturbed flow (low or reciprocating SS) increases DNA synthesis, adhesive molecules expression, inflammatory response and chemokine genes activation (11). EC morphology is modified to a polygonal shape and oxidative stress production are increased (11). Arterial blood flow increases the adhesive proteins (integrin, PECAM-1, VE-cadherin) failure and exposes the SMC and fibroblasts to the flow (12). Pulsatile flow increases the SMC proliferation eased

by vascular wall permeability. Shear stress regulates SMC and fibroblasts migration from the media and the adventice layers to the intima participating in the IH process (13).

IH occurs in approximately 50% of SVG and is characterized by SMC migration from the media to the intima through metalloproteinase (MMPs) activation (14). Vein graft failure response to hypoxia-reoxygenation injury associates mechanisms of vasospasm, adhesion cascade, ROS (Reactive Oxygen Species) production, platelet aggregation, endothelial cells loss, and shear stress stimulation during the first week (15).

After EC activation, inflammatory response occurs into the intimal layer with neutrophil and monocytes cells accumulation, SMC migration and ECM remodeling (14). These mechanisms could have a key-role in atherosclerosis development and early graft occlusion (14).

The aim of this study was to evaluate the effects of saphenous vein storage solutions: HS (Heparinized Solution), AHB (Autologous Heparinized Solution) and GALA. We hypothesized that this formulated storage solution could preserve the endothelial structural and functional viability of the vein on an inferior vena cava implanted with termino-terminal sutures in the aortic infrarenal position.

MATERIALS AND METHODS

Figure 1 shows the flowchart of the different steps

Preservation solution

The inferior venae cavae grafts were randomly stored in the different preservation solutions at room temperature (20°C) before implantation. Three different storage solutions were used for the ex-vivo preservation of explanted veins. Vein grafts were stored in one of the following solutions: autologous heparinized (40 UI/ml heparin choay) blood (AHB), 0.9% sodium chloride heparinized (40 UI/ml heparin choay) serum (HS); GALA solution (gluthion, ascorbic acid, L-arginine) prepared at the hospital pharmacy which constitutes in our institution the referent storage solution used in CABG for vein grafts. GALA solution was composed of physiologic salt solution to which was added: 0.02 ml magnesium sulfate, 1.785 mg potassium hydrogenophosphate, 0.03 ml magnesium chloride, 0.042 ml calcium chloride, 0.08 ml potassium chloride, 5000 UI/ml heparin choay, L-ascorbic acid (1g/500 ml),

0.6 ml glucose 5%, 0.75 ml sodium bicarbonate, 1.2 ml sodium chloride, 1.5 ml L-arginine as a substrate for endothelial nitric oxide synthetase (eNOS) and 2.7 ml glutathion. The inferior vena cava segments were collected from 27 donor rats.

Animals

Inbred male LEWIS (Albino rat, *a/a*, B/B, Tyr^c/Tyr^c, h/h – MHC: RT1[']) rats weighting 337±17g and aged 12.8±0.75 weeks (JANVIER LABS, Le Genest Saint Isle, France) were housed in a regulatory pet. No exogenous immunosuppressive drug therapy was employed. All procedures were performed according to the guidelines of the Institutional Animal Care and approved by the Ministère Français de l'enseignement Supérieur et de la Recherche (authorization number december 2014: 000375.01).

Surgical harvest and implantation of the vein graft

27 donor rats were anaesthetized (isoflurane 5%) and pretreated with buprenorphine (Temgesic ; 0.1ml/100 g S.C). A large incision through the abdominal wall allowed to expose the inferior vena cava and the abdominal aorta. The different branches of the vein were ligatured with 8-0 monofilament Prolene[®]. The donor rats were sacrificed in a CO2 chamber. The inferior vena cava was stored in a preservation solution (9 in AHB, 9 in HS and 9 in GALA) previously described. Each vein was carefully flushed with the storage solution. A segment of the vena cava was stored in PSS for myography after one hour in one of the preservation solutions (Control vein).

27 recipient rats were anaesthetized and pretreated as described. The abdominal aorta was exposed, isolated from the adjacent inferior vena cava and controlled with a loop between the renal arteries and the aorta bifurcation. The aorta was clamped and an arterial segment was removed. Heparin injection (300 UI/kg) was performed during the procedure. The vein graft was interposed into the recipient's abdominal aorta, an end-to-end anastomosis was then established between the donor and the recipient vessels, respectively, using a running 9-0 monofilament suture Prolene[®] at x10 magnification (Figure 2). At the end of this procedure, the clamps were removed, the patency of transplanted graft was confirmed and blood supply to the pelvis and lower extremities was restored. Rats were placed in an incubator at 29°C for 20 minutes until fully awake and monitored for signs of lower limb ischemia, hemorrhage and pain. Antibiotics were administrated for 7 days (Bactrim 2.5 ml per liter of drinking water). All procedures were performed by the same cardiac surgeon.

Transplanted vein graft examination

At 6 weeks after transplantation, under anaesthesia, the abdomen was exposed, previously implanted vein grafts with a proximal and distal segments of the aorta were removed and subsequently divided into five segments of commensurate length: two segments (proximal aorta and vein graft) were stored in a 10 ml organ bath containing a physiologic salt solution (PSS) for myography and three segments (proximal aorta, distal aorta and vein graft) were cooled in liquid nitrogen and stored at - 80°C for histology and immunohistochemistry.

Vascular reactivity

Myography: for each sacrificed recipient rat, 3 fresh segments of distal aorta, vein graft and control vein stored in PSS were analyzed. At day+1, the fresh segments were mounted on a wire-myograph (DMT, Aarhus, DK) as previously described (16). Briefly, 2 tungsten wires (25 µm diameter) were inserted in the lumen of the grafts and connected to a force transducer and a micrometer, respectively. Vascular grafts were bathed in the PSS described above. A wall tension, equivalent to the intra-arterial tension (20 mN for aortic segment and 5 mN for control vein and vein graft segments), was applied corresponding or equivalent to arterial blood pressure at 0 mmHg. Vessels were allowed to stabilize for twenty minutes. Contractility was assessed with phenylephrine (PE 10⁻⁶ M). Acetylcholine (Ach 10⁻⁶ M) induced relaxation was then obtained after phenylephrine-induced precontraction (50% of maximal contraction). Vascular response to PE (from 10⁻⁹ M to 10⁻⁵ M), Ach (from 10⁻⁹ M to 10⁻⁵ M) and SNP (Sodium Nitroprussiate) (from 10⁻⁹ M to 10⁻⁵ M) were studied.

Histology

Vascular segments were embedded in paraffin and cooled at -80°C. Sections (7 µm thickness) were obtained from the fixed arterial segments and stained with orcein to visualize elastic fibers. External diameter, lumen diameter, and media thickness were determined after images acquisition (Olympus T100 microscope, Sony Camera) and analyzed using the HistoLab Software (Microvision, Paris, France) for cross-sectional area (CSA) calculation as previously described (17).

Detection of Reactive Oxygen species detection using confocal microscopy

As previously described (18), dihydroethidium staining (DHE, Sigma-Aldrich) was used to evaluate the *in situ* levels of superoxide anions (O₂⁻). DHE penetrates cells and is oxidized by superoxide (O₂⁻)

into fluorescent products that are trapped by intercalation into the DNA. Sections were incubated with DHE (1 $\mu\text{mol/L}$) in phosphate-buffered solution (PBS) and DAPI (4',6'-diamidino-2-phénulindole-Molecular probes, Invitrogen) for nuclear cells at 37°C for 30 min in a humidified chamber protected from light. Fluorescent images of ethidium bromide were obtained using a confocal microscope (Nikon) and quantified with the ImageJ (NIH) software. The different studied sections were: vein graft and distal aorta samples.

Statistical analysis

Data were reported as mean \pm standard error the mean unless indicated otherwise. Parried two-tailed t-tests or Mann-Whitney test were conducted to assess the statistical significant of each experiment using Graphpad Prism software (La Jolla, Calif). P value of $\leq .05$ was considered statically significant.

RESULTS

Surgery and occlusion rate of the venous graft

The mean duration of venous storage and duration of surgery, the weight gain during the follow-up were presented in the Table 1. At 6 weeks, the mortality was 0/9 in the HS group, 1/9 in the AHB group and 3/9 in the GALA group.

Among rats alive, thrombosis occurred respectively in 2/9 (22%) grafts of AHB group, 5/8 (62.5%) in the HS group and 5/6 (83.3%) in the GALA group (Figure 3). The suture analysis showed no proximal nor distal anastomoses stenosis.

Histology

The wall thickness of control vein was $17.75 \pm 3 \mu\text{m}$ in the HS group, $16.3 \pm 4 \mu\text{m}$ in the AHB group and $17.3 \pm 5 \mu\text{m}$ in the GALA group (NS). The wall thickness of vein grafts was $105 \pm 32 \mu\text{m}$ (+ 83.1% compared with wall thickness of control vein) in the HS group, $101 \pm 25 \mu\text{m}$ (+ 83.9%) in the AHB group and $107 \pm 31 \mu\text{m}$ (+ 83.8%) in the GALA group (NS). The orcein staining showed an important intimal hyperplasia in the vein graft with a disappearance of endothelium layer and a structural media failure regardless the preservation solution used (Figure 4). The distal aorta retains its histological architecture in each group. An intraluminal fibrosis was observed in the occluded grafts (Figure 3).

Myography

Because of the small number of permeable vein grafts at 6 weeks, the analysis concerned the average of the three preservation solutions groups.

Phenylephrine induced a significant contraction in the aorta ($3 \cdot 10^{-8}$ $\mu\text{mol/L}$), about 50% in the control vein (between 10^{-6} and $3 \cdot 10^{-6}$ $\mu\text{mol/L}$). No contraction was observed on the vein graft except for high doses of phenylephrine (10^{-5} $\mu\text{mol/L}$).

Acetylcholine did not induce dilatation neither in the control vein nor the aorta or the vein graft.

Sodium nitroprusside induced a significant dilatation in the control vein compared to the vein graft ($p < 0.01$) (Figure 5).

ROS detection

In venous graft sections, there was no difference concerning the superoxide formation evaluated by ethidium bromide-enhanced fluorescence (Figure 6A). Moreover, in distal aorta sections, superoxide levels were significantly higher in HS group than AHB and GALA groups (Figure 6B).

DISCUSSION

The present study describes the effects of heparinized saline solution, autologous heparinized blood solution and GALA solution on vein graft implanted in arterial position in a rat model. We developed a surgical approach of venous bypass grafting using end-to-end anastomosis of the inferior vena cava implanted into infra-renal aorta, which is relevant to current research on vein graft failure and intimal hyperplasia (IH). The aim of this surgical model was to present the effects of storage solutions commonly used for CABG on the integrity of the venous graft.

Focus of the model

Models of venous grafting in the arterial position have been used to improve the patency of grafts in humans (19, 20) which is especially relevant in CABG. Goldman et al. (21) reported saphenous vein graft patency of 60% or more at 10 years postoperatively in humans. Animal models are useful to analyze the pathology of vein graft disease and to test therapeutic strategies in vivo (22). In large animals such as pigs and dogs, the model consists of an interposition of saphenous and jugular veins into common carotid artery. Wan et al. reported rate patency at 4 weeks (23) with saphenous vein-

common carotid artery interposition model in large white swine. In rats, different models of inferior vena cava into abdominal aorta interposition have been described as superficial epigastric vein into femoral artery interposition or ileolumbar vein into the abdominal aorta interposition (24). In the surgical model proposed by Sun Q et al., the vein graft was interposed into the recipient's abdominal aorta using microsurgical techniques in a latero-terminal configuration, and the aorta of the recipients was then ligated between the two anastomoses (24) while we developed an end-to-end anastomosis technique aligning vein and arterial endothelial cells in direction of arterial blood flow, therefore minimizing the effects of shear stress. The vena cava was harvested using state-of-the-art and optimal handling techniques (same surgeon, atraumatic surgical technique, avoiding excessive handling and distorsion) in order to reduce traumatic damage to the endothelium layer, which is the first step of the graft failure. The main difficulty in vein graft transplantation was the vein wall's thickness. In fact, the texture of the vein issued from its storage solution makes the wall extremely fine.

Vein graft analysis at 6 weeks

Saphenous vein graft (SVG) represents an autologous transplantation, as it is explanted, preserved in storage solution into a cup at room temperature and then implanted in arterial system. In clinical practice, the duration of vein graft storage corresponding to the warm ischemia tissue was difficult to evaluate because no data are published. Some surgeons do not store SVG before creating the anastomoses and develop the concept of "no-touch technique" with excellent graft patency (25). In contrast to what is done for solid organs destined for allotransplantation, where different preservation solutions were developed such as University of Wisconsin solution for pancreas or Celsior solution for heart, the normal saline solution was the first storage solution for SVG. O'Connell et al. demonstrated that 2 hours of saline infusion produced an IH (26). In the present study, the duration of vein storage in the different solution was high as to allow preparation of the recipient rat following vein graft harvesting but no relation was found between storage duration and importance of IH. Recently, other study showed that duration of storage time in solution did not lead to smooth muscle or endothelial dysfunction (9). None of the storage solutions used in this study has reduced the intimal hyperplasia. In fact, we observed a significant increase of the wall thickness and histological signs of fibrosis. No histological sign of atherosclerosis was observed because of early harvest. Among the occluded vein,

only an important IH could explain the vein graft occlusion at 6 weeks. Similar results were observed in the study published by Wong et al. who performed arteriovenous fistula in a murine model and then collected for analysis at 7, 14 and 28 days postoperatively (27). They found significant changes in the intima at 7 days and a significant hyperplasia was observed at 14 days. Sun et al. investigated the efficacy of oral administration of hydrogen-rich water (HW) for prevention of intimal hyperplasia concerning inferior vena cava placed as an interposition graft in the abdominal aorta. The vein grafts were analyzed at 1 week and 6 weeks. Six weeks after bypass procedure, all vein grafts presented SMC and collagen deposits, macrophage infiltration but significantly less in the rats that consumed HW. At 1 week, scanning electron microscopy revealed significant endothelial denudation with platelets and leucocytes deposits as well as micro thrombi but less in the HW group (24). In our study, the rate of occluded vein grafts among them was greater in the GALA group than AHB and saline solution groups. GALA solution is based on a physiological salt solution and contains glutathione and L-ascorbic acid, antioxidant and arginine, a substrate for NOS (Nitric Oxide Synthetase) in EC to protect the endothelium against ischaemic injury during storage. The analysis of GALA effects on EC showed a protecting endothelial structure and function (9). According to our results, we cannot conclude that GALA solution protects the endothelial layer in this rat model. These results should be interpreted with caution if we extrapolated them in human. The occluded vein graft rate at 6 weeks is low after coronary bypass but probably storage solutions did not limit vascular remodeling during the chronic intimal hyperplasia (stage III), their benefits intervening during the first weeks.

Referring to an “arterialized vein” might suggest the possibility that a venous graft could have the characteristics and contractile function of an artery. Many studies showed that intimal hyperplasia is an adaptative mechanism following arterialization of the vein and is unlikely linked to vein graft thrombosis (28). Regardless of the storage solution, we showed that vein grafts mounted on a wire-myograph did not present any vascular reactivity because of the complete loss of endothelium function. Moreover when pre-contraction was initiated by phenylephrine infusion, no aortic dilatation was observed. However, we observed attenuated endothelial responsiveness to acetylcholine while histological architecture seems to be intact. The implication of the shear stress in vascular biology and inflammation was described by Touys *et al.* (29). All vascular cell types produce reactive oxygen

species (ROS) that regulate vascular function by modulating cell growth, apoptosis, migration, inflammation and extracellular matrix protein production. Oxidative stress and associated oxidative damage are mediators of vascular injury and inflammation, and constitute the first steps of atherosclerosis development (14). In the present study, we observed an important oxidative stress in the different vein graft segments analyzed. The inflammatory response into the vein wall due to shear stress was also observed in arterial samples explaining the vascular function damage. These results should be interpreted with caution because of the small number of permeable vessels at 6 weeks. In the presence of high levels of sodium nitroprusside, a dilatation was observed in the control vein group. Saad Enouri et al. studied characteristics of myogenic reactivity in isolated rat mesenteric veins. The integrity of the endothelium was assessed by a dilator response to acetylcholine in phenylephrine-precontracted veins. The veins were able to develop significant myogenic tone that appears greater over the low-to-intermediate pressure ranges but mesenteric veins did not demonstrate myogenic responses unlike mesenteric arteries (30). Our study suggests that the control vein presents a vascular reactivity in contrary to the vein graft pretreated with the storage solutions and exposed to the arterial flow.

Limitations of the study

This study had several limitations. The high number of occluded vein grafts reduced the possibilities of analysis. Moreover, intermediate analysis of the vein grafts should have been performed in order to explain the mechanisms of vascular inflammation in relation of each group. Due to the small number of vein grafts sections we combined data from all storage solution groups in order to compare vascular reactivity to each solution.

These results suggest that the storage solutions commonly used in coronary surgery especially the GALA solution do not protect the vein graft exposed to an arterial blood flow from the development of intimal hyperplasia in a rat model of venous bypass.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the local care unit of the University of Angers and Pauline Robert, Agnès Barbelivien for their kind help in ROS detection practice.

Funding

This work was supported by a research grant from the French Society of Thoracic and CardioVascular Surgery (SFCTCV: Société Française de Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire, Paris, France).

Disclosure: these authors declare that there is no conflict of interest concerning this research.

REFERENCES

1. World Health Organization. The top 10 causes of death. World health statistics 2012. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>. Accessed May 2014.
2. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J*. 2018 Aug 25 ;35(37) :2541-619
3. Thatte H, Khuri S. The coronary artery bypass conduit : Intraoperative endothelial injury and its implication on graft patency. *Ann Thorac Surg* 2001 ; 72 : S2245–52.
4. Davies MG, Hagen PO. Pathophysiology of vein graft failure: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1995;9:7-18.
5. Wise ES, Hocking KM, Eagle S et al. Preservation solution impacts physiologic function and cellular viability of human saphenous vein graft. *Surgery* 2015 ; 158 : 537-46
6. Tsakok M, Montgomery-Taylor S, Tsakok T. Storage of saphenous vein grafts prior to coronary artery bypass grafting: is autologous whole blood more effective than saline in preserving graft function? *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2012 Oct;15(4):720-5.
7. Wilbring M, Tugtekin SM, Zatschler B, Ebner A, Reichenspurner H, Matschke K, et al. Even short-time storage in physiological saline solution impairs endothelial vascular function of saphenous vein grafts. *European journal of cardio-thoracic surgery: official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2011;40:811–5

8. Kay MD, Hosgood SA, Harper SJ, Bagul A, Waller HL, Nicholson ML. Normothermic versus hypothermic ex vivo flush using a novel phosphate-free preservation solution (AQIX) in porcine kidneys. *The Journal of surgical research*. 2011;171:275–82.
9. Thatte HS, Biswas KS, Najjar SF, Birjiniuk V, Crittenden MD, Michel T, Khuri SF. Multi-photon microscopic evaluation of saphenous vein endothelium and its preservation with a new solution, GALA. *Ann Thorac Surg*. 2003 Apr;75(4):1145-52; discussion 1152
10. Harskamp RE, Alexander JH, Schulte PJ et al. Vein graft preservation solutions, patency, and outcomes after coronary artery bypass graft surgery: follow-up from the PREVENT IV randomized clinical trial. *JAMA Surg* 2014;149:798-805.
11. Chiu, J.-J. & Chien, S., 2011. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives. *Physiological Reviews*, 91(1), p.327–387.
12. Ingber D.E, 2008. Tensegrity and mechanotransduction. *Journal of Bodywork and Movement Therapies*, 12(3),p.198-200.
13. Shigematsu, K. et al, 2000. Direct and indirect effects of pulsatile shear stress on the smooth muscle cell. *International Angiology: A Journal of the International Union of Angiology*, 19(1), p.39–46.
14. Ward AO, Caputo M, Angelini GD, George SJ, Zakkar M. Activation and inflammation of the venous endothelium in vein graft disease. *Atherosclerosis* 2017 Oct ;265 :266-274
15. M.J. Osgood, K.M Hocking. I.V Voskresensky, F.D. Li, P. Komalavilas, J. Cheung-Flynn, C.M. Brophy. Surgical vein graft preparation promotes cellular dysfunction, oxydative stress, and intimal hyperplasia in human saphenous vein. *J. Vasc. Surg.* 60 (2014) 202-211
16. D. Henrion, I Laher and J.A Bevan. Intraluminal flow increases vascular tone and 45 Ca^{2+} in flux in the rabbit fascial vein. *Circulation Research*, vol.71, no 2, pp. 339-345,1992.
17. Vessières E, Belin de Chantemèle EJ, Guihot AL, Jardel A, Toutain B, Loufrani L, Henrion D. Cyclooxygenase-2-derived prostanoids reduce inward arterial remodeling induced by blood flow reduction in old obese Zucker rat mesenteric arteries. *Vascul Pharmacol*. 2013 May-Jun;58(5-6):356-62.

18. Bouvet C, de Chantemele EB, Guihot AL, Vessieres E, Bocquet A, Dumont O *et al.* Flow-induced remodeling in resistance arteries from obese Zucker rats is associated with endothelial dysfunction. *Hypertension* 2007 ;50 :248-254.
19. Thomas A. Animal models for studying vein graft failure and therapeutic interventions. *Curr Opin Pharmacol* 2012 ; 12 : 121-126
20. Shukla N, Jeremy JY, Pathophysiology of saphenous vein graft failure: a brief overview of interventions. *Curr Opin Pharmacol* 2012, 12 : 114-120
21. Goldman S, Zadina K, Moritz T et al. Long term patency of saphenous vein and left internal mammary artery grafts after coronary artery bypass surgery : results from a Department of Veterans Affairs Cooperative Study. *J Am Coll Cardiol* 2004 ; 44 : 2149-56
22. Schachner T, Laufer G, Bonatti J. In vivo (animal) models of vein graft disease. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006, 30 : 451-463
23. Wan S, Yim AP, Johnson JL et al. The endothelin 1A receptor antagonist BSF 302146 is a potent inhibitor of neointimal and medial thickening in porcine saphenous vein-carotid artery interposition grafts. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004 ; 127 : 1317-22
24. Sun Q, Kawamura T, Masutani K et al. Oral intake of hydrogen-rich water inhibits intimal hyperplasia in arterialized vein grafts in rats. *Cardiovasc Res* 2012 : 94 ; 144-153
25. Samano N, Geijer H, Liden M, Fremes S, Bodin L, Souza D. The no-touch saphenous vein for coronary artery bypass grafting maintains a patency, after 16 years, comparable to the left internal artery: A randomized trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2015 Oct;150(4):880-8.
26. O'Connell TX, Sanchez M, Mowbray JF, Fonkalsrud EW. Effects on arterial intima of saline infusions. *The Journal of surgical research.* 1974;16:197-203
27. Wong CY, de Vries MR, Wang Y, van der Vorst JR, Vahrmeijer AL, Zonneveld AJ et al. Vascular remodeling and intimal hyperplasia in a novel murine model of arteriovenous fistula failure. *J Vasc Surg* 2014 ; 59(1) :192-201.

28. Yahagi K, Kolodgie FD, Otsuka F, Finn AV, Davis HR, Joner M et al. Pathophysiology of native coronary, vein graft, and in-stent atherosclerosis. *Nature Reviews Cardiology*. 2015;13:79.
29. Touyz RM, Schiffrin EL. Reactive oxygen species in vascular biology: implications in hypertension. *Histochem Cell Biol*. 1 oct 2004;122(4):339-52.
30. Enouri S, Monteith G, Johnson R. Characteristics of myogenic reactivity in isolated rat mesenteric veins. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011 Feb;300(2):R470-8

LEGENDS

Figures

Figure 1 : Study flow-chart

Figure 2: Schematic representation of the surgical procedure. Each diagram represents the essential steps of bypass grafting.

Figure 3: A Mann-Whitney test was used to compare the different groups. Occluded grafts rate was higher in the GALA group than HS group ($p=0.04$) and AHB group ($p=0.58$)

Figure 4: Results of arterial blood exposition during 6 weeks (orcein staining). The distal aorta (A, F, I) retains its histological architecture. An important intimal hyperplasia was observed in the vein graft (B, E, H) with a disappearance of endothelium layer and a structural media failure regardless the preservation solution group.

Figure 5: Dilatation induced by increasing dose of Acetylcholine (Figure 3A) in phenylephrine precontracted vein (Figure 3B) was not observed in the different vessels. Dilatation induced by increasing dose of sodium nitroprusside was observed in the control vein (Figure 3C). Data are presented as mean \pm SEM (vein graft, $n=11$; control vein, $n=27$; aorta, $n=23$). Double asterisk indicates $P<0.01$ for vein control vs vein graft.

Figure 6: Superoxyde production in the different groups is shown in the bar graphs for venous grafts section (A) and for distal aorta sections (B).

Table

Table 1: Surgical data

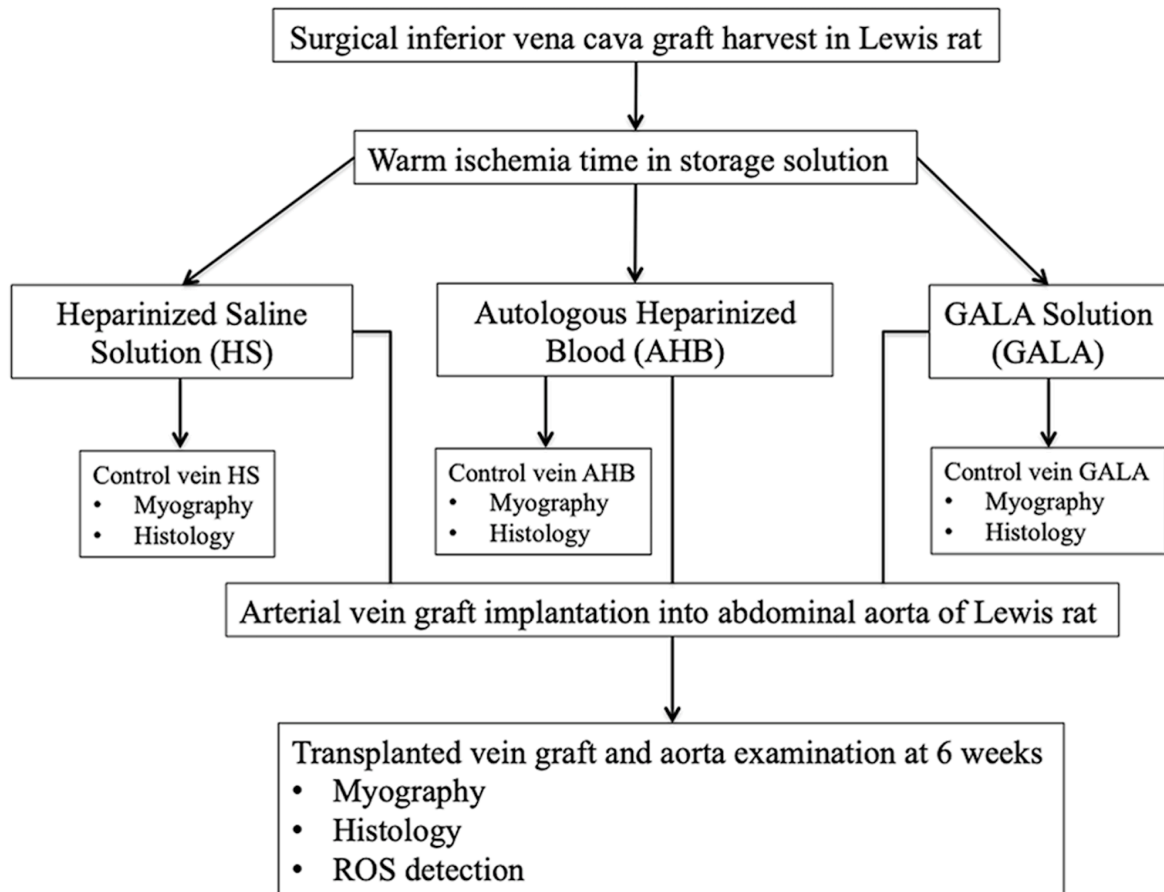


Figure 1

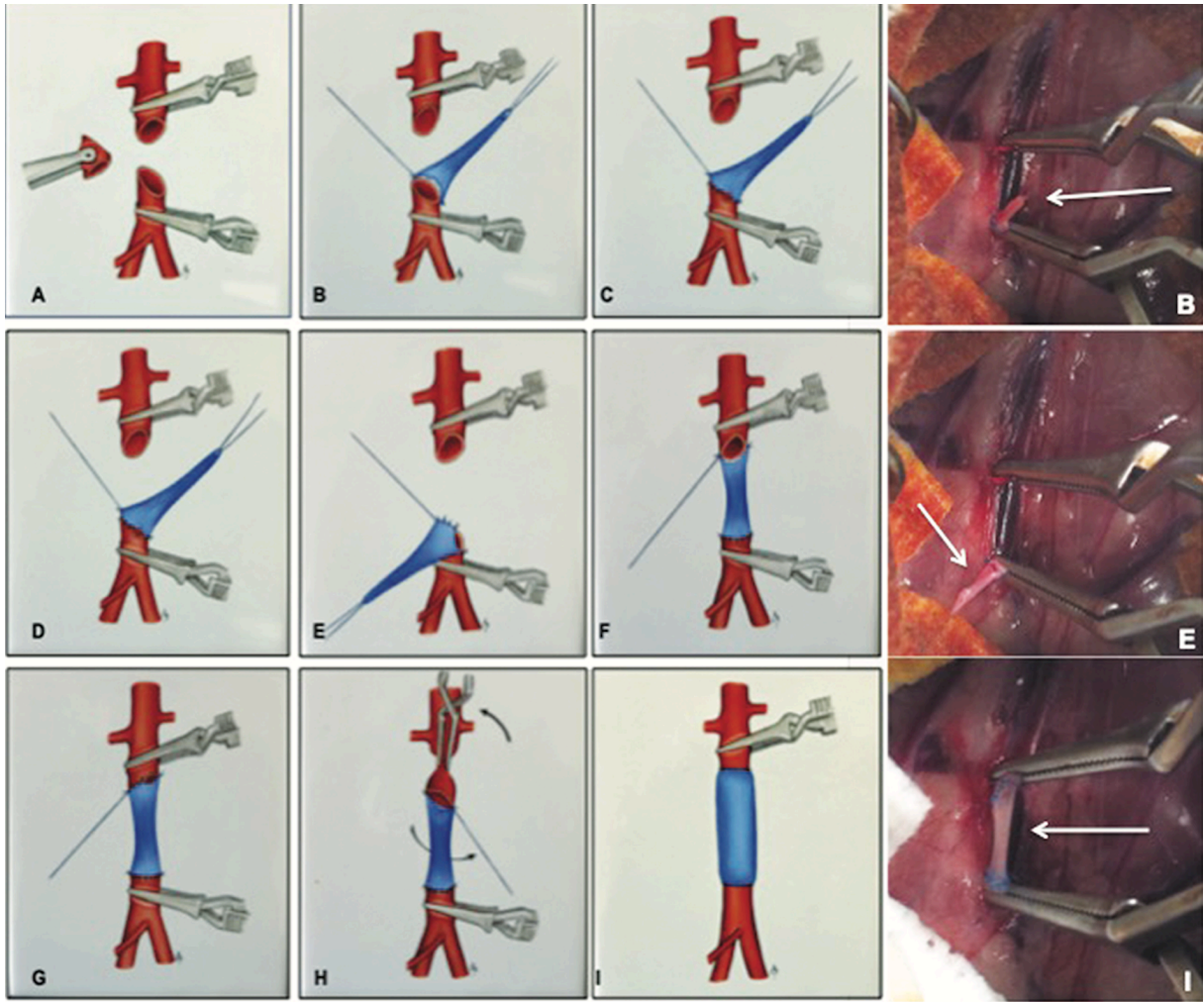


Figure 2

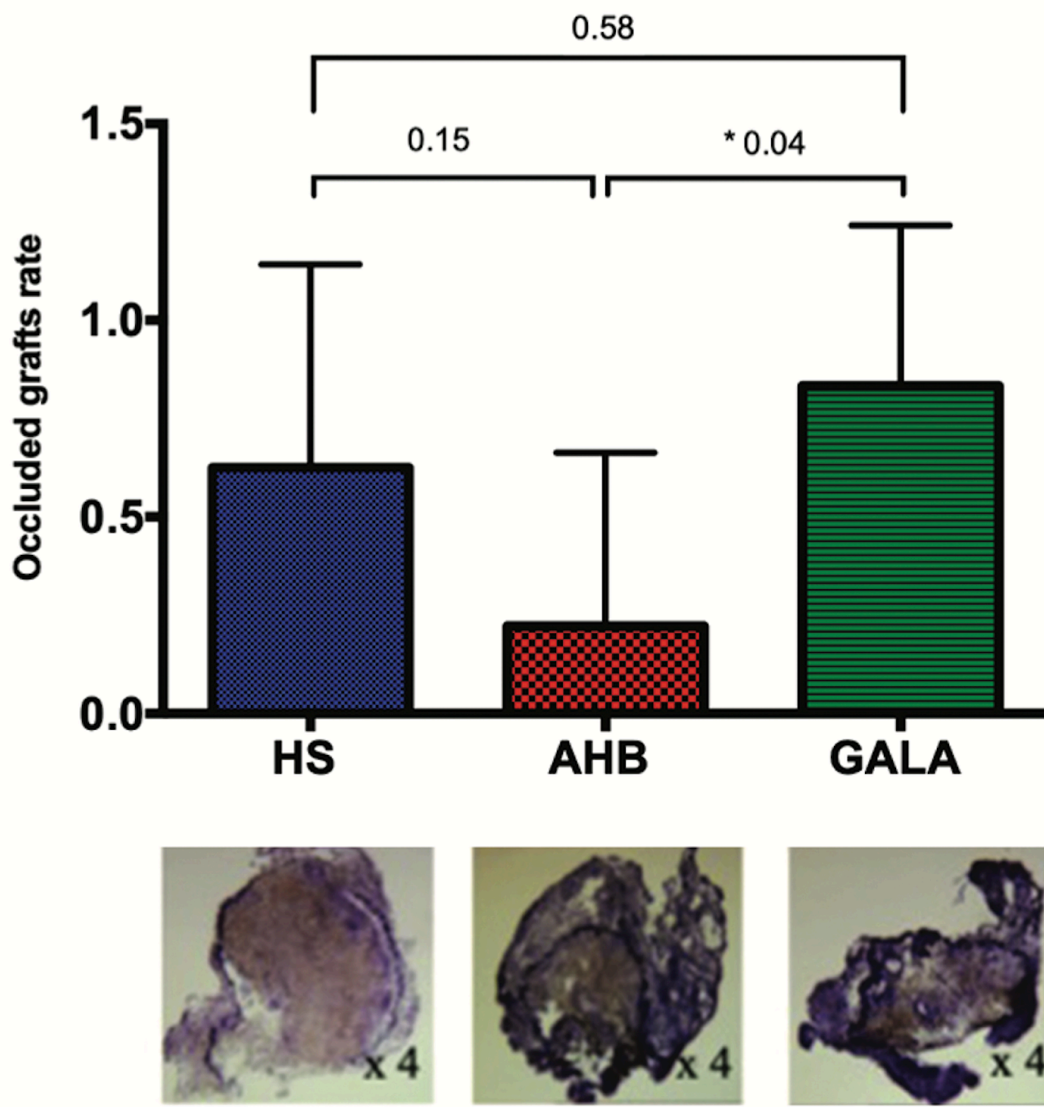


Figure 3

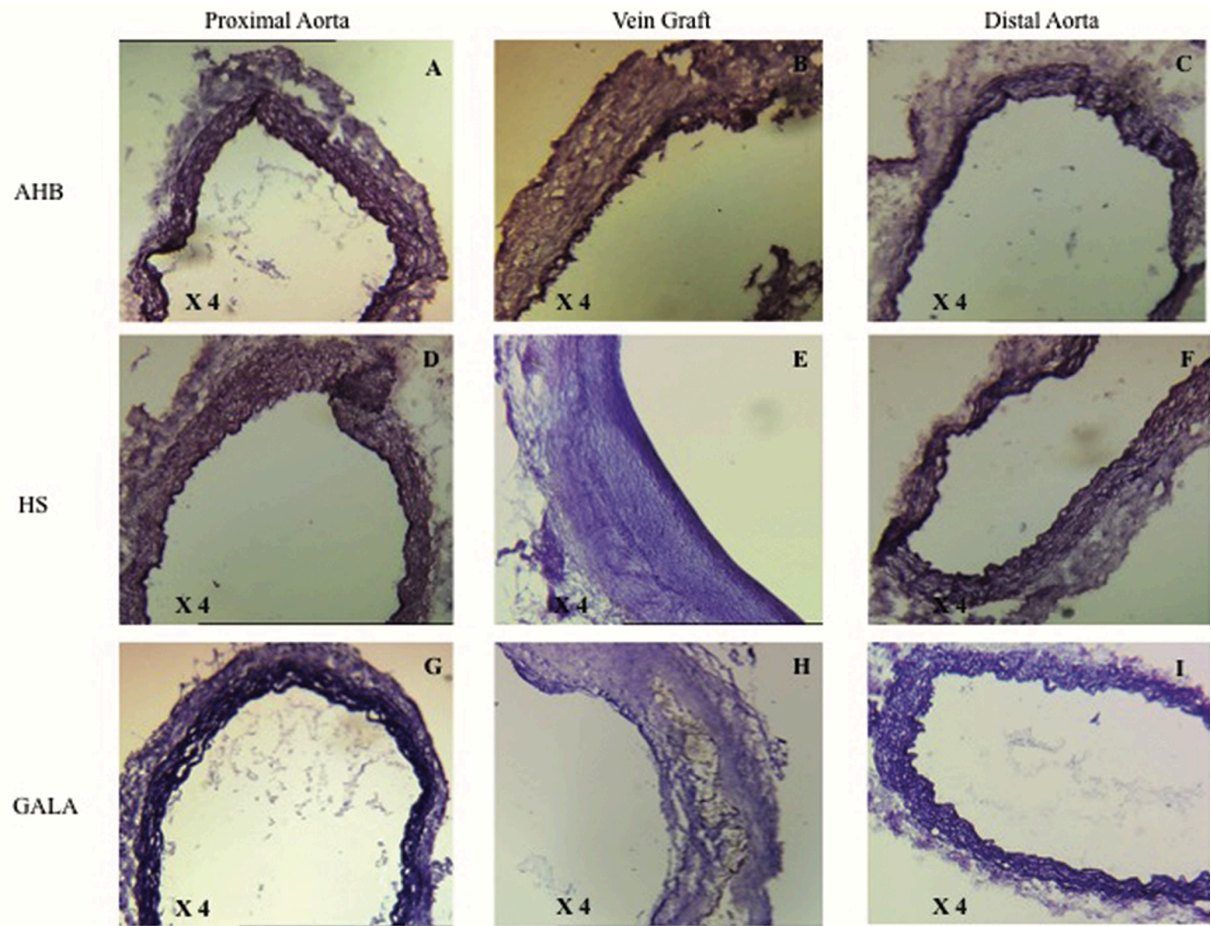


Figure 4

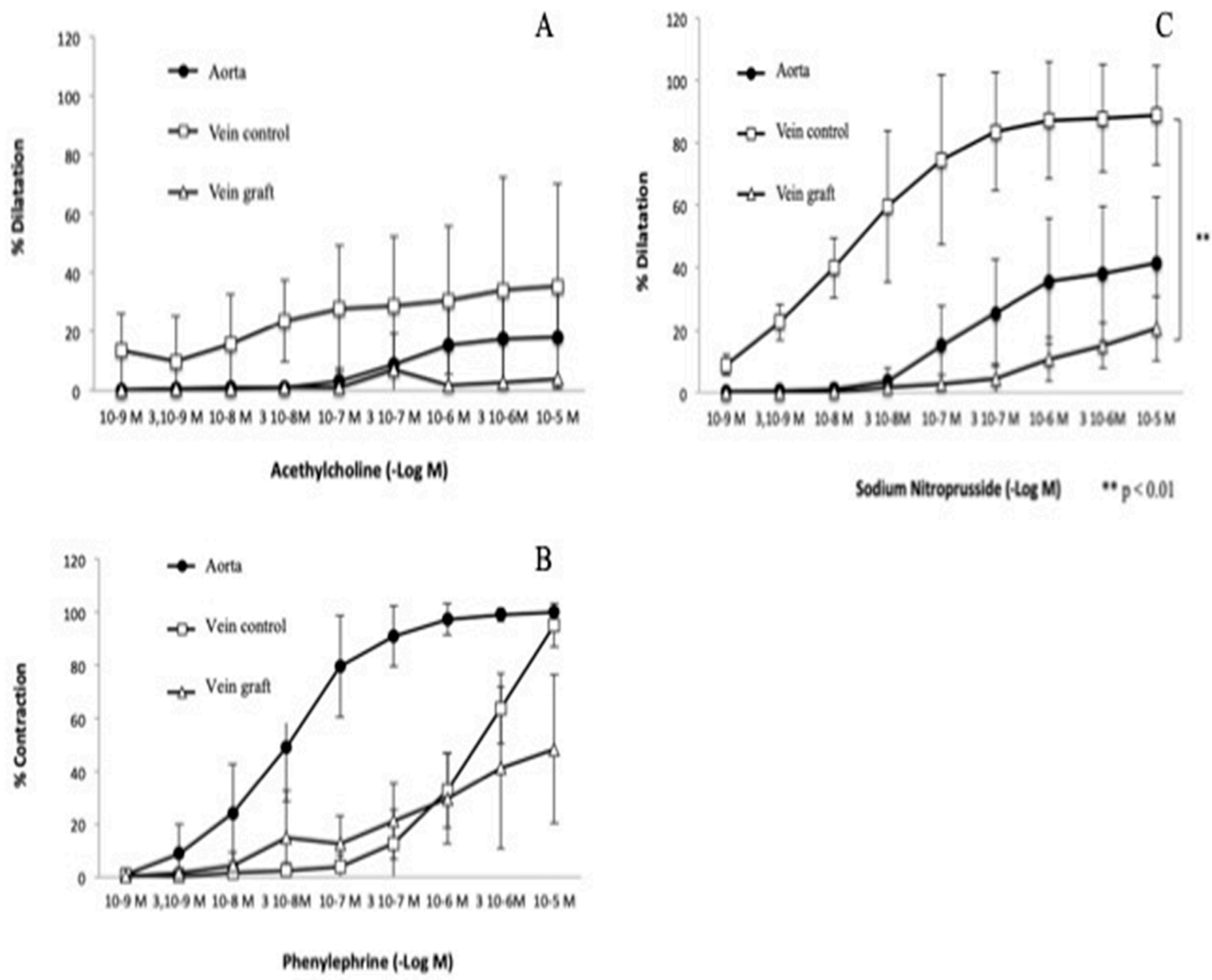


Figure 5

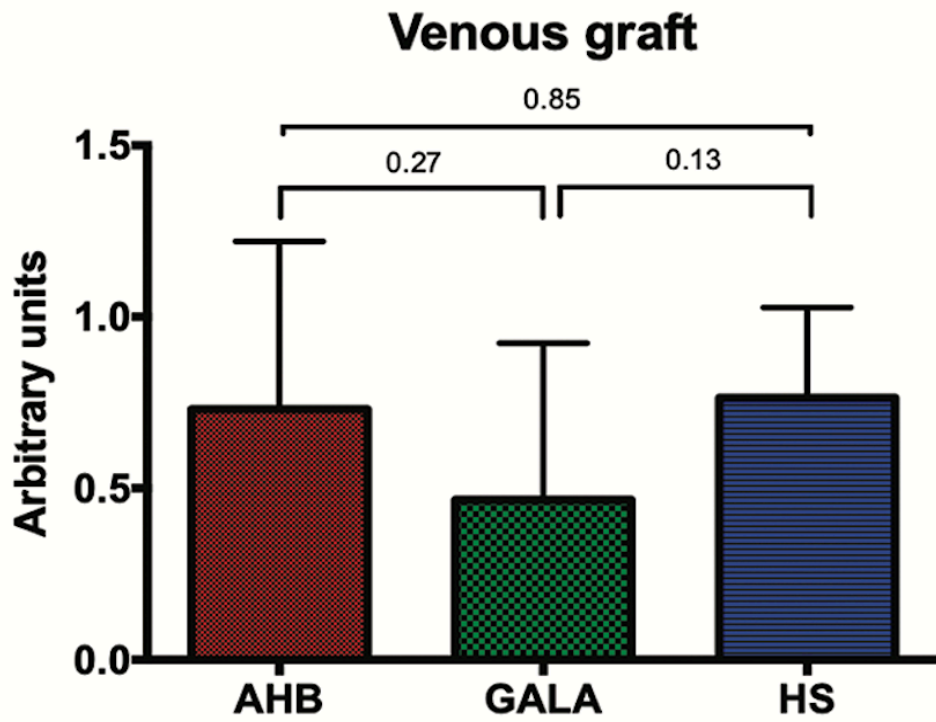


Figure 6a

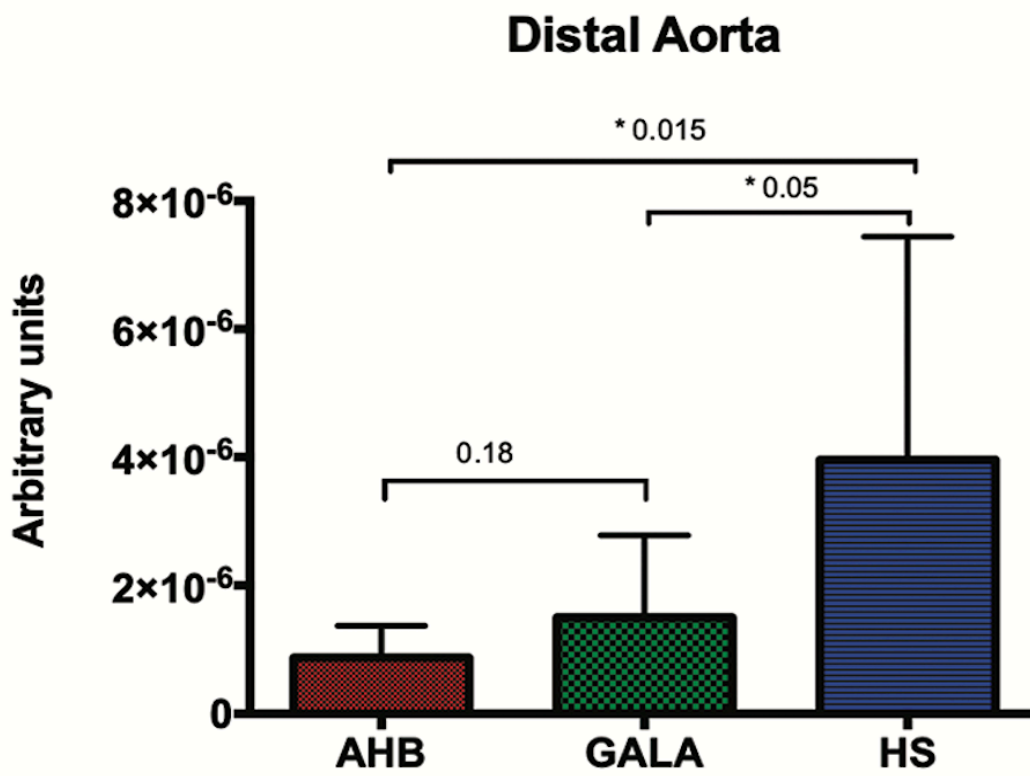


Figure 6b

Figure 6

Table 1

	Heparinized Saline solution HS (n=9)	Autologous Heparinized Blood solution AHB (n=9)	GALA solution (n=9)
Duration of venous storage (min)	91±56	106±57	88±57
Duration of venous transplantation (min)	67±11	63±10	67±11
Weight gain during follow-up (gr)	73±24	79±22	69±21

Article 2

Does a skeletonized internal thoracic artery give less postoperative complications than a non-skeletonized artery for patients undergoing surgery for coronary artery bypass?

Olivier Fouquet, MD^a, François Tariel^b, Pierre Desulauze^b, Gwenaël Mével^b

^a *Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, University Hospital of Angers, France*

^b *School of Medecine, University of Angers, Angers, France*

Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2015 May;20(5):663-8

Résumé

Un « Best Evidence Topic » en chirurgie cardiaque a été écrit selon un protocole structuré. La question posée était: «Une artère thoracique interne squelettisée donne-t-elle moins de complications postopératoires qu'une artère non squelettisée? » Au total, 45 articles ont été trouvés à l'aide d'outils de recherche classique, dont 10 représentaient la meilleure preuve pour répondre à la question clinique. Les auteurs, la revue, la date et le pays de publication, le groupe de patients étudié, le type d'étude, les résultats pertinents et les résultats de ces articles sont présentés dans un tableau. Les greffons utilisés étaient soit des artères thoraciques internes (ITA) seules (LITA (Left ITA) ou RITA (Right ITA)), soit des ITA bilatérales (BITA). Les 6 études portant sur l'infection du site opératoire présentent toutes moins de complications lorsqu'ITA est squelettisée. Pour la mortalité postopératoire (dans les 30 jours), une des 3 études a montré un taux de mortalité inférieur, mais aucune analyse à long terme n'a été réalisée. Deux études ont montré une diminution de la douleur thoracique dans les 30 jours en cas de squelettisation. La durée d'hospitalisation était plus courte pour 3 études menées sur ce sujet. Une étude sur la fonction pulmonaire a conclu à un meilleur rapport entre les valeurs pré et postopératoires de la capacité vitale forcée. Malgré une durée de prélèvement plus longue, la squelettisation de l'ITA pour le pontage entraîne moins d'infection du site opératoire, réduit les douleurs thoraciques, permet une hospitalisation plus courte et des fonctions respiratoires préservées.

Cite this article as: Fouquet O, Tariel F, Desulauze P, Mével G. Does a skeletonized internal thoracic artery give fewer postoperative complications than a pedicled artery for patients undergoing coronary artery bypass grafting? *Interact CardioVasc Thorac Surg* 2015; doi:10.1093/icvts/ivv026.

Does a skeletonized internal thoracic artery give fewer postoperative complications than a pedicled artery for patients undergoing coronary artery bypass grafting?

Olivier Fouquet^{a,b,*}, François Tariel^c, Pierre Desulauze^c and Gwenaél Mével^c

^a Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, University Hospital, Angers, France

^b CNRS UMR 6214, INSERM 1083, University of Angers, Angers, France

^c School of Medicine, University of Angers, Angers, France

* Corresponding author. Service de chirurgie cardiaque, Centre Hospitalier Universitaire—4 rue Larrey, 49933 Angers Cedex 9, France. Tel: +33-2-41354573; fax: +33-2-41355280; e-mail: olfouquet@chu-angers.fr (O. Fouquet).

Received 25 May 2014; received in revised form 4 January 2015; accepted 27 January 2015

Abstract

A best evidence topic in cardiac surgery was written according to a structured protocol. The question addressed was ‘Does a skeletonized internal thoracic artery (ITA) give fewer postoperative complications than a pedicled artery for patients undergoing coronary artery bypass grafting?’ Altogether, 98 papers were found using the reported search, of which 11 represented the best evidence to answer the clinical question. Papers about patency of skeletonized versus pedicled internal thoracic artery were excluded. The analysed complications were essentially mediastinitis, superficial sternal infection, wound infection, chest pain and pulmonary function. The authors, journal, date and country of publication, patient group studied, study type, relevant outcomes and results of these papers are tabulated. Grafts used were either single ITA (LITA or RITA, left or right, respectively) or bilateral ITAs (BITAs). One prospective randomized controlled trial was identified, which found that benefits of skeletonized harvesting included increased graft length, increased graft flow and decreased incidence of mediastinitis. All of the six studies concerning wound infection demonstrate fewer complications when ITA is skeletonized. One of the three papers describing postoperative mortality demonstrated lower 30-day mortality, but there was no long-term analysis. Three studies describing postoperative chest pain reported a lower score on the visual analogue scale (VAS) within 30 days. One of them indicates that the pedicled group has a significantly greater VAS, pain disability index and short-form McGill Pain questionnaire score at 1 and 3 months. The hospital stay was shorter for three studies conducted on this subject. One study about pulmonary function reported a better ratio of pre- versus postoperative values of forced vital capacity. Despite longer operating times, skeletonization leads to fewer wound infections, reduced chest pain, allows a shorter hospital stay and better preserves pulmonary function.

Keywords: Coronary artery bypass graft • Arterial grafts • Surgery • Complications • Wound infection

INTRODUCTION

A best evidence topic was constructed according to a structured protocol. This is fully described in *ICVTS* [1].

THREE-PART QUESTION

In [patients undergoing CABG surgery] does [skeletonized] or [pedicled] harvest of the left internal thoracic artery give fewer [postoperative complications].

CLINICAL SCENARIO

You have a 75-year-old patient listed for coronary artery bypass graft (CABG), and you wonder whether to collect the skeletonized internal thoracic artery (ITA).

SEARCH STRATEGY

An English language literature review was performed on Medline 1966 to November 2013 using Pubmed interface [coronary artery bypass OR coronary artery bypass graft OR coronary artery

Table 1: Best evidence papers

Author (date), journal and country Study type (level of evidence)	Patient group	Outcomes	Key results	Comments, study weaknesses
Saso et al. (2010), Ann Thorac Surg, UK [2] Meta-analysis (level 1a)	33 studies between 1999 and 2008 3663 BITA patients: -1886 skeletonized -1777 non-skeletonized	Postoperative wound infection Postoperative infection in diabetic patients	Skeletonization is better: OR 0.41 (95% CI 0.26–0.64) OR 0.19 (95% CI 0.10–0.34)	Many patients included Studies chosen independently by two reviewers 60% less infections with the skeletonized method Decrease of all types of infection especially mediastinitis Significant results in diabetic patients
Hu and Zhao (2011), Ann Thorac Surg, China [3] Systematic review and meta-analysis study (level 1a)	22 published trials between 1966 and 2010 5184 CABG patients: -1931 skeletonized -3253 non-skeletonized	Length of ITA (5 studies) ITA flow capacity (7 studies) Incidence of internal wound infections (15 studies) Overall mortality for high-risk and low-risk populations (10 studies) Mortality for early death within 30 days (7 studies)	+1.99 cm (95% CI 0.87–3.11) $P = 0.001$ +23.24 ml/min (95% CI 7.52–38.96) $P = 0.004$ Lower RR of 0.68 (95% CI 0.50–0.93) $P = 0.017$ RR = 0.70 (95% CI 0.50–0.98) $P = 0.035$ RR = 0.4 (95% CI 0.2–0.82) $P = 0.012$	This study shows significant positive effects of the skeletonized harvesting technique on the graft quality, sternal microcirculation and chest wall complications However, the long-term results remain undetermined, and need to be confirmed by a prospective study with long-term follow-up
Boodhwani et al. (2006), Circulation, Canada [4] Prospective randomized double-blinded within-patient comparison; single centre (level 2b)	48 patients underwent BITA and received 1 skeletonized and 1 non-skeletonized ITA. The side that received the skeletonized ITA was randomly assigned Subgroup of 7 patients who were randomly chosen to undergo assessment of sternal perfusion underwent a SPECT bone scan	Harvest time (min) Length (cm) Flow (ml/min) Chest wall pain Sternal perfusion	Skeletonized: 27 ± 1 Pediced: 24 ± 1, $P = 0.04$ Skeletonized: 18.2 ± 0.3 Pediced: 17.7 ± 0.3 No significant difference $P = 0.16$ At the 3-month follow-up, VAS pain scores were significantly lower for the skeletonized side, $P = 0.05$ 24 ± 8% increase of sternal perfusion on the skeletonized side, $P = 0.03$	Skeletonized harvest of the ITA results in reduced pain and dysesthesia and in improved sternal perfusion Skeletonization does not improve conduit flow but may increase conduit length The increased perfusion of the sternum by skeletonization of the ITA reduces morbidity of CABG and deep sternal wound infections
Peterson et al. (2003), J Thorac Cardiovasc Surg, Canada [5] Cohort study; single centre (level 2b)	115 patients with diabetes underwent BITA: -79 skeletonized (A) from 1999 to 2003 -36 conventional pediced (B) from 1990 to 2003	Total operative time (min) Low output syndrome Intra-aortic balloon pump	A: 199.3 ± 75.1 B: 184.7 ± 69.7 $P = 0.3$ A: 0 B: 5 (13.9%) $P = 0.003$ A: 0 B: 4 (11.1%) $P = 0.01$	The intraoperative variables were similar and skeletonization did not significantly increase operative times ITA skeletonization lowers the risk of sternal infection in patients with diabetes, resulting in infection rates that are similar to those in patients without diabetes

Continued

Table 1: (Continued)

Author (date), journal and country Study type (level of evidence)	Patient group	Outcomes	Key results	Comments, study weaknesses
		Red blood cell transfusions	A: 0.7 ± 1.0 B: 2.5 ± 4.3 P = 0.016	Diabetes must not be considered as a contraindication to BITA grafting in case of skeletonization
		Ventilation (h)	A: 9.1 ± 15.4 B: 22.9 ± 35.7 P = 0.03	However, skeletonization is a new surgical technique without exhaustive data on long-term patency rates
		Intensive care unit stay (days)	A: 1.5 ± 1.3 B: 2.4 ± 2.2 P = 0.03	
		Hospital stay (days)	A: 7.1 ± 2.9 B: 11.2 ± 9.2 P = 0.013	
		Overall SWI in patients receiving BITAs	A: 5.1% B: 22.2% P = 0.03	
		Deep SWI in patients receiving BITAs	A: 1.3% B: 11.1% P = 0.03	
		Overall SWI in patients with and without diabetes receiving BITAs	Non-significant difference: A: 4.8% B: 4.2% P = 0.8	
		Deep SWI in patients with and without diabetes receiving BITAs	Non-significant difference: A: 1.2% B: 1.6% P = 0.8	
Cohen et al. (1999), J Thorac Cardiovasc Surg, Israel [6]	24 consecutive patients undergoing primary CABG 11 in the skeletonized ITA group; 12 in the pedicled ITA group	Mortality	Non-significant difference	No differences in mortality between the skeletonized group and the pedicled group
Prospective randomized study; single-centre (level 2c)		Time in hospital	Skeletonized group: 5.9 ± 1.7 days Pedicled group: 7.1 ± 2.9 days P = 0.24	Less time in hospital in the skeletonized group
		Chest pain	Skeletonized group: n = 3 Pedicled group: n = 7 P = 0.046	Less chest pain in the skeletonized group
		Superficial infection	Skeletonized group: n = 1 Pedicled group: n = 3 P = 0.32	Less superficial infection in the skeletonized group
Nishi et al. (2011), Eur J Cardiothorac Surg, Japan [7]	Isolated CABG using LITAs (n = 30) or BITAs (n = 16) grafting	Time of postoperative Doppler flowmeter	LITA No change in the presternal blood flow No difference in deterioration of the retrosternal blood flow in the middle part of the sternum between the pedicled group and the skeletonized group	No difference in deterioration between the Groups S and P for LITA grafting Skeletonization is not advantageous for maintaining sternal microcirculation
Cohort study; single centre (level 2b)	23 received skeletonized LITA graft (Group S) and 23 received pedicled LITA graft (Group P) All RITAs were collected using the skeletonized method			

Continued

Table 1: (Continued)

Author (date), journal and country Study type (level of evidence)	Patient group	Outcomes	Key results	Comments, study weaknesses
	46 underwent pre- and postoperative laser Doppler flow meter	Sternum microcirculation prior to and after ITA harvesting	BITA No change in the presternal blood flow Right retrosternal blood flow was significantly decreased in the middle and lower parts after harvest of the RITA	
Matsumoto et al. (1997), Ann Thorac Surg, Japan [8] Cohort study; single centre (level 2b)	Isolated CABG using LITA (n = 79) or saphenous vein grafts (Group 3 n = 32) Seventy-nine patients received LITA graft using the skeletonized (Group 1 n = 33) or pedicled (Group 2 n = 46) method	Time of pulmonary test Ratios of postoperative to preoperative forced vital capacity	20–30 days after CABG 84% in Group 1, 77% in Group 2 and 84% in Group 3	Ratio significantly decreased in Group 2 and significantly different from Groups 1 and 3 (P < 0.05) Postoperative pulmonary dysfunction was significantly greater in patients who underwent wide muscular-facial pedicle dissection of the ITA compared with skeletonization of the artery
Calafiore et al. (1999), Ann Thorac Surg, Italy [9] Cohort study; single centre (level 4)	Group A (pedicled BITA): 304 patients from October 91 to May 94; Group B (skeletonized BITA): 842 patients from June 94 to June 98	Mortality Cerebrovascular accident Acute respiratory failure Bleeding (ml/12 h) Intensive care unit (h) Number of patients transfused In-hospital stay	Group A: 1.6% Group B: 2.1% NS Group A: 0.3% Group B: 1.2% NS Group A: 0.3% Group B: 1.9% NS Group A: 674 ± 531 Group B: 542 ± 306 P < 0.001 Group A: 35.2 ± 29.8 Group B: 22.1 ± 32.3 P < 0.001 Group A: 85 (27.6%) Group B: 160 (19%) P < 0.05 Group A: 9.6 ± 9.8 Group B: 5.5 ± 4.5 P < 0.001	No significant differences No significant differences No significant differences Less bleeding with skeletonization Less time in ICU with skeletonization Less transfusion with skeletonization In-hospital stay (days): shorter with skeletonization
De Paulis et al. (2005), J Thorac Cardiovasc Surg, Italy [10] Cohort study with control; single centre (level 4)	450 patients receiving a BITA -300 non-skeletonized -150 skeletonized	Sternal infection -Deep -Superficial	3% in the skeletonized group vs 5% in the non-skeletonized group (P = 0.4) 8% in the skeletonized group vs 12% in the non-skeletonized group (P = 0.002)	Significant benefit of skeletonization Non-randomized study. Patients with more risks were skeletonized
Sakic et al. (2013), Interact CardioVasc Thorac Surg, Austria [11]	418 non-emergents isolated CABG patients receiving BITA CABG procedures from 2001 to 2012	Sternal wound complications during first 3 months after surgery	Skeletonized ITA has a protective effect (P = 0.009)	Less wound complication with skeletonization

Continued

Table 1: (Continued)

Author (date), journal and country Study type (level of evidence)	Patient group	Outcomes	Key results	Comments, study weaknesses
Cohort study; single centre (level 4)			Skeletonized ITA prevents sternal complications $P = 0.001$	
Bawany <i>et al.</i> (2014), J Card Surg, Pakistan [12]	116 consecutive patients who had undergone primary isolated CABG with pedicled (46) or pedicled (70) grafting. The authors interviewed all 116 patients at 1 and 3 months after the surgery by phone	VAS Pain disability index McGill pain scale at first month	Skeletonized: 30 ± 4 Pedicled: 55 ± 6 $P < 0.001$ Skeletonized: 34 ± 3 Pedicled: 47 ± 5 $P < 0.001$ Skeletonized: 9 ± 1 Pedicled: 14 ± 2 $P < 0.001$	Skeletonization reduces post-coronary artery bypass surgery pain at both 1- and 3-month intervals

CI: confidence interval; OR: odds ratio; RR: relative risk; ITA: internal thoracic artery; LITA: left ITA; BITA: bilateral ITA; CABG: coronary artery bypass graft; VAS: visual analogue scale; SWI: sternal wound infection.

surgery OR coronary surgery] AND [skeletonization OR skeletonization OR skeletonized] AND [internal thoracic artery OR internal mammary artery].

SEARCH OUTCOME

The search returned 98 papers. From these, 11 papers were identified as providing the best evidence to answer our question. These are presented in Table 1.

RESULTS

The studies examined the effects on postoperative complications of ITA grafting using the skeletonized versus pedicled method in coronary artery bypass surgery.

Saso *et al.* [2] performed a meta-analysis of 33 studies and found that skeletonization was associated with beneficial reduction in the odds ratio of sternal wound infection (odds ratio, 0.41; 95% confidence interval, 0.26–0.64). This effect was more evident when analysing diabetic patients undergoing bilateral ITA grafting [odds ratio, 0.19; 95% confidence interval (CI), 0.10–0.34].

Hu and Zhao [3] conducted a meta-analysis of 22 studies and found a lower relative risk (RR) of 0.68 (95% CI 0.50–0.93; $P = 0.017$) for the incidence of sternal wound infection (15 studies), an RR of 0.70 (95% CI 0.50–0.98; $P = 0.035$) for overall mortality for high- and low-risk populations (10 studies), an RR of 0.4 (95% CI 0.2–0.82; $P = 0.012$) for mortality for early death within 30 days (7 studies).

Boodhwani *et al.* [4] performed a prospective randomized double-blind within-patient comparison (48 patients). The patients underwent bilateral ITA (BITA) received one skeletonized and one non-skeletonized ITA. The side that received the skeletonized ITA was randomly assigned. They found visual analogue scale pain scores significantly lower for the skeletonized side at the 3-month follow-up ($P = 0.05$) and a $24 \pm 8\%$ increase of sternal

perfusion on the skeletonized side ($P = 0.03$) for sternal perfusion. ITA harvesting in a skeletonized manner resulted in a significant decrement in postoperative pain at the 3-month follow-up.

Peterson *et al.* [5] conducted a prospective study including 115 patients with diabetes: 79 skeletonized (A) and 36 conventional pedicled (B). Group A had less blood transfusion (A: 0.7 ± 1.0 units; B: 2.5 ± 4.3 units, $P = 0.016$), a shorter ventilation time (A: 9.1 ± 15.4 h; B: 22.9 ± 35.7 h, $P = 0.03$), less time in the ICU (A: 1.5 ± 1.3 days; B: 2.4 ± 2.2 days, $P = 0.03$) and fewer overall (A: 5.1%; B: 22.2%, $P = 0.03$) and deep (A: 1.3%; B: 11.1%, $P = 0.03$) sternal wound infections.

Cohen *et al.* [6] demonstrated a shorter hospital stay with skeletonization (5.9 ± 1.7 vs 7.1 ± 2.9 days, $P = 0.24$), less chest pain (visual analogue scale 3 vs 7, $P = 0.046$) and fewer superficial infections (1 vs 3, $P = 0.32$).

Nishi *et al.* [7] carried out a prospective cohort study (46 patients), and found no difference in sternum microcirculation in the skeletonized group or the pedicled group.

Matsumoto *et al.* [8] analysed the left ITA (LITA) graft in 79 patients (skeletonized group $n = 33$ and pedicled group $n = 46$), and found a significant decrease in ratios of postoperative to preoperative forced vital capacity in the pedicled group.

Calafiore *et al.* [9] realized a prospective cohort study, and found no significant differences in mortality, cerebrovascular incident, acute respiratory failure between the pedicled BITA group (304 patients) and the skeletonized BITA group (842 patients), but found less bleeding ($P < 0.001$), less time in the ICU ($P < 0.001$), less transfusion ($P < 0.05$) and a shorter hospital stay ($P < 0.001$).

De Paulis *et al.* [10], in a prospective cohort study with control with 450 patients receiving a BITA (300 non-skeletonized and 150 skeletonized), analysed sternal deep and superficial infection and demonstrated that skeletonization is a benefit for deep infection (3% in the skeletonization group vs 5% in the non-skeletonization group, $P = 0.4$) and for superficial infection (8% in the skeletonization group vs 12% in the non-skeletonization group, $P = 0.002$).

Sakic *et al.* [11] conducted a case-control study of 418 CABG patients receiving BITA, and found a link between a decrease of

sternal wound complication and skeletonized ITA in comparison with pedicled ITA ($P = 0.001$).

Bawany *et al.* [12] presented a retrospective analysis of 116 patients, and found a significant decrease in postoperative pain that had a serious effect on health-related quality of life as measured by the pain disability index.

CLINICAL BOTTOM LINE

We conclude that the use of the skeletonized ITA for CABG decreases the incidence of postoperative pulmonary and sternal complications. The benefits of skeletonized harvesting also include a reduction in postoperative pain.

Conflict of interest: none declared.

REFERENCES

- [1] Dunning J, Prendergast B, Mackway-Jones K. Towards evidence-based medicine in cardiothoracic surgery: best BETS. *Interact CardioVasc Thorac Surg* 2003;2:405-9.
- [2] Saso S, James D, Vecht JA, Kidher E, Kokotsakis J, Malinowski V. Effect of skeletonization of the internal thoracic artery for coronary revascularization on the incidence of sternal wound infection. *Ann Thorac Surg* 2010;89:661-70.
- [3] Hu X, Zhao Q. Skeletonized internal thoracic artery harvest improves prognosis in high risk population after coronary artery bypass surgery for good quality grafts. *Ann Thorac Surg* 2011;92:48-58.
- [4] Boodhwani M, Lam BK, Nathan HJ, Mesana TG, Ruel M, Zeng W *et al.* Skeletonized internal thoracic artery harvest reduces pain and dysesthesia and improves sternal perfusion after coronary artery bypass surgery. *Circulation* 2006;114:766-73.
- [5] Peterson MD, Borger MA, Rao V, Peniston CM, Feindel CM. Skeletonization of bilateral internal thoracic artery grafts lowers the risk of sternal infection in patients with diabetes. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:1314-9.
- [6] Cohen AJ, Lockman J, Lorberboym M, Bder O, Cohen N, Medalion B. Assessment of sternal vascularity with single photon emission computed tomography after harvesting of the internal thoracic artery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999;118:496-502.
- [7] Nishi H, Mitsuno M, Tanaka H, Ryamoto M, Fukui S, Miyamoto Y. Decreasing sternum microcirculation after harvesting the internal thoracic artery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2011;40:240-4.
- [8] Matsumoto M, Konishi Y, Miwa S, Minakata K. Effect of different methods of internal thoracic artery harvest on pulmonary function. *Ann Thorac Surg* 1997;63:653-5.
- [9] Calafiore AM, Vitolla G, Iaco AL, Fino C, Di Giammarco G, Marchesani F *et al.* Bilateral internal mammary artery grafting: mid-term results of pedicled versus skeletonized conduits. *Ann Thorac Surg* 1999;67:1637-42.
- [10] De Paulis R, de Notaris S, Scaffa R, Nardella S, Zeitani J, Del Giudice C *et al.* The effect of bilateral internal thoracic artery harvesting on superficial and deep sternal infection: the role of skeletonization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;129:536-43.
- [11] Sakic A, Chevchik O, Kilo J, Schistek R, Mueller LC, Ulmer H *et al.* Simple adaptations of surgical technique to critically reduce the risk of postoperative sternal complications in patients receiving bilateral internal thoracic arteries. *Interact CardioVasc Thorac Surg* 2013;17:378-83.
- [12] Bawany FI, Khan MS, Khan A, Hussain M. Skeletonization techniques in coronary artery bypass graft surgery reduces the postoperative pain intensity and disability index. *J Card Surg* 2014;29:47-50.

Article 3

Cardiopulmonary bypass and internal thoracic artery: can roller or centrifugal pumps change vascular reactivity and inflammatory response of the graft?

IPITA randomized controlled study.

Olivier Fouquet, MD^{1,2}, Simon Dang Van, MD^{1,2}, Anna Baudry, MD^{1,2}, Philippe Meisnerowski, MD^{1,2}, Pauline Robert², Frédéric Pinaud, MD, PhD^{1,2}, Patrice Binuani, MD^{1,2}, Jean-Marie Chrétien, MD³, Yveline Hamon^{1,3}, Daniel Henrion, Pharm, PhD², Laurent Loufrani, PhD^{2*}, Christophe Baufreton, MD, PhD^{1,2*}.

¹ *Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, University Hospital, Angers, France*

² *MITOVASC Institute CNRS UMR 6214, INSERM U1083, University of Angers, France*

³ *Clinical Research Department, University Hospital, Angers, France*

Article en soumission

Résumé

La réponse inflammatoire systémique à un flux pulsatile ou non pulsatile généré par les pompes de circulation extra-corporelle (CEC) sont largement décrits et discutés dans la littérature. On estime que plus de 32 000 procédures sous CEC sont réalisées chaque année en France dont 60% à l'aide d'une pompe à galets et 40% à l'aide d'une pompe centrifuge. Il est admis qu'une pompe à galets génère un flux pulsatile et une pompe centrifuge, un flux non pulsatile. Un flux pulsatile réduit la réponse inflammatoire, une vaste étude randomisée publiée en 1995 concluait que lorsque le débit de pompe était pulsatile, il était observé une diminution significative de la morbidité et mortalité. Les inconvénients théoriques de ce type de flux sont la production de micro-embols et l'hémolyse. Les facteurs pro-inflammatoires comme l'interleukine-6 (IL-6), IL-8, la chaîne terminal du complément (sC5b-9) et l'élastase leucocytaire sont augmentés au cours d'une CEC centrifuge. Les cytokines pro-inflammatoires produites en excès sont potentiellement médiatrices de lésions vasculaires et de dysfonctionnement d'organes. La microcirculation correspondant à des vaisseaux de moins de 200 μm est préservée en présence d'une pulsativité du fait de l'atténuation des adhérences leucocytaires et du maintien du nombre de vaisseaux perfusés. L'écoulement laminaire produit par un flux non pulsatile induit une activation endothéliale : la morphologie des cellules changeant, une expression plus élevée des gènes anti-oxydants et un faible niveau d'expression du stress oxydatif.

L'effet protecteur du flux pulsatile sur le tonus vasculaire dans des artères de résistance a été mis en évidence dans une étude expérimentale sur des artères mésentériques de rats. Les résultats de cette étude suggèrent que l'effet délétère d'un flux non pulsatile sur la réactivité vasculaire et réponse inflammatoire locale apparaît pour des temps d'exposition modérés à longs. Chez l'homme, des artères intermédiaires comme les artères thoraciques internes (ATI) contiennent une grande proportion de cellules musculaires lisses et leur sensibilité aux

variations de pression et caractéristiques du flux est importante.

Le but de notre étude (IPATI) était d'étudier la réactivité vasculaire d'artères thoraciques internes chez des patients opérés de pontages coronaires avec une pompe de circulation extra-corporelle à galets et centrifuge.

Cardiopulmonary bypass and internal thoracic artery: can roller or centrifugal pumps change vascular reactivity and inflammatory response of the graft?

Running Head: the IPITA study: a randomized controlled clinical trial.

Olivier Fouquet, MD^{1,2}, Simon Dang Van, MD^{1,2}, Anna Baudry, MD^{1,2}, Philippe Meisnerowski, MD^{1,2}, Pauline Robert², Frédéric Pinaud, MD, PhD^{1,2}, Patrice Binuani, MD^{1,2}, Jean-Marie Chrétien, MD³, Yveline Hamon^{1,3}, Daniel Henrion, PhD, PhD², Laurent Loufrani, PhD^{2*}, Christophe Baufreton, MD, PhD^{1,2*}.

*these authors have equally contributed to the work

¹ Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, University Hospital, Angers, France

² MITOVASC Institute CNRS UMR 6214, INSERM U1083, University of Angers, France

³ Clinical Research Department, University Hospital, Angers, France

Classification:

Word count: 4499

Corresponding author:

Dr Olivier Fouquet, MD

Service de Chirurgie Cardiothoracique et vasculaire

Centre Hospitalier et Universitaire, 4 rue Larrey

49933 Angers France

Tel: +33 (0)2 41 35 45 73

Fax: +33 (0)2 41 35 52 80

Email: olfouquet@chu-angers.fr

ABSTRACT

Background: Cardiopulmonary bypass (CPB) induces a systemic inflammatory response and affects the organ vascular bed. Roller pumps used in CPB decrease terminal complement complex activation and elastase release compared to centrifugal pumps. Experimentally, the lack of pulsatility alters myogenic tone of resistance arteries and increases the parietal inflammatory response. The purpose of this study was to compare the vascular reactivity and the inflammatory response of the internal thoracic arteries (ITAs) between patients undergoing coronary artery bypass grafting (CABG) under CPB with a roller pump or with a centrifugal pump.

Methods: Eighty elective male patients undergoing CABG were selected using one or two internal thoracic arteries under CPB with a roller pump (RP group) or centrifugal pump (CFP group). ITA samples were collected before starting CPB (Time 1) and before the last coronary anastomosis during aortic cross clamping (Time 2). Terminal complement complex activation (SC5b-9) and neutrophil activation (elastase) analysis were performed on arterial blood at the same times.

Results: Acetylcholine-dependent relaxation was conserved in the two groups whatever the time. SC5b-9 and elastase increased between Time 1 and Time 2. Gene expression of C3 and C4a in the artery wall decreased from Time 1 to Time 2 and between the RP group and the CFP group. No oxidative stress was observed in the graft.

Conclusion: Endothelium-dependent relaxation of the internal thoracic arteries was preserved during CPB whatever the type of pump used. The inflammatory response observed in the blood was not found in the graft wall.

Abstract word count: 249

INTRODUCTION

More than 32000 surgeries under cardiopulmonary bypass (CPB) are performed each year in France, 60% using a roller pump (RP) and 40% using a centrifugal pump (CFP) ⁽¹⁾.

The superiority of the CFP over the RP is debated. The CFP is considered safer than the RP by reducing the risk of microgaseous emboli and hemolysis ⁽²⁾. However, a recent meta-analysis ⁽³⁾ failed to demonstrate any clinical difference between the two types of arterial pumps used for CPB, but this comparison was limited to clinical events and did not focus on the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). Although the CFP was expected to reduce the SIRS, initial comparisons between the two pumps have shown that the RP, when compared to CFP, decreased the terminal complement complex activation (SC5b-9) as well as elastase release during coronary artery bypass grafting (CABG) under CPB ^(4, 5). It has long been reported that the RP produces a pulsatile flow, which is responsible for lateral transmission of energy to tissue, whereas the CFP produces a non-pulsatile flow without an add-on device ^(6, 7). The lack of pulsatile flow may increase some aspects of SIRS such as endotoxin release during aortic cross clamping in patients undergoing CABG ⁽⁸⁾. We previously demonstrated experimentally that an inflammatory reaction was less damaging for the mesenteric arteries rats subjected to very long pulsatile perfusion than arteries submitted to non-pulsatile perfusion, independently of flow or pressure ⁽⁹⁾. In addition, these effects originated directly within the arterial wall and not from a blood activation process, since these mesenteric arteries were perfused with a bloodless saline solution. Interestingly, patients undergoing non pulsatile mechanical circulatory support are prone to gastrointestinal injury and bleeding ⁽¹⁰⁾, an effect that is usually related to a shear stress-mediated willebrand factor defect ⁽¹¹⁾ rather than to a local organic inflammatory process. Nevertheless, impaired vasorelaxation and propensity to vasospasm caused by SIRS during CPB may affect several vascular territories such as the pulmonary, mesenteric or cerebral microvascularization ⁽¹²⁾. By modifying the SIRS using heparin-coated circuits, we observed a significant reduction of vasospasm in the cerebral arteries using transcranial Doppler ultrasound in patients undergoing CABG ⁽¹³⁾. Therefore, we postulated that such a detectable Doppler benefit of

SIRS reduction might also be observed in the internal thoracic arteries currently used for myocardial revascularization.

The aim of this prospective randomized clinical trial was to compare the impact of the SIRS generated during CPB using roller or centrifugal pumps on vascular reactivity and local inflammatory response of the internal thoracic arteries used for CABG.

MATERIALS AND METHODS

1. Study design (Figure 1)

The IPITA (Impact of Pumps on Internal Thoracic Arteries) study consisted of two parallel prospective, monocenter, randomized, active-treatment-controlled clinical trials. Patients were randomly assigned in a 1:1 ratio to two groups (RP group = Roller pump group; CFP group = Centrifugal pump group) one day before surgery with use of a computer-generated plan. All patients provided their written informed consent preoperatively. The study and the consent form were approved by the Angers institutional review boards (authorizations: CNIL: 2015-002; CPP: 2014/29). The primary endpoint was the comparative measurement of internal thoracic artery (ITA) vascular reactivity, defined by endothelium-dependent relaxation rate and associated intraparietal inflammatory response.

2. Population

Inclusion criteria were male patients and elective coronary artery bypass grafting (CABG) using at least one of the two ITAs.

Exclusion criteria were female patients because their complement activation has been shown to be greater than that in men during surgery under CPB (¹⁴); age < 18 years; CABG requiring additional valve repair or replacement; emergency surgery and insufficient length of the ITA. Data were extracted from medical charts. Baseline characteristics, intraoperative and postoperative data were collected using Epidata 3.1 Software.

3. Surgical technique and ITAs segment sampling

- Surgical procedure: CABG was performed under normothermic (36-37°C) cardiopulmonary bypass (CPB). All components of the circuits were coated with phosphorylcholine inert surface (PHISIO,

Sorin®). The pump manufacturers were Maquet® and Sorin® for the roller pumps and Sorin® for the centrifugal pumps respectively. All patients underwent an antegrade cold blood cardioplegia diluted with a Plegisol® solution (dilution 4:1) enriched with potassium. Heparin administered after full sternotomy to obtain an activated clotting time (ACT) longer than 250 seconds as a routine procedure previously described in our center (15, 16). All ITA grafts were skeletonized. Then, the ITAs were bathed in a Papaverine® and hot water solution to avoid arterial vasospasm. ITA distality was clamped before sampling the segment.

- ITAs segment samples: 1.5 cm of ITA distality was sampled before blood flow interruption into the graft and before starting CPB (**Time 1**) and another segment (1.5 cm) before the last coronary anastomosis during aortic cross clamping (**Time 2**) (Figure 1). The sampled arterial segment at time 2 was the tissue exposed to the pump flow. Each arterial segment was cut into three parts: a fresh part for arterial myography bathed and stored in a 50 ml organ bath containing a physiological salt solution (PSS) with the following composition: 130 mmol/L sodium chloride, 3.7 mmol/L potassium chloride, 1.2 mmol/L magnesium sulfate, 14.9 mmol/L sodium hydrogen carbonate, 1.6 mmol/L calcium chloride, 5 mmol/L HEPES, 1.2 mmol/L KH₂PO₄ and 11 mmol/L glucose. The pH was maintained at 7.4 at room temperature. The other two parts were cooled in liquid nitrogen and stored at -80°C for immunohistochemistry and RT-PCR analysis.

4. Internal thoracic arteries analysis

Myography: for each patient, 2 fresh segments of ITA (Time 1 and Time 2) stored in PSS were analyzed. On day+1, these segments were mounted on a wire-myograph (DMT, Aarhus, DK) as previously described (17). Briefly, 2 tungsten wires (25 µm diameter) were inserted into the lumen of the arteries and connected to a force transducer and a micrometer, respectively. The arteries were bathed in the PSS solution. Wall tension, equivalent to intra-arterial pressure (90 mmHg), was applied and the blood vessels were allowed to stabilize for thirty minutes. Arterial contractility was assessed with phenylephrine (PE, 10 µmol/L). Acetylcholine-induced (Ach 10 µmol/L) relaxation was then obtained after phenylephrine-induced precontraction (50% of maximal contraction) in the presence or in the absence of the NO synthesis blocker L-NMMA (3.10⁻⁴ mol/L) and in the presence or in the absence of the COX synthesis blocker Indomethacin (10⁻⁵ mol/L).

Superoxide detection and confocal microscopy: dihydroethidium staining (DHE, Sigma-Aldrich)

was used to evaluate the *in situ* levels of superoxide anions (O_2^-). DHE is permeable to cells and is oxidized by superoxide (O_2^-) to fluorescent products that are trapped by intercalation into the DNA. Sections (10 μ m thickness) were incubated with DHE (1 μ mol/L) in phosphate-buffered solution (PBS) and DAPI (4',6'-diamidino-2-phénylindole-Molecular probes, Invitrogen) for nuclear cells at 37°C for 30 min in a humidified chamber protected from light. Fluorescent images of ethidium bromide were obtained using a confocal microscope (Nikon Eclipse TE2000S).

Immunocytochemistry: sections (10 μ m thickness) of arteries were rehydrated by 500 μ l of PBS during 10 minutes and fixated with 200 μ l of paraformaldehyde (PFA) (pH = 7.4, room temperature) and then were rinsed by PBS. Permeabilization with 200 μ l of PBS-BSA (Bovine Serum Albumin – Sigma) 10% - Tween 0.1% during 40 minutes and then saturation with PBS-BSA 10% during 40 minutes were performed. Sections were incubated overnight with 100 μ l of anti-CD45 antibody at 1/500th dilution for leukocyte staining or anti-CD80 antibody at 1/200th dilution for lymphocyte staining or anti-CD66b at 1/50th dilution for neutrophil staining. Antibodies were labelled with a red fluorochrome (Phycoerythrine). Karyoplast was stained blue by DAPI solution. On day+1, sections were rinsed with PBS and analyzed with the confocal microscope. Fluorescent images were quantified with the ImageJ (NIH) software.

Quantitative real time transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis

Sections of ITAs were dried and stored at -80°C in RNA later Stabilization Reagent (Qiagen). RNA extraction was performed using the RNeasy[®] micro kit (Qiagen). 500 ng of RNA extracted from each artery were used to synthesize cDNA using the QuantiTect[®] Reverse Transcription kit (Qiagen). Quantitative real-time PCR was performed with Sybr[®] Green PCR Master Mix (Applied Biosystems) using a Light cycler 480 Real-Time PCR System (Roche). (Supplemental table)

5. Blood sampling and biochemical analysis

Serial arterial blood samples were collected at Time 1 and Time 2. For elastase, the marker of neutrophil activation, one arterial blood sample at each time was collected in test tubes containing trisodium citrate. For SC5b-9, the marker of terminal complement complex activation, one arterial

blood sample at each time was collected in EDTA tubes. Specimens were centrifuged (10 minutes, 3,000 rpm, 4°C) immediately to obtain plasma which was stored at – 80°C before analysis.

Enzyme-linked immunosorbent assay techniques were used from 10 µl of plasma to measure terminal complement (C5b-9; Quidel, San Diego, CA, USA) and 50 µl of plasma for neutrophil elastase (Neutrophil ELA2, Assay pro, St Charles, USA). The limit of sensitivity of each assay undertaken was as follows: C5b-9 = 16 ng/mL and elastase = 20 ng/mL.

6. Statistical Analysis

All statistical analysis was done using SPSS software version 15.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). Results were expressed as means ± standard error (SEM). Significance of the difference between groups was determined by analysis of variance (two-way ANOVA for consecutive measurements followed by the Bonferroni *t-test*) to compare pressure-diameter curves in the different groups. In the other set of experiments, the means were compared by an unpaired *t-test*. P-values less than 0.05 were considered to be significant.

RESULTS

1. Baseline patient, surgical and postoperative course characteristics

Baseline patient and surgical characteristics are presented in Tables 1 and 2. Y-composite grafts were used in 16 patients of group A (RP group) and 19 patients in group B (CFP group). Y-configuration grafting was performed according to the practice of surgeon's usual practice and determined preoperatively. In this case, the segment of RITA was sampled just before the Y-anastomosis suture and before starting the CPB (Time 1).

The duration between Time 1 and Time 2 was 43.3 ± 20.2 minutes in group A and 45.7 ± 21.5 minutes in group B ($p=0.7$). There were no deaths nor sternal infection perioperatively.

2. Endothelium-dependent relaxation of internal thoracic arteries

Acetylcholine-dependent relaxation was observed in both groups regardless of the time (before CPB=time 1 or before coronary anastomosis=time 2). In both groups, the dilatation induced by acetylcholine stepwise in ITAs of group A was equivalent to ITAs in group B (Figure 2a). NO synthesis blockade with L-NMMA reduced acetylcholine-dependent dilatation in all groups. Sodium

nitroprusside induced dilatation in the ITAs, which was not affected by flow characteristics. The same observation was found when Y-graft configuration was excluded (Figure 2b).

3. Molecular Biology (qT-PCR)

RNA extraction was performed in patients without Y-configuration ITAs or samples without vascular reactivity observed during myography (N=80 analyzed segments corresponding to 40 patients, 21 and 19 patients respectively in the RP group and the CFP group). There was no difference between groups concerning expression of genes coding for markers of macrophages and lymphocytes markers, oxidative stress, mitochondrial activity, growth and transcription factors, pro-inflammatory factors. Gene expression for C3 complement decreased from Time 1 (0.21 ± 0.02) to Time 2 (0.14 ± 0.02) ($p=0.01$) The gene coding for C4a was weakly expressed but there was a significant difference between Time 1 and Time 2 for both group ($p<0.05$) (Figure 3a and 3b).

4. Immunochemistry

No significant difference in superoxide anions level was detected between RP group and CFP group and between Time 1 and 2. The same findings were observed for anti-CD45 and anti-CD80 antibody level (Figure 4).

5. Terminal complement complex activation

Significant increases in C5b-9 levels were observed in both groups at Time 2 (= before coronary anastomosis) compared to Time 1 (= before starting CPB). The mean value of C5b-9 was 179 ± 10.9 ng/ml at Time 1 and 2533 ± 235.2 at Time 2 in the RP group ($p<0.0001$) and 183.5 ± 14.16 ng/ml and 2222 ± 146.5 in the CFP group. No difference was observed between the RP group and the CFP group at Time 2 (Figure 5a).

6. Neutrophil activation

In both groups, elastase levels at Time 2 were increased compared to Time 1. The mean value of elastase at Time 1 was 196.5 ± 13.24 ng/ml and 754.5 ± 74.81 at Time 2 in the RP group ($p<0.0001$) and 182.2 ± 19.04 ng/ml and 565.2 ± 59.45 in the CFP group ($p<0.0001$). A significant difference was observed between RP group and CFP group at Time 2 ($p=0.05$). (Figure 5b).

COMMENT

Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) after CPB is considered as an important cause of postoperative events in coronary surgery ⁽¹⁸⁾. The exponential growth in percutaneous coronary intervention procedures has led to operate on patients with more co-morbidities and more advanced cardiac disorders, who are even more sensitive to inflammatory response after CPB ⁽¹⁹⁾. There are many causes of inflammatory response are many and they have extensively described: surgical trauma, contact between blood and artificial surfaces of CPB equipment including the oxygenator and filters, activation of coagulation, cellular and humoral cascade attenuation, hemodilution and pericardial suction ⁽²⁰⁾. The early inflammatory response after immediately starting CPB, as reflected by markers released during the procedure, is known to affect the complement system and neutrophils ⁽²¹⁾. In the present study, the terminal complement complex activation and markers of neutrophil activation, were increased after starting CPB and reflected the systemic pro-inflammatory profile of the patient at time of ITA sampling. However, no difference was observed between RP and CP unlike data in the literature ^(16, 22), probably because the blood samples were collected early after starting CPB. In order to attenuate the inflammatory response, we used a tubing set improved by phosphorylcholine coated surface for better biocompatibility. Hypothermic blood cardioplegia, as used in our study, was associated with a decrease proinflammatory cytokines (IL-6) in the early postoperative period and anti-inflammatory cytokine (IL-10) compared to normothermic blood cardioplegia ⁽²³⁾.

Others experimental studies have shown the impact of CPB on vascular reactivity of small diameter arteries. Early and transient mesenteric or cerebral endothelial dysfunction with moderate impairment of endothelium-dependent relaxation occurred quickly after starting CPB ^(12, 24). CPB and cardioplegic arrest affected the vascular bed, reduced vascular resistance in skeletal muscle and increased the risk of vasospasm in the pulmonary, cardiac, mesenteric and cerebral microvascularization ⁽¹²⁾.

The debate about the role of pulsatile or non-pulsatile CPB and its impact on organ dysfunction and the microcirculation have been ongoing for several decades. Roller pump-generated pulsatile flow has been described as « ripple flow » corresponding to the variation in the flow rate of the pump which is different in the centrifugal pump ⁽²⁵⁾. The microcirculation corresponding to blood vessels with an

internal diameter of less than 200 μm is preserved with a pulsatile perfusion compared to non-pulsatile flow because of leukocyte adherence attenuation and the maintenance of the number of perfused vessels ⁽²⁶⁾. In resistance arteries, such as the mesenteric arteries in rats, pulsatile pressure induced significant dilatation and stepwise increases in pressure induced contraction but less so under non-pulsatile condition ⁽⁹⁾. An inflammatory response in the artery wall with a significant ROS level (appearing from 30 minutes), MCP-1 and TNF- α production were significant in arteries subjected to non pulsatile flow ⁽⁹⁾. Regarding these results, it appeared useful to verify if human small arteries such as ITAs, the principal graft conduit used in coronary surgery, alter their vascular reactivity, an effect that we did not observe in the present study. Use of pulsatile CPB attenuates leakage of endothelial markers (vascular endothelial growth factor (VGEF), monocyte chemo-attractant protein (MCP-1) and cytokines (IL-10 and IL-2) ⁽²⁷⁾.

We investigated a wide range of genes coding for the classical and alternative pathways of the complement terminal complex (components C3 and C4a), macrophages (CD163), lymphocytes (PTPRC), mitochondrial activity and cytokines. We observed a decrease in C3 and C4a components at time 2 and between the groups. C3 and C4a components were anaphylatoxin molecules and mediated two major effects, namely enhancement of vascular permeability and induction of smooth muscle contraction ⁽²⁸⁾. A decrease in gene expression of complement, observed in the present study, could be explained by intravascular complement system activation. An increase in oxidative stress was not found in ITAs contrary to the results of experimental studies ⁽⁹⁾. Exposure duration to the flow was relatively short around 45 minutes. A direct correlation between cytokine production (IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α) and CPB duration, consequently associated with adverse outcomes such as longer stay in the intensive care unit and longer duration mechanical ventilation have been clearly established ^(26, 29), with altered vascular reactivity during non-pulsatile perfusion starting from 180 minutes of CPB ⁽⁹⁾.

Perioperative hemodynamic monitoring including measurement of mean arterial pressure, cardiac index and mean pulmonary pressure classically is performed during cardiac surgery. However, there was no quantification of « pulsatile rate » in our study; this parameter (energy equivalent pressure (EEP) and surplus hemodynamic energy (SHE) according to Shepard's models ⁽³⁰⁾) could be variable

during CPB. Finally, in most similar studies published, the pulsatile or non-pulsatile characteristic of flow depended on the type of pump used. However, some studies have shown that some RP do not generate EEP⁽³¹⁾.

In our department, we observed an increase in Y-graft configuration procedures following results of Glineur's study⁽³²⁾. However, one of the limitations of our study was to not anticipate use of the Y-graft configuration at the time of randomization. This recruitment bias required subgroup analysis for myography.

The principal limitations of this study were evolving surgical technique concerning the arterial graft including Y-graft configuration with a risk of vascular reactivity injury due to ischemia-reperfusion injury, exposure to blood flow was relatively short but was explained by the normal course of coronary surgery and the lack of quantification of pulsatility.

CONCLUSION

In this IPITA study, roller versus centrifugal pumps developed similar systemic inflammatory responses and did not alter endothelium-dependent relaxation of the internal thoracic arteries.

The authors wish to thank Dr Odile Blanchet from the *Center of Biological Resources*, Drs Alain Chevailler and Caroline Poli for their help performing the immunological analysis and also the contribution of the perfusion team.

This work was supported by a research grant from the University Hospital of Angers (France) in 2014.

Conflict of interest statement: none to declare

REFERENCES

1. Database French Society of Thoracic and CardioVascular Society 2014
2. Haines N, Wang S, Undar A, Alkan T, Akcevin A. Clinical outcomes of Pulsatile and Non-

- pulsatile mode of perfusion. *J extra Corpor Technol.* Mars 2009 ;41(1) :p26-9
3. Saczkowski R, Maklin M, Mesana T, Boodhwani M, Ruel M. Centrifugal pump and roller pump in adult cardiac surgery: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Artif Organs.* 2012 Aug 1;36(8):668–76.
 4. Ashraf S, Butler J, Tian Y, Cowan D, Lintin S, Saunders NR, et al. Inflammatory mediators in adults undergoing cardiopulmonary bypass: comparison of centrifugal and roller pumps. *Ann Thorac Surg.* 1998 Feb;65(2):480–4.
 5. Baufreton C, Intrator L, Jansen PG, Velthuis te H, Le Besnerais P, Vonk A, et al. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass using roller or centrifugal pumps. *Ann Thorac Surg.* 1999 Apr;67(4):972–7.
 6. James SA, Peters J, Maresca L, Kalush SL, Trigueros EA. The roller pump does produce pulsatile flow. *J Extra Corpor Technol.* 1987 Oct 27;19:376–83.
 7. Wright G. The hydraulic power outputs of pulsatile and nonpulsatile cardiopulmonary bypass pumps. *Perfusion.* SAGE Publications; 1988;3(4):251–62.
 8. Watarida S, Mori A, Onoe M, Tabata R, Shiraishi S, Sugita T, et al. A clinical study on the effects of pulsatile cardiopulmonary bypass on the blood endotoxin levels. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994 Oct;108(4):620–5.
 9. Pinaud F, Loufrani L, Toutain B, Lambert D, Vandekerckhove L, Henrion D, et al. In vitro protection of vascular function from oxidative stress and inflammation by pulsatility in resistance arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2011 Nov;142(5):1254–62.
 10. Crow S, John R, Boyle A, Shumway S, Liao K, Colvin-Adams M, et al. Gastrointestinal bleeding rates in recipients of nonpulsatile and pulsatile left ventricular assist devices. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2009;137(1):208–15.
 11. Bartoli CR, Restle DJ, Zhang DM, Acker MA, Atluri P. Pathologic von Willebrand factor degradation with a left ventricular assist device occurs via two distinct mechanisms: Mechanical demolition and enzymatic cleavage. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2015 Jan;149(1):281–9.
 12. Ruel M, Khan TA, Voisine P, Bianchi C, Sellke FW. Vasomotor dysfunction after cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2004 Nov 1;26(5):1002–14.

13. Baufreton C, Pinaud F, Corbeau J-J, Chevaller A, Jolivot D, Minassian Ter A, et al. Increased cerebral blood flow velocities assessed by transcranial Doppler examination is associated with complement activation after cardiopulmonary bypass. *Perfusion*. 2011 Mar;26(2):91–8.
14. Baufreton C, Jansen PG, Le Besnerais P, te Velthuis H, Thijs CM, Wildevuur CR et al. Heparin coating with aprotinin reduces blood activation during coronary artery operations. *Ann Thorac Surg*. 1997 Jan;63(1):50-6.
15. Baufreton C, De Bruux JL, Binuani P, Corbeau JJ, Subayi JB, Daniel JC et al. A combined approach for improving bypass in coronary surgery : a pilot study. *Perfusion* 2002 Nov ;17(6) :407-13.
16. Shapira OM, Korach A, Pinaud F, Dabah A, Bao A, Corbeau JJ et al. Safety and efficacy of biocompatible perfusion strategy in a contemporary series of patients undergoing coronary artery bypass grafting : a two-center study. *J Cardiothorac Surg*. 2014 Dec 18;9: 196.
17. D. Henrion, I Laher and Bevan JA. Intraluminal flow increases vascular tone and 45 Ca^{2+} in flux in the rabbit fascial vein. *Circulation Research*. 1992, vol.71, no 2, pp. 339-345.
18. John W, Hammon. Extracorporeal circulation : the response of humoral and cellular elements of blood extracorporeal circulation. In : Cohn LH, editor. *Cardiac surgery in the adult*, vol.3. New-York : McGraw-Hill. 2008 p.370-89.
19. Casthelheim A, Hoel TN, Vedem V et al. Biomarker profile in off-pump coronary artery bypass grafting surgery in low-risk patients. *Ann Thorac Surg* 2008 ;85 :1994-2002.
20. Onorati F, Esposito A, Comi MC et al. Intra-aortic balloon pump-induced pulsatile flow reduces coagulative and fibrinolytic response to cardiopulmonary bypass. *Artif Organs* 2008 ; 32 :433-41.
21. Boyle EM, Pohlman TH, Johnson MC, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular response. *Ann Thorac Surg* 1997; 63 :277-84.
22. Baufreton C, Intrator L, Jansen PGM et al. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass using roller or centrifugal pumps. *Ann Thorac Surg*. 1 avr 1999 ;67(4) :972-7
23. Sacli H, Kara I, Diler MS, Percin B, Turan AI, Kirali K. The relationship between the use of cold and isothermic blood cardioplegia solution for myocardial protection during cardiopulmonary bypass and the ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2019 Jul 12.

24. Doguet F, Litzler PY, Tamion F et al. Changes in mesenteric vascular reactivity and inflammatory response after cardiopulmonary bypass in a rat model. *Ann Thorac Surg.* 2004 Jun;77(6):2130-7
25. Sunagawa G, Koprivanac M, Karimov JH, Moazami N, Fukamachi K. Is a pulse absolutely necessary during cardiopulmonary bypass ? *Expert Rev Med Devices.* 2017 jan ;14(1) :27-35.
26. O'Neil MP, Fleming JC, Badhwar A, Guo L. Pulsatile versus nonpulsatile flow during cardiopulmonary bypass: microcirculatory and systemic effects. *Ann Thorac Surg.* 2012 Dec;94(6):2046-53.
27. Onorati F, Rubino AS, Nucera S et al. Off-pump coronary artery bypass surgery versus standard linear or pulsatile cardiopulmonary bypass : endothelial activation and inflammatory response. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2010 Apr ; 37(4) :897-904.
28. Hugli TE. Structure and function of the anaphylatoxins. *Springer Semin Immunopathol.* 1984;7(2-3):193-219. Review.
29. Gorjipour F, Totonchi Z, Gholampour Dehaki M et al. Serum levels of interleukin-6, interleukin-8, interleukin-10, and tumor necrosis factor- α , renal function biochemical parameters and clinical outcomes in pediatric cardiopulmonary bypass surgery. *Perfusion* 2019 Apr 26.
30. Shepard RB, Simpson DC, Sharp JF. Energy equivalent pressure. *Arch Surg* 1966;93:730–40. ^{[[1]]}_{ISEP}
31. Undar A, Eichstaedt HC, Bigley JE, Deady BA, Porter AE, Vaughn WK, et al. Effects of pulsatile and nonpulsatile perfusion on cerebral hemodynamics investigated with a new pediatric pump. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;124:413-6.
32. Glineur D. Bilateral Internal Thoracic Artery Configuration for Coronary Artery Bypass Surgery. *Circulation.* 2016, 1–8.

LEGENDS

Table 1: Characteristics of the study population

BMI, body mass index; AMI, acute myocardial infarction ; LVEF, left ventricular ejection ; ACE, angiotensin-converting enzyme. Data are presented as mean \pm SD or n (%)

Table 2: Surgical data

LITA, Left internal thoracic artery ; BITA, Bilateral internal thoracic artery ; SVG, Saphenous vein graft ; ACT, Activated Clotting Time. Data are presented as mean \pm SD or n (%).

Figure 1: Flow-chart study

Figure 2a: Dilatation induced by increasing dose of Acetylcholine in phenylephrine pre-constricted artery (A). Reduction of acetylcholine-dependent dilatation with NO synthesis blockade L-NMMA (N-monomethyl-L-Arginine) (B) then Indomethacin (C) was observed. Dilatation was induced by increasing the dose of sodium nitroprusside (D). Ach, acetylcholine; SNP, sodium nitroprusside; Data are presented as mean \pm SEM.

Figure 2b: Myography results without Y-graft configuration.

Figure 3: Protein expression levels from RP group to CFP group at time 1 or time 2 in artery sections. Expression of genes coding: cytokines, IL-6 (Interleukin-6), MCP-1 (Monocyte Chemotactic protein 1), CCL2; growth and transcription factors, VEGF (Vascular Growth Endothelial Factor), NF κ B3 (pro-inflammatory transcription factor) (**Figure 3a**). CD163, macrophages; oxidative stress, SOD1 and SOD2 (superoxide dismutase 1 and 2), complement complex, C3 and C4a (**Figure 3b**). Data are presented as mean \pm SEM. *p<0.05

Figure 4: In situ detection of superoxide anion, CD 45 and CD80 in RP group and CFP group from Time 1 to Time 2 are shown in the bar graph.

Figure 5: Red box = RP group; Blue box = CFP group. Complement SC5b-9 (Figure 5a) and elastase (Figure 5b) production increased from Time 1 to Time 2 in both groups. Data are presented as mean \pm SEM. * $p < 0.05$

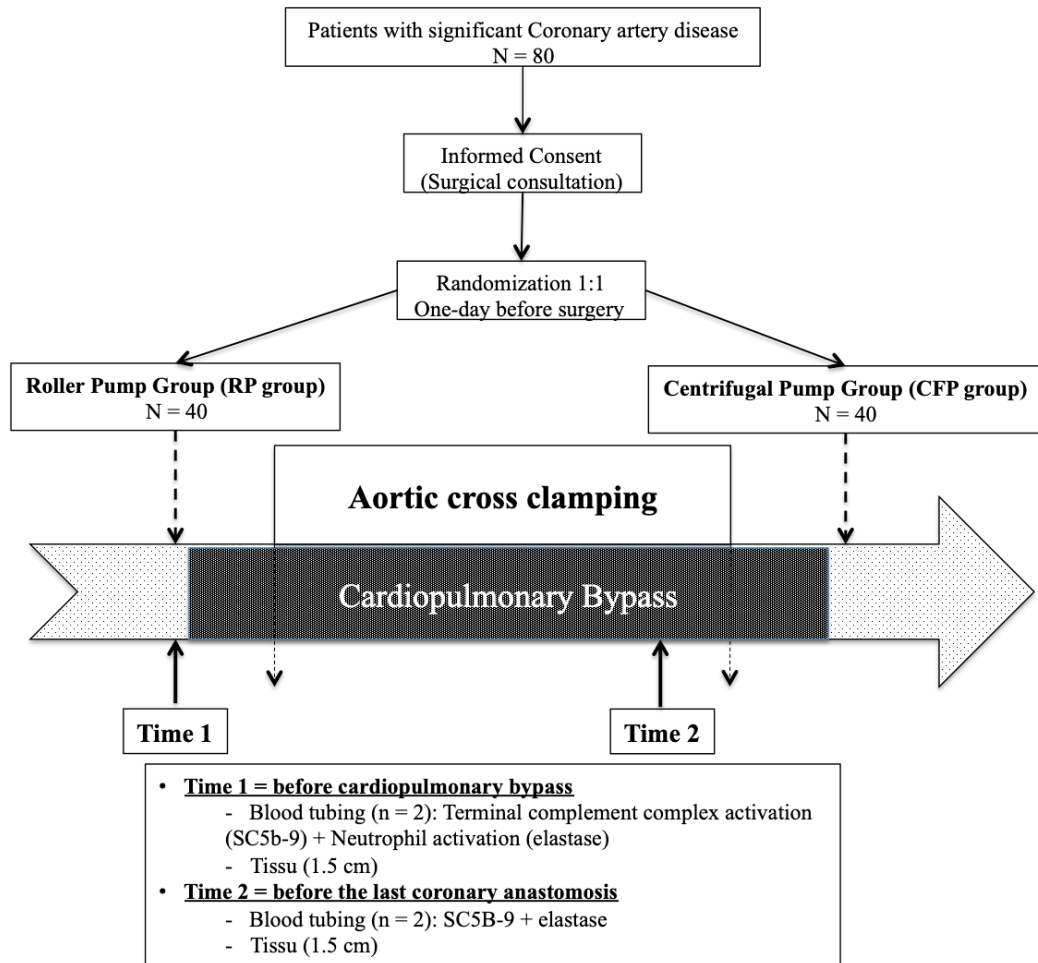


Figure 1

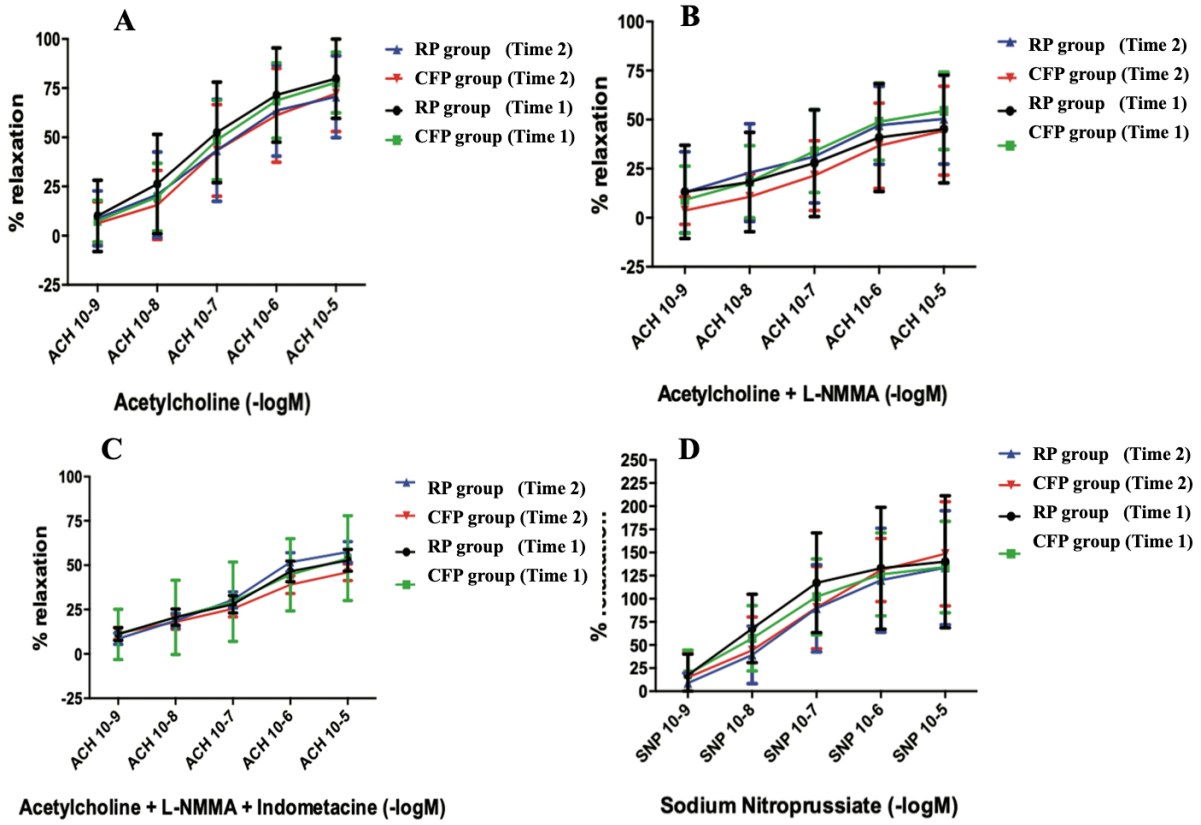


Figure 2a

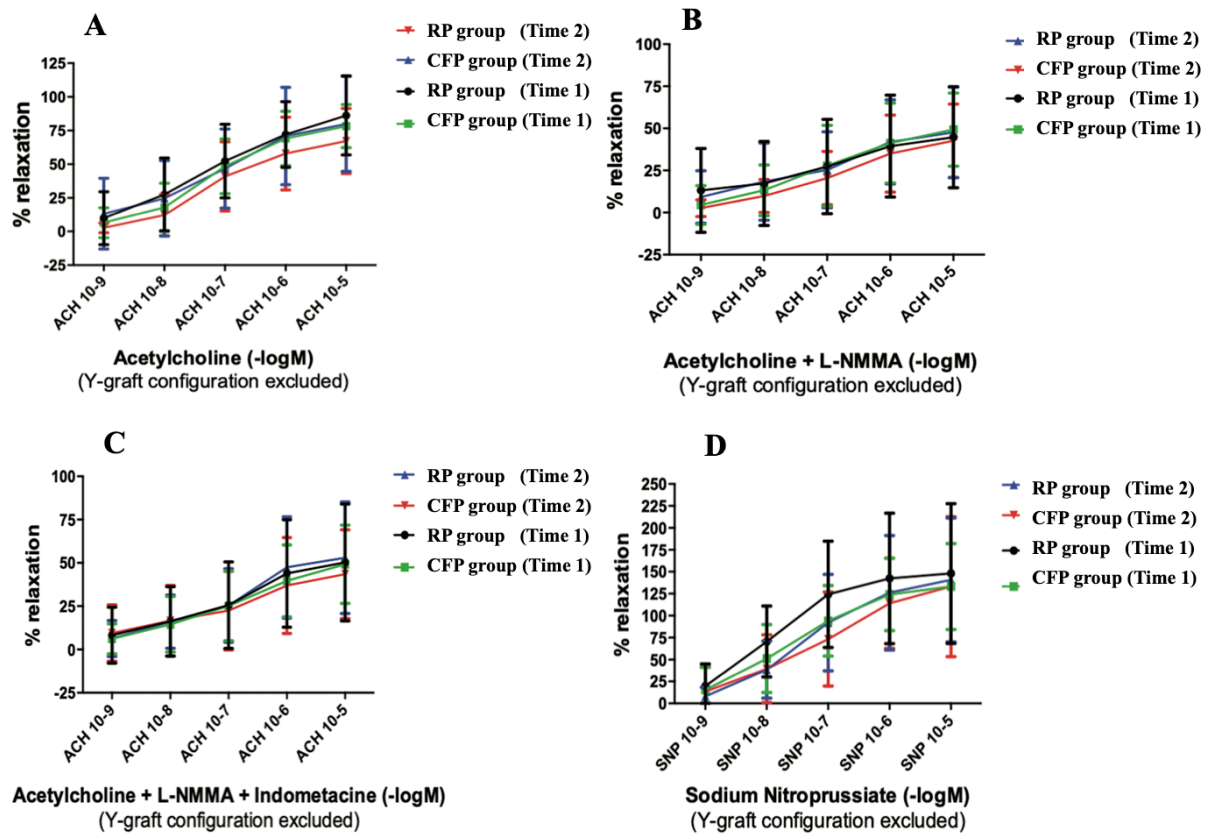


Figure 2b

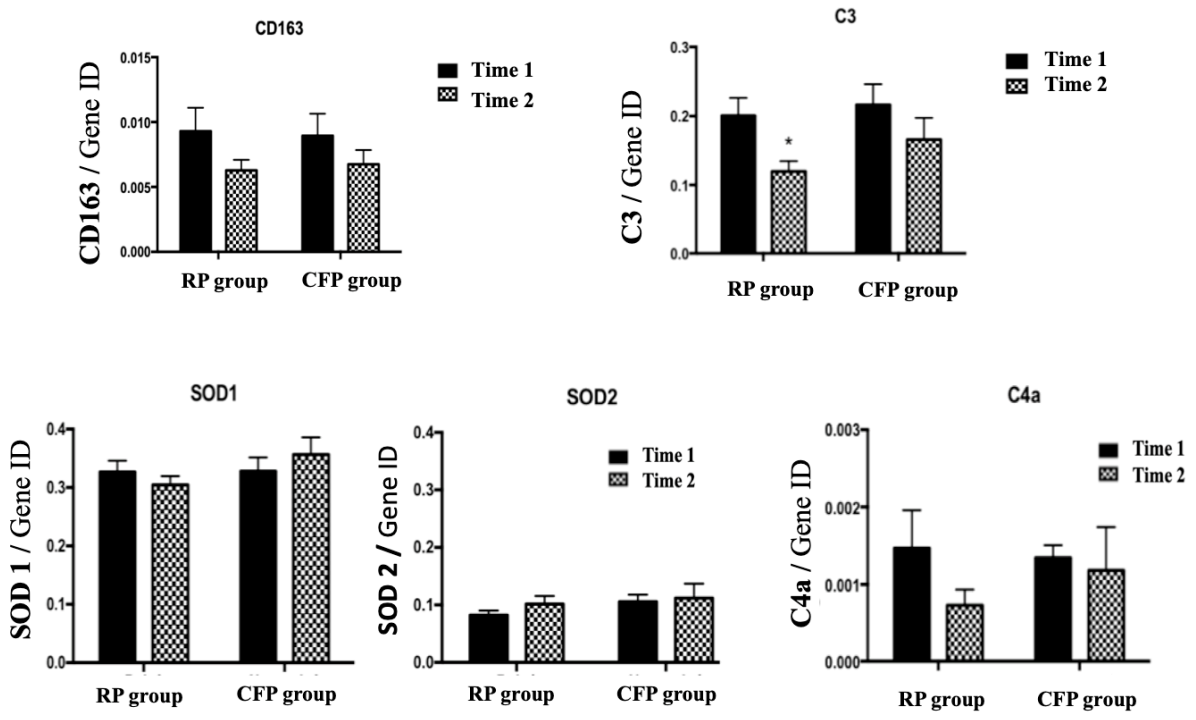


Figure 3a

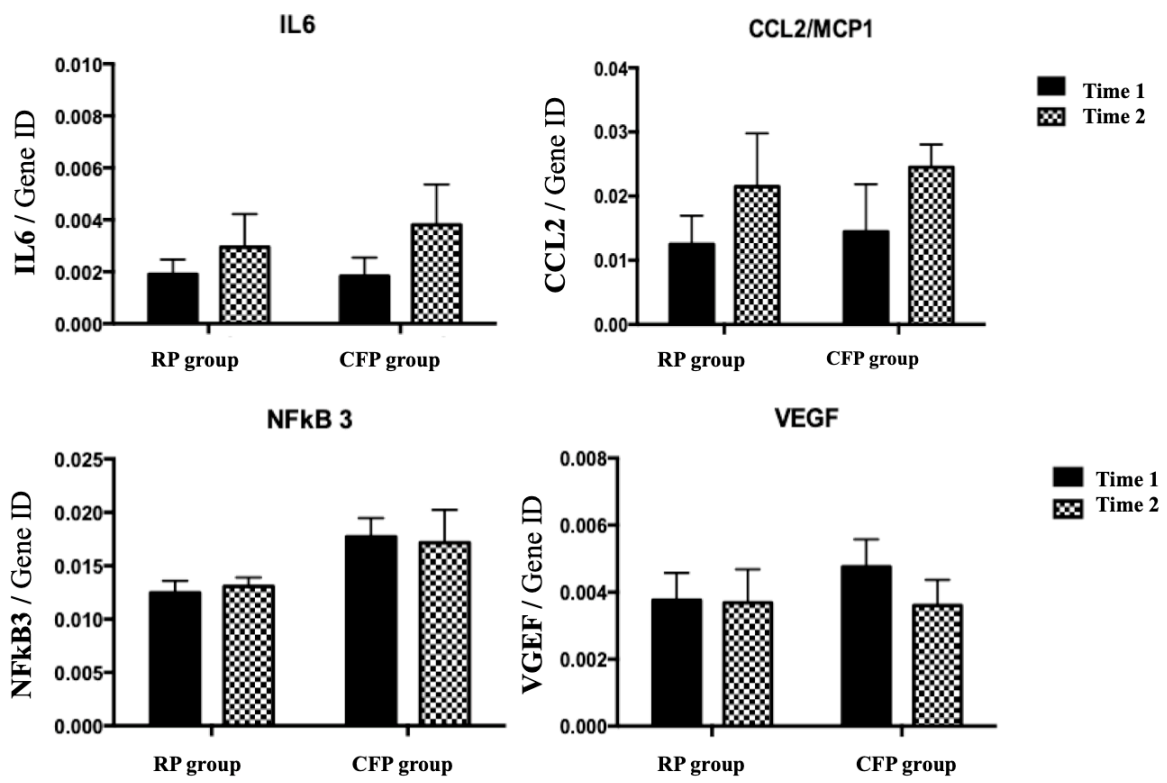


Figure 3b

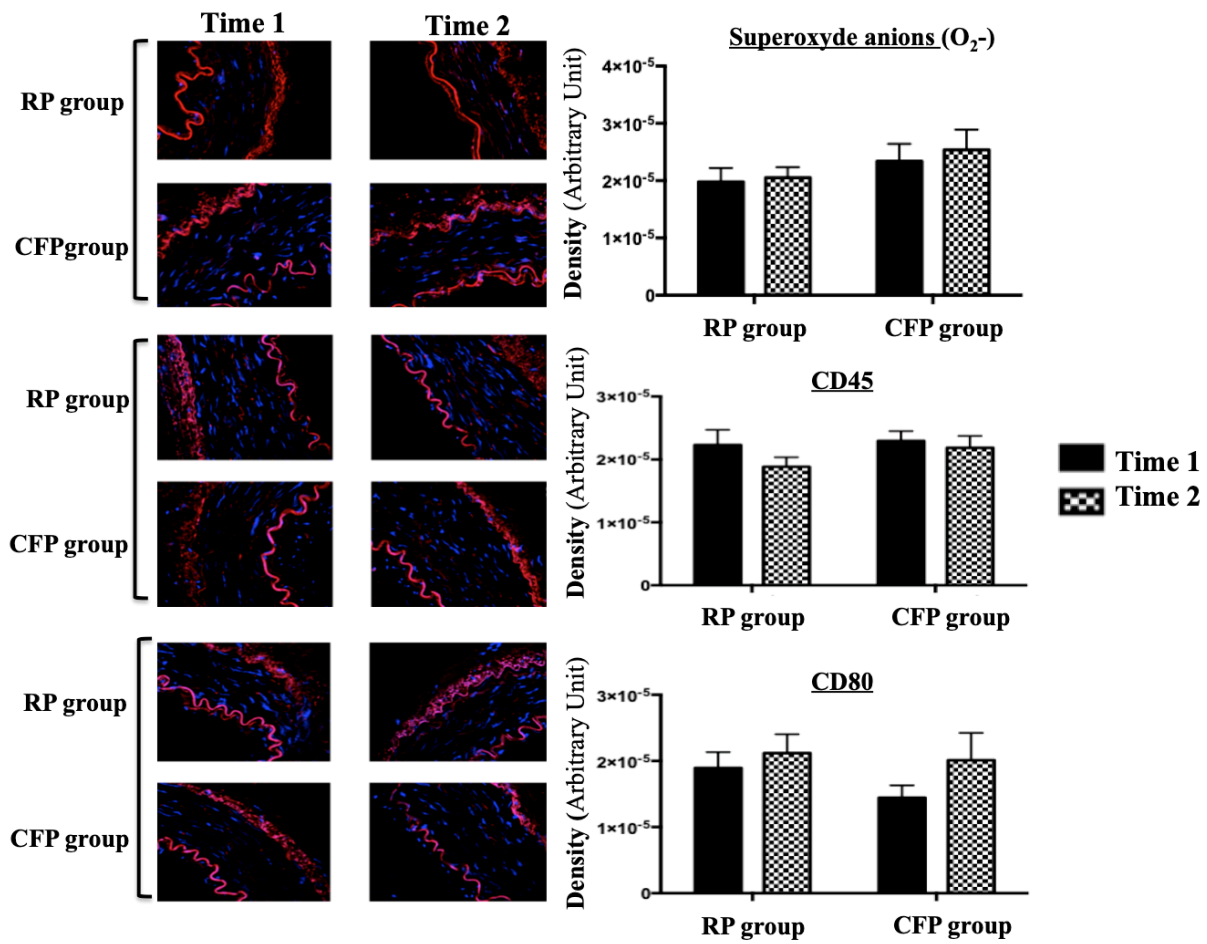


Figure 4

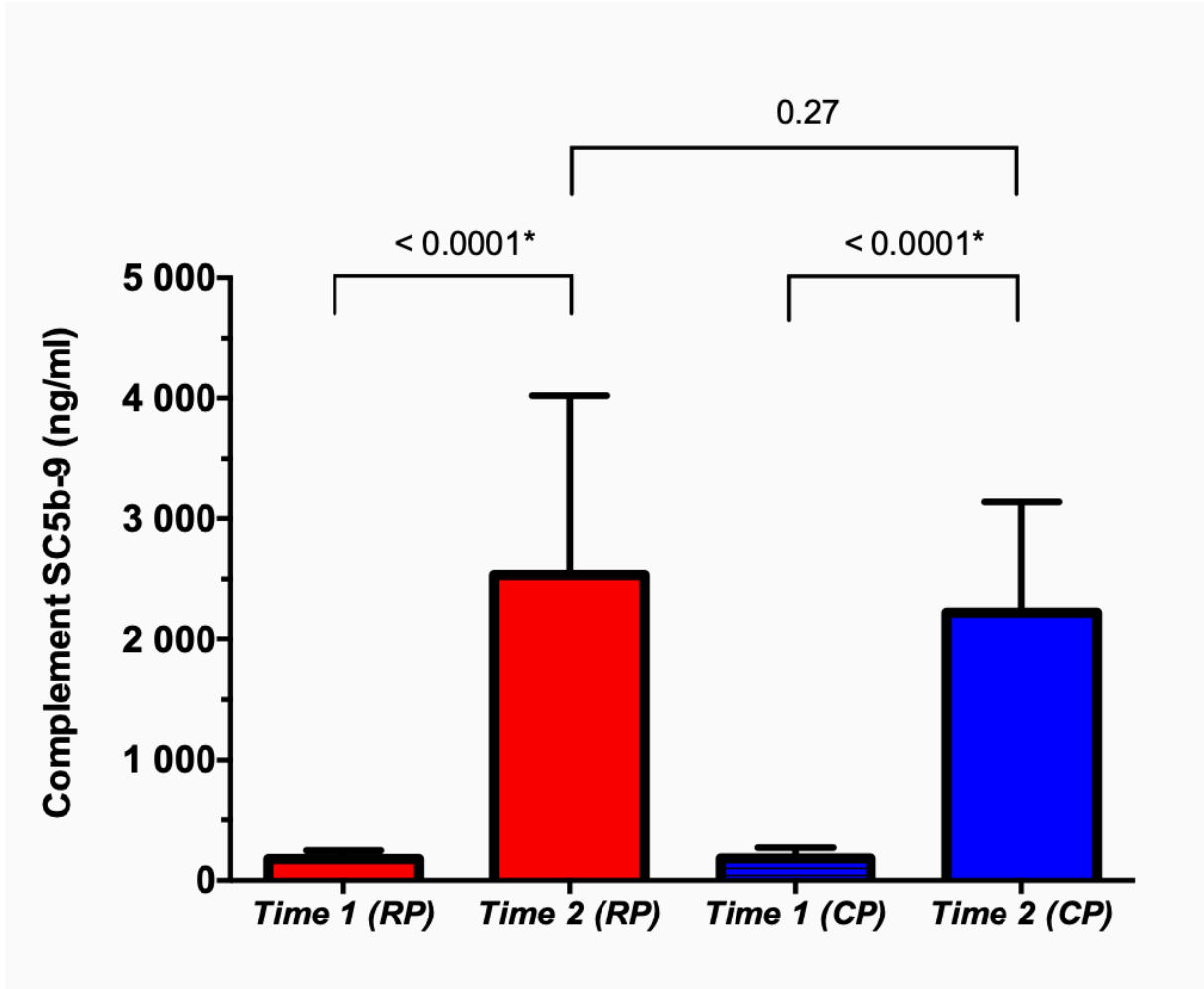


Figure 5a

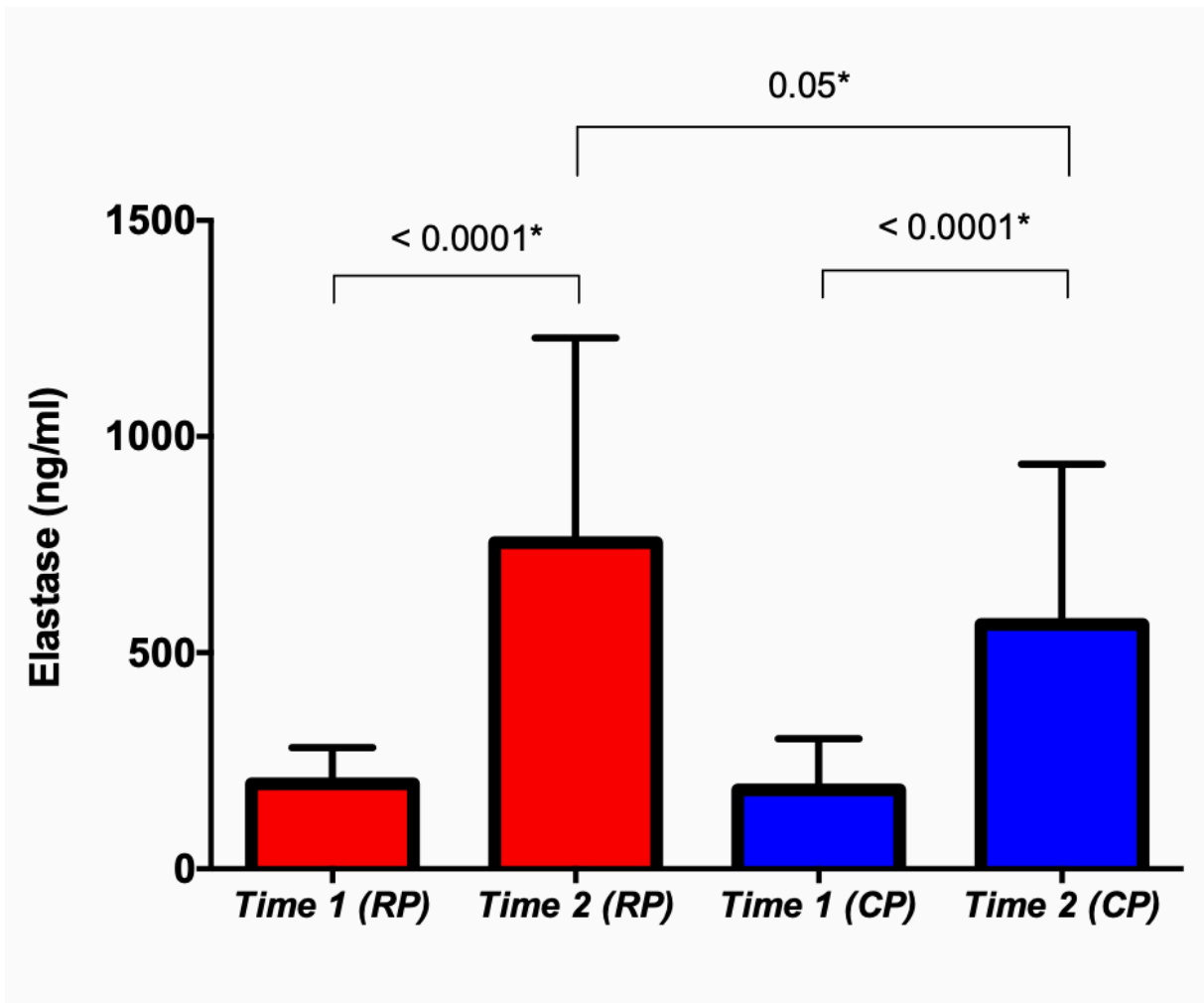


Figure 5b

TABLES

Table 1

Variables	RP group n = 40	CFP group n = 40	p-values
Age (years)	66±9	67±9	0.6
Heigh (cm)	171±6	169±7	0.4
Weight (kg)	79±12	80±13	0.8
BMI (kg/m ²)	27±3	28±4	0.4
Diabetes mellitus, n (%)	12 (30)	9 (23)	0.5
Hypertension, n (%)	32 (80)	25 (64)	0.1
Dyslipidemia, n (%)	29 (72)	29 (72)	1
Current smoking, n (%)	6 (15)	4 (10)	0.4
Previous AMI	9 (22)	9 (22)	1
1 vessel, n (%)	4 (10)	1 (2.5)	0.4
2 vessels, n (%)	12 (30)	17 (44)	0.3
3 vessels, n (%)	24 (60)	22 (55)	0.5
Logistic Euroscore 1 (%)	2.15±1.7	2.6±2.1	0.3
LVEF (%)	58±9	56±12	0.3
Platelet inhibitors, n (%)	34 (85)	36 (90)	1
Clopidogrel, n (%)	10 (25)	12 (30)	0.3
β-blockers, n (%)	35 (87)	33 (84)	0.7
ACE-inhibitors, n (%)	29 (72)	27 (69)	0.7
Calcium channel blockers, n (%)	6 (15)	5 (13)	0.8

Table 2 :

Variables	RP group n = 40	CFP group n = 40	p-values
Anastomosis per patients n (%)	2.5±0.8	2.5±0.9	0.95
Conduits			
LITA n (%)	40 (100)	40 (100)	
BITA n (%)	27 (67)	26 (65)	
SVG n (%)	15 (37)	17 (42)	
Y-composite graft n (%)	16 (40)	19 (49)	0.4
Sequential grafts			
With LITA n (%)	9 (22)	9 (22)	0.9
With RITA n (%)	5 (12)	6 (15)	0.6
Cardiopulmonary bypass duration (min)	87±31	94±32	0.3
Aortic cross-clamping time (min)	61±26	68±27	0.3
Heparin dose (mg)	157±45	172±61	0.2
Minimum ACT (sec)	217±38	222±27	0.5
Maximum ACT (sec)	303±29	303±34	0.9
Exposure time of ITA to the pump flow (min)	43.3±20.2	45.7±21.5	0.7

Discussion générale

La première étude a montré qu'aucune solution de conservation ne permet de ralentir ou de modifier le risque de développement d'une hyperplasie intimale dans un modèle de greffe de veine chez le rat lorsque que celle-ci est implantée en position artérielle avec des contraintes hémodynamiques importantes (shear-stress, cyclic strain) s'exerçant sur sa paroi. Différents modèles de greffe veineuse sont décrits dans la littérature, qu'il s'agisse de petit ou gros animal. Nous avons privilégié l'utilisation de rats syngéniques, ceci afin de limiter les phénomènes immunologiques. Le choix d'anastomose termino-terminale fut motivé par la reproductibilité de la procédure chirurgicale mais également afin d'aligner l'ensemble de la couche endothéliale dans le sens du flux.

Les solutés de conservation les plus usuels sont : le sérum hépariné, le sang autologue hépariné et des solutions anti-oxydantes type GALA (glutathion, acide L-Ascorbique, L-Arginine). Cette dernière solution est utilisée de façon routinière dans le service de chirurgie cardiaque du CHU d'Angers, et ce depuis 2005 (Annexe 1).

Plusieurs études in vitro, réalisées sur des segments de veine saphène interne humaine mettent en avant le caractère délétère des solutions salines sur l'endothélium vasculaire (132, 133).

Dans les études réalisées chez l'animal, les solutions étudiées montrent des avantages au sang autologue de façon précoce ; cependant, dès que les phénomènes d'artérialisation apparaissent, aucune solution ne permet de maintenir l'architecture de la veine (134).

Thatte HS. montrait dans son étude (87) que la viabilité des cellules endothéliales était maintenue de 60 à 1440 minutes de conservation dans la solution GALA, ceci permettant de supposer que la durée de conservation du greffon ne serait pas un facteur péjoratif. Lors de l'analyse de segments de veine, après conservation dans les différents solutés, avant leur implantation, nous n'avons pas retrouvé d'altération de son architecture avec le maintien d'un certain degré de réactivité vasculaire propre à une veine. C'est à partir de ces constatations, et

afin de vérifier l'intégrité des greffons à long terme, soit après 6 semaines d'implantation en position artérielle (5), que cette étude fut construite. Les résultats confirment les données émanant de la littérature, particulièrement sur le taux d'occlusion retrouvé dans nos greffons (135). L'analyse des greffons occlus montre le développement d'un processus d'athérosclérose important permettant de situer l'hyperplasie intimale dans sa phase III au stade chronique (Cronenwett et al. 2010 ; Rutherford's Vascular Surgery)

Les différents solutés étudiés n'ont pas permis de modifier les phénomènes d'artérialisation veineuse, avec une réaction inflammatoire locale importante. Il est fortement probable également qu'une analyse plus précoce aurait permis d'apprécier la cinétique inflammatoire. La composition de la solution GALA a pour but de maintenir un environnement favorable aux CE. Celle-ci s'appuie sur la combinaison de piègeurs de radicaux libres, d'antioxydants (glutathion, acide ascorbique), de substrat de NO synthétase (L-Arginine). Le glutathion augmente le transport de L-Arginine dans les CE, stimule l'activité des eNOS et la dilatation coronaire. L'acide ascorbique limite le stress oxydatif et aide au maintien de eNOS dans l'endothélium. Ainsi, l'acide ascorbique contribue à la libération de NO dans la lumière des vaisseaux, réduit l'adhésion leucocytaire, inhibe la prolifération des CMLs et augmente la production de prostacycline. Quant à la L-arginine, celle-ci agit comme substrat pour eNOS et diminue les interactions entre les neutrophiles et les CE. C'est la synergie de ces différents composés qui permet le maintien de la fonctionnalité endothéliale, en toute hypothèse dans des études in vitro (87).

Cependant, notre étude a des limites et les résultats auxquels elle aboutit, doivent être interprétés avec recul et précaution en particulier dans son éventuelle extrapolation à l'homme. En effet, la mise en place du modèle animal fut compliquée par l'extrême fragilité de la paroi de la veine, lorsque celle-ci fut placée dans sa solution pendant plus d'une heure, la « texture » rendant son implantation difficile. Le taux de mortalité fut ainsi élevé au début

de l'étude. Le taux élevé d'occlusion à 6 semaines, nous a contraint à « pooler » les greffons pour étudier la réactivité vasculaire, ce qui constitue un biais important. Parmi les greffons occlus, aucun ne présentait de malfaçon chirurgicale. Le terme classiquement employé pour définir les modifications architecturales et fonctionnelles de la veine lorsqu'elle est soumise à des niveaux de shear-stress élevé comme le flux artériel, est : « artérialisation ». Cette terminologie semble indiquer qu'une veine implantée en position artérielle pourrait avoir les mêmes caractéristiques qu'une artère, ce qui est très éloigné de nos constats inhérents à la réactivité vasculaire.

La deuxième étude est une revue de la littérature rédigée, sous la forme d'un best bet . Nous avons étudié les différences cliniques post-opératoires de prélèvement d'une artère thoracique interne squelettisée comparé au prélèvement d'une ATI pédiculée c'est à dire avec son pédicule veineux. La genèse de cette étude est d'imaginer qu'une dévascularisation complète du lit des ATIs constitue un facteur favorisant d'infection du site opératoire. Plusieurs méta-analyses (136, 137) ont montré une augmentation des médiastinites en particulier si un prélèvement bilatéral avec des ATIs pédiculés était réalisé chez des patients diabétiques. L'étude randomisée de Boodhwani et al. (138) visait à squelettiser une des deux ATIs chez des patients nécessitant l'utilisation des deux greffons. Dans ce cas, il était observé une meilleure perfusion sternale par imagerie nucléaire, une diminution de la douleur et une meilleure sensibilité du côté des artères squelettisées. D'autres études prospectives montrent une diminution des transfusions sanguines, des durées de ventilation mécaniques, d'hospitalisation en réanimation et des taux d'infections d'infections sternales (139-141) en cas de squelettisation. Les résultats de l'ensemble de ces études permettent de penser que la squelettisation des ATIs diminuent le risque d'infection du site opératoire, de la douleur et de la durée de ventilation.

La troisième étude a montré que l'utilisation des pompes à galets et centrifuge ne modifiait pas la réactivité vasculaire des artères thoraciques internes et que la réponse inflammatoire systémique observée après le démarrage de la CEC, n'était pas retrouvée au niveau de la paroi artérielle du greffon. Le syndrome de réponse inflammatoire systémique (SIRS), généré par la CEC est considéré comme une cause importante d'évènements périopératoires (142). Les causes sont nombreuses et décrites : traumatisme chirurgical, contact entre le sang et les surfaces artificielles (tubing, oxygénateurs, filtres, gants chirurgicaux), activation de la coagulation, atténuation des cascades cellulaires et humorales, hémodilution, aspiration du sang intra-péricardique (143). Le développement de biomatériaux, une meilleure gestion des aspirations sanguines, un niveau d'anticoagulation plus bas ont permis de réduire le niveau du SIRS (144). Des marqueurs inflammatoires sont produits au cours de la procédure tels que la chaîne terminale du complément (SC5b-9) et l'élastase leucocytaire. Ces marqueurs sont augmentés dès le début de la CEC, pour atteindre un pic en fin de procédure et sont présents jusqu'à l'injection de protamine. Lorsque les deux pompes sont comparées, SC5b-9 et l'élastase leucocytaire sont plus importants avec une pompe centrifuge (9). Cependant, dans notre étude, cette différence n'était pas retrouvée probablement en raison de la précaution du deuxième prélèvement (45 minutes entre les deux prélèvements).

Notre étude fut construite à partir des constatations de l'étude expérimentale, proposée par Pinaud et al. (Annexe 2). Des artères mésentériques de rats avaient été perfusées par une solution saline. Le choix de non-utilisation du sang autologue, permettait de s'amander de la réaction inflammatoire systémique et de ces conséquences sur la réactivité vasculaire. Les artères étaient soumises à un flux pulsatile, calqué sur la fréquence cardiaque des rats. Ainsi, ils ont pu montrer que, lorsque l'artère était soumise à un flux non pulsatile, une réaction inflammatoire intra-pariétale (augmentation MCP-1, TNF α) apparaissait. Il existait également

une altération du tonus myogénique à partir de 180 minutes, indépendamment du flux et de la pression.

Dans notre étude, la réaction inflammatoire intrapariétale existe, mais sans différence entre les deux groupes. Il est observé cependant, une diminution de l'expression des gènes codant pour C3 et C4a entre les deux temps. C3 et C4a sont des molécules anaphylatoxines à l'origine de renforcement de la perméabilité vasculaire et induise une contraction des CMLs (145). La diminution observée au niveau pariétal de C3 et C4a peut être expliquée par l'augmentation intravasculaire de l'activité du complément. La mise en route de la CEC entraîne une activation endothéliale avec un relargage sanguin de marqueurs endothéliaux (VGEF, MCP-1, IL-10 et IL-2), phénomène qui est atténué en cas de flux pulsatile (146). Les pompes à galets génèrent un « ripple flow » correspondant aux variations du niveau de flux de la pompe facilement identifiable par les ondulations apparaissant sur la ligne de mesure de la saturation pulsée en oxygène SpO₂. Il a été montré que certaines pompes à galets ne génèrent pas plus d'EEP (Energy Equivalent Pressure) que certaines pompes à galets non pulsatiles. (147, 148). Il paraît donc difficile d'affirmer qu'une pompe à galets est à l'origine d'un flux pulsatile et qu'une pompe centrifuge réalise un flux non pulsatile si aucune mesure d'EEP n'est réalisée. Les résultats obtenus en myographie sur les ATIs montrent qu'il n'existe aucune différence entre les deux types de pompe ; cependant, le temps pendant lequel les artères ont été soumises au flux de la pompe est relativement court.

Conclusion et perspectives

Ce travail de thèse a été construit en concomitance avec une activité clinique quotidienne de pontages coronaires. L'utilisation permanente de greffons artériels, mais aussi veineux, nous conduit à réfléchir sur nos pratiques. Les résultats de la chirurgie coronaire, telle qu'elle est pratiquée dans nos centres, sont excellents mais méritent, probablement, d'être améliorés, en particulier en ce qui concerne la perméabilité des greffons.

Ce travail a été élaboré entre le service de chirurgie cardiaque d'Angers, dont l'expertise est reconnue dans le domaine de la circulation extra-corporelle, et le laboratoire Mitovasc dont les connaissances avérées sur la physiopathologie artérielle ont permis de développer ces projets.

Depuis le début des travaux de thèse, nos pratiques chirurgicales ont évolué avec une augmentation importante des pontages tout artériel, la squelettisation systématique de toutes les artères thoraciques internes et l'utilisation régulière de montage en Y artériel, permettant les revascularisations multiples du réseau gauche. Ces modifications progressives de nos pratiques, qui ont suivi l'étude expérimental sur les artères mésentériques de rats, ont, bien évidemment, influencé le travail sur les artères thoraciques ; ceci expliquant le biais non anticipé lors de l'écriture du projet.

A chaque battement cardiaque, la circulation sanguine est pulsée, une perfusion non pulsatile constitue un phénomène non physiologique en particulier au niveau de la microcirculation. Les résultats des études expérimentales chez le rat, laissaient présager que des constatations similaires pourraient être retrouvées sur des artères intermédiaires humaines. Même si nous avançons, ici, des résultats négatifs par rapport à la question posée, il paraît indispensable de s'interroger sur la nécessité de maintenir cette pulsatilité, quand le cœur n'est plus capable de l'assurer lui-même. On peut, malgré tout, affirmer que l'utilisation d'une circulation extra-corporelle ne constitue pas un facteur pouvant compromettre la perméabilité des greffons artériels.

L'utilisation des greffons saphènes connaît un certain déclin, du fait de l'augmentation des revascularisations artérielles, mais également par le développement des procédures hybrides, associant angioplastie coronaire du réseau droit et pontages sur le réseau gauche. Il conviendra, bien évidemment, au vu de l'utilisation de la solution GALA depuis 15 ans dans le service, d'évaluer cette pratique clinique. Des études d'imagerie, sur des greffons préalablement conservés dans diverses solutions dont le GALA, sont actuellement en cours au Canada.

Le développement d'un modèle de greffe de veine en position artérielle permettra, probablement, d'étayer les recherches actuellement menées au sein du laboratoire sur la relation artère-veine.

Références

1. Sharma GV, Deupree RH, Khuri SF, Parisi AF, Luchi RJ, Scott SM. Coronary bypass surgery improves survival in high-risk unstable angina. Results of a Veterans Administration Cooperative study with an 8-year follow-up. Veterans Administration Unstable Angina Cooperative Study Group. *Circulation*. 1991Nov.;84(5 Suppl):III260–7.
2. Thatte H, Khuri S. The coronary artery bypass conduit: I. Intraoperative endothelial injury and its implication on graft patency. *Ann Thorac Surg*. 2001;72(6):S2245–52.
3. Lopes RD, Mehta RH, Hafley GE, Williams JB, Mack MJ, Peterson ED, et al. Relationship Between Vein Graft Failure and Subsequent Clinical Outcomes After Coronary Artery Bypass Surgery. *Circulation*. 2012Feb.13;125(6):749–56.
4. Rousou L, Taylor K, Lu X, Healey N, Crittenden M, Khuri S, et al. Saphenous vein conduits harvested by endoscopic technique exhibit structural and functional damage. *Ann Thorac Surg*. 2009;87(1):62–70.
5. Sun Q, Kawamura T, Masutani K, Peng X, Sun Q, Stolz DB, et al. Oral intake of hydrogen-rich water inhibits intimal hyperplasia in arterialized vein grafts in rats. *Cardiovasc Res*. 2012Apr.1;94(1):144–53.
6. Mehta RH, Ferguson TB, Lopes RD, Hafley GE, Mack MJ, Kouchoukos NT, et al. Saphenous Vein Grafts With Multiple Versus Single Distal Targets in Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Surgery: One-Year Graft Failure and Five-Year Outcomes From the Project of Ex-Vivo Vein Graft Engineering via Transfection (PREVENT) IV Trial. *Circulation*. 2011Jul.18;124(3):280–8.
7. James SA, Peters J, Maresca L, Kalush SL, Trigueros EA. The roller pump does produce pulsatile flow. *J Extra Corpor Technol*. 1987Oct.27;19:376–83.
8. Driessen JJ, Dhaese H, Fransen G, Verrelst P, Rondelez L, Gevaert L, et al. Pulsatile compared with nonpulsatile perfusion using a centrifugal pump for cardiopulmonary bypass during coronary artery bypass grafting. Effects on systemic haemodynamics, oxygenation, and inflammatory response parameters. *Perfusion*. 1995;10(1):3–12.
9. Baufreton C, Intrator L, Jansen PG, Velthuis te H, Le Besnerais P, Vonk A, et al. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass using roller or centrifugal pumps. *Ann Thorac Surg*. 1999Apr.1;67(4):972–7.
10. Pinaud F, Loufrani L, Toutain B, Lambert D, Vandekerckhove L, Henrion D, et al. In vitro protection of vascular function from oxidative stress and inflammation by pulsatility in resistance arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2011Nov.;142(5):1254–62

11. Watarida S, Mori A, Onoe M, Tabata R, Shiraishi S, Sugita T, et al. A clinical study on the effects of pulsatile cardiopulmonary bypass on the blood endotoxin levels. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1994Oct.;108(4):620–5.
12. Demikhov VP. *Experimental transplantation of vital organs*. New York:Consultant's bureau, 1962.
13. Demikhov VP. *Transplantation of vital organs in experiments*. Moscow: Medgiz, 1960
14. Jonnesco T. Angine de poitrine guérie par la résection du sympathique cervicothoracique. *Bull Acad Med Paris* 1920;84 :93-102.
15. Beck CS, Development of new blood supply to heart by operation, *Ann Surg*, Volume: 102, (1935), pp. 801—813
16. O'Shaughnessy L, Experimental method of providing collateral circulation to the heart, *Br J Surg*, Volume: 23, (1936), pp. 665-670
17. Fauteux M, Palmer JH, Treatment of angina pectoris of atheromatous origin by ligation of great cardiac veins, *Can Med Assoc J*, Volume: 45, (1941), pp. 295-299
18. Fieschi D, Criteri anatomico-fisiologici per intervento chirurgico lieve in malati di infarto and cuore e di angina, *Arch Ital Chir*, Volume: 63, (1942), pp. 305-310
19. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J.* 2018 Aug 25 ;35(37) :2541-619
20. Sabik JF. Understanding Saphenous Vein Graft Patency. *Circulation* 2011 ; 124 :73-5
21. Samano N, Geijer H, Liden M, Fremes S, Bodin L, Souza D. The no-touch saphenous vein for coronary artery bypass grafting maintains a patency after 16 years, comparable to the left internal thoracic artery: A randomized trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2015 Oct;150(4):880-8.
22. Nakao A, Murase N, Ho C, Toyokawa H, Billiar TR, Kanno S. Biliverdin administration prevents the formation of intimal hyperplasia induced by vascular injury. *Circulation* 2005;112:587 – 591.
23. Westerband A, Crouse D, Richter LC, Aguirre ML, Wixon CC, James DC et al. Vein adaptation to arterialization in an experimental model. *J Vasc Surg.* 2001 Mar;33(3):561-9
24. Ward AO, Caputo M, Angelini GD, George SJ, Zakkar M. Activation and inflammation of the venous endothelium in vein graft disease. *Atherosclerosis* 2017 Oct ;265 :266-274
25. M.J. Osgood, K.M Hocking. I.V Voskresensky, F.D. Li, P. Komalavilas, J. Cheung-Flynn, C.M. Brophy. Surgical vein graft preparation promotes cellular dysfunction,

- oxydative stress, and intimal hyperplasia in human saphenous vein. *J. Vasc. Surg.* 60 (2014) 202-211
26. M. Zakkar, G. Angelini, C. Emanuelli. Regulation of vascular endothelium inflammatory signalling by shear stress. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 14 (2) (2015) 181-186
27. P.O. Bonetti, L.O. Lerman, A. Lerman. Endothelial dysfunction – a marker of atherosclerotic risk. *Atherosclerosis Thrombosis Vasc. Biol.* 23 (2003) 168-175
28. B.C Berk, J. Abe, W. Min, J. Surapisitchat, C. Yan. Endothelial atheroprotective and anti-inflammatory mechanisms. *Atheroscler. Vi* 947 (2001) 93-111
29. Dewey, C.F, Jr et al., 1981. The dynamic response of vascular endothelial cells to fluid shear stress. *Journal of Biomechanical Engineering*, 103(3), p.177-185.
30. Resnick et al., 1997. Endothelial gene regulation by laminar shear stress. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 430, p.155-164
31. Li, S., Huang, N.F. & Hsu, S., 2005. Mechanotransduction in endothelial cell migration. *Journal of Cellular Biochemistry*, 96(6), p.1110–1126
32. Kamiya, A., Bukhari, R. & Togawa, T., 1984. Adaptive regulation of wall shear stress optimizing vascular tree function. *Bulletin of Mathematical Biology*, 46(1), p.127–137.
33. Cunningham, K.S. & Gotlieb, A.I., 2005. The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 85(1), p.9–23.
34. Chiu, J.-J. & Chien, S., 2011. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives. *Physiological Reviews*, 91(1), p.327–387.
35. Ando, J. & Yamamoto, Kimiko, 2009. Vascular mechanobiology: endothelial cell responses to fluid shear stress. *Circulation Journal: Official Journal of the Japanese Circulation Society*, 73(11), p.1983–1992.
36. Lieu, D.K., Pappone, P.A. & Barakat, Abdul I, 2004. Differential membrane potential and ion current responses to different types of shear stress in vascular endothelial cells. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 286(6), p.C1367–1375.
37. Barakat, A I et al., 1999. A flow-activated chloride-selective membrane current in vascular endothelial cells. *Circulation Research*, 85(9), p.820–828.
38. Yamamoto, K et al., 2000. Fluid shear stress activates Ca(2+) influx into human endothelial cells via P2X4 purinoceptors. *Circulation Research*, 87(5), p.385–391.
39. O’Neil, R.G. & Heller, S., 2005. The mechanosensitive nature of TRPV channels.

- Pflügers Archiv: European Journal of Physiology, 451(1), p.193–203.
40. Jo, H. et al., 1997. Differential effect of shear stress on extracellular signal-regulated kinase and N-terminal Jun kinase in endothelial cells. Gi₂- and G_β/gamma-dependent signaling pathways. *The Journal of Biological Chemistry*, 272(2), p.1395–1401.
 41. Gudi, S., Nolan, J.P. & Frangos, J.A., 1998. Modulation of GTPase activity of G proteins by fluid shear stress and phospholipid composition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(5), p.2515–2519.
 42. Chen, X., Pavlish, K. & Benoit, J.N., 2008. Myosin phosphorylation triggers actin polymerization in vascular smooth muscle. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 295(5), p.H2172–2177
 43. Ingber, D.E., 2008. Tensegrity and mechanotransduction. *Journal of Bodywork and Movement Therapies*, 12(3), p.198–200.
 44. Singla, V. & Reiter, J.F., 2006. The primary cilium as the cell's antenna: signaling at a sensory organelle. *Science (New York, N.Y.)*, 313(5787), p.629–633.
 45. Shi, Z.-D. & Tarbell, J.M., 2011. Fluid flow mechanotransduction in vascular smooth muscle cells and fibroblasts. *Annals of Biomedical Engineering*, 39(6), p.1608–1619.
 - Shigematsu, K. et al., 2000. Direct and indirect effects of pulsatile shear stress on the smooth muscle cell. *International Angiology: A Journal of the International Union of Angiology*, 19(1), p.39–46
 46. Sterpetti, A.V. et al., 1994. Shear stress influences the release of platelet derived growth factor and basic fibroblast growth factor by arterial smooth muscle cells. Winner of the ESVS prize for best experimental paper 1993. *European Journal of Vascular Surgery*, 8(2), p.138–142.
 47. Rhoads, D.N., Eskin, S.G. & McIntire, L.V., 2000. Fluid flow releases fibroblast growth factor-2 from human aortic smooth muscle cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 20(2), p.416–421.
 48. Alshihabi, S.N. et al., 1996. Shear stress-induced release of PGE₂ and PGI₂ by vascular smooth muscle cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 224(3), p.808–814.
 49. Papadaki, M., Tilton, R.G., et al., 1998. Nitric oxide production by cultured human aortic smooth muscle cells: stimulation by fluid flow. *The American Journal of Physiology*, 274(2 Pt 2), p.H616–626
 50. Papadaki, M., Ruef, J., et al., 1998. Differential regulation of protease activated

- receptor-1 and tissue plasminogen activator expression by shear stress in vascular smooth muscle cells. *Circulation Research*, 83(10), p.1027–1034.
51. Apenberg, S., Freyberg, M.A. & Friedl, P., 2003. Shear stress induces apoptosis in vascular smooth muscle cells via an autocrine Fas/FasL pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 310(2), p.355–359.
 52. Shigematsu, K. et al, 2000. Direct and indirect effects of pulsatile shear stress on the smooth muscle cell. *International Angiology: A Journal of the International Union of Angiology*, 19(1), p.39–46.
 53. Palumbo, R. et al., 2000. Shear stress downregulation of platelet-derived growth factor receptor-beta and matrix metalloproteinase-2 is associated with inhibition of smooth muscle cell invasion and migration. *Circulation*, 102(2), p.225–230.
 54. Garanich, J.S., Pahakis, M. & Tarbell, J.M., 2005. Shear stress inhibits smooth muscle cell migration via nitric oxide-mediated downregulation of matrix metalloproteinase-2 activity. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 288(5), p.H2244–2252.
 55. Redmond, E.M. et al., 2001. Endothelial cells inhibit flow-induced smooth muscle cell migration: role of plasminogen activator inhibitor-1. *Circulation*, 103(4), p.597–603.
 - Resnick, N. et al., 1997. Endothelial gene regulation by laminar shear stress. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 430, p.155–164
 56. Li, C. & Xu, Q., 2007. Mechanical stress-initiated signal transduction in vascular smooth muscle cells in vitro and in vivo. *Cellular Signalling*, 19(5), p.881–891.
 57. Woodell, J.E. et al., 2003. In vitro strain-induced endothelial cell dysfunction determined by DNA synthesis. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers. Part H, Journal of Engineering in Medicine*, 217(1), p.13–20.
 58. Sumpio, B.E. & Banes, A.J., 1988. Prostacyclin synthetic activity in cultured aortic endothelial cells undergoing cyclic mechanical deformation. *Surgery*, 104(2), p.383–389.
 59. Macarthur, H. et al., 1994. Endothelin-1 release from endothelial cells in culture is elevated both acutely and chronically by short periods of mechanical stretch. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 200(1), p.395–400.
 60. Iba, T. et al., 1991. Stimulation of endothelial secretion of tissue-type plasminogen activator by repetitive stretch. *The Journal of Surgical Research*, 50(5), p.457–460.
 61. Delli Gatti, C. et al., 2008. Pulsatile stretch induces release of angiotensin II and oxidative stress in human endothelial cells: effects of ACE inhibition and AT1

- receptor antagonism. *Clinical and Experimental Hypertension* (New York, N.Y.: 1993), 30(7), p.616–627.
62. Howard, A.B. et al., 1997. Cyclic strain induces an oxidative stress in endothelial cells. *The American Journal of Physiology*, 272(2 Pt 1), p.C421–427.
63. Wung, B.S. et al., 1997. Cyclic strain-induced monocyte chemotactic protein-1 gene expression in endothelial cells involves reactive oxygen species activation of activator protein 1. *Circulation Research*, 81(1), p.1–7.
64. Toda, M. et al., 2008. Differential gene responses in endothelial cells exposed to a combination of shear stress and cyclic stretch. *Journal of Biotechnology*, 133(2), p.239–244.
65. Corteling, R.L. et al., 2007. The functional consequence of RhoA knockdown by RNA interference in rat cerebral arteries. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 293(1), p.H440–447.
66. Chen, X., Pavlish, K. & Benoit, J.N., 2008. Myosin phosphorylation triggers actin polymerization in vascular smooth muscle. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 295(5), p.H2172–2177.
67. McGregor, E. et al., 2002. Circumferential stretching of saphenous vein smooth muscle enhances vasoconstrictor responses by Rho kinase-dependent pathways. *Cardiovascular Research*, 53(1), p.219–226
68. Lu, D. & Kassab, G.S., 2011. Role of shear stress and stretch in vascular mechanobiology. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society*, 8(63), p.1379–1385.
69. de Graaf, R. et al., 2009. N-acetylcysteine prevents neointima formation in experimental venous bypass grafts. *The British Journal of Surgery*, 96(8), p.941–950.
70. Haudenschild, C. et al., 1981. Protection of endothelium in vessel segments excised for grafting. *Circulation*, 64(2 Pt 2), p.II101–107.
71. Cheng, J. & Du, J., 2007. Mechanical stretch simulates proliferation of venous smooth muscle cells through activation of the insulin-like growth factor-1 receptor. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27(8), p.1744–1751.
72. Joannides, R. et al., 1995. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation*, 91(5), p.1314–1319.
73. Ohta, S. et al., 2002. Intraluminal gene transfer of endothelial cell-nitric oxide synthase suppresses intimal hyperplasia of vein grafts in cholesterol-fed rabbit: a limited biological effect as a result of the loss of medial smooth muscle cells. *Surgery*,

- 131(6), p.644–653.
74. Hattori, K. et al., 2007. Celiprolol reduces the intimal thickening of autogenous vein grafts via an enhancement of nitric oxide function through an inhibition of superoxide production. *Journal of Vascular Surgery: Official Publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter*, 46(1), p.116–123.
 75. Lee, M.S. et al., 2004. Molecular and cellular basis of restenosis after percutaneous coronary intervention: the intertwining roles of platelets, leukocytes, and the coagulation-fibrinolysis system. *The Journal of Pathology*, 203(4), p.861–870.
 76. Ishiwata, S. et al., 1997. Postangioplasty restenosis: platelet activation and the coagulation-fibrinolysis system as possible factors in the pathogenesis of restenosis. *American Heart Journal*, 133(4), p.387–392
 77. Zhang, L., Freedman, N.J., et al., 2004. Graft-extrinsic cells predominate in vein graft arterialization. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 24(3), p.470–476.
 78. Gotoh, R. et al., 2004. E-selectin blockade decreases adventitial inflammation and attenuates intimal hyperplasia in rat carotid arteries after balloon injury. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 24(11), p.2063–2068.
 79. Fogelstrand, P., Osterberg, K. & Mattsson, E., 2005. Reduced neointima in vein grafts following a blockage of cell recruitment from the vein and the surrounding tissue. *Cardiovascular Research*, 67(2), p.326–332.
 80. Jiang, Z. et al., 2004. Wall shear modulation of cytokines in early vein grafts. *Journal of Vascular Surgery: Official Publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter*, 40(2), p.345–350.
 81. Adkins, J.R. et al., 2004. Rapamycin inhibits release of tumor necrosis factor-alpha from human vascular smooth muscle cells. *The American Surgeon*, 70(5), p.384–387; discussion 387–388.
 82. Mitra, A.K., Gangahar, D.M. & Agrawal, D.K., 2006. Cellular, molecular and immunological mechanisms in the pathophysiology of vein graft intimal hyperplasia. *Immunology and Cell Biology*, 84(2), p.115–124.
 83. Giesen, P.L. et al., 1999. Blood-borne tissue factor: another view of thrombosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(5), p.2311–2315.
 84. Mackman, N., 2004. Role of tissue factor in hemostasis, thrombosis, and vascular

- development. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 24(6), p.1015–1022.
85. Muto, A. et al., 2010. Mechanisms of vein graft adaptation to the arterial circulation: insights into the neointimal algorithm and management strategies. *Circulation Journal: Official Journal of the Japanese Circulation Society*, 74(8), p.1501–1512.
 86. Harskamp RE, Alexander JH, Schulte PJ, Brophy CM, Mack MJ, Peterson ED, et al. Vein graft preservation solutions, patency, and outcomes after coronary artery bypass graft surgery : follow-up from the PREVENT IV randomized clinical trial. *JAMA surgery*. 2014 ; 149 :798-805.
 87. Thatte HS, Biswas KS, Najjar SF, Birjiniuk V, Crittenden MD, Michel T, Khuri SF. Multi-Photon Microscopic Evaluation of Saphenous Vein Endothelium and Its Preservation With a New Solution, GALA. *Ann Thorac Surg*. 2003 Apr;75(4):1145-52; discussion 1152
 88. Rudic RD, Shesely EG, Maeda N, Smithies O, Segal SS, Sessa WC. Direct evidence for the importance of endothelium-derived nitric oxide in vascular remodeling. *J Clin Invest*. 15 févr 1998;101(4):731-6.
 89. Félétou M. *The Endothelium*. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences Publisher. 2011.
 90. Al-Zobaidy MJ, Martin W. The ability of asymmetric dimethylarginine (ADMA) or monomethylarginine (L-NMMA) to block endothelium-dependent, nitric oxide-mediated relaxation in rat aorta is inversely related to the efficacy of the relaxant stimulus. *Eur J Pharmacol*. 2014;741(C):171-177
 91. Schini-Kerth VB (1999) Vascular biosynthesis of nitric oxide: effect on hemostasis and fibrinolysis. *Transfus Clin Biol* 6(6):355-363.
 92. Bunting S, Gryglewski R, Moncada S and Vane JR (1976) Arterial walls generate from prostaglandin endoperoxides a substance (prostaglandin X) which relaxes strips of mesenteric and coeliac arteries and inhibits platelet aggregation. *Prostaglandins* 12(6):897-913.
 93. Kawabe J, Ushikubi F and Hasebe N Prostacyclin in vascular diseases. – Recent insights and future perspectives. *Circ J* 74(5):836-843.
 94. Fetalvero KM, Shyu M, Nomikos AP, Chiu YF, Wagner RJ, Powell RJ, Hwa J and Martin KA (2006) The prostacyclin receptor induces human vascular smooth muscle cell differentiation via the protein kinase A pathway. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290(4):H1337-1346.

95. Fetalvero KM, Martin KA and Hwa J (2007) Cardioprotective prostacyclin signaling in vascular smooth muscle. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 82(1-4):109-118
96. White DG and Martin W (1989) Differential control and calcium-dependence of production of endothelium-derived relaxing factor and prostacyclin by pig aortic endothelial cells. *Br J Pharmacol* 97(3):683-690.
97. Niwano K, Arai M, Tomaru K, Uchiyama T, Ohyama Y and Kurabayashi M (2003) Transcriptional stimulation of the eNOS gene by the stable prostacyclin analogue beraprost is mediated through cAMP-responsive element in vascular endothelial cells: close link between PGI₂ signal and NO pathways. *Circ Res* 93(6):523-530.
98. Radomski MW, Palmer RM and Moncada S (1987) Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets. *Br J Pharmacol* 92(1):181-187.
99. Smyth EM and FitzGerald GA (2002) Human prostacyclin receptor. *Vi tam Horm* 65:149-165.
100. Feletou M and Vanhoutte PM (2006) Endothelium-derived hyperpolarizing factor: where are we now? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26(6):1215-1225.
101. Nagao T and Vanhoutte PM (1992) Hyperpolarization as a mechanism for endothelium-dependent relaxations in the porcine coronary artery. *J Physiol* 445:355-367.
102. Cohen RA and Vanhoutte PM (1995) Endothelium-dependent hyperpolarization. Beyond nitric oxide and cyclic GMP. *Circulation* 92(11):3337-3349.
103. Bauersachs J, Popp R, Hecker M, Sauer E, Fleming I and Busse R (1996) Nitric oxide attenuates the release of endothelium-derived hyperpolarizing factor. *Circulation* 94(12):3341-3347.
104. Bolotina VM (2004) Store-operated channels: diversity and activation mechanisms. *Sci STKE* 2004(243):pe34.
105. Bayliss WM. On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure. *The Journal of physiology.* 1902;28:220-231
106. Folkow B. Intravascular pressure as a factor regulating the tone of the small vessels. *Acta Physiol Scand.* 1949;17:289-310
107. Davis MJ. Myogenic response gradient in an arteriolar network. *Am J Physiol.*1993;264:H2168-2179
108. . Osol G. Mechanotransduction by vascular smooth muscle. *J Vasc Res.*

1995;32:275-292

109. Levesque MJ, Liepsch D, Moravec S, Nerem RM. Correlation of endothelial cell shape and wall shear stress in a stenosed dog aorta. *Arteriosclerosis*. 1986;6:220-229
110. Tedgui AL, BI. *Aspects normaux et pathologiques*. Ed Masson. 1994
111. Shepard RB, Simpson DC, Sharp JF. Energy Equivalent Pressure. *Arch Surg* 1966 ;93 :730-40
112. Undar A. Benefecits of pulsatile flow during and after cardiopulmonary bypass procedures. *Artif Organs* 2005 ;29 :688-90.
113. Travis AR, Giridharan GA, Pantalos GM, Dowling RD, Prabhu SD, Slaughter MS et al. Vascular pulsatility in patients with a pulsatile- or continous-flow ventricular assist device. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007 ;133 :517-24.
114. Grover FL. The society of Thoracic Surgeons National Database. Current status and future directions. *Ann Thorac Surg* 1999 ;68 :367-73.
115. Philbin DM, Levine FH, Kono K, Coggins CH, Moss J, Slater EE, et al. Attenuation of the stress response to cardiopulmonary bypass by the addition of pulsatile flow. *Circulation* 1981;64:808-12. ^[L]_[SEP]
116. Minami K, Korner MM, Vyska K, Kleesiek K, Knobl H, Korfer R. Effects of pulsatile perfusion on plasma catecholamine levels and hemodynamics during and after cardiac operations with cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990;99:82-91. ^[L]_[SEP]
117. Buket S, Alayunt A, Ozbaran M, Hamulu A, Discigil B, Cetindag B, et al. Effect of pulsatile flow during cardiopulmonary bypass on thyroid hormone metabolism. *Ann Thorac Surg* 1994;58:93-6.
118. Jett GK. Physiology of nonpulsatile circulation:acute versus chronic support. *Asaio J* 1999;45:119-22. ^[L]_[SEP]
119. Murkin JM, Martzke JS, Buchan AM, Bentley C, Wong CJ. A randomized study of the influence of perfusion technique and pH management strategy in 316 patients undergoing coronary artery bypass surgery. II. Neurologic and cognitive outcomes. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;110:349-62.
120. Alghamdi AA, Latter DA. Pulsatile versus nonpulsatile cardiopulmonary


- bypass flow:an evidence-based approach. *J Card Surg* 2006;21:347-54.^[LSEP]
121. Loor G, Gonzalez-Stawinski G. Pulsatile vs. continuous flow in ventricular assist device therapy. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2012;26:105–15
 122. Ashraf S, Butler J, Tian Y, Cowan D, Lintin S, Saunders NR, et al. Inflammatory mediators in adults undergoing cardiopulmonary bypass: comparison of centrifugal and roller pumps. *Ann Thorac Surg.* 1998 Feb;65(2):480–4.
 123. Lee JJ, Tyml K, Menkis AH, Novick RJ, McKenzie FN. Evaluation of pulsatile and nonpulsatile flow in capillaries of goat skeletal muscle using intravital microscopy. *Microvasc Res.* 1994 ;48 :316-327
 124. Konishi H, Sohara Y, Endo S, Misawa Y, Fuse K. Pulmonary microcirculation during pulsatile and non pulsatile perfusion. *ASAIO Journal.* 1997 ;43 :M657-659
 125. Baba A, Dobsak P, Saito I, Isoyama T, Takiura K, Abe Y, Chinzei T, Vasku J, Imachi K. Microcirculation of the bulbar conjunctiva in the goat implanted with a total artificial heart : Effects of pulsatile and nonpulsatile flow. *ASAIO Journal.* 2004 ;50 :321-327
 126. O'Neil, M. P., Fleming, J. C., Badhwar, A., & Guo, L. R. (2012). Pulsatile Versus Nonpulsatile Flow During Cardiopulmonary Bypass: Microcirculatory and Systemic Effects. *Ats*, 94(6), 2046–2053
 127. Ohri SK, Bowles CW, Mathie RT, Lawrence DR, Keogh BE, Taylor KM. Effect of cardiopulmonary bypass perfusion protocols on gut tissue oxygenation and blood flow. *The Annals of Thoracic Surgery.* 1997 ;64 :163-170
 128. Sumpio BE, Riley JT, Dardik A. Cells in focus : endothelial cell. *Int J Biochem Cell Biol*, 2002.34(12) :p1508-12
 129. Cardigan, R.A., I.J. Mackie, and S.J. Machin, Hemostatic-endothelial interactions: a potential anticoagulant role of the endothelium in the pulmonary circulation during cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 1997. 11(3): p. 329-36.)
 130. Ranucci, M., The endothelial function in cardiac surgery. *Minerva Anesthesiol*, 2006. 72(6): p. 503-6
 131. Onorati, F., Rubino, A. S., Nucera, S., Foti, D., Sica, V., Santini, F., et al. (2010). Off-pump coronary artery bypass surgery versus standard linear or pulsatile cardiopulmonary bypass: endothelial activation and inflammatory response. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 37(4), 897–904.)
 132. Santoli E, Di Mattia D, Boldorini R, Mingoli A, Tosoni A, Santoli C.

- University-of-Wisconsin solution and human saphenous-vein graft preservation – preliminary anatomic report. *Eur J Cardiothorac Surg* 1993;7: 548–52.
133. Dumanski A, Sopol M, Pelczar M, Kustrzycki W, Zabel M. Influence of pressure on the endothelium of the saphenous vein coronary artery bypass graft. *In Vivo* 2007;21:785–9.
 134. Bush HL, Jakubowski JA, Curl GR, Deykin D, Nabseth DC. The natural-history of endothelial structure and function in arterialized vein grafts. *J Vasc Surg* 1986;3:204–15.
 135. Wong CY, de Vries MR, Wang Y, van der Vorst JR, Vahrmeijer AL, Zonneveld AJ et al. Vascular remodeling and intimal hyperplasia in a novel murine model of arteriovenous fistula failure. *J Vasc Surg* 2014 ; 59(1) :192-201
 136. Saso S, James D, Vecht JA, Kidher E, Kokotsakis J, Malinovski V. Effect of skeletonization of the internal thoracic artery for coronary revascularization on the incidence of sternal wound infection. *Ann Thorac Surg* 2010;89:661–70. ^{[[SEP]]}
 137. Hu X, Zhao Q. Skeletonized internal thoracic artery harvest improves prognosis in high risk population after coronary artery bypass surgery for good quality grafts. *Ann Thorac Surg* 2011;92:48–58. ^{[[SEP]]}
 138. Boodhwani M, Lam BK, Nathan HJ, Mesana TG, Ruel M, Zeng W et al. Skeletonized internal thoracic artery harvest reduces pain and dysesthesia and improves sternal perfusion after coronary artery bypass surgery. *Circulation* 2006;114:766–73.
 139. Peterson MD, Borger MA, Rao V, Peniston CM, Feindel CM. Skeletonization of bilateral internal thoracic artery grafts lowers the risk of sternal infection in patients with diabetes. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 126:1314–9.
 140. Cohen AJ, Lockman J, Lorberboym M, Bder O, Cohen N, Medalion B. Assessment of sternal vascularity with single photon emission computed tomography after harvesting of the internal thoracic artery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999;118:496–502.
 141. Calafiore AM, Vitolla G, Iaco AL, Fino C, Di Giammarco G, Marchesani F et al. Bilateral internal mammary artery grafting: mid-term results of pedicled versus skeletonized conduits. *Ann Thorac Surg* 1999;67: 1637–42.
 142. John W, Hammon. Extracorporeal circulation : the response of humoral and cellular elements of blood extracorporeal circulation. In : Cohn LH, editor. *Cardiac*

- surgery in the adult, vol.3. New-York : McGraw-Hill. 2008 p.370-89.
143. Onorati F, Esposito A, Comi MC et al. Intra-aortic ballon pump-induced pulsatile flow reduces coagulative and fibrinolytic response to cardiopulmonary bypass. *Artif Organs* 2008 ; 32 :433-41.
 144. Shapira OM, Korach A, Pinaud F, Dabah A, Bao A, Corbeau JJ et al. Safety and efficacy of biocompatible perfusion strategy in a contemporary series of patients undergoing coronary artery bypass grafting: a two-center study. *J Cardiothorac Surg.* 2014 Dec 18;9: 196.
 145. Hugli TE. Structure and function of the anaphylatoxins. *Springer Semin Immunopathol.* 1984;7(2-3):193-219. Review.).
 146. Onorati F, Rubino AS, Nucera S et al. Off-pump coronary artery bypass surgery versus standard linear or pulsatile cardiopulmonary bypass: endothelial activation and inflammatory response. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2010 Apr ; 37(4) :897-904
 147. Undar A, Eichstaedt HC, Masai T, Yang SQ, Bigley JE, McGarry MC, et al. Comparison of six pediatric cardiopulmonary bypass pumps during pulsatile and nonpulsatile perfusion. *J Thorac Cardio- vasc Surg* 2001;122:827-9.
 148. Undar A, Eichstaedt HC, Bigley JE, Deady BA, Porter AE, Vaughn WK, et al. Effects of pulsatile and nonpulsatile perfusion on cerebral hemodynamics investigated with a new pediatric pump. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;124:413-6.

Annexes

Annexe 1

	Pharmacie		
	ME-0285	Version 1	15/01/2018
	Solution Gala. Fiche de fabrication préparation hospitalière stérile.		

Référence PHS N° : 94

Edition N° : 5

Date de 1^{ère} édition : 01/01/2000

Date de mise à jour : 05/01/2018

DÉNOMINATION : SOLUTION GALA
INDICATIONS / PROPRIETES : Milieu de conservation de veines saphènes
SERVICE UTILISATEUR : Bloc de chirurgie cardiovasculaire (Dr Baufreton, UF : 7402)

LÉGISLATION : HORS LISTE
FORMULE POUR : 1 500 ml

DATE DE FABRICATION :
N°ORDONNANCIER :

LIEU : Salle préparations liquides stériles



Avec un aide manipulateur : le technicien de laboratoire ou l'interne du labo.

Formule unitaire	Matières premières (Fournisseur)	Qtés à mettre en œuvre**	N° lot	Date limite d'utilisation	Qtés mises en œuvre	Nombre théorique d'unités : 36
0,02 ml	- Sulfate de magnésium* 15% amp. 10 ml (fourn :)	1 mL				D.L.U 6 semaines Ou selon la date limite d'utilisation de la spécialité Conservation : +2-+8°C
1,785 mg	- Potassium dihydrogenophosphate poudre (fourn :)	89.25 mg				
0,03 ml	- Chlorure* de magnésium* 10 % amp. 10 ml (fourn :)	1,5 ml				
0,042 ml	- Chlorure de calcium*10% amp. 10 ml (fourn :)	2,1 ml				
0,0465 ml	- Laroscorbine (1g/ 5ml) amp. (fourn:.....)	2,325 ml				
0,08 ml	- Chlorure* de potassium* 15% amp. 10 ml (fourn :)	4 ml				
0,3 ml	- Héparine 25 000 UI/ 5 ml flacon (fourn :)	15 ml				
0,6 ml	- Glucose 5% (50 ml) flacon (fourn :)	30 ml				
0,75 ml	- Bicarbonate de sodium* 1,4% amp. 10 ml (fourn :)	37.5 ml				
1,2 ml	- Chlorure* de sodium* 20% amp. 20 ml (fourn :)	60 ml				
2,7 mg	- Glutathion poudre (fourn :)	135 mg				
4.5 mg	- L-Arginine poudre (fourn :)	225 mg				
q.s.p. 30 ml	- Eau stérile versable q.s.p. (fourn :)	q.s.p. 1 500 ml				

* : composants dosés

CONDITIONNEMENT :
 • Flacon polyéthylène stérile de 30 ml (emballés par 12). Lot :
 Date péremption :

Nombre d'unités conditionnées :

Date limite d'utilisation :

CONDITIONNEMENT EFFECTUE PAR :
 Signature :

MODÈLE ÉTIQUETTE	ÉTIQUETTE
Pharmacie CHU ANGERS GALA SOLUTION MILIEU DE CONSERVATION Solution stérile (flacon de 30 mL) Réf. PH NTS N° : 94 N° Ordonnancier : Date Limite d'Utilisation : A conserver à l'abri de la lumière entre +2 et +8°C USAGE EXTERNE NE PAS AVALER NE PAS INJECTER	

CONTRÔLE LABO Contrôle N° :

VERIFICATIONS

N° ordonnancier conforme : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Matière 1 ^{ère} conforme : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non DLU conforme : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non N° lot conforme : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non N° contrôle du laboratoire conforme : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non conditionnement prévu conforme : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Date : Signature :	Pesées conformes : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Volume conforme : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Date : Signature :	Conditionnement conforme : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Etiquetage conforme : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Nombre de produits finis conforme : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Bactériologie de préparation conforme : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Bio contamination pendant la préparation conforme * de la hotte : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Bio contamination après la préparation conforme : • des gants : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non • de la hotte : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Date : Signature :	LIBÉRATION DU LOT <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON Visa du pharmacien responsable du laboratoire : Date : Signature :
--	--	--	---

** Quantités minimales à mettre en œuvre pour avoir des pesées précises. Après la prise de pH, filtrer la solution puis conditionner 36 flacons et jeter le reste de la solution préparée.

PERIOPERATIVE MANAGEMENT

In vitro protection of vascular function from oxidative stress and inflammation by pulsatility in resistance arteries

Frédéric Pinaud, MD,^a Laurent Loufrani, PhD,^b Bertrand Toutain, MS,^c Diane Lambert, PhD,^a Lionel Vandekerckhove, BSc,^c Daniel Henrion, PharmD, PhD,^{a,d} and Christophe Baufreton, MD, PhD, FETCS^{a,c,e}

Objective: Resistance arteries remain subject to pulsatility, a potent regulator of large elastic artery tone and structure, but the effect is incompletely understood. Extracorporeal circulation during cardiac surgery is often associated with absence of pulsatility, which may affect vascular tone. To define the role of the vascular wall in the inflammatory process that may occur with or without pulsatility, we studied resistance arteries functions *ex vivo*. We measured vascular reactivity, oxidative stress, and inflammation in the arterial wall.

Methods: Isolated rat mesenteric resistance arteries were mounted in an arteriograph and subjected to pulsatility or not *in vitro*. Arteries were perfused with a physiologic salt solution without circulating cells.

Results: After 180 minutes, flow-mediated dilation was higher and pressure-induced myogenic tone lower in arteries subjected to pulsatility. Without pulsatility, reactive oxygen species and markers of inflammation (monocyte chemoattractant protein 1 and tumor necrosis factor α) were higher than baseline. In perfused mesenteric beds under similar conditions, tumor necrosis factor α was higher in perfusate after 180 minutes of nonpulsatility (5.7 ± 1.6 pg/mL vs 1.1 ± 0.4 pg/mL; $P < .01$). In arteries treated with the antioxidant 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl (tempol), flow-mediated dilation and myogenic tone were similar in nonpulsatile and pulsatile arteries; monocyte chemoattractant protein 1 and nuclear factor κ B expression levels were not increased in tempol-treated nonpulsatile arteries.

Conclusions: Absence of pulsatility in resistance arteries increased oxidative stress, which in turn induced inflammation and preferentially altered pressure and flow-dependent tone, which play a key role in control of local blood flow. (*J Thorac Cardiovasc Surg* 2011;142:1254-62)

Cardiopulmonary bypass (CPB) is used in cardiac surgery to allow interventions to proceed in a bloodless and non-beating operative field. Although this surgical procedure these days is well standardized, the potential benefit and the precise role of pulsatile flow in CPB remain a matter of debate. It is difficult to assess the clinical impact of pulsatile CPB because of the lack of a precise definition and techniques. Observational studies have reported some benefits of pulsatile CPB with respect to hormonal metabolism and postoperative outcome. Prospective randomized trials are still needed, however, for better definition of the effects

of pulsatile flow during CPB and aortic crossclamping.¹ We previously compared the inflammatory responses of patients undergoing coronary artery bypass grafting with either a roller pump or a centrifugal pump delivering nonpulsatile flow.² We found that the terminal complement complex activation and elastase circulating blood level were both increased with use of the centrifugal pump as opposed to the conventional roller pump.³ Such results have been observed by other researchers but to this date remain unexplained.⁴ A recent study has shown that the continuous-flow left ventricular assist device (LVAD) improves end-organ renal and hepatic function in patients with advanced heart failure⁵; however, controversy exists because a higher gastrointestinal bleeding rate has been reported among recipients of nonpulsatile LVADs than among those receiving pulsatile LVADs.⁶

Quantification of pulsatility during CPB is a key issue, especially because the arterial pressure tracing does not necessarily reflect the energy transmitted to the vascular wall.⁷ Although quantification of pulsatility remains controversial, it is now well established that pulsatile flow remains present in even the smallest arterioles.⁸ Indeed, pulsatile perfusion allows efficient exchange between the vascular and extravascular compartments, thus improving cellular metabolism. Although pulsatility is important for proper blood perfusion, excessive pulsatility is associated with an

From the Centre Hospitalier Universitaire d'Angers,^a Angers, France; Centre National de la Recherche Scientifique,^b Paris, France; Université d'Angers,^c Angers, France; INSERM,^d Angers, France; and Université Nantes Angers Le Mans (UNAM),^e Nantes, France.

Supported in part by a grant from the French Foundation for Medical Research (FRM, Fondation pour la Recherche Médicale, Paris, France). F.P. was supported by a grant from the French Federation of Cardiology (FFC, Fédération Française de Cardiologie, Paris, France).

Disclosures: C.B. has received invitations to be a contributor for Medtronic, Inc, Minneapolis, Minn.

Received for publication Dec 3, 2010; revisions received April 23, 2011; accepted for publication July 11, 2011; available ahead of print Aug 16, 2011.

Address for reprints: Christophe Baufreton, MD, PhD, FETCS, Department of Cardiac Surgery, University Hospital of Angers, 49933 Angers Cedex, France (E-mail: chbaufreton@chu-angers.fr).

0022-5223/\$36.00

Copyright © 2011 by The American Association for Thoracic Surgery

doi:10.1016/j.jtcvs.2011.07.007

Abbreviations and Acronyms

CPB	= cardiopulmonary bypass
FMD	= flow-mediated dilation
LVAD	= left ventricular assist device
MCP-1	= monocyte chemoattractant protein 1
MRA	= mesenteric resistance artery
NF κ B	= nuclear factor κ B
PSS	= physiologic salt solution
ROS	= reactive oxygen species
TBST	= Tris-buffered saline solution with Tween
TNF α	= tumor necrosis factor α

increased risk of cardiovascular events.⁹ On the other hand, a beneficial effect of pulsatile pressure or flow relative to steady flow has been suggested by *in vitro* studies, mainly in cultured cells. Shear stress alone stimulates release of vasorelaxing mediators and enhances endothelial survival. Endothelial cell stretch also stimulates nitric oxide release.¹⁰ Although pulsatile flow may exert a protective effect, no experiments have yet been conducted in small (resistance) arteries involved in the local control of blood flow. In resistance arteries, myogenic tone plays a key role in determining sustained vasoconstrictor tone.¹¹ Myogenic tone is a vasoconstriction induced by pressure in arterioles. It relies on stretch-dependent calcium entry followed by *Ras* homolog gene family, member A–dependent sensitization of the contractile apparatus to calcium. In the kidney, the level of contraction obtained in response to a rise in pulsed pressure in preglomerular arterioles is determined by the systolic pressure, not by the mean pressure; this finding reinforces the assumption that pulsatility is essential in the control of microvascular tone.¹¹ The second key issue in the control of local blood perfusion is dilation mediated by flow (shear stress) involving the production of vasoactive agents by the endothelium. Flow-mediated dilation (FMD) in resistance arteries opposes myogenic tone, thus determining a sustained basal tone.¹¹ Unlike myogenic tone, arterial responses to flow are sensitive to mechanical forces.¹² We therefore hypothesized that pressure-induced myogenic tone and FMD are both most probably sensitive to changes in pulsatility. We also aimed to investigate the involvement of inflammatory factors and reactive oxygen species (ROS) in the changes in vascular tone that are associated with reduced pulsatility.

MATERIALS AND METHODS**Arteries and Study Groups**

Four-month-old adult Wistar male rats were anesthetized with isoflurane (5%) and humanely killed with inhaled carbon dioxide. The mesentery was then removed to isolate the mesenteric resistance arteries (MRAs). A

segment of MRA approximately 200 μ m in external diameter was cannulated at both ends and mounted in a video-monitored perfusion system as previously described.¹³ Briefly, cannulated arterial segments were bathed in a 5-mL organ bath containing a physiologic salt solution (PSS) of the following composition: 135.0-mmol/L sodium chloride, 15.0-mmol/L sodium hydrogen carbonate, 4.6-mmol/L potassium chloride, 1.5-mmol/L calcium chloride; 1.2-mmol/L magnesium sulfate, 11.0-mmol/L glucose, and 10.0-mmol/L, N-2-hydroxy-ethylpiperazine-N-2'-ethylsulfonic acid. The pH was maintained at 7.4, the P_{O_2} at 160 mm Hg, and the P_{CO_2} at 37 mm Hg. Arteries were subjected to a pressure of 50 mm Hg. Arterial diameter was measured and recorded continuously with a video monitoring system (Living System Instrumentation Inc, Burlington, Vt). Pressure and flow rate could be changed independently. A rolling pump was connected to the tubing upstream of the artery to generate pulsatility (300 beats/min; Figure 1). *In vivo* carotid artery pulsatility (Figure 1, A) was compared with the pulsatility measured *in vitro* in the rat model (Figure 1, B). Arteries were subjected to pulsatile or nonpulsatile conditions (nonpulsatile control) for 30 to 180 minutes. Endothelial and smooth muscle cells functions were then studied, as were biochemical and immunohistochemical factors.

Arterial Tone

Pressure-mediated myogenic tone and FMD were determined as previously described elsewhere.¹⁴ In brief, diameter changes at equilibrium were measured when intraluminal pressures were set at 10, 25, 50, 75, 100, 125, and 150 mm Hg. Arteries were then subjected to 50 mm Hg of pressure and further contracted with phenylephrine (1 μ mol/L). Intraluminal flow was then increased by steps (from 0 to 100 μ L/min), and the diameter was measured to determine FMD.¹⁴ At the end of each experiment, arteries were perfused and superfused with a calcium-free PSS containing ethylene glycol tetraacetic acid (2 mmol/L) and sodium nitroprusside (100 μ mol/L). Pressure steps (from 10 to 150 mm Hg) were then repeated to determine the passive diameter of the vessel in the absence of smooth muscle tone. Diameter measurements made in normal PSS were considered to represent the diameter under active tone, or the active diameter. Pressure and diameter measurements were collected with a Biopac data-acquisition system (Biopac MP 100; BIOPAC Systems, Inc, Goleta, Calif) and analyzed (Acqknowledge software; BIOPAC Systems). Myogenic tone was calculated as the percentage of passive diameter, and FMD was expressed as the percentage dilation of active tone.¹⁴

Perfused Whole Mesenteric Bed and Measurement of Tumor Necrosis Factor α in Perfusate

Rats were anesthetized with isoflurane (5%). The abdomen was opened, and the superior mesenteric artery was cannulated with polyethylene 90 tubing. Heparinized saline solution was flushed through the mesenteric vascular bed. The vascular bed was then dissected free from the intestine along the intestinal wall and placed in an organ bath maintained at 37°C; it was then perfused and superfused with the PSS described previously at a rate of 2 mL/min. Pulsatility was generated with the rolling pump as described previously in the perfused arteries. The preparation was allowed to equilibrate for 45 minutes before experimentation began. The PSS was then collected after 30, 90, or 180 minutes of perfusion with or without pulsatility. Perfusate tumor necrosis factor α (TNF α) concentration was measured with a commercially available kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, Mich).

Western Blot Analyses of Monocyte Chemoattractant Protein 1 and Nuclear Factor κ B

Western blot analyses of monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1, an endothelial activation marker) and nuclear factor κ B (NF κ B) were performed in MRAs as previously described elsewhere.¹² The MRAs (8 rats per group) were homogenized with a lysis buffer (1% sodium dodecyl sulfate, 10-mmol/L tris[hydroxymethyl]aminomethane hydrochloride at pH

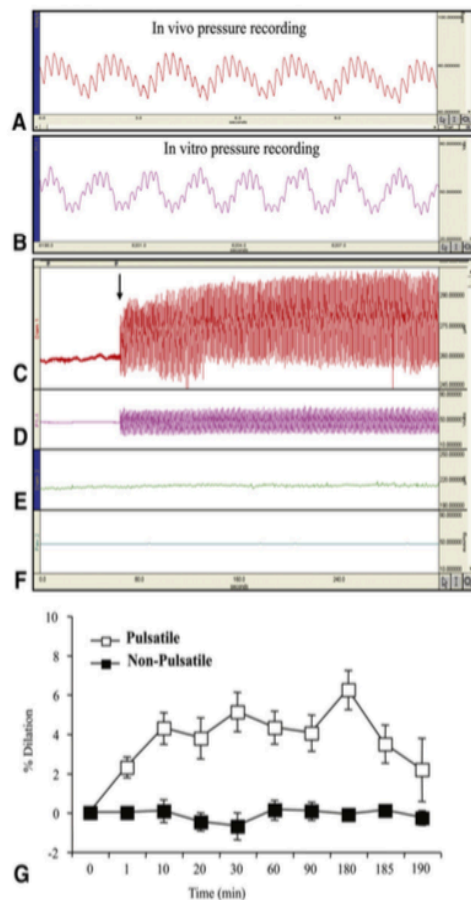


FIGURE 1. Typical recording showing blood pressure measurements obtained *in vivo* in the carotid artery (A) and those obtained in a mesenteric resistance artery perfused *in vitro* in an arteriograph and subjected to pulsatility (B). When pulsatility was started (arrow, C), pulsatility was detectable both on the diameter recording (C) and on the pressure recording (D). Corresponding control recordings (artery without pulsatility) are shown for diameter (E) and pressure (F). The lower panel (G) shows diameter changes in response to pulsatility (red trace) relative to nonpulsatile arteries. Pulsatility was maintained for 180 minutes. Data are presented as mean \pm SEM (n = 10 rats per group).

7.4, 1-mmol/L sodium orthovanadate, 2.5-mg/L leupeptin, and 5-mg/L aprotinin). Extracts were incubated at 25°C for 30 minutes and then centrifuged (1000 g, 15 minutes, 14°C). Protein concentration was determined with the Micro BCA Protein Assay Kit (Pierce; Thermo Fisher Scientific Inc, Rockford, Ill). After denaturation at 100°C for 5 minutes, equal amounts of proteins (15 μ g) were loaded on a 9% polyacrylamide gel and transferred to nitrocellulose membranes for 12 hours (40 V, 4°C). Membranes were blocked with 10% bovine serum albumin in Tris-buffered saline solution with Tween (TBST, 20-mmol/L tris[hydroxymethyl]aminomethane at pH 8.0, 150-mmol/L sodium chloride, and 0.1% polysorbate 20) for 1 hour and were then incubated with anti-MCP-1 (1/100; BD Pharmingen) and anti-NF κ B (1/100 BD Pharmingen; Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ) antibodies for 1 hour at room temperature. After 3 washes with TBST, immunocomplexes were

detected by chemiluminescent reaction (ECL-kit; GE Healthcare Life Sciences, Little Chalfont, UK) with a computer-based imaging system (Fuji LAS 1000 plus; FUJIFILM Medical Systems USA, Inc, Stamford, Conn). Quantification was performed by densitometric analysis.

Detection of ROS by Confocal Microscopy in MRAs

ROS detection was performed on transverse cross sections 7- μ m thick with dihydroethyline and microfluoroscropy, as previously described elsewhere.¹⁵ Eight different arteries from 8 different rats were used in each group. Fluorescence of the wall after incubation with dihydroethyline was measured with confocal microscopy to allow quantification with QED image software (Solamere Technology Group Inc, Salt Lake City, Utah). At least 5 measurements were performed per slice and averaged, and at least 5 slices were analyzed per artery.

Immunofluorescence Analysis

Segments of MRAs (n = 6 rats per group) were mounted in embedding medium (Sakura Finetek USA, Inc, Torrance, Calif), frozen in isopentane that had been cooled in liquid nitrogen, and stored at -80°C in 7- μ m thick cross sections. Sections were incubated with anti-TNF α antibodies (1/100 sc 1351; Santa Cruz Biotechnology, Inc, Santa Cruz, Calif) or anti-MCP-1 antibodies (1/100 554444 BD Pharmingen; Becton Dickinson). Control experiments were performed after incubation without the first antibody, and positive experiments were performed with arterial sections from rats treated with lipopolysaccharide.¹⁵ Fluorescence staining was then visualized with confocal microscopy (Solamere Technology), followed by pixel quantification as previously described elsewhere.¹⁵ At least 5 measurements were performed per slice and averaged, and at least 5 slices were analyzed per artery.

Statistical Analysis

Results are expressed as mean \pm SEM. Significance of differences between groups was determined by analysis of variance (1-factor analysis of variance or analysis of variance for consecutive measurements as appropriate).

Animal Care

The procedures followed in the care and humane killing of the study animals were all in accordance with the European Community Standards on the Care and Use of Laboratory Animals (Ministère de l'Agriculture, France, authorization 6422).

RESULTS

In isolated rat MRAs, pulsatile pressure (Figure 1, D) induced significant dilation (Figure 1, C). In the time control experiment, no significant change in diameter was observed throughout the duration of the experiment (Figure 1, E-F). When pulsatility was stopped after 180 minutes, arterial diameter returned to baseline (Figure 1, G). Stepwise increases in flow (shear stress) induced progressive dilation (Figure 2, A), and stepwise increases in pressure induced contraction or myogenic tone (Figure 2, B). FMD was significantly lower ($P < .01$) under nonpulsatile conditions than in arteries subjected to pulsatility for 180 minutes. No difference was observed between pulsatile and nonpulsatile conditions after 30 minutes (Figure 2, A). In contrast, myogenic tone was significantly higher in the absence of pulsatility after 180 minutes but not after 30 minutes ($P < .05$; Figure 2, B). In the absence of pulsatility,

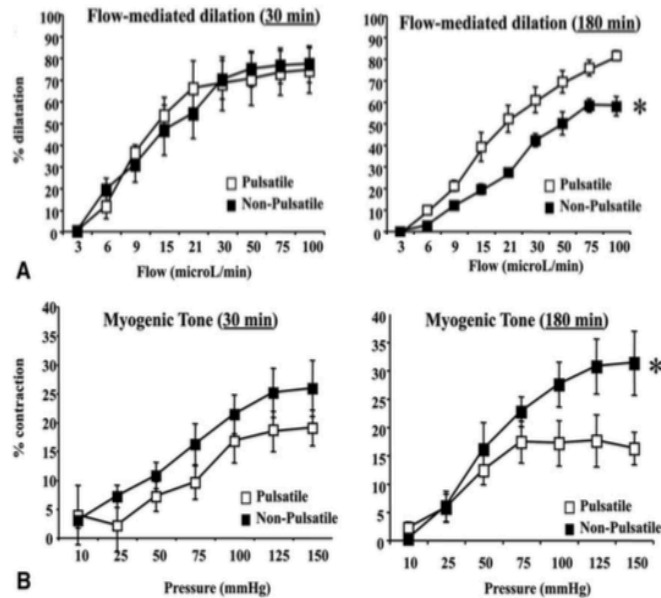


FIGURE 2. Flow-mediated dilation (A) and myogenic tone (B) in mesenteric resistance arteries subjected to pulsatile (P) or nonpulsatile (NP) conditions for 30 (left panel) or 180 (right panel) minutes. Data are presented as mean \pm SEM ($n = 10$ rats per group). Asterisk indicates $P < .01$ for pulsatile versus nonpulsatile conditions.

a significant ROS level (which was higher after 180 minutes than after 30 minutes) was found in the arterial wall ($P < .05$). No significant amounts of ROS were detected in arteries subjected to pulsatility (Figure 3). With immunohistochemical methods, we found that MCP-1 (Figure 4, A) and TNF α (Figure 4, B) productions were significant in arteries subjected to nonpulsatile conditions after 180 minutes but not after 30 minutes. Under nonpulsatile conditions for 90 and 180 minutes, the quantity of TNF α in the perfusate of whole mesenteric arterial beds was significantly increased ($P < .05$) relative to that seen under pulsatile conditions (Figure 4, C). In arteries treated in advance with the antioxidant 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl (tempol), pulsatility induced dilation (Figure 5, A). After incubation in the presence of tempol for either 30 or 180 minutes, FMD and myogenic tone were similar between arteries subjected to pulsatile and nonpulsatile conditions (Figure 5, B and C). In the presence of tempol, the increases in MCP-1 and NF κ B protein levels otherwise associated with the absence of pulsatility were not observed (Figure 5, D and E).

DISCUSSION

This is the first time that a study has identified a mechanism for the alteration in vascular reactivity induced by the absence of pulsatility in isolated resistance arteries. We found that the oxidative stress that was induced initially was followed by inflammation and changes in vascular

tone, with increased myogenic tone and reduced FMD, thus favoring alteration in blood flow. The experimental setup we used allowed the arteries to be subjected to pulsatile or nonpulsatile conditions while controlling pressure and flow and also eliminating any influences of circulating cells and surrounding tissues. Under these conditions, changes occurring in the absence of pulsatility could be attributable only to a response in the vascular wall. This provides new insights into the systemic inflammatory response seen after cardiac surgery, which has generally been believed to be a process generated by blood cell activation.¹⁶

Controversial findings have been described in clinical trials.¹⁷ Some authors have reported that pulsatile CPB improves postoperative outcome, whereas others consider that linear flow might be well tolerated in clinical practice. In particular, clinical experiences with patients in whom pulseless LVADs (which provide totally linear flow) have been implanted support this belief.⁵ There are marked differences, however, between the clinical and surgical settings of patients with LVADs and those of patients undergoing routine CPB for cardiac surgery.¹⁸ It is important to isolate the effects of the absence of pulsatility in the surgical contexts in which various protocols and devices (pumps, oxygenators, filter, etc) may be used.¹⁹ This persistent controversy led us to study the effect of pulsatility alone in isolated arteries in vitro.

First, we found that FMD was selectively reduced and that myogenic tone was higher in arteries exposed to

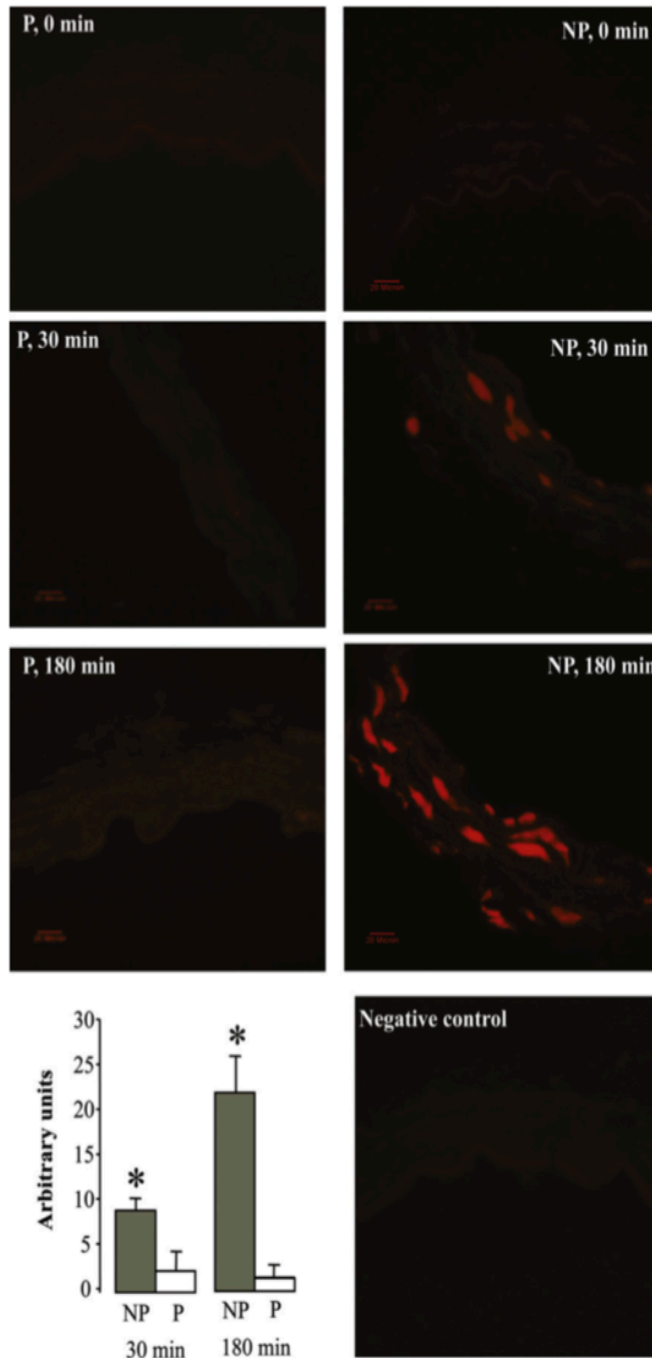


FIGURE 3. Reactive oxygen species (ROS) detection with dihydroethyidine (DHE). Reactive oxygen species level was determined in mesenteric resistance arteries subjected to pulsatile (P) or nonpulsatile (NP) conditions for 0, 30, or 180 minutes. Data are presented as mean ± SEM (n = 10 rats per group). Asterisk indicates $P < .01$ for pulsatile versus nonpulsatile conditions.

nonpulsatile conditions for 3 hours. These changes in vascular reactivity argue in favor of a vasospastic phenotype. Because myogenic tone and FMD are sensitive to ROS

production, we measured ROS concentrations in the arteries subjected to pulsatile or nonpulsatile conditions. Indeed, a rise in ROS production in both endothelial and

PM

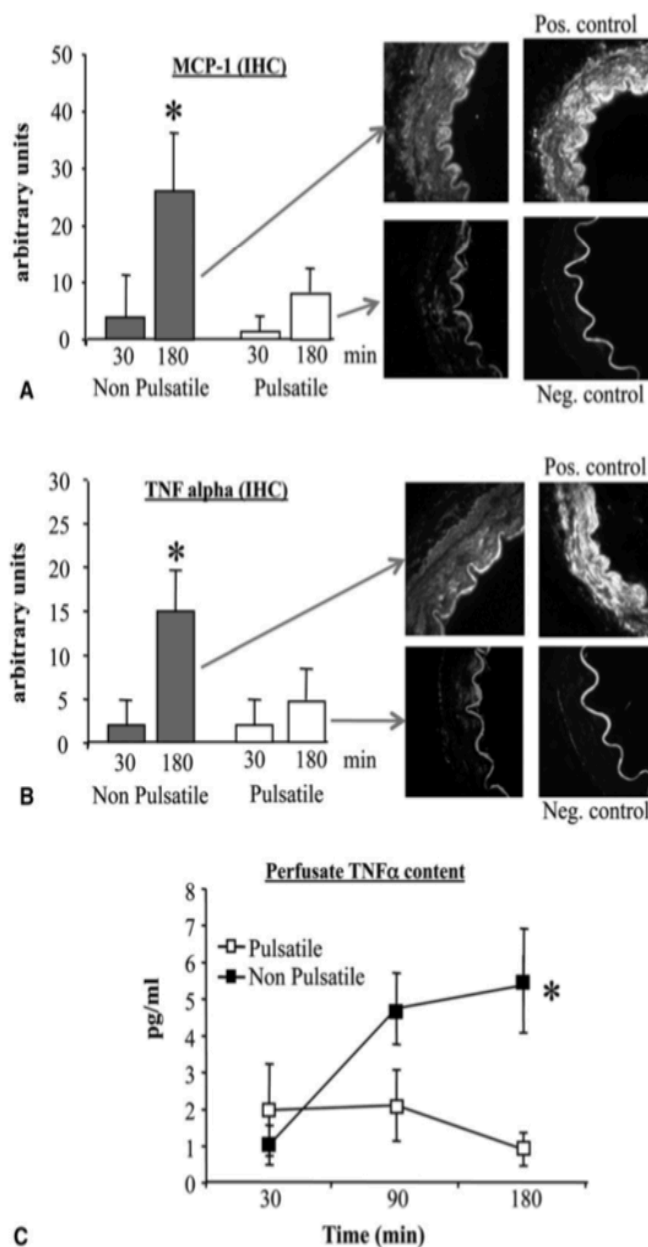
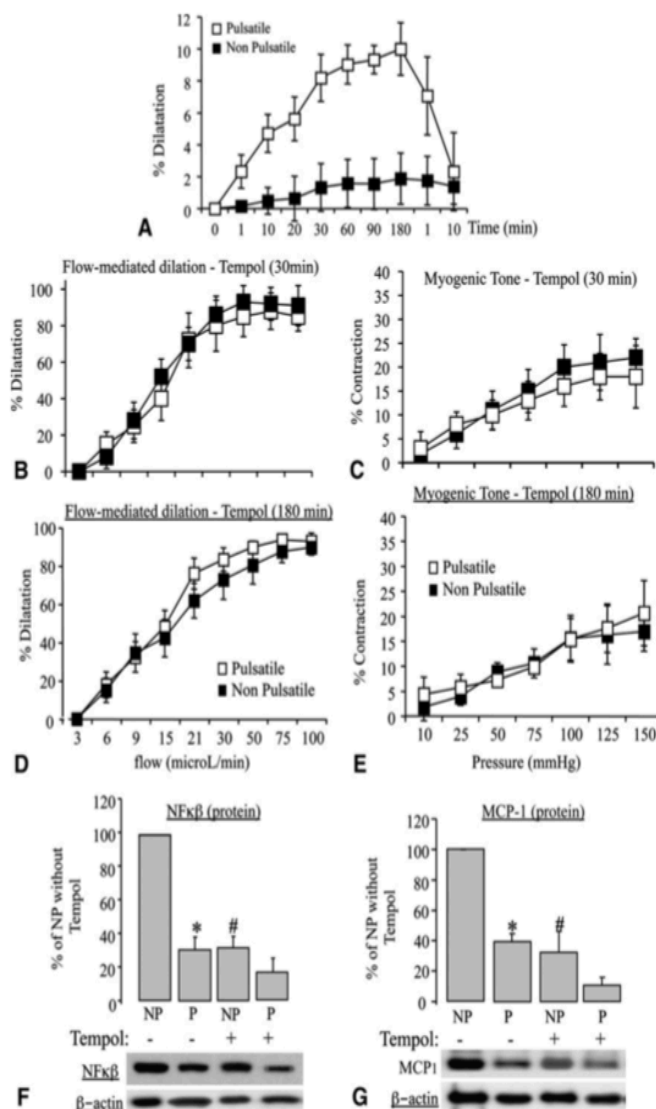


FIGURE 4. Monocyte chemoattractant protein 1 (*MCP-1*, A) and tumor necrosis factor α (*TNF α* , B) levels were determined with immunohistochemical methods (*IHC*) in mesenteric resistance arteries subjected to pulsatile or nonpulsatile conditions for 30 or 180 minutes. Typical images are shown on the left side. Positive (*Pos.*) and negative (*Neg.*) controls are shown for each protein. Tumor necrosis factor α level was then measured in the perfusate of whole mesenteric arterial beds perfused under pulsatile or nonpulsatile conditions (C). Perfusate was collected after 30, 90, and 180 minutes. Data are presented as mean \pm SEM ($n = 10$ rats per group). Asterisk indicates $P < .01$ for pulsatile versus nonpulsatile conditions.

smooth muscle cells might be the cause of the vasospasticity observed in nonpulsatile arteries. Myogenic tone and FMD both play key roles in the control of local blood flow, especially in organs with tightly controlled blood flow autoregulation. In the cerebral circulation, for

example, myogenic tone and FMD closely interact to control blood flow.²⁰ We have shown that myogenic tone and FMD were affected (increased and reduced, respectively) at a very early stage in CADASIL (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and

PM



FIGURES 5. Effect of treatment with the antioxidant tempol on pulsatility-induced dilation (A), on flow-mediated dilation (B and D), and on myogenic tone (C and E). Nuclear factor κ B (*NFκB*, F) and monocyte chemotactic protein 1 (*MCP-1*, G) protein levels were measured in arterial walls subjected to pulsatile (P) or nonpulsatile (NP) conditions in the presence or absence of tempol. Flow-mediated dilation and myogenic tone were determined after 30 (B and C) or 180 (D and E) minutes. Protein level was determined with Western blot analysis. Data are presented as mean \pm SEM (n = 10 rats per group). Asterisk indicates $P < .01$ for pulsatile versus nonpulsatile conditions. Hatch mark indicates $P < .01$ for the effect of tempol.

PM

leukoencephalopathy) syndromes, which are characterized by reduced blood flow to the brain and eventually by irreversible dementia.²¹ Similarly, FMD is the hallmark of endothelial disorders with a reduced dilatory response, occurring at an early stage in most cardiovascular and metabolic diseases that are associated with vascular dysfunction.²² The hypothesis that an excessive production of ROS might increase myogenic tone and reduce FMD is strongly supported by our data, which show that treating arteries with the antioxidant tempol could prevent the

changes in vascular reactivity induced by different pulsatile conditions. We also found inflammatory factors (MCP-1, $TNF\alpha$, and $NF\kappa B$) in arteries subjected to nonpulsatile conditions. To confirm this inflammation, we measured the production of $TNF\alpha$ in the perfusate of a whole mesenteric bed and found it to be significantly elevated in the absence of pulsatility. These findings are in agreement with those of a previous study conducted in patients undergoing coronary artery bypass grafting, which showed that endotoxemia (caused by bacterial

translocation from splanchnic hypoperfusion and injury) was increased in patients undergoing nonpulsatile CPB.²³ It is interesting that this elevation was more pronounced during aortic crossclamping than throughout the duration of CPB itself, because the native pulsatility from the beating heart was completely abolished by cardioplegic arrest. The residual pulsatile flow in this condition was provided only by the arterial pump used for CPB. This is a condition that is not encountered during long-term circulatory support,¹⁸ because the heart does not need to be arrested as it is during heart surgery. This may explain the fairly good results with respect to end-organ function, such as those recently published by Russell and colleagues,⁵ when native pulsatile oscillatory activity generated by the beating (although not working) heart is still present in recipients of nonpulsatile LVAD. Onorati and colleagues²⁴ have reported on a series of clinical studies maintaining the use of an intra-aortic balloon pump during aortic crossclamping in CPB in critically ill patients. They found that some intra-aortic balloon pump-induced pulsatile perfusion during this critical period was associated with a reduction in inflammatory response (particularly MCP-1) relative to that observed after nonphysiologic linear perfusion.²⁴ The oscillatory energy provided by pulsatile flow may protect the endothelial cells, which are normally exposed and presumably adapted to a normal level of shear stress in the range of 5 to 20 dyn/cm².²⁵ Following this reasoning, the inflammatory response would be generated at the endothelial level, which is consistent with our results reported here. Until now, the surgical literature has considered the inflammatory response to be a blood cell and plasma activation process, with subsequent microcirculatory injury. We found that pulsatility in itself was protective. In the absence of flow, the residual pulsatility imposed by the roller pump was sufficient to prevent the changes in myogenic tone and FMD that were seen in the absence of pulsatility. Similarly, in no-flow conditions but with pulsatility, ROS, MCP-1, TNF α , and NF κ B were not found in arteries even after 3 hours. Steady shear stress activates phosphoinositide-3 kinase, leading to phosphorylation and activation of Akt in isolated cells.²⁶ Activated Akt in turn phosphorylates nitric oxide synthase, contributing to sustained nitric oxide release and stimulating kinases and transcription factors to increase cytoprotection.²⁶ Cyclic stretch also enhances Akt activity,²⁷ and when both stimuli are combined, as with pulsatile perfusion in a compliant conduit, Akt and nitric oxide synthase phosphorylation are further increased.²⁸

Finally, we found that inflammation could be detected after 3 hours in the arterial wall or after 90 minutes in the perfusate, whereas ROS levels were significantly elevated after 30 minutes in the absence of pulsatility. This finding suggests that ROS production might precede and possibly even induce inflammation. This speculation is confirmed

by our data showing that the treatment of the arteries with an antioxidant prevented the rise in ROS level and inflammation within the mesenteric arteries. Thus ROS production induced by the absence of pulsatility in turn induced both inflammation and a change in vascular reactivity in favor of vasospasm. Nevertheless, our study does not allow involvement of the inflammatory response in the change in vascular reactivity. Indeed, inflammation is rather known to induce vasodilatation.

References

- Alghamdi AA, Latter DA. Pulsatile versus nonpulsatile cardiopulmonary bypass flow: an evidence-based approach. *J Card Surg*. 2006;21:347-54.
- Baufreton C, Intrator L, Jansen PG, te Velthuis H, Le Besnerais P, Vonk A, et al. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass using roller or centrifugal pumps. *Ann Thorac Surg*. 1999;67:972-7.
- James SA, Peters J, Maresca L, Kalush SL, Trigueros EA. The roller pump does produce pulsatile flow. *J Extra Corpor Technol*. 1987;19:376-83.
- Ashraf S, Butler J, Tian Y, Cowan D, Lintin S, Saunders NR, et al. Inflammatory mediators in adults undergoing cardiopulmonary bypass: comparison of centrifugal and roller pumps. *Ann Thorac Surg*. 1998;65:480-4.
- Russell SD, Rogers JG, Milano CA, Dyke DB, Pagani FD, Amund JM, et al. Renal and hepatic function improve in advanced heart failure patients during continuous-flow support with the HeartMate II left ventricular assist device. *Circulation*. 2009;120:2352-7.
- Crow S, John R, Boyle A, Shumway S, Liao K, Colvin-Adams M, et al. Gastrointestinal bleeding rates in recipients of nonpulsatile and pulsatile left ventricular assist devices. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2009;137:208-15.
- Undar A. Myths and truths of pulsatile and nonpulsatile perfusion during acute and chronic cardiac support. *Artif Organs*. 2004;28:439-43.
- Verdant C, De Backer D. How monitoring of the microcirculation may help us at the bedside. *Curr Opin Crit Care*. 2005;11:240-4.
- Laurent S, Boutouyrie P. Arterial stiffness: a new surrogate end point for cardiovascular disease? *J Nephrol*. 2007;20(Suppl. 12):S45-50.
- Wang DS, Proffitt D, Tsao PS. Mechanotransduction of endothelial oxidative stress induced by cyclic strain. *Endothelium*. 2001;8:283-91.
- Henrion D. Pressure and flow-dependent tone in resistance arteries. Role of myogenic tone. *Arch Mal Coeur Vaisc*. 2005;98:913-21.
- Loufrani L, Henrion D. Role of the cytoskeleton in flow (shear stress)-induced dilation and remodeling in resistance arteries. *Med Biol Eng Comput*. 2008;46:451-60.
- Bolla M, Matrougui K, Loufrani L, Maclouf J, Levy B, Levy-Toledano S, et al. p38 mitogen-activated protein kinase activation is required for thromboxane-induced contraction in perfused and pressurized rat mesenteric resistance arteries. *J Vasc Res*. 2002;39:353-60.
- Loufrani L, Levy BI, Henrion D. Defect in microvascular adaptation to chronic changes in blood flow in mice lacking the gene encoding for dystrophin. *Circ Res*. 2002;91:1183-9.
- Belin de Chantemele EJ, Vessières E, Dumont O, Guihot AL, Toutain B, Loufrani L, et al. Reactive oxygen species are necessary for high flow (shear stress)-induced diameter enlargement of rat resistance arteries. *Microcirculation*. 2009;16:391-402.
- Baufreton C, Moczar M, Intrator L, Jansen PG, te Velthuis H, Le Besnerais P, et al. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass using two different types of heparin-coated extracorporeal circuits. *Perfusion*. 1998;13:419-27.
- Miller LW. Is pulsatile blood flow no longer essential? *Circulation*. 2009;120:2313-4.
- Baufreton C, Kirsch M, Loisançe DY. Measures to control blood activation during assisted circulation. *Ann Thorac Surg*. 1998;66:1837-44.
- Undar A, Lodge AJ, Daggett CW, Runge TM, Ungerleider RM, Calhoun JH. The type of aortic cannula and membrane oxygenator affect the pulsatile waveform morphology produced by a neonate-infant cardiopulmonary bypass system in vivo. *Artif Organs*. 1998;22:681-6.
- Panerai RB. Cerebral autoregulation: from models to clinical applications. *Cardiovasc Eng*. 2008;8:42-59.
- Dubroca C, Lacombe P, Domenga V, Maciazek J, Levy B, Tournier-Lasserre E, et al. Impaired vascular mechanotransduction in a transgenic mouse model of CADASIL arteriopathy. *Stroke*. 2005;36:113-7.

22. Korkmaz H, Onalan O. Evaluation of endothelial dysfunction: flow-mediated dilation. *Endothelium*. 2008;15:157-63.

23. Watarida S, Mori A, Onoe M, Tabata R, Shiraishi S, Sugita T, et al. A clinical study on the effects of pulsatile cardiopulmonary bypass on the blood endotoxin levels. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1994;108:620-5.

24. Onorati F, Santarpino G, Tangredi G, Palmieri G, Rubino AS, Foti D, et al. Intra-aortic balloon pump induced pulsatile perfusion reduces endothelial activation and inflammatory response following cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2009;35:1012-9.

25. Fisher AB, Chien S, Barakat AI, Nerem RM. Endothelial cellular response to altered shear stress. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001;281:L529-33.

26. Stegemann JP, Nerem RM. Altered response of vascular smooth muscle cells to exogenous biochemical stimulation in two- and three-dimensional culture. *Exp Cell Res*. 2003;283:146-55.

27. Schlaepfer DD, Hauck CR, Sieg DJ. Signaling through focal adhesion kinase. *Prog Biophys Mol Biol*. 1999;71:435-78.

28. Lehoux S, Esposito B, Merval R, Tedgui A. Differential regulation of vascular focal adhesion kinase by steady stretch and pulsatility. *Circulation*. 2005;111:643-9.

Access to **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery Online** is reserved for print subscribers!

Full-text access to **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery Online** is available for all print subscribers. To activate your individual online subscription, please visit **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery Online**, point your browser to <http://www.mosby.com/jtcvs>, follow the prompts to **activate your online access**, and follow the instructions. To activate your account, you will need your subscriber account number, which you can find on your mailing label (*note*: the number of digits in your subscriber account number varies from 6 to 10). See the example below in which the subscriber account number has been circled:

Sample mailing label

This is your subscription account number

*****3-DIGIT 001
 SJ P1
 FEB00 J027 C: 1 (1234567-89) U 05/00 Q: 1
 J. H. DOE, MD
 531 MAIN ST
 CENTER CITY, NY 10001-0001

Personal subscriptions to **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery Online** are for individual use only and may not be transferred. Use of **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery Online** is subject to agreement to the terms and conditions as indicated online.

PM

Titre : Les Greffons vasculaires en chirurgie coronaire

Mots clés : Veine, Solutions de conservation, Hyperplasie Intimale, Artère, Réactivité vasculaire, Pulsatilité

Résumé : L'utilisation de greffons artériels (Artère Thoracique Interne (Ati)) et/ou veineux est habituelle au cours de pontages coronaïres.

1) L'hyperplasie intimale (HI) d'une veine est un mécanisme adaptatif lorsque la veine est soumise à un flux artériel. Certaines solutions de conservation semblent limiter cette HI dans des études *in vitro*.

2) Deux types de circulation extra-corporelle (CEC) sont utilisables : CEC centrifuge dite non pulsée et CEC à galets dite pulsée. L'absence de pulsatilité est à l'origine d'une réaction inflammatoire systémique et crée une altération du tonus myogénique d'artères intermédiaires chez le rat. L'objectif de ce travail était : 1) comparer les solutés de conservation sur des veines implantées en position aortique chez le rat. 2) évaluer l'impact des flux générés par les pompes de CEC sur la fonctionnalité endothéliale des ATIs et la réaction inflammatoire systémique.

1) L'implantation d'un greffon veineux conservé dans du sérum hépariné ou du sang autologue hépariné ou dans une solution anti-oxydante type GALA était à l'origine d'une hyperplasie intimale entraînant une occlusion du greffon dans plus de 50% des cas. Une réaction inflammatoire pariétale importante était retrouvée au niveau de la veine et de l'aorte abdominale distale. 2) La réactivité vasculaire était conservée quel que soit le type de pompes. Une réponse inflammatoire systémique est observée alors que le niveau d'inflammation n'était pas modifié dans les artères. En conclusion, 1) l'utilisation d'une solution anti-oxydante ne permet pas de réduire significativement le risque d'hyperplasie intimale lorsque le greffon veineux est implanté en position artérielle 2) l'exposition d'une ATI à une pompe centrifuge et à galets ne modifie pas la réactivité vasculaire ni la fonctionnalité endothéliale.

Title : Vascular grafts during coronary surgery

Keywords : Vein, Storage solutions, Intimal Hyperplasia, Artery, Vascular Reactivity, Pulsatility

Abstract : Internal thoracic arteries (ITAs) and venous grafts are commonly used in coronary artery bypass grafting. 1) Intimal hyperplasia (IH) constitutes an adaptative mechanism observed when saphenous vein graft is exposed to arterial blood pressure. Storage solutions aiming on decreasing this IH have been identified in previous *in vitro* studies. 2) Cardio pulmonary bypass can be performed using either a centrifugal pump, with a non -pulsatile flow or a roller pump, producing a pulsatile flow. Non pulsatile flow was showed to induce a systemic inflammatory response therefor damaging the myogenic tone of resistance arteries in a rat model. The aims of this study were: 1) To compare the impact of storage solutions on saphenous vein grafts implanted in aortic position in a rat model. 2) To evaluate the impact of the flow

generated by pumps on endothelial functionality of ITAs and the systemic inflammatory response. 1) IH and graft thrombosis occurred in more than 50% of cases when venous graft was stored in heparinized saline solution, autologous heparinized blood or GALA anti-oxydant solution, and implanted in arterial position. A parietal inflammatory response was observed in venous graft as well as distal abdominal aorta. 2) Vascular reactivity was conserved whatever the pump used. Systemic inflammatory response was observed while the intraparietal inflammatory was not modified in the graft. To conclude, 1) the use of GALA anti-oxydant solution did not decrease the risk of intimal hyperplasia when venous graft is exposed to arterial blood flow 2) exposure of internal thoracic artery to centrifugal and roller pumps did not affect endothelial functionality nor vascular reactivity.