

**UNIVERSITE DE BOURGOGNE
U. F. R. DE MEDECINE**

THESE

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Bourgogne

Discipline :

Médecine

Présentée et soutenue publiquement par

Olivier BOUCHOT

Le 21 septembre 2011

**OCCLUSION TEMPORAIRE DES ARTERES
CORONAIRES PAR UN GEL THERMO-REVERSIBLE :
LEGOO®.
DE L'EXPERIMENTAL A L'UTILISATION HUMAINE.**

Directeur de thèse :

François BRUNOTTE, Professeur

JURY

**Roger BRENOT, Professeur
Marc LASKAR, Professeur
Fadi FARHAT, Professeur
Laurent BARANDON, Professeur
Alain LALANDE, MCU-PH**

**Examineur
Examineur
Rapporteur
Rapporteur
Co-encadrant**

« L'humilité la plus sincère pour un scientifique est d'accepter que rien n'est impossible »

Marc Levy

« Le premier Jour »

REMERCIEMENTS

A Mr le Professeur François BRUNOTTE,

Monsieur et cher Maître, vous nous avez fait l'honneur de nous accueillir au sein du LE2I. Ce travail n'est pas le reflet de cette collaboration entre nos deux équipes, et nous vous remercions d'avoir accepté ce changement de sujet. Nous apprécions la clarté, la pertinence de vos jugements et de vos remarques. Nous espérons que l'avenir permettra d'aboutir à des travaux moins chirurgicaux mais plus imagés. Veuillez accepter nos excuses pour cette longue thèse.

A Mr le Professeur Roger BRENOT,

Monsieur et cher Maître, Mon cher John, merci d'avoir accepté de juger ce travail qui fut long et difficile. Merci pour ton soutien quotidien et ta confiance qui, j'espère, seront récompensés bientôt.

A Mr le Professeur Marc LASKAR,

Monsieur et cher Maître, merci d'avoir accepté de juger ce travail. Votre activité chirurgicale, votre investissement dans la vie communautaire et réglementaire forcent notre respect et notre admiration. J'espère que ce travail vous donnera envie d'utiliser ce gel en chirurgie coronarienne à cœur battant ou en chirurgie vasculaire. Merci d'avoir fait une halte au cours de votre périple dans l'Est de la France.

A Mr le Professeur Fadi FARHAT,

Monsieur et cher Maître, cher Fadi, merci d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail durant la période estivale. Ton expérience en chirurgie coronarienne, et notamment en

chirurgie à cœur battant nous intéresse beaucoup et nous espérons pouvoir nous inspirer de ton organisation pour améliorer notre prise en charge des patients. Nous espérons à l'inverse que ce travail t'aura convaincu de l'utilité de ce gel.

A Mr le Professeur Laurent BARANDON,

Monsieur et cher Maître, cher Laurent, merci d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail. Nous pensons que ta formation auprès de « *notre maître* » en chirurgie à cœur battant (Raymond Cartier) t'a permis d'appréhender cette chirurgie plus sereinement, et de comprendre l'importance de former les plus jeunes. Nous espérons que l'utilisation du gel sera pour toi une aide afin de développer cette approche de la revascularisation coronarienne. Merci de traverser la France et j'espère que tu apprécieras nos vins.

A Mr Alain LALANDE,

Monsieur, cher Alain, merci d'avoir accepté de co-encadrer une thèse plus chirurgicale que prévue. Nous espérons pouvoir rapidement travailler sur les sujets plus en relation avec nos deux spécialités et nos centres d'intérêts communs. Merci encore pour ton soutien et tes conseils.

A tous ceux et celles (familles, amis et collègues) qui ont partagés mon quotidien durant la réalisation des premières expériences à Montréal jusqu'aux dernières nocturnes d'écriture de ce travail, je vous remercie pour votre soutien et vos encouragements et je m'excuse de tout ce temps volé.

A mes trois complices de Trois-Rivières du laboratoire de chirurgie de l'Institut de Cardiologie : Marie-Claude Aubin ma référente en endothélium et ma co-auteur, Marie-Pierre Matthieu pour son efficacité redoutable et son amitié, et Emilie Reny-Nolin pour son aide dynamique.

A Jean-Marie Vogel et toute l'équipe de Pluromed, pour la confiance qu'ils m'ont apportés, en espérant que notre collaboration dure encore, ainsi que nos discussions nocturnes. Jean-Marie, mon étonnement et mon émerveillement face au gel LeGoo ressemble aux tiens lors de ta découverte de la cancoillotte....

A mes quatre adorables filles, avec tout l'amour que j'ai pour elles.

A Mathilde, ta patience sera récompensée par notre avenir commun.

Je dédie ce travail à mes parents.

CONFLITS D'INTERETS

Je déclare n'avoir aucun conflit d'intérêt avec la société Pluromed (Woburn, MA, USA).

Le gel utilisé pour les expérimentations animales et l'utilisation humaine initiale a été fourni gratuitement par la société Pluromed.

RESUME

La chirurgie coronarienne peut se faire soit à cœur arrêté sous circulation extracorporelle, soit à cœur battant. Cette dernière technique permet de diminuer les complications postopératoires (accidents vasculaires cérébraux, insuffisance rénale, complications respiratoires, mortalité, surtout chez les patients âgés et à haut risque opératoire, et une diminution des saignements et des transfusions). Elle nécessite une formation spécifique pour obtenir une bonne exposition du cœur, une stabilisation de la zone coronarienne à revasculariser, et une bonne visualisation de l'artériotomie, dans le respect de l'hémodynamique cardiaque. Les deux premiers points techniques sont en général maîtrisés, alors que le dernier est plus difficilement atteint, gênant la réalisation de l'anastomose et justifiant la réalisation de nombreux pontages sous circulation extracorporelle. Pour obtenir une hémostase suffisante, on peut utiliser la technique des élastiques autour de l'artère coronaire, des micro-clamps, des shunts intra-coronaires, ou du lavage sous pression de l'artériotomie. Malgré l'utilisation de ces techniques, il peut persister un saignement, sans compter le risque de lésions endothéliales ou de ruptures de plaques.

LeGoo®, une préparation à base de poloxamer à transition rapide, est un gel réversible thermosensible qui est liquide à des températures inférieures à 20°C et devient un gel à la température du corps humain. Cette propriété est réversible par le froid.

Objectifs

L'objectif de ce travail a été d'évaluer la faisabilité d'utiliser le gel LeGoo pour occlure temporairement les artères coronaires afin de réaliser des pontages coronariens à cœur battant initialement chez le porc puis chez l'humain.

Les objectifs secondaires ont été d'étudier l'impact de l'injection du gel sur l'endothélium et le myocarde.

Méthodes

La première étude a eu pour but d'évaluer la possibilité de réaliser chez le cochon des pontages coronariens sur l'artère interventriculaire antérieure ou l'artère coronaire droite avec une artère thoracique interne, et d'évaluer la fonction endothéliale des artères coronariennes au niveau de la zone d'injection du gel.

La deuxième étude a analysé chez le porc la fonction endothéliale des artères thoraciques internes au niveau de la zone d'occlusion par du gel LeGoo chez le porc.

Après l'obtention du marquage CE, la troisième étude a permis de prouver la faisabilité de l'utilisation de LeGoo dans la réalisation de pontages coronariens à cœur battant chez l'humain et d'évaluer l'impact myocardique de cette utilisation.

La dernière étude était une étude randomisée, multicentrique, internationale, comparant l'utilisation du gel pour la réalisation des anastomoses, versus les occlusions conventionnelles par élastiques péri-coronaires.

Résultats

Pour la première étude, 14 cochons ont été pontés à cœur battant et sacrifiés à la 3^{ème} h (n=8) ou au 3^{ème} jour (n=6). L'étude de la réactivité endothéliale n'a pas mis en évidence de différence entre les artères coronaires occluses par le gel et l'artère coronaire circonflexe qui servait de témoin. L'endothélium ne présentait pas de lésions histologiques en microscopie. Les mêmes résultats ont été obtenus dans la deuxième étude, sur les 9 artères thoraciques internes qui avaient été occluses durant 15 minutes avec le gel LeGoo.

Les premières utilisations humaines ont permis de réaliser 99 anastomoses chez 50 patients. Le taux de satisfaction sur la qualité de l'hémostase obtenue a été de 91%. Un patient a présenté une arythmie, qui a nécessité de dissoudre le gel et de mettre en place un shunt intra-coronaire. Un autre patient a présenté un infarctus du myocarde à J1 lié à une sténose sur l'artère thoracique interne en amont de l'anastomose, nécessitant une réfection du pontage. Les autres complications étaient identiques aux séries de la littérature.

Au cours de l'étude randomisée, les temps d'anastomoses étaient plus courts dans le groupe LeGoo que dans le groupe élastiques ($12,8 \pm 4,7$ min vs $15,4 \pm 6$ min, $p < 0,001$). Les écarts étaient de 2 minutes environ pour les territoires antérieurs et de 4 minutes pour les territoires latéraux et postérieurs. Le taux de satisfaction pour l'hémostase était de 88% avec le gel alors qu'il était de 60% avec les élastiques ($p < 0,0001$). Les autres critères péri-opératoire étaient statistiquement identiques.

Conclusions

L'utilisation du gel LeGoo (Poloxamer 407) permet de réaliser des anastomoses en diminuant les temps d'occlusion et de manière sécuritaire sans altérer les fonctions de l'endothélium coronarien.

Mots clés : gel thermosensible, artère coronaire, revascularisation coronaire, cœur battant, endothélium

ABSTRACT

Coronary surgery can be done either in on-pump heart arrested or beating heart (off pump) modes. The off pump technique reduces postoperative complications (stroke, renal failure, respiratory complications, mortality), especially in elderly patients and high surgical risk, and reduces bleeding and transfusions. It requires specific training to get a good exposition of the heart, and a good stabilization and visualisation of the arteriotomy with respect to cardiac hemodynamic. The first two conditions are generally mastered, but the latter is more difficult to reach, hindering the completion of the anastomosis and justifying the use of cardiopulmonary bypass to perform numerous bypasses. A residual bleeding could bother the anastomosis. Different techniques are used to control that bleeding (vessel loop, micro clamp, intra coronary shunt, gas jet blower) but none of them is fully satisfactory: bleeding may persist, and the exposure of the vessel to the mechanical trauma induced injury or plaque rupture.

LeGoo (a poloxamer based formulation) is a reversible thermosensitive gel, which is liquid at room temperature and hardens into a plug at body temperature. The property is reversible by lowering the temperature.

Objectifs

The objective of this work is to assess the feasibility of using the LeGoo gel to occlude the coronary arteries temporarily, to facilitate the performance of coronary bypass (off-pump technique), initially in pigs then in human. A Secondary objective was to evaluate the impact of the injection on the endothelium and myocardium.

Methodes

The first study evaluated in pigs the feasibility of using LeGoo, while performing coronary bypass on the left anterior descending or on the right coronary artery and to evaluate the endothelial function of coronary arteries occluded by the gel.

The second study analyzed endothelial function of internal thoracic arteries, in the area occluded by the gel.

After obtaining the CE mark, a third study demonstrated the feasibility of the utilisation of LeGoo for temporary coronary artery occlusion during the performance of beating heart coronary bypass surgery in human.

The last study was a randomized, multicenter and international clinical study that compared the gel with conventional vessel loop during the performance of off-pump coronary artery bypass anastomoses.

Results

In the first study 14 pigs received coronary bypass and were sacrificed after 3 hours (n=8) or 3 days (n=6). The study of endothelial reactivity did not reveal any difference between the coronary arteries occluded by the gel and the circumflex coronary artery, which served as a control. The endothelium showed no histological damage. Identical observations were made on the 9 internal thoracic arteries, used in the second study and occluded during 15 minutes by a LeGoo plug.

In the first human use, 99 anastomoses were performed in 50 patients. The level of satisfaction on the quality of haemostasis was 91%. One patient presented arrhythmia which required the introduction of an intracoronary shunt after rapid dissolution of the gel. Another patient had a myocardial infarct on day 1 associated with stenosis on the internal thoracic artery upstream of the anastomosis, requiring a refection of this bypass (new off pump procedure). Other complications were identical to what is reported in the literature.

In the randomised study, anastomoses times were shorter in LeGoo group than with vessel loops ($12,8 \pm 4,7$ min vs $15,4 \pm 6$ min, $p < 0,001$). The differences were 2 minutes for anterior bypass and 4 minutes for the lateral and posterior territories.

The satisfaction rate of haemostasis was 88% with the gel against it was 60.7% with the vessel loop ($p < 0,0001$). Other peri-operative measurements were statistically identical between the 2 groups.

Conclusions

LeGoo (a poloxamer based formulation) can be used safely for the performance of coronary anastomoses. Anastomotic times are shorter than with traditional vessel loops, without any alteration of the endothelial function.

Key Words: thermosensitive gel, coronary artery, coronary revascularization, beating heart, off pump, endothelium

| | |
|---|-----------|
| REMERCIEMENTS | 3 |
| CONFLITS D'INTERETS | 6 |
| RESUME | 7 |
| ABSTRACT | 9 |
| ABREVIATIONS | 14 |
| 1. INTRODUCTION | 17 |
| 1.1 CONTEXTE DE LA RECHERCHE | 17 |
| 1.2 HISTOIRE DE LA CHIRURGIE CORONARIENNE | 18 |
| 1.3 HISTOIRE DE LA CHIRURGIE CORONARIENNE A CŒUR BATTANT | 25 |
| 2. CHIRURGIE CORONARIENNE A CŒUR BATTANT | 29 |
| 2.1 EFFETS ET INTERETS | 29 |
| 2.1.1 Inflammation..... | 29 |
| 2.1.2 Effets sur le myocarde | 30 |
| 2.1.3 Complications cérébrales | 31 |
| 2.1.4 Insuffisance rénale | 33 |
| 2.1.5 Fibrillation auriculaire | 34 |
| 2.1.6 Transfusion | 35 |
| 2.1.7 Perméabilité des pontages..... | 37 |
| 2.1.8 Mortalité..... | 39 |
| 2.1.9 Patients à haut risque | 43 |
| 2.1.10 No touch aortic..... | 43 |
| 2.1.11 Considérations économiques..... | 44 |
| 2.2 INCONVENIENTS DE LA CHIRURGIE A CŒUR BATTANT | 45 |
| 2.3 TECHNIQUES OPERATOIRES EN CHIRURGIE A CŒUR BATTANT | 46 |
| 2.3.1 Techniques d'exposition cardiaque..... | 47 |
| 2.3.2 Techniques de stabilisation | 48 |
| 2.3.3 Visualisation de la zone d'anastomose | 48 |
| 2.3.4 Techniques de contrôle du saignement | 49 |
| 2.3.5 Techniques de perfusion distale..... | 50 |
| 2.3.6 Insufflateur CO2 | 50 |
| 3. POLOXAMER | 52 |
| 3.1 PRESENTATION | 52 |
| 3.2 STRUCTURE | 52 |
| 3.3 PROPRIETES GENERALES DU POLOXAMER 407 | 53 |
| 3.4 PREPARATION DU POLYMERE | 56 |
| 3.5 PROPRIETES MECANQUES DU POLOXAMER 407 | 56 |
| 3.5.1 Force de résistance du Poloxamer 407..... | 56 |
| 3.5.2 Propriétés bio-adhésives du Poloxamer 407 | 57 |
| 3.6 LES APPLICATIONS DU POLOXAMER 407 | 57 |
| 3.6.1 Poloxamer 407 et ses effets sur les actifs formulés..... | 58 |
| 3.6.3 Poloxamer 407 dans les formulations dentaires et rince-bouches..... | 60 |
| 3.6.4 Poloxamer 407 dans les formulations orales..... | 61 |
| 3.6.5 Poloxamer 407 dans les formulations ophtalmiques..... | 61 |
| 3.6.6 Poloxamer 407 et les formulations rectales..... | 62 |
| 3.6.7 Poloxamer 407 et les applications nasales | 63 |

| | |
|--|------------|
| 3.6.8 Poloxamer 407 et formulation injectable (intramusculaire)..... | 63 |
| 3.6.9 Poloxamer 407 et la formulation de nanoparticules..... | 64 |
| 3.6.10 Poloxamer 407 en combinaison avec un gel formé de polymères | 66 |
| 3.6.11 Propriétés pharmacologiques propres du Poloxamer 407 | 66 |
| <i>Promotion de la multiplication cellulaire</i> | 67 |
| <i>Propriétés d'Immuno-modulation</i> | 67 |
| <i>Promotion cytotoxique</i> | 68 |
| 3.7 EFFETS INDESIRABLES DU POLOXAMER 407..... | 68 |
| 3.7.1 Altération du métabolisme lipidique..... | 69 |
| 3.7.2 Altération de la capacité de filtration rénale | 69 |
| 3.8 CHOIX DU POLOXAMER POUR LE GEL LEGOO® | 70 |
| 3.8.1 Choix du Poloxamer 407..... | 70 |
| 3.8.2 Choix de la concentration | 72 |
| 3.8.3 Spécification pour la viscosité | 73 |
| 3.8.4 Conditionnement..... | 74 |
| 3.9 ASPECTS REGLEMENTAIRES | 75 |
| 3.9.1 Pluromed..... | 75 |
| 3.9.2 Dispositif médical implantable temporaire | 76 |
| 3.9.3 Marquage CE..... | 76 |
| 3.10 METHODE D'UTILISATION..... | 76 |
| 3.10.1 Préparation de l'artère coronaire..... | 76 |
| 3.10.2 Injection du gel | 77 |
| 3.10.3 Dissolution du gel | 79 |
| 3.10.4 Procédure d'utilisation Pluromed..... | 81 |
| 4. FONCTION ENDOTHELIALE..... | 84 |
| 4.1 LE TONUS VASOMOTEUR | 85 |
| 4.1.1 Les facteurs relaxants dérivés de l'endothélium | 85 |
| 4.1.2 Les facteurs contractants dérivés de l'endothélium | 89 |
| 4.2 AUTRES FONCTIONS ENDOTHELIALES..... | 91 |
| 5. ARTICLE 1..... | 93 |
| 5.1 INTRODUCTION | 93 |
| 5.2 ARTICLE | 93 |
| 5.3 DISCUSSION..... | 100 |
| 6. ARTICLE 2..... | 103 |
| 6.1 INTRODUCTION | 103 |
| 6.2 ARTICLE | 103 |
| 6.3 DISCUSSION..... | 106 |
| 7. ARTICLE 3..... | 108 |
| 7.1 INTRODUCTION | 108 |
| 7.2 ARTICLE | 108 |
| 7.3 DISCUSSION..... | 115 |
| 8. ARTICLE 4..... | 119 |
| 8.1 INTRODUCTION | 119 |
| 8.2 ARTICLE | 119 |
| 8.3 DISCUSSION..... | 137 |

| | |
|--|------------|
| 9. DISCUSSION GENERALE..... | 141 |
| 10. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES | 147 |
| 11. ANNEXE..... | 152 |
| 11.1 ANNEXE 1 : Marquage CE..... | 152 |
| 11.2 ANNEXE 2 : Brochure d'utilisation du gel LeGoo..... | 153 |
| 11.3 ANNEXE 3 : Lettre acceptation publication article 4..... | 154 |
| 12. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 156 |
| 13. TRAVAUX DE L'AUTEUR EN RAPPORT AVEC LE TRAVAIL..... | 185 |
| 13.1 PUBLICATIONS | 185 |
| 13.2 PRESENTATIONS..... | 185 |

ABREVIATIONS

| | |
|---------------|--|
| ACT | Activated Clotting Time |
| Ang II | Angiotensine II |
| AVC | Accident vasculaire cérébral |
| CA-CEC | Cœur arrêté avec circulation extra-corporelle |
| CB | Cœur Battant |
| CE | Cellule endothéliale |
| CEC | Circulation extra-corporelle |
| CML | Cellule musculaire lisse |
| CPBIA | Contre-pulsion par ballonnet intra-aortique |
| EDHF | Facteur hyper polarisant dérivé de l'endothélium |
| ET 1 | Endothéline 1 |
| FA | Fibrillation auriculaire |
| FAV | Fistule artério-veineuse |
| FDA | Food and Drug Administration |
| IC | Intervalle de confiance |
| IL | Interleukine |
| IM | Intra-musculaire |
| iNOS | Isoforme de monoxyde d'azote synthétase |
| IP | Intra-péritonéal |
| IR | Insuffisance rénale |
| IRM | Imagerie par résonance magnétique |
| IVA | interventriculaire antérieure |
| NO | Monoxyde d'azote |
| NOS | Monoxyde d'Azote synthetase |
| OE | Oxyde d'éthylène |
| OPCAB | Off Pump coronary artery bypass |
| P 407 | Poloxamer 407= Lutrol F 127 |
| PC | Pontage coronarien |
| PGi2 | Prostacycline |
| PO | Oxyde de Propylène |
| RTP | Rapid Transition Polymer |
| SIRS | Syndrome inflammatoire de réponse systémique |

SLN Nanoparticules Lipidique Solide
STS Society of Thoracic Surgeon (USA)

Introduction

1. INTRODUCTION

1.1 CONTEXTE DE LA RECHERCHE

La chirurgie coronarienne à cœur battant a des avantages et des inconvénients comme nous le verrons au cours de ce travail. Son développement nécessite la formation des chirurgiens pour acquérir les techniques d'exposition, de stabilisation et aussi de contrôle du saignement. Des solutions techniques existent pour réaliser le contrôle de ce saignement mais peuvent entraîner des traumatismes endovasculaire.

La société Pluromed (Woburn, MA, USA) a développé un gel thermosensible, LeGoo initialement dans l'objectif d'occlure des organes pleins (foie, rein) pour réaliser des injections ciblées de chimiothérapie, ou des néphrectomies partielles. Toutefois les temps d'occlusion n'étaient pas suffisamment longs dans ces applications. Les temps d'occlusion pouvaient correspondre au temps nécessaire pour la réalisation des anastomoses vasculaires, et l'application à la chirurgie à cœur battant a été étudiée pour l'utilisation du gel LeGoo.

La société a réalisé des travaux expérimentaux à l'école de médecine d'Harvard de Boston sur la réactivité des vaisseaux coronariens épicaudiques, en évaluant différentes concentrations de gel.

Puis la société Pluromed souhaitait réaliser des pontages coronariens à cœur battant sur l'animal et a étudié la réactivité coronarienne suite à l'injection de gel dans l'artère coronarienne. Le laboratoire expérimental de chirurgie de l'Institut de Cardiologie de Montréal (Dr Louis P Perrault) possédait une expertise reconnue dans ce domaine. Un protocole de recherche a donc été développé au laboratoire. A cette période l'auteur effectuait un stage de moniteur de recherche au sein du laboratoire avec le Dr Raymond Cartier, et il lui a été proposé de réaliser les expérimentations chirurgicales. Ce fut une révélation avec un étonnement et un émerveillement dès la première utilisation du gel sur une artère coronaire.

Après ces premières expérimentations animales menées en collaboration avec l'équipe du laboratoire (Marie-Claude Aubin, Marie-Pierre Matthieu, Emilie Reny-Nolin) d'autres expérimentations animales vont être réalisées.

Une deuxième expérimentation sur le porc est réalisée au Cr2i de l'INRA de Jouy en Josas (78), dont le but était d'expérimenter le gel dans un modèle d'occlusion chronique

d'artère coronaire avec développement d'artères collatérales. Deux concentrations de Poloxamer 407 étaient utilisées (20 et 22%). Parallèlement des tests d'occlusion d'artères mammaires internes étaient réalisés sur des occlusions de plus de 15 minutes. Cette étude n'a pu être publiée en l'absence d'anatomopathologie des cœurs explantés.

Par la suite une étude préclinique animale spécifiquement dessinée pour la Food and Drug Administration (FDA) a été réalisée au Saint Joseph's Research Institute à Atlanta (USA) pour étudier et comparer la réalisation de pontages coronariens à cœur battant en utilisant le gel LeGoo et les élastiques pour l'occlusion coronaire chez le cochon.

En 2007 la société Pluromed a obtenu le marquage CE et le premier cas humain d'occlusion coronaire au cours d'une chirurgie à cœur battant par le gel LeGoo a été réalisé dans notre équipe par l'auteur.

Par la suite l'expérience notamment en chirurgie à cœur battant s'est développée et publiée avec les cinquante premiers résultats humains. Plusieurs équipes européennes seront formées avec l'auteur en Allemagne, Suisse, Italie, Espagne.

Suite à l'étude préclinique pour la FDA et compte tenu des bons résultats initiaux chez l'humain, une étude multicentrique européenne est décidée sous la direction du Dr Rastan Ardawan du centre cardiologique de Leipzig (Allemagne) et de l'auteur. Cette étude randomisée, multicentrique, incluant 110 patients est sous presse.

Les bons résultats obtenus devraient permettre un développement de la chirurgie coronarienne à cœur battant qui a débuté dès le début de l'histoire de la chirurgie coronarienne.

1.2 HISTOIRE DE LA CHIRURGIE CORONARIENNE

L'histoire de la chirurgie coronarienne peut se diviser en deux périodes qui se chevauchent partiellement : la chirurgie de revascularisation indirecte et la revascularisation directe.

C'est Alexis Carrel qui a tenté pour la première fois chez le chien une anastomose sur une artère coronaire à partir de l'aorte thoracique. Il écrit en 1910 [1] : « *J'ai tenté d'effectuer une anastomose indirecte entre l'aorte descendante et l'artère coronaire gauche. Cela a été pour de nombreuses raisons une opération difficile. En raison du*

mouvement continu du cœur, ce n'était pas facile à disséquer et à suturer l'artère. Dans un cas, j'ai implanté une extrémité d'une artère carotide longtemps conservé dans une chambre froide, sur l'aorte descendante. L'autre extrémité a été adoptée par le péricarde et anastomosée à la fin du péricarde de la coronaire à proximité de l'artère pulmonaire. Malheureusement, l'opération était trop lente. Trois minutes après l'interruption de la circulation, des contractions fibrillaires apparurent, mais l'anastomose a pris cinq minutes. Par massage du cœur, le chien a été gardé en vie, mais il est décédé moins de deux heures après. Il montre que l'anastomose doit être faite en moins de trois minutes »

C'est en 1916 que Jonnesco fit les premiers essais d'augmentation du débit coronarien. Il pratiquait des résections des ganglions cervico-thoraciques chez des patients souffrant d'angine de poitrine sévère, en postulant qu'une telle dénervation cardiaque engendrerait une vasodilatation coronarienne. Effectivement, on vit chez certains de ces patients une amélioration des symptômes [2]. C'est ainsi que commencèrent des tentatives de neurotomie péri-coronarienne, de section du plexus aortique et de rhysotomie postérieure. Ces tentatives se soldèrent par des échecs du fait du taux élevé d'infarctus aigu malgré la diminution des symptômes angineux. Ce malheureux constat eut lieu après avoir mis en évidence que ces techniques, malgré leurs résultats antalgiques, ne modifiaient en rien l'aspect physiopathologique des lésions coronariennes [3].

En 1930, Claude Beck, chirurgien de Cleveland, a développé des méthodes pour revasculariser indirectement le cœur des animaux en attachant les tissus adjacents dans l'espoir de former une circulation collatérale sur le myocarde ischémique. Ces tissus incluent le péricarde, la graisse péricardique, le muscle pectoral, et l'épiploon. L'autopsie a révélé que les vaisseaux anastomotiques se développent entre ces tissus et le myocarde. Beck a ensuite effectué cette opération avec des modifications sur 16 patients.

En 1932, Moritz et ses collègues constatèrent, sur des cadavres de personnes ayant présenté une péricardite, une augmentation notable des anastomoses vasculaires extracardiaques [4, 5].

Claude Beck tenta alors d'induire ces mêmes communications péricardiques chez ses patients coronariens en créant de manière mécanique des lésions péricardiques à l'aide d'instruments chirurgicaux, de sable, de talc ou même de particules d'asbeste [6-8]. Le premier patient s'est rétabli sans incident et n'a plus présenté d'angine de poitrine après

l'opération. Il effectua cette opération avec des modifications sur 16 patients. Cependant, les études anatomo-pathologiques faites par la suite prouvèrent que ces manipulations entraînaient la formation d'une cicatrice fibreuse suite au processus inflammatoire, sans envahissement vasculaire des tissus.

En 1939, Fieschi stimula Zoja et Cesa Bianchi pour qu'ils tentent de dériver le sang en direction des branches artérielles péricardio-phréniques en ligaturant l'artère mammaire interne, et en augmentant ainsi la circulation myocardique [9]. Cette technique sembla donner de bons résultats. Selon certaines études, cette technique permettait une amélioration des symptômes chez 70% des patients. Mais celles-ci furent par la suite contredites par des études anatomiques qui prouvèrent que le développement du réseau anastomotique ainsi obtenu entre les artères mammaires et les artères péricardiques n'augmentait pas la perfusion myocardique comme escompté.

Gross et ses collègues démontrèrent en 1935 une augmentation de la perfusion des capillaires coronariens par ligature du sinus coronaire ; cette dernière provoquant une augmentation de la pression au niveau des capillaires [10]. Cette technique fut adoptée par Beck qui adjoint à l'abrasion du péricarde une ligature partielle du sinus coronaire (opération appelée Beck I) [11].

Plus tard, Thornton et Mautz mirent en évidence que l'augmentation de pression était transitoire et Beck modifia encore sa technique en interposant un greffon veineux entre l'aorte et le sinus (opération Beck II) [12].

Les travaux de Grant de 1926 prouvent l'existence de l'important réseau d'espace trabéculaire communiquant directement avec les chambres cardiaques, les canaux vasculaires entre les fibres myocardiques et les sinusoides myocardiques [13]. De plus les travaux de Wearn montraient l'existence de communications directes entre certaines branches des artères coronaires et les chambres cardiaques (formées des vaisseaux « arterio-luminaux » qui se jettent dans les sinusoides myocardiques). En 1946 Arthur Vineberg, chirurgien canadien profita de ce réseau vasculaire myocardique [14] pour créer un troisième tronc coronaire en tunnelisant à travers le myocarde une artère mammaire interne pédiculée, ligaturée à son extrémité distale. Les collatérales de l'artère se déversant directement dans les sinusoides, et ceci sans créer d'hématome, comme le ferait un vaisseau implanté dans un muscle squelettique. L'hypothèse de la persistance de ces

connexions fut plus tard confirmée par l'examen post-mortem de patients opérés ainsi que par les études coronarographiques effectuées dès 1962 par F. Mason Sones de la Cleveland Clinic [15] notamment sur deux patients opérés 5 et 6 ans plus tôt par Vineberg. La technique de Vineberg a été par la suite complétée par l'utilisation de pédicules comprenant en plus des veines, du muscle ou du fascia, ou encore de l'utilisation de l'artère splénique ou gastro-épiploïque [16], voir la réimplantation de l'auricule gauche[17].

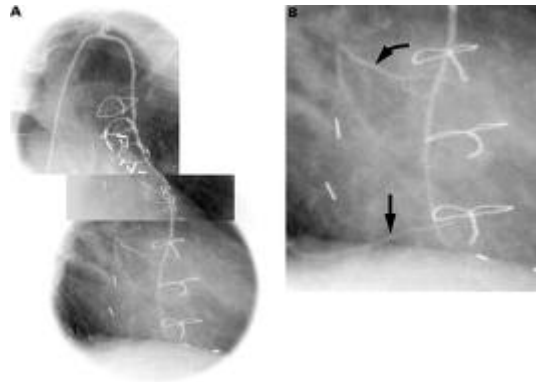


Figure 1: Angiographie de contrôle d'une opération de Vineberg

L'ère de la chirurgie de revascularisation coronarienne directe commença avec, en 1957, les premières endartériectomies coronariennes par Bailey [18]. En 1958, Longmire et al ont rapporté cinq patients opérés par cette technique, dont 4 survivants à l'hôpital [19]. Bien que l'opération ait été utilisée par d'autres groupes, la mortalité était élevée, et la procédure abandonnée comme opération isolée.

Le 2 mai 1960, au Van Etten Hospital à New York le docteur R. Goetz réalisa le premier pontage coronarien par anastomose directe de l'artère mammaire interne gauche sur l'artère inter-ventriculaire antérieure [20]. Il a opéré un homme de 38 ans très symptomatique en utilisant une technique sans suture pour relier l'artère mammaire interne droite à l'artère coronaire droite. Il lui a fallu 17 secondes pour joindre les deux artères à l'aide d'un tube de métal creux. La connexion artère mammaire interne - artère coronaire a été confirmée par l'angiographie réalisée au 14ème jour postopératoire. Le patient est resté asymptomatique environ un an, puis l'angine de poitrine est réapparue et le patient est décédé d'un infarctus du myocarde le 23 juin 1961. Goetz a été sévèrement critiqué par ses collègues médicaux et chirurgicaux pour cette procédure, qu'il avait effectuée avec succès

sur de nombreux animaux dans le laboratoire. Il n'a jamais tenté de nouvelle opération de pontage coronarien chez un humain.

La chirurgie coronarienne évolua vers la plastie coronarienne avec les premiers patches d'élargissement de l'artère coronaire droite par Senning en 1961 [21].

La coronarographie sélective a été développée par Sones et Shirey, à la Cleveland Clinic, et ils l'ont rapporté dans un article classique de 1962 : « cine coronary arteriography » [22]. Ils ont utilisé un cathéter pour injecter directement un produit de contraste dans l'ostia des artères coronaires. Cette technique a donné une impulsion majeure à la revascularisation directe des artères coronaires obstruées.

Dès 1952, Vladimir Demikhov, le chirurgien de renom soviétique, a anastomosé l'artère mammaire interne de l'artère coronaire gauche chez des chiens [23].

Le 23 novembre 1964, Garrett et De Bakey devait opérer un homme de 42 ans par endartériectomie du tronc coronaire gauche et patch veineux mais cette intervention a été abandonnée car jugée trop dangereuse. L'artère inter-ventriculaire antérieure était plus souple en aval de la bifurcation. Une greffe de veine saphène allant de l'aorte à l'IVA a donc été réalisée. Ce fut probablement le premier cas clinique de succès de pontage coronarien utilisant la veine saphène. Cependant, les auteurs, Garrett, Dennis, et DeBakey, n'ont pas signalé ce cas avant 1973. Le patient était encore vivant à cette date, et des angiographies ont montré la greffe veineuse perméable. [24].

Shumaker crédita Longmire d'avoir été le premier à réaliser l'anastomose des artères mammaires internes à des artères coronaires. Longmire qui a longtemps été président de l'UCLA, et son associé Jack Cannon, ont sûrement été les premiers à réaliser une anastomose entre l'artère mammaire interne et une branche coronarienne (probablement au début de 1958). Longmire a écrit: « *A cette époque, nous faisons la procédure d'endartériectomie des artères coronaires, nous aussi, je pensais effectuer les premières anastomoses de la mammaire interne-coronaire Nous avons été forcés quand l'artère coronaire que nous avions endartériectomisée s'est désintégrée, et en désespoir de cause, nous avons anastomosé l'artère mammaire interne à l'extrémité distale de l'artère coronaire droite. Par la suite nous avons décidé que c'était une bonne opération.* »

La référence que Shumaker donne pour cette citation de Longmire est une communication personnelle de 1992 [25].

En 1967 un chirurgien soviétique de Leningrad, Vladimir Kolessov, a rapporté ses expériences avec l'anastomose des artères mammaires avec les artères coronaires pour le traitement de l'angine de poitrine chez six patients [26]. Le premier patient dans cette série a été opéré en 1964. Les opérations ont été effectuées par une thoracotomie gauche sans circulation extracorporelle préopératoire ou une coronarographie. L'année suivante, Green et al [27] et Bailey et Hirose [28] rapportent séparément l'utilisation de l'artère mammaire interne pour la revascularisation coronaire chez les patients. Bailey et Hirose ont effectué l'anastomose sur le cœur battant et ont préconisé l'utilisation de loupes de grossissement. Green et al ont recommandé l'utilisation d'une circulation extracorporelle, une fibrillation du cœur, le clampage de l'aorte, et le lavage de tout le sang du système coronaire pendant l'exécution de l'anastomose.

René Favalaro de la Cleveland Clinic a utilisé la veine saphène pour contourner les coronaires obstruées [29]. L'article de Favalaro de 1968 porte sur 15 patients (d'une plus grande série de 180) ayant subi la procédure Vineberg. Parmi ces 15 patients présentant une occlusion de l'artère coronaire droite proximale, un greffon d'interposition de la veine saphène a été placé entre l'aorte ascendante et l'artère coronaire droite distale. La coronaire droite était sectionnée, et la greffe de veine était anastomosée de bout en bout. Favalaro dit que cette procédure a été faite en raison des résultats défavorables de la reconstruction de l'artère coronaire par patch périocardique. L'autre particularité développée par Favalaro a été d'adopter la revascularisation sous CEC comme support hémodynamique durant les anastomoses [30].

C'est peu après, en 1969, que furent tentées les premières revascularisations coronariennes multiples à l'aide des deux artères mammaires internes [31-33].

Le début officiel de la chirurgie de pontage coronarien telle que nous la connaissons aujourd'hui date de 1969. W. Dudley Johnson et ses collègues de Milwaukee ont signalé leur série de 301 patients ayant subi diverses opérations pour la maladie coronarienne depuis février 1967 [34]. Dans ce rapport, les auteurs ont présenté leurs résultats de la chirurgie coronarienne directe sur une période de 19 mois. Ils déclarent: « *Après élargissement des sténoses par des sutures directes de patch, la technique du*

pontage veineux a été utilisée exclusivement. Les premiers résultats ont été si encourageants que l'été dernier la technique greffe veineuse a été élargie et utilisée pour toutes les grosses branches. Les greffons veineux vers le côté gauche passent le long de l'aorte sur l'artère pulmonaire et vers le bas vers l'artère coronaire appropriée. Du côté droit les greffes courent le long du sillon auriculo-ventriculaire et rejoignent directement l'aorte. Le potentiel est presque sans limite des artères coronaires à revasculariser. Les veines peuvent être suturées à la partie antérieure, distale ou même en postérieur sur des branches marginales. Les pontages veineux double sont maintenant utilisées dans plus de 40 pour cent des patients et peuvent être utilisées pour n'importe quelle combinaison des artères ».

L'anastomose directe entre l'artère mammaire interne et l'artère coronaire n'a pas été initialement aussi populaire que la technique de greffe de veine. Mais en raison de la tenacité des Drs. Green, Loop, Grondin, et de bien d'autres, les greffes d'artères mammaires internes devinrent finalement le procédé de choix quand leur perméabilité supérieure à long terme a été reconnue [35, 36].

Depuis, les techniques n'ont plus beaucoup évolué, les techniques d'endartériectomies et de patching des artères coronaires ont été abandonnées au profit des pontages alors même que les indications chirurgicales diminuaient avec l'avènement de l'angioplastie coronarienne endoluminale.

1.3 HISTOIRE DE LA CHIRURGIE CORONARIENNE A CŒUR BATTANT

Bien que ce soit Goetz [20] qui utilisa pour la première fois l'artère mammaire interne comme conduit de revascularisation, c'est Kolesov qui, le premier, avec Potashov en 1964, initia la procédure à cœur battant [26] par thoracotomie gauche. Ce chirurgien pratiqua sur 12 ans (entre 1964 et 1976) 130 interventions de ce type avec un suivi angiographique dans plus de 80 % des cas. Il put ainsi prouver l'efficacité de cette technique non seulement pour l'angor stable mais aussi pour l'angor instable et l'infarctus aigu. C'est dans les années 1970 que Benetti, chirurgien argentin, décida de promouvoir et de développer cette technique. Sa motivation première était initialement purement économique : procéder à une revascularisation sans avoir recours à la très coûteuse CEC. Rapidement, il développa une expérience importante dans la pratique de cette technique [37, 38]. On retrouve, dans sa série, un taux de plus de 80 % de cœurs battants sur la totalité des procédures de revascularisations, avec un taux moyen de 3,1 pontages par patient. Ce chirurgien avait certainement la plus grande expérience en ce domaine en rapportant plus de 1 420 interventions à cœur battant à son nom. Sa description de l'accès de la circonflexe reste toutefois assez discrète.

Favaloro développait la chirurgie coronarienne sous CEC, alors que d'autres préféreraient poursuivre la chirurgie coronarienne de revascularisation à cœur battant pour éviter les effets secondaires liés à la CEC ou pour des considérations économiques [38, 39].

La chirurgie à cœur battant se limitait à la revascularisation d'une ou deux artères coronaires malades, en raison de l'absence de stabilisateurs et des problèmes hémodynamiques liés à l'exposition des parties postérieures du cœur. Pour limiter ces problèmes hémodynamiques Trapp et al en 1975 proposaient l'utilisation d'un shunt artériel entre l'aorte ascendante et la partie distale de l'artère coronaire au travers de l'anastomose [40]. Soixante trois patients ont été opérés avec cette technique sans CEC avec seulement un décès (AVC).

Le développement de stabilisateurs a permis d'améliorer la qualité des anastomoses, et d'accéder à des territoires non pontables sans ceux-ci. En 1973 à l'Institut

de Cardiologie de Montréal, Pierre Grondin développa son propre stabilisateur, qui permet aussi de contrôler le saignement de la partie distale de l'artère coronaire [41]. D'autres chirurgiens proposeront également leur propre stabilisateur ou dispositif d'aide à la chirurgie coronarienne à cœur battant [42, 43].

Le développement commercial des premiers stabilisateurs mécaniques a eu lieu avec le développement de la chirurgie minimalement invasive (MIDCAB), permettant l'accès au territoire difficile de l'artère circonflexe [44-46]. L'évolution du cœur battant a donc été, dès ses débuts, corrélée à celle de la chirurgie minimalement invasive. Elles ont été fidèles toutes les deux au même concept : une chirurgie moins agressive, moins invasive mais tout aussi efficace. Durant la dernière décennie, nombre de chirurgiens développèrent ainsi une expérience clinique extensive sur le cœur battant comme le confirme la série de Borst [47]. Bien que l'auteur affiche un nombre de cas cumulés impressionnants (3 000), on ne retrouvait dans cette série qu'un faible nombre de triples revascularisations (13 %) et une moyenne de 1,4 greffon par patient. Très vite, les indications du cœur battant ont dépassé les recommandations imposées par la plupart des auteurs (chirurgie minimalement invasive et atteintes monotronculaires) pour s'étendre à la maladie classique des trois vaisseaux. C'est le cas notamment de Raymond Cartier chirurgien à l'Institut Cardiologique de Montréal qui a débuté son expérience en 1996, élargissant ses indications seulement après ses 50 premiers patients. Il réalisait ainsi 98% de ces revascularisations à cœur battant, avec un suivi à long terme [48]. D'autres équipes ont choisi aussi la réalisation de la chirurgie à cœur battant, afin d'éviter la CEC [49].

A la fin des années 90 et au début des années 2000, la chirurgie a connu un essor en partie dû à la chirurgie MIDCAB et au développement d'instruments de stabilisations efficaces. La fin des années 2000 a vu décliner cette chirurgie. Dans le livret rouge de la Société française de chirurgie cardiaque de 2010, le taux de pontages à cœur battant était d'environ 7.9%, contre 15% en 2007. Ce désintérêt des chirurgiens vis-à-vis de cette technique fiable entre des mains expérimentées est multifactoriel mais un des facteurs est l'absence de contrôle du saignement. En effet l'utilisation des élastiques ou des shunts intra-coronaires peuvent gêner la bonne réalisation de l'anastomose, gage d'une perméabilité précoce et à long terme.

L'objectif de ce travail a été d'étudier l'utilisation d'un nouveau concept de chirurgie des petites artères notamment coronariennes : « clampless surgery » : chirurgie

sans clamage. Ceci a été possible grâce au développement par la compagnie Pluromed (Woburn, MA, USA), d'un gel thermosensible, LeGoo® qui sera étudié dans ce travail.

Chirurgie coronarienne à cœur battant

2. CHIRURGIE CORONARIENNE A CŒUR BATTANT

2.1 EFFETS ET INTERETS

2.1.1 Inflammation

La chirurgie cardiaque sous CEC active une réponse inflammatoire systémique appelée SIRS, elle-même activée par 3 mécanismes : le contact du sang avec les surfaces artificielles du circuit de la CEC, l'ischémie-reperfusion myocardique qui fait suite à l'arrêt cardiaque [50, 51] et l'endotoxémie secondaire à la translocation d'endotoxine [52]. Différents éléments comme le complément, la cascade de coagulation, la fibrinolyse, la kallikréine, les neutrophiles, les plaquettes et des cellules endothéliales contribuent au SIRS. Ils sont activés par des voies humorales et cellulaires. Le SIRS est caractérisé par la perméabilité accrue des capillaires, avec une accumulation interstitielle de liquide et une malperfusion des organes cibles au niveau capillaire [53]. Dans sa forme la plus extrême, cela peut conduire à un dysfonctionnement d'organes [51], caractérisé par des anomalies de coagulation, et une morbidité cérébrale [54], rénale, myocardique [55] et respiratoire [56].

L'inflammation peut être liée à « l'agression chirurgicale », mais elle est essentiellement liée à la CEC. Supprimer la CEC devrait diminuer ces effets sans les supprimer. De nombreuses études ont montré que la chirurgie à CB peut diminuer la réaction inflammatoire généralement produite par l'utilisation de la CEC [57].

Une étude menée par Wan et al [58] chez 44 patients consécutifs ayant bénéficié d'opérations avec ou sans CEC, a permis de constater que les libérations d'interleukine (IL) -8 et IL-10 était significativement plus faibles dans le groupe à CB. Matata et al [59] ont montré une augmentation significative des lipides hydroperoxydes, des carbonyles protéiques, et de nitrotyrosine (marqueurs du stress oxydatif) dans le groupe sous CEC, mais pas dans le groupe cœur battant. Les niveaux de C3a et élastase ont augmenté rapidement après l'institution de la CEC, et cela a été suivi par des augmentations de l'IL-8, TNF- α , et E-sélectine, alors que l'augmentation de ces marqueurs a été minime dans le groupe cœur battant. D'autres études ont comparé la réponse inflammatoire associée au CB avec celle associée aux pontages coronariens conventionnels

sous CEC. Elles ont démontré une réduction du degré d'activation de marqueurs de l'inflammation, dont l'IL-6, IL-8, du facteur de nécrose tumorale (TNF)-a, C3a et C5a [60] et PMN élastase [61]. Ces données sont confirmées par une étude prospective randomisée comparant l'inflammation entre les deux techniques [62], mais sans différence de mortalité immédiate et à un an.

Au regard de ces études, l'absence d'utilisation de CEC diminue la réponse inflammatoire globale, essentiellement en réduisant le stress oxydatif et en atténuant l'activation du complément, des leucocytes, et des plaquettes. Ceci aurait un impact positif sur les suites post-opératoires en réduisant les durées de séjours et en minimisant les saignements et donc les transfusions post opératoires, ainsi que l'incidence des infections.

2.1.2 Effets sur le myocarde

Les taux de Troponine post-opératoire ont une influence sur la survie à moyen terme qui est discutée dans la littérature. Dans une série de chirurgie à CB, Paparella et al retrouvaient que la survie est diminuée à partir d'un certain seuil de Troponine post-opératoire [63]. Ces données sont confirmées par Brown et al dans leur étude comparant les deux techniques [64].

De nombreuses études ont mis en évidence la diminution des taux de myoglobine, de CK-MB, de Troponine I et de CRP en post-opératoire dans la chirurgie à CB par rapport à la chirurgie CA-CEC [62, 65-67]. Ces données sont confirmées par une analyse de la littérature réalisée par Domanski et al dans JAMA, sur le pic à 24 heures d'enzyme myocardique dans la chirurgie coronarienne [68]. Cette analyse démontrait que la mortalité était proportionnelle à l'élévation du taux de CK-MB et de Troponine post-opératoires.

D'autres études comparant la chirurgie à CB et à CA-CEC, retrouvaient un taux de Troponine post-opératoire plus faible, mais sans modification de la mortalité précoce [69] et à un an [62].

Ce taux plus faible est corrélé avec une meilleure fonction ventriculaire gauche post-opératoire, comme l'ont démontré Selevanayagam et al [70], dans une étude randomisée en IRM, mais sans montrer de différence sur les zones d'infarctus réversibles et irréversibles qui étaient identiques dans les deux groupes.

2.1.3 Complications cérébrales

La morbidité neurologique après une chirurgie coronarienne varie de 1 à 8% [71]. Bien que les accidents cérébraux surviennent aussi après des procédures chirurgicales majeures non cardiaques [72], ils sont plus fréquents et graves après des opérations sous CEC, et probablement liés aux effets potentiellement délétères de la CEC [71]. Les lésions cérébrales peuvent être classées par ordre décroissant de gravité : les AVC, les désorientations et les troubles neuro-cognitifs (perte de mémoire par exemple) [73, 74]. L'incidence en est inversement croissante.

Plusieurs facteurs de risques pré-opératoires sont associés à une augmentation du risque d'accidents neurologiques post-opératoires comme l'âge, le diabète, la maladie athéromateuse diffuse et les antécédents de maladies neurologiques. L'origine des atteintes cérébrales post-opératoires est complexe et multifactorielle. Les principaux mécanismes physiopathologiques comprennent la réponse inflammatoire systémique (en partie liée à la CEC), l'embolisation cérébrale (trouble du rythme péri-opératoire, manipulation de l'aorte) et l'hypoperfusion cérébrale liée à la CEC et les bas débits possibles. De tous les mécanismes physiopathologiques, le plus important est lié à la CEC et aux micro-embolisations cérébrales [75, 76].

Plusieurs grandes études observationnelles ont rapporté des résultats neurologiques favorables avec le CB. Dans le rapport de la base de données de la Society of Thoracic Surgeons (STS), qui comparait la chirurgie à CB (11717 patients) et la chirurgie coronarienne CA-CEC (106423 patients), le risque d'AVC était 0,6 fois inférieur pour la chirurgie à CB [77]. Dans une étude de près de 68 000 patients, Racz et al ont rapporté une réduction du taux d'accident vasculaire cérébral péri-opératoire de 2% dans le groupe avec CEC, comparé à 1,6% dans le groupe sans CEC [78]. De même, dans une analyse de plus de 17 000 patients Mack faisait état d'une réduction des AVC de 2,1% avec CEC, à 1,4% sans CEC [79]. Par ailleurs, dans une méta-analyse par Sedrakyan et al, il y avait une réduction apparente de 50% du risque relatif d'accident vasculaire cérébral dans les pontages coronariens sans CEC [80].

Un des facteurs pouvant expliquer cette diminution d'événements neurologiques au cours de la chirurgie à CB est la diminution de la manipulation de l'aorte ascendante. Dans une étude réalisée par Calafiore et al, les patients ont été divisés en deux groupes : le premier a bénéficié de pontages coronariens classiques utilisant la CEC avec ou sans clampage aortique secondaire, et le second a subi des PC sans CEC avec ou sans

clampage latéral de l'aorte. Le taux d'accident vasculaire cérébral postopératoire dans le groupe avec CEC avec et sans clampage aortique était respectivement de 2,3% et 1,2%. Dans le groupe sans CEC, le taux d'AVC était de 0,2% (groupe sans aucune manipulation aortique) comparativement à 1,1% pour l'utilisation du clampage latéral [81]. Cette étude permettait de démontrer l'importance de limiter les manipulations de l'aorte.

Ces données sont retrouvées dans la littérature récente [82-86]. Cette limitation voire l'absence complète de manipulation de l'aorte ascendante, « no touch Aortic », en privilégiant la revascularisation « toute artérielle », a un impact sur la réduction des micro-embolisations liées à la CEC [87-89].

Les troubles neurologiques les plus fréquents sont les troubles cognitifs. Selon le type d'analyses, les troubles cognitifs peuvent représenter 50% des patients opérés pour des pontages coronariens [90]. Le groupe de Leipzig a étudié une cohorte de 16 000 patients ayant bénéficié des PC avec et sans CEC ainsi que des interventions à cœur ouvert sur une période de 5 ans [91]. L'incidence de la désorientation post-opératoire était de 8% chez les patients bénéficiant de PC conventionnels avec CEC, contre 2% dans le groupe CB. Cette étude identifiait de nombreux facteurs prédictifs pré et per-opératoires des troubles neurologiques postopératoires : les maladies cérébrovasculaires pré-existantes, la maladie vasculaire périphérique, la fibrillation auriculaire, le diabète, l'altération de la fonction ventriculaire gauche, une opération en urgence, l'hémofiltration per-opératoire, une opération prolongée, et la nécessité de transfusion. Alors que l'âge est un facteur de prédisposition aux AVC, la CB diminuerait leur risque chez les personnes âgées [92, 93]

Toutefois certaines études ne montraient pas de différence significative entre les deux techniques. Taggart et al, dans une étude prospective évaluant les troubles cognitifs, trouvaient des taux similaires entre les deux groupes [94]. Ces mêmes observations ont été faites par Van Dijk et ses collègues, où des troubles cognitifs étaient observés chez 21% des patients dans le groupe sans CEC et 29% des patients dans le groupe avec CEC (risque relatif, 0,65; intervalle de confiance 95%, 0,36 à 1,16, $p = 0,15$) [95]. Ces études sont toutefois limitées par leur faible échantillon, limitant alors la puissance des statistiques pour détecter une différence significative, et par leur observation de population relativement jeunes, donc à moindre risque de troubles cognitifs.

De nombreuses études objectivaient une différence notable des troubles neuro-cognitifs en post-opératoire immédiat, à 3 mois et 6 mois [84, 96, 97]. Par contre ce bénéfice précoce semble s'estomper lors du suivi à long terme, à 3 ans [98] et à cinq ans dans l'étude de Van Dijk et al [47].

2.1.4 Insuffisance rénale

L'insuffisance rénale (IR) post-opératoire est une complication sérieuse et fréquente en chirurgie cardiaque. Selon les critères retenus comme définition de l'altération de la fonction rénale, l'incidence est de 1 à 5% [99]. L'insuffisance rénale post-opératoire est généralement transitoire, mais dans certains cas elle peut être définitive. Elle augmente la morbidité, la durée d'hospitalisation et la mortalité, surtout si la dialyse est requise [99-102].

De nombreux facteurs pré-opératoires sont aussi identifiés comme prédisposant à une IR post-opératoire. Il s'agit de l'IR chronique pré-opératoire [103, 104], du diabète, de l'âge élevé, de l'obésité, de la maladie vasculaire périphérique, de l'hypertension pulmonaire [105, 106]. L'IR post-opératoire est probablement multifactorielle: réaction inflammatoire, présence de néphrotoxines endogènes et exogènes [107], hypoperfusion rénale péri-opératoire, hypothermie, flux continu de la CEC, hémodilution [108], micro-embolies [109-113]. Toutefois l'utilisation de la CEC est un facteur indépendant de risque d'IR [105, 114] surtout si elle est prolongée [106].

Cependant, les preuves réelles d'une réduction des lésions rénales postopératoires dans la chirurgie à CB sont contradictoires.

Plusieurs études, comme celle randomisée d'Ascione et al [115], ont démontré un effet significatif réno-protecteur du CB, tandis que Tang et al n'ont démontré aucune différence significative en dépit d'une tendance en faveur du CB [110]. D'autres n'objectaient pas d'avantage du CB sur l'influence des dysfonctions rénales post-opératoires chez les patients à faible risque [116-119]. A noter qu'aucune de ces études n'était une étude prévue pour comparer en prospectif randomisé l'impact rénal de la revascularisation coronarienne avec et sans CEC. Il s'agissait d'études consécutives ou rétrospectives. Une seule étude randomisée, réalisée par Puskas et al., ne mettait pas en évidence de différence sur la dysfonction rénale post opératoire, dans une population non sélectionnée de 200 patients, alors que dans cette même étude le CB avait une influence sur les effets myocardiques, les transfusions, et la durée d'hospitalisation [109].

Par ailleurs ces études étudiaient les patients à faible risque, c'est à dire sans facteur de risques majeurs ou non porteurs d'insuffisance rénale pré-existante.

Dans une étude de plus de 1400 patients, présentant une altération allant de faible à modérée de leur fonction rénale, Weerasinghe et al ont montré le potentiel bénéfique de la chirurgie à CB versus CA-CEC en réduisant le risque d'aggravation post-opératoire de

l'insuffisance rénale [120]. Ces données ont été confirmées dans une étude plus récente d'analyse en score de propension sur plus de 2000 patients par la même équipe [121]. Dans une méta-analyse récente, Seabra et al ont montré une diminution de 40% de l'IR post-opératoire, sans diminution de la nécessité de dialyse ou de la mortalité [122].

Plusieurs grandes études observationnelles qui comprenaient des patients à haut risque ont signalé une réduction significative de la fréquence de l'insuffisance rénale chez les patients opérés à CB [105, 113, 114, 123-125]. Ceci est cohérent avec les résultats de la méta-analyse de Reston et al [126]. Di Mauro et al ont étudié l'IR post opératoire chez plus de 2600 patients bénéficiant de PC. Parmi eux, 160 patients avaient une insuffisance rénale pré-opératoire. Chez les patients avec une fonction rénale pré-opératoire normale, l'insuffisance rénale aiguë était survenue chez 2,9% dans le groupe CB et 7,9% dans le groupe CEC ($p < 0,001$). Dans le groupe ayant une fonction rénale anormale, aucune différence significative n'a été démontrée entre le groupe CA-CEC et le groupe CB (16% vs 13%, $p = 0,5$) [127].

Par ailleurs les patients âgés sont souvent considérés à plus haut risque opératoire et donc avec plus de risque de développer une IR. Dans une analyse d'études non randomisées, Panesar et al n'ont pas retrouvé de différence significative pour l'IR en post opératoire pour les patients âgés [128].

Afin d'éviter les risques d'IR post-opératoire il est nécessaire de réaliser une prévention [129, 130], de stratifier les patients à risques par des scores spécifiques [106], d'évaluer mieux la fonction rénale pré-opératoire, et d'utiliser la chirurgie à CB, surtout pour les patients à haut risque ou avec une fonction rénale pré-opératoire altérée. Il reste à définir les niveaux d'insuffisance rénale pré-opératoire.

Enfin une définition identique de l'IR post-opératoire devrait pouvoir s'appliquer pour uniformiser les études [131], puisque certains auteurs utilisent l'élévation de la créatininémie, à des seuils variables, ou une diminution de la fonction glomérulaire, voire pour certains la diurèse post-opératoire.

2.1.5 Fibrillation auriculaire

La fibrillation auriculaire (FA) reste l'une des complications les plus courantes après les PC et affecte 20-40% des patients en post-opératoire. Elle a des

conséquences importantes puisqu'elle peut être responsable d'AVC permanent et nécessite un traitement anticoagulant à plus ou moins long terme avec les risques encourus de cette thérapeutique. Tout traitement pré, per, ou post-opératoire permettant de diminuer cette incidence aurait un effet bénéfique et économique important.

L'effet sur la survenue de FA de la chirurgie à CB reste très controversé dans la littérature.

Quelques études mentionnaient une diminution de l'incidence de la FA avec le CB. Ascione et al ont rapporté une réduction significative du taux de la FA dans un essai contrôlé randomisé sur 200 patients (39% avec CEC vs 8% CB) [132].

Dans une méta-analyse par Athanasiou et al, ils retrouvaient une réduction significative de la FA post-opératoire chez les patients âgés, opérés à CB par rapport à ceux ayant une chirurgie avec CEC [133]. Les mêmes auteurs dans une méta-analyse d'étude randomisée sur des populations plus jeunes (<70 ans) retrouvaient une diminution de l'incidence de la FA, mais cette différence disparaissait après sélection des études de bonnes qualités [134]. Plus tard, une méta-analyse d'étude rétrospective par Panesar et al objectivait un bénéfice de la chirurgie à CB pour les patients âgés sur la survenue de FA post-opératoire (OR 0.77, 95% CI 0.61 to 0.97) [128].

A l'inverse des précédentes études citées, d'autres études souvent avec de petits échantillons, rétrospectives ne montraient pas de différence entre les deux techniques sur la survenue de FA post – opératoire [135-139].

De nombreux auteurs (Ascione, Athansiou, Marasco) concluaient que pour pouvoir connaître l'influence du CB sur la survenue d'une FA post-opératoire, il serait nécessaire de réaliser une étude randomisée sur un grand nombre de patients.

2.1.6 Transfusion

Les résultats de la chirurgie à CB sont discutés sur plusieurs points de vue. En ce qui concerne le saignement et la nécessité de transfusion en post opératoire, la plupart des études s'accorde à dire qu'il y a des taux plus faibles en faveur du CB.

En plus des autres avantages démontrés (moins de complications post-opératoires : AVC, insuffisance rénale, fibrillation opératoire), la chirurgie à CB permet de réduire de manière significative les saignements post-opératoires [140, 141], et les transfusions de concentrés globulaires [109, 142-145]. On retrouve ces données dans des études d'analyse de cas

consécutifs [143, 145], des études randomisées [109] voire des méta-analyses [142] ou des revues de la littérature [141].

Pour les patients à haut risques la gestion péri-opératoire optimisée permet de limiter les complications post-opératoires. La diminution du saignement, des transfusions post-opératoires et un taux d'hémoglobine post-opératoire plus élevé ont permis d'obtenir une meilleure récupération en limitant les complications post-opératoires. Toutefois la mortalité hospitalière n'était pas diminuée, comme Oo et al l'ont démontrée [145].

Cette diminution du saignement post-opératoire se confirme même quand l'héparine n'est pas antagonisée. Dans une étude sur 200 patients, Nuttal et al ont comparé le saignement post-opératoire entre 100 patients opérés de PC à CA-CEC en antagonisant l'héparine par du sulfate de protamine, et 100 patients opérés à CB sans antagoniser l'héparine. Les saignements durant les 4 premières heures étaient significativement moindres dans le groupe CB, avec une nécessité d'augmenter le nombre de transfusions durant et après l'intervention dans le groupe CA-CEC [146].

Même des études dont les conclusions n'étaient pas favorables au CB en termes de mortalité retrouvaient des pertes sanguines post-opératoires plus faibles et des taux de transfusions inférieurs [147, 148].

Les causes de la diminution des pertes sanguines et de la nécessité de transfusion en post-opératoire sont multiples. Tout d'abord la dose d'héparine per-opératoire est plus faible qu'en cas d'utilisation de CEC, en général de 150 UI/kg au lieu des 300 UI/kg au cours des CEC, pour obtenir un ACT entre 300 et 400 sec au lieu des plus de 400 sec requises en cas de CEC [149]. Le CB entraîne moins de phénomène inflammatoire et moins d'activation de la coagulation, avec des fonctions plaquettaires conservées, une plus faible activation de la fibrinolyse, limitant ainsi les risques de saignement post-opératoire [150]. Dans une analyse multi-variée Puskas et al ont montré que la CEC est un facteur indépendant de transfusion [109]. En plus de l'action directe de la CEC sur les cellules sanguines, l'autre facteur lié à l'utilisation de la CEC est l'hémodilution. Elle entraîne un taux d'hématocrite plus bas et une augmentation des transfusions [140]. Un taux d'hématocrite plus haut permet d'avoir recours à des auto-transfusions, limitant ainsi l'utilisation de sang allogénique [151].

Enfin, l'utilisation du cell-saver est plus courante pour le CB, et permet de maintenir un taux d'hémoglobine plus haut et de limiter les transfusions post-opératoires [144, 151].

2.1.7 Perméabilité des pontages

La qualité des anastomoses (et donc la perméabilité des greffons) et le taux de revascularisation sont deux des principales critiques contre le CB, avec des taux inférieurs de perméabilité pour certains auteurs [148, 152-154]. Dans une étude randomisée, Khan et al ont rapporté des taux de perméabilité à 3 mois inférieurs dans le groupe CB versus CA-CEC (88% vs 98%) [153]. Cela peut être expliqué par le fait que les deux chirurgiens de l'essai ont inclus les patients au début de leur expérience en CB et effectuaient seulement 13% de leur revascularisation en CB. De plus l'effectif des patients est faible puisque l'étude portait sur 50 CB et 54 revascularisations conventionnelles sous CEC. Sur une étude randomisée (ROOBY) avec un large effectif, Shroyer et al confirmaient pourtant les données du précédent auteur avec un taux plus faible de perméabilité à 1 an dans le groupe CB. Il s'agissait d'une étude multicentrique mais il n'était demandé qu'une expérience d'au moins 20 malades opérés à cœur battant pour que les chirurgiens puissent inclure des malades, et environ 60% des malades étaient opérés par des internes ; or, comme nous le verrons plus loin, on considère que la courbe d'apprentissage à cœur battant est d'au moins 50 à 100 malades. Une autre conclusion de cette étude était un plus faible taux de revascularisation entre les deux groupes (2.9 +/- 0.9 CB, vs 3.0 +/- 1.0 CA-CEC, p=0.002). Compte tenu de la faible expérience des opérateurs, il est difficile de conclure que le CB ne permet pas de réaliser une revascularisation complète. Une grande expérience de l'opérateur est requise pour réaliser des revascularisations complètes notamment sur les faces latérales du cœur.

En plus de l'essai par Khan et ses collègues, deux méta-analyses ont rapporté des taux de perméabilité inférieure avec le CB [152, 154]. Il s'agissait soit d'études rétrospectives avec un large effectif, soit d'études prospectives randomisées mais avec des faibles effectifs. Dans une revue de la littérature récente, Huffmyer et al démontraient que la chirurgie à CB présentait moins de complications post-opératoires mais avec des taux de revascularisation plus faibles et une moins bonne perméabilité des greffons [147].

A l'inverse, Sousa et al dans une petite étude randomisée, ne montraient pas de différence en termes de complications post-opératoires et un taux de perméabilité identique [155].

A côté de ces critiques on retrouve dans la littérature des données d'essais randomisés contrôlés avec des taux de perméabilité équivalents entre le CB et à CA-CEC [96, 156-160]. Puskas et ses collègues ont rapporté un taux de perméabilité de 93,6% en

CB comparé à 95,8% d'une revascularisation conventionnelle au suivi à 1 an. Cependant, la différence n'était pas statistiquement significative [156]. Le même auteur a confirmé ses données dans un article récent sur 200 patients non sélectionnés [161].

De même, Lingaas et al ont mené un essai randomisé sur 120 patients avec un suivi angiographique à 1 mois et 12 mois. La perméabilité des greffons au contrôle angiographique était identique entre les deux groupes [159].

On retrouve les mêmes données dans l'étude randomisée de Widimsky et al sur 400 patients, mais uniquement 255 patients ont eu un contrôle angiographique à un an [162]. Toutefois la perméabilité des artères était identique, alors que la perméabilité des veines était inférieure dans le groupe CB.

Dans une étude de perméabilité des veines au cours de la revascularisation coronarienne, Magee et al retrouvaient la même perméabilité à un an, avec un taux de thrombose de 25 % [163].

Les contrôles angiographiques étant difficiles à réaliser sur des grandes séries, un critère indirect de perméabilité est la nécessité d'une nouvelle revascularisation. En utilisant la base de New York sur une période de 3 ans, Hannan et al ont rapporté l'absence de revascularisation dans 89,9% avec le CB vs 93,6% avec la CEC ($P < 0,0001$) [164]. En outre, dans le groupe CB la chirurgie a été associée à une baisse de la mortalité hospitalière et du risque d'AVC.

Afin d'éviter les contrôles angiographiques, l'utilisation des scanners à haute résolution permet d'étudier la perméabilité des pontages avec des examinateurs entraînés. Cet examen de contrôle a été utilisé dans deux articles récents qui retrouvaient des taux de perméabilité identiques entre les deux techniques de revascularisation [165].

Dans une méta-analyse publiée, Moller et al n'ont pas retrouvé d'augmentation de nouvelle revascularisation avec le CB, mais les effectifs des études étaient relativement faibles [166]. Les mêmes auteurs, dans leur propre série sur un petit nombre de patients avec plus de trois pontages, retrouvaient le même taux de perméabilité entre les deux groupes CB versus CA-CEC [167].

Au Japon Kobayashi et al ont montré l'exhaustivité similaire de revascularisation et de perméabilité des greffons dans un essai randomisé de près de 170 patients [158].

L'étude de la perméabilité des greffons en fonction de la technique chirurgicale (CB versus CA-CEC) reste un débat très controversé. La nécessité de réaliser ces contrôles par une angiographie posait beaucoup de problèmes sur des séries avec des

effectifs importants. L'utilisation des scanners à haute résolution devrait améliorer l'analyse des perméabilités des pontages, et devrait permettre de répondre à cette question sur des séries à fort effectifs, en limitant la perte des effectifs dans le suivi.

La perméabilité des pontages peut être améliorée par la sélection rigoureuse des patients, ainsi que par l'augmentation des compétences et de l'expérience du chirurgien opérant. Une technique chirurgicale rigoureuse est importante, et l'utilisation d'un contrôle du flux des greffons per-opératoire, devrait permettre de détecter des dysfonctionnements précoces des greffons et ainsi permettre d'améliorer la perméabilité des greffons. Selon Kim et al l'utilisation per-opératoire de la mesure du flux dans les greffons permettrait la révision de 2.2 % des pontages, et améliorerait la perméabilité des pontages [168].

Cependant, il peut aussi y avoir une véritable augmentation du taux de dysfonctionnement des greffons en CB par rapport à la chirurgie conventionnelle sous CEC en raison de l'absence d'effet antiplaquettaire dû à la CEC.

2.1.8 Mortalité

L'analyse de la mortalité hospitalière est relativement difficile et aléatoire, car généralement faible (inférieure à 2% dans les groupes à bas risque) (Euroscore additif <2). Par ailleurs les études randomisées comportent des effectifs relativement faibles, de 20 à 100 patients pour les plus grosses études, voire 200 pour l'étude PRAGUE [162, 169]. On obtient donc un nombre d'événements faibles par étude et il devient difficile de tirer des conclusions directement des études. Le seul moyen d'en établir est de réaliser des méta-analyses afin d'obtenir des effectifs suffisamment importants compte tenu du faible nombre d'événements par étude. A l'inverse ces analyses vont induire un biais puisque les objectifs et le concept des différentes études sont différents. Les essais randomisés vont sélectionner les patients, et en général étudient des patients avec un faible risque opératoire. A l'inverse les études observationnelles vont inclure tous les patients, même ceux à haut risque. Cependant elles peuvent éliminer les patients pour lesquels le chirurgien jugera que les artères ne sont pas favorables à une intervention en CB (IVA intra-myocardique, artères coronaires occluses, ou de petit calibre comme chez les femmes ou les diabétiques).

Dans leur méta-analyse Moller et al, ont identifié 57 essais randomisés pour un total de 5202 patients (figure 2). Cinquante décès pour 2619 patients (1.9%) ont été

dénombrés dans le groupe CB et 57 décès pour 2583 patients (2.2%) dans le groupe CA-CEC [166]. Selon ces données le risque relatif est de 0.98 ; 95% IC 0.66-1.44 (figure 2). Toutefois sur ces 57 essais, 36 avaient une mortalité de 0 patient. En fonction de ces résultats un calcul statistique pour obtenir une diminution du risque relatif de 5% nécessiterait l'inclusion de 242 657 patients. Les patients de cette analyse ne représentent que 2% environ des patients nécessaires.

Plus récemment dans une méta-analyse de score de propension, Kuss et al ont travaillé sur 35 études en score de propension pour un total de 123 137 patients [142]. Ils ont obtenu des résultats significatifs en faveur du CB concernant les AVC, l'insuffisance rénale, les transfusions, les infections de paroi, la ventilation prolongée, l'utilisation d'amine et de la CPBIA. En ce qui concerne la mortalité elle était inférieure dans le groupe CB : odds ratio, 0.69 ; 95% IC, 0.6-0.75.

Auparavant, Wijeysondera et al avaient réalisé une méta-analyse en différenciant les essais randomisés et les études observationnelles [170]. En ce qui concerne la mortalité à 30 jours il n'y avait pas de différence pour les études randomisées (3254 patients), alors qu'il en existait en faveur de la chirurgie à CB en analysant les études observationnelles (268547 patients). Selon les auteurs, l'explication viendrait du fait que : 1/ dans les études observationnelles l'effectif était plus large, 2/ dans les études randomisées les patients étaient choisis avec un plus faible risque opératoire, 3/ un autre biais viendrait des patients qui étaient convertis durant la procédure de chirurgie à CB à CA-CEC. Il est reconnu que ces patients aient une mortalité opératoire plus élevée [171]. Ces patients qui décèdent sous CEC vont alors être comptabilisés dans les groupes CA-CEC.

Pour connaître l'impact sur la mortalité des patients à haut risque, Puskas et al ont analysé à partir de la base de données de la STS [172]. Cette analyse portait sur 10 ans, et a inclue 7083 patients dans le groupe CB et 7683 dans le groupe CA-CEC. Pour les patients à faible risque opératoire il n'y avait pas de différence significative en termes de mortalité hospitalière. Par contre chez les patients à haut risque il y avait une diminution significative du risque de mortalité avec le CB. Une analyse en régression logistique confirmait l'interaction entre le CB et les hauts risques, calculée par le PROM (Predicted Risk of Mortality).

La littérature concernant la survie à plus long terme est moins étoffée. Dans un suivi à long terme de 1000 patients opérés par un seul chirurgien (RC), El Hamamsy et al établissaient une survie globale à 96 mois de 74 %, alors que la mortalité hospitalière

était de 1.6% [48]. La survie cardiaque était de 94%, indiquant une mortalité extra cardiaque importante. Une analyse en régression de Cox a permis d'identifier l'âge, la maladie vasculaire périphérique, l'insuffisance cardiaque, l'insuffisance rénale, et des antécédents d'infarctus du myocarde comme facteurs prédictifs de mortalité à long terme. Le bénéfice à long terme sur la mortalité ne se retrouvait pas, même dans les études dont la mortalité hospitalière était plus faible pour les groupes opérés en CB [173, 174]. Angelini et al ont analysé deux études randomisées de suivi à long terme [165]. Ils ne retrouvaient pas de différence ni en terme de mortalité ni pour les évènements cardiaques majeurs. Puskas et al confirmaient ces données sur sa propre série de patients randomisés [161]. Il n'y avait pas de différence de mortalité entre les deux groupes. Deux études publiées récemment retrouvaient une mortalité à long terme plus importante dans les groupes CB [175, 176]. Ceci pourrait s'expliquer par une moins bonne revascularisation en raison, notamment dans l'étude de Filardo et al, de l'inclusion de la courbe d'apprentissage dans les patients suivis à 10 ans.

Au vu de la littérature complexe en l'absence d'un grand essai randomisé pour répondre à la question de la mortalité, il semble que le CB diminuerait la mortalité hospitalière surtout chez les patients à hauts risques, mais ce bénéfice disparaîtrait à plus long terme.

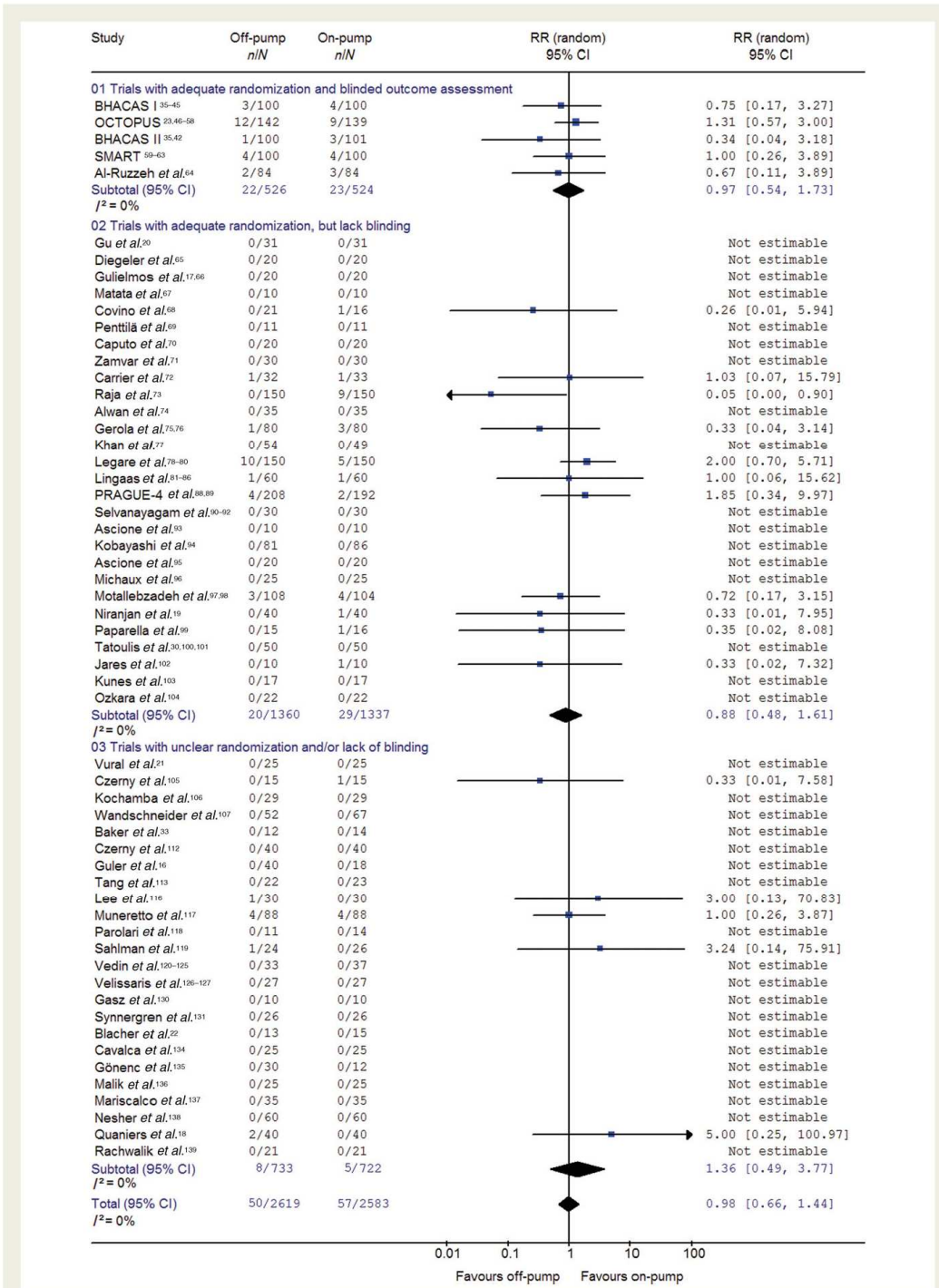


Figure 2 Intervention effect of off- vs. on-pump coronary artery bypass grafting on mortality. Error bars indicate 95% confidence intervals.

Figure 2 : Meta analyse de Moller sur la mortalité
(D'après Moller *et al.* 2008. [166])

2.1.9 Patients à haut risque

La littérature semble montrer que ce sont surtout les patients à haut risque qui bénéficient le plus de la chirurgie à cœur battant [170, 177, 178]. Toutefois la définition du patient à haut risque varie d'une équipe à une autre.

La revascularisation coronarienne à CB présente des effets bénéfiques en termes de mortalité, ou de complications post-opératoires dans des groupes à hauts risques. Les groupes bénéficiaires de cette technique sont les patients avec une altération sévère de la fonction ventriculaire gauche, les ré-interventions, l'âge élevé, les sténoses du tronc coronaire gauche, les infarctus récents, l'hypertension artérielle pulmonaire, les antécédents neurologiques, les maladies pulmonaires chroniques et l'insuffisance rénale chronique [69, 172, 178-186]. La plupart de ces critères sont le reflet de l'Euroscore.

Moller et al nuancent ces résultats avec des résultats comparables à court et moyen terme entre la chirurgie à CB et la chirurgie CA-CEC [98, 167, 187]. Pour d'autres auteurs l'utilisation comme assistance d'une mini CEC [188] ou d'une CEC conventionnelle [189] sans arrêter le cœur permet d'améliorer les résultats pour les patients avec une fonction ventriculaire gauche altérée.

2.1.10 No touch aortic

Un des facteurs de risques d'AVC est la manipulation de l'aorte que ce soit par la cannulation ou par le clampage aortique total ou partiel pour l'implantation proximale de greffons sur l'aorte. En fonction du degré de sévérité d'athérosclérose, le risque de décrocher une plaque est plus ou moins important.

La technique du « no touch aortic » est la meilleure stratégie pour éviter le risque embolique à partir de plaques athéromateuses au niveau de l'aorte ascendante. Elle permet 1/ d'éviter la mise en place d'une CEC au niveau de l'aorte ascendante (d'autres sites sont possibles : la crosse aortique, l'artère sous clavière, l'artère fémorale), 2/ l'absence de clampage complet de l'aorte (chirurgie à cœur arrêté), 3/ l'absence de clampage latéral pour l'implantation des greffons sur l'aorte ascendante.

Pour éviter cette implantation de greffons, il faut utiliser les techniques de revascularisation toute artérielle. On peut réaliser ce type de revascularisation en utilisant les deux artères thoraciques internes, pédiculées ou en greffon libre. Dans ce cas l'artère en

greffon libre est anastomosée en Y ou en T sur l'autre artère thoracique interne. L'utilisation de l'artère radiale qui sera anastomosée sur une artère thoracique interne est possible, ou l'utilisation de l'artère gastro-épiploïque sera utilisée pour le territoire inférieur.

Cette technique du « no touch aortic » est particulièrement intéressante à utiliser en présence d'une aorte porcelaine [190], mais aussi chez les patients âgés qui sont à plus haut risque d'AVC [191]. Les mêmes auteurs ont conclu au même bénéfice chez les femmes à haut risque [192].

La technique associe le CB, le « no touch aortic », l'utilisation de pontages composés, et une revascularisation artérielle [193, 194].

Les preuves de diminution des AVC en post-opératoire sont nombreuses [81, 83, 195-197].

Emmert et al ont mis en évidence sur une grande série que le CB était protecteur en terme de risque d'AVC en post-opératoire par rapport à la chirurgie CA-CEC, ou à CB avec clampage latéral pour l'anastomose du greffon sur l'aorte ascendante [83].

D'autres auteurs préconisaient de détecter l'athérome aortique à l'aide d'échographie épi-aortique et d'adapter la stratégie de revascularisation en fonction de l'aorte et de son athérome [198].

2.1.11 Considérations économiques

Alors que la chirurgie coronarienne de revascularisation est la chirurgie cardiaque la plus répandue dans le monde, et compte tenu de la nécessité de maîtriser les coûts de santé afin de soigner le plus grand nombre de patients possible et avec une population de plus en plus âgée, il est intéressant de trouver des procédures chirurgicales qui permettent de diminuer le coût de prise en charge d'une pathologie .

La chirurgie à CB permet une réduction significative des coûts par rapport à la chirurgie conventionnelle. Cette donnée s'appuie sur plusieurs études prospectives de patients consécutifs [199-201], randomisées [156, 202, 203]. Cette réduction des coûts est liée à l'utilisation de moins de matériel en per opératoire surtout si l'on utilise des stabilisateurs réstérilisables (Cor-vasc, Coroneo, Montreal, Canada), à la diminution des

complications post opératoires, avec des durées d'hospitalisation plus courtes, et la diminution de la nécessité de transfusion.

Dans l'essai BHACAS, il y avait une réduction des coûts de 25% par patient [204]. Nathoe et ses collègues rapportent une économie de \$ 1800 par procédure [177] et Puskas et ses collègues ont démontré une économie de 2272 \$ à la sortie de l'hôpital et 1955 \$ à 1 an postopératoire [156]. Le groupe de Harefield a fait les mêmes constatations au cours d'une étude randomisée avec une économie de 1572 pounds [203].

En Grèce, Kastanioti, retrouvait une économie de 3300 € [205], en raison d'un taux de complication plus faible et des durées d'hospitalisation plus faibles.

Au Canada, Lamy et al ont établi une économie de 2000 \$ pour l'hospitalisation initiale, mais aussi à un an [200]. Une autre équipe Canadienne de Montréal proposait d'éviter le passage des patients aux soins intensifs en post-opératoire [206]. Les patients étaient extubés immédiatement après la fermeture cutanée, puis ils étaient surveillés environ 7 heures en salle de réveil avant d'être hospitalisés dans l'unité de chirurgie cardiaque. En procédant ainsi ils économisaient 5140 \$, et limitaient les cas d'annulation pour défaut de place en unité de soins intensifs.

Une seule étude de la littérature est en désaccord avec les études présentes car elle retrouvait un coût plus élevé de 1497 \$ des chirurgies à CB, en raison d'une hospitalisation plus longue de 0.6 jours [207]. Cette étude est intéressante car elle a calculé le coût d'hospitalisation en fonction des données de codification des interventions faites à l'assurance maladie. Elle différait des autres qui étaient sur la base de données de la STS qui est une base volontaire ou de calcul prospectif.

2.2 INCONVENIENTS DE LA CHIRURGIE A CŒUR BATTANT

L'inconvénient majeur réside dans la formation des chirurgiens. Tout d'abord il est très difficile de faire évoluer un chirurgien qui a une pratique éprouvée de revascularisation sous CEC [208]. La technique de chirurgie à cœur battant demande avant tout beaucoup de patience, surtout pour obtenir une bonne exposition des artères coronaires et notamment les artères latérales ou postérieures. Cette technique d'exposition (décrite ci-après) nécessite un apprentissage spécifique qui remet en cause la pratique sous CEC, pour l'exposition mais aussi pour la stratégie de revascularisation.

Le meilleur apprentissage doit se faire par étape pour les jeunes chirurgiens, encadrés par des chirurgiens aguerris à cette technique chirurgicale. Il est conseillé de réaliser entre 50 et 100 revascularisations chez des patients simples ne posant pas de problème d'exposition, d'instabilité hémodynamique, avant de pouvoir réaliser des revascularisations complexes (tri-tronculaire) ou chez des patients à hauts risques [209, 210]. Si ces étapes ne sont pas respectées et qu'un jeune chirurgien réalise rapidement des revascularisations complexes chez des patients à hauts risques, il s'expose à des complications et à un taux de conversion important [211]. On retrouvait ce constat dans l'étude ROOBY qui avait un taux de conversion élevé de 12 % (alors qu'il est admis dans la littérature un taux de 1 à 3 %). Un des facteurs limitant de cette étude est qu'il n'était demandé aux chirurgiens qu'une expérience de plus de 20 cas en CB [148]. A l'inverse quand le jeune chirurgien ou l'interne réalise du CB, sur des cas peu compliqués et encadré par un chirurgien senior maîtrisant chirurgie coronarienne à cœur battant, les résultats cliniques sont identiques en termes de morbi-mortalité et de perméabilité des pontages [212, 213]. En plus de la technique opératoire il faut comprendre les conséquences hémodynamiques de la position du cœur et de la stabilisation, des effets régionaux de l'ischémie sur l'hémodynamique, la contractilité, les arythmies cardiaques. La tactique de revascularisation doit aussi être enseignée, ainsi que les principes de l'anesthésie pour ce type de chirurgie [214].

En résumé la technique de chirurgie à CB doit être enseignée aux jeunes chirurgiens pour qu'ils puissent réaliser au minimum des cas plus complexes, chez des patients à hauts risques pour lesquels la CEC est une contre-indication relative.

2.3 TECHNIQUES OPERATOIRES EN CHIRURGIE A CŒUR BATTANT

La revascularisation coronarienne à cœur battant nécessite une adaptation des techniques chirurgicales classiques utilisées au cours de la chirurgie en arrêt cardiaque sous circulation extra-corporelle. En effet, au cours de cette dernière technique, il n'y a pas de problème lié aux battements du cœur, à la visualisation de la zone d'anastomose. De plus, l'exposition des vaisseaux latéraux et postérieurs modifie peu l'hémodynamique de la CEC. A l'inverse au cours de la chirurgie à cœur battant, la stabilisation de la zone de

l'artère coronaire cible est nécessaire, le contrôle du saignement est indispensable et l'exposition de l'ensemble des vaisseaux requiert des techniques particulières. Ces techniques sont décrites de manière très précise par Raymond Cartier dans un livre publié en 2005 [215].

2.3.1 Techniques d'exposition cardiaque

Il s'agit de la première étape de la revascularisation à cœur battant, car une bonne exposition permettra d'accéder à l'ensemble des artères coronaires en maintenant une hémodynamique stable.

Des techniques d'expositions ont été décrites depuis le début du développement de la chirurgie coronarienne, par des auteurs pratiquant la revascularisation à cœur battant de manière systématique [216-218]. Les principes concernent l'ouverture du péricarde qui est médiane et doit se prolonger sur la partie inférieure du péricarde en direction de la veine cave inférieure. Dans certains cas ou selon certains auteurs, une ouverture de la plèvre droite permet d'améliorer l'hémodynamique à la luxation du cœur en évitant la compression des cavités droites qui se développent dans la cavité pleurale droite.

Le principe de l'exposition est basé sur la mise en place de fils de traction péricardique gauche. Le premier se situe entre la veine pulmonaire supérieure et inférieure, le deuxième est positionné en dessous de la veine pulmonaire inférieure gauche, et le troisième est placé sur le prolongement de la ligne péricardique, créée par la traction des deux premiers fils. Un quatrième fil peut être placé proche de l'abouchement de la veine cave inférieure.

La mise en place de ces fils doit se faire par une manipulation lente du cœur afin d'éviter les troubles hémodynamiques qui peuvent être engendrés par des manipulations trop brusques du cœur.

La traction de ces fils entraîne la mobilisation et la verticalisation du cœur permettant ainsi une exposition des faces latérales et inférieures du cœur [217].

Cette technique a l'avantage d'être à faible coût mais ne permet pas de mobiliser tous les cœurs sans trouble hémodynamique.

Certains chirurgiens préfèrent utiliser la verticalisation du cœur par la technique de la succion de pointe qui va permettre de mobiliser le cœur sans modifier la

géométrie du cœur droit modifiant peu l'hémodynamique cardiaque [219, 220]. Cette technique peut être utilisée en complément des fils de traction. Elle permet de limiter les troubles hémodynamiques qui peuvent survenir en cas d'altération de la fonction ventriculaire gauche, ou de nécessité d'exposition très latérale. Ces dispositifs présentent un inconvénient : ils ne sont pas ré-utilisables et donc engendrent un coût supplémentaire à la procédure chirurgicale.

L'exposition du cœur ne suffit pas à la stabilisation du cœur, des techniques spécifiques de stabilisation doivent être utilisées pour permettre une immobilisation de la zone d'anastomose.

2.3.2 Techniques de stabilisation

Les stabilisateurs sont des systèmes qui permettent d'immobiliser la zone du cœur où se situe l'artère coronaire à ponter. Ils sont formés de deux bras qui se placent de part et d'autre de l'artère coronaire.

Il existe deux types de stabilisateurs : les stabilisateurs à compression et les stabilisateurs à succion. Les stabilisateurs à compression sont les plus anciens. Le plus abouti est le stabilisateur Cor-Vasc (Coroneo Inc, Montréal, Canada) développé en collaboration avec Raymond Cartier de l'Institut de Cardiologie de Montréal [215, 216]. Il présente plusieurs bras avec des angulations différentes qui permettent d'accéder à toutes les artères coronaires. L'avantage de ce type de dispositif est qu'il est restérilisable. L'inconvénient est la compression qui peut gêner l'éjection ventriculaire.

Les bras à succion comme l'Octopus (Medtronic), ou l'Acrobat (Maquet) sont formés à leurs extrémités de deux bras avec un système aspiratif par des petites ventouses qui se fixent sur l'épicarde et limitent la compression [219, 221]. Ces dispositifs présentent l'inconvénient de ne pas être ré-utilisables.

2.3.3 Visualisation de la zone d'anastomose

L'objectif en chirurgie coronarienne est d'obtenir un champ opératoire sur la zone d'anastomose exsangue permettant de réaliser une anastomose du greffon sur

l'artère coronaire cible dans les meilleures conditions. Pour cela, il existe différentes techniques : les occlusions coronariennes par différents procédés, l'utilisation de shunts intra-coronaires, et le lavage de l'anastomose par du sérum physiologique plus ou moins mélangé avec du CO₂.

2.3.4 Techniques de contrôle du saignement

L'occlusion coronaire peut être obtenue par différents dispositifs : 1/ le plus utilisé est les bandelettes en silastique qui sont passées en proximal de l'anastomose et si nécessaire en distalité, 2/ un monofil de suture est passé autour de l'artère avec un tourniquet sur un renfort de teflon, 3/ des microclamps chirurgicaux peuvent être utilisés [222, 223]. Des occluseurs intra-coronaires existent mais ils sont peu utilisés.

Ces dispositifs sont simples, peu coûteux, et permettent d'obtenir une hémostase correcte mais souvent incomplète. En effet, en cas d'artères coronaires calcifiées l'occlusion est difficile à obtenir par ces techniques d'occlusion externe. De plus, la présence de branches collatérales et septales peut entraîner un saignement par l'artériotomie. Ces branches ne peuvent pas être occluses par ces dispositifs.

L'utilisation de ces dispositifs de compression externe par striction des artères entraînent des lésions endothéliales voire des ruptures de plaques. Elles peuvent être à l'origine de thrombose artérielle [224, 225].

Par ailleurs, la mise en place de ces bandelettes élastiques nécessite de passer dans le myocarde, pour garder une couche d'épicarde à la partie postérieure de l'artère et éviter les lésions de la paroi artérielle. Ces points peuvent occasionner une plaie du myocarde avec des saignements.

La striction créée par la traction sur ces bandelettes entraîne aussi une fermeture de l'artériotomie, ce d'autant plus qu'il faut mettre les élastiques les plus proches de l'artériotomie pour éviter les saignements des branches collatérales.

L'autre inconvénient inhérent à la technique d'occlusion en général est le risque d'ischémie distale, avec des instabilités hémodynamiques et des troubles du rythme. Ces effets indésirables surviennent d'autant plus que l'occlusion est proximale ou qu'il n'y a pas de collatéralité en cas de lésion aiguë unique. Pour éviter ces troubles de perfusion distale on peut utiliser des shunts intra-coronaires.

2.3.5 Techniques de perfusion distale

Les shunts intra-coronaires doivent être mis en place après l'artériotomie, avec un contrôle temporaire du saignement par compression digitale ou par la technique des élastiques précédemment décrite. L'insertion doit être délicate pour éviter toute lésion endothéliale.

Cette technique a l'avantage majeur de garder une perfusion distale de l'artère, qui est intéressante en cas de revascularisation sur lésion unique avec peu de collatéralité comme dans l'étude de Bergsland [226-229].

Toutefois de nombreuses études animales [230] et humaines [231-233] ont démontré le risque de lésions endothéliales par l'utilisation de ces shunts. Ces lésions sont liées à la taille du shunt utilisé par rapport au diamètre de l'artère coronaire [234]. En effet pour obtenir une occlusion satisfaisante il convient d'utiliser un shunt de taille supérieure au diamètre interne de l'artère, entraînant une sur-dilatation de l'artère coronaire avec des lésions endothéliales [231, 232, 234]. De plus, les shunts ne permettent pas une bonne étanchéité en cas d'artères calcifiées, avec un saignement résiduel. On peut avoir aussi un saignement résiduel en cas de collatérales ou de branches septales au niveau de l'artériotomie.

2.3.6 Insufflateur CO2

Malgré l'utilisation d'une taille supérieure à l'artère d'un shunt, ou en cas de présence de collatérales ou d'artères calcifiées il peut persister un saignement au niveau de l'artériotomie qui gêne la confection d'une anastomose dans des conditions sécuritaires. Il convient alors de réaliser un lavage au sérum physiologique au niveau de la zone d'anastomose pour permettre une visualisation des berges artérielles.

Le sérum physiologique peut être pulvérisé sous pression en le mélangeant à du CO2. Un flux ou une pression excessive va pouvoir entraîner une dissection ou des lésions endothéliales de l'artère coronaire ou du greffon notamment l'artère mammaire interne qui est une artère fragile [235-238].

Poloxamer

3. POLOXAMER

3.1 PRESENTATION

Les poloxamers sont un groupe de composés tensio-actifs largement utilisés dans l'industrie pharmaceutique. Pour augmenter leur activité et leur efficacité, la mise au point de nouveaux médicaments (souvent des substances insolubles dans l'eau) à partir de formulation existante se base sur le développement de véhicules de livraison tels que les systèmes à libération contrôlée ou prolongée, gels, micro-émulsions et des nanoparticules. Ces formes de dosage améliorent la solubilité et la biodisponibilité, pour un contact prolongé à des sites spécifiques choisis dans le corps, combinés à la réduction de la quantité de médicament appliquée [239]. Tous ces aspects systémiques sont susceptibles d'optimiser et de minimiser les effets indésirables des médicaments actifs.

3.2 STRUCTURE

Les poloxamers sont décrits comme des polymères à blocs de type ABA, composés d'une partie centrale, un bloc hydrophobe d'oxyde polypropylène (PO), bordée par deux blocs hydrophiles d'oxyde de polyéthylène (EO). Ces polymères sont issus de la polymérisation séquentielle d'oxyde de propylène et d'oxyde d'éthylène (figure 3) en présence d'hydroxyde de sodium ou d'hydroxyde de potassium. Le fractionnement chromatographique peut être utilisé pour purifier les blocs de copolymères. Ces polymères ont des propriétés amphiphiles caractérisées par leurs valeurs HLB (hydrophilic-lipophilic-balance), qui dépendent fortement des valeurs de a et de b. En faisant varier les valeurs de ces paramètres, leur taille, leurs propriétés lipophiles et hydrophiles peuvent être facilement modifiées.

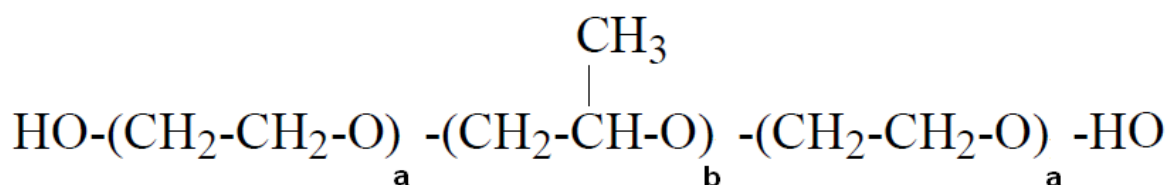


Figure 3 : Formule chimique du Poloxamer 407

En raison de la possibilité de combiner des blocs de différents poids moléculaires, les propriétés des nouveaux polymères varient dans une large gamme.

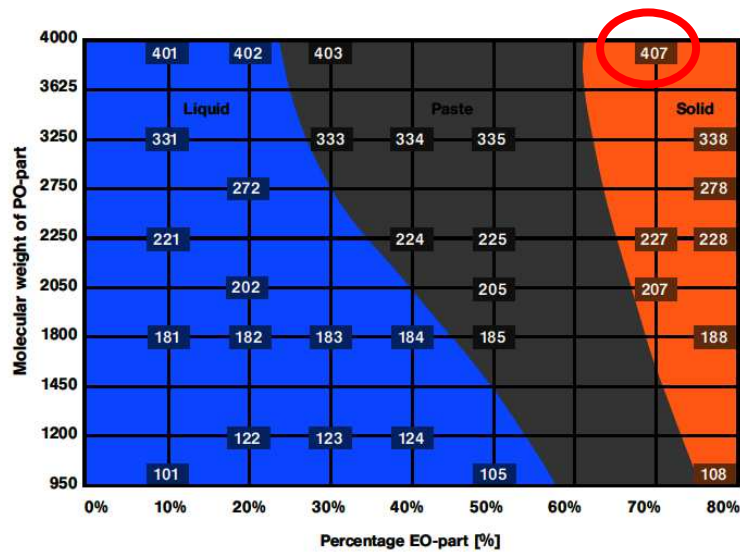


Figure 4 : Grille des poids moléculaire des différents poloxamer

La grille poloxamer (figure 4) montre le spectre du poids moléculaire, des apparences différentes (liquide, pâte et solide) et les variations entre les caractères hydrophiles ou hydrophobes des composés individuels. Le Lutrol F 127 (Poloxamer 407) a un poids moléculaire moyen de 12 600 Daltons. Les unités polyoxyéthylènes représentent environ 73% du poids moléculaire alors que celui du polyoxypropylène est d'environ 27%. En raison de sa composition le Poloxamer 407 est facilement soluble dans l'eau.

Le Poloxamer 407 est principalement disponible dans les marque déposées de Pluronic F127® (laboratoires BASF, Wyandoote, USA) et SYNPERONIC F127® (laboratoires ICI, Wilton, Royaume-Uni).

3.3 PROPRIETES GENERALES DU POLOXAMER 407

La propriété la plus importante pour son application dans les formes pharmaceutiques est la capacité des solutions de Poloxamer 407 à former des gels thermo-réversibles, dont les propriétés rhéologiques dépendent largement de leurs concentrations.

Le phénomène thermogélifiant est parfaitement réversible et se caractérise par une température de transition soluble-gel ($T_{sol-gel}$). En dessous de cette température, l'échantillon reste fluide et bien au-dessus la solution devient semi-solide. La thermogélation résulte d'interactions entre les différents segments du copolymère [240]. Quand la température augmente, les molécules de copolymère Poloxamer 407 s'agglutinent en micelles. Cette micellisation est due à la déshydratation des blocs hydrophobes PO, qui représente la toute première étape du processus de gélification (Fig. 5). Ces micelles sont sphériques avec un cœur déshydraté (polyPO) et avec une enveloppe extérieure hydratée (chaînes polyEO). Cette micellisation est suivie d'une gélification pour des échantillons suffisamment concentrés par l'agencement de paquets de micelles.

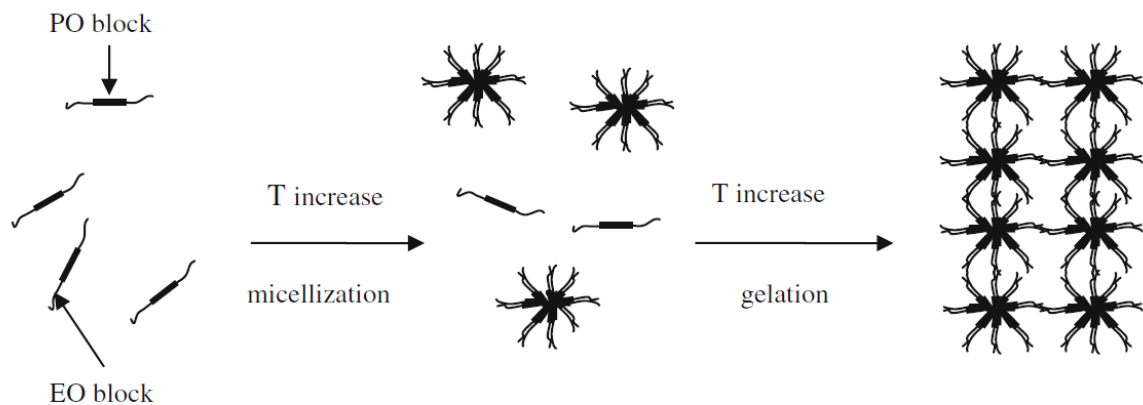


Figure 5 : formation du gel par micellisation des molécules de poloxamer 407 (D'après Dumortier et al 2006[240])

La figure 6 montre l'influence de la température sur la viscosité des solutions aqueuses Poloxamer 407 à différentes concentrations et à faible température. La température modifie peu la viscosité en cas de concentration faible, et c'est au-delà de 20% que la température a un effet significatif sur la viscosité.

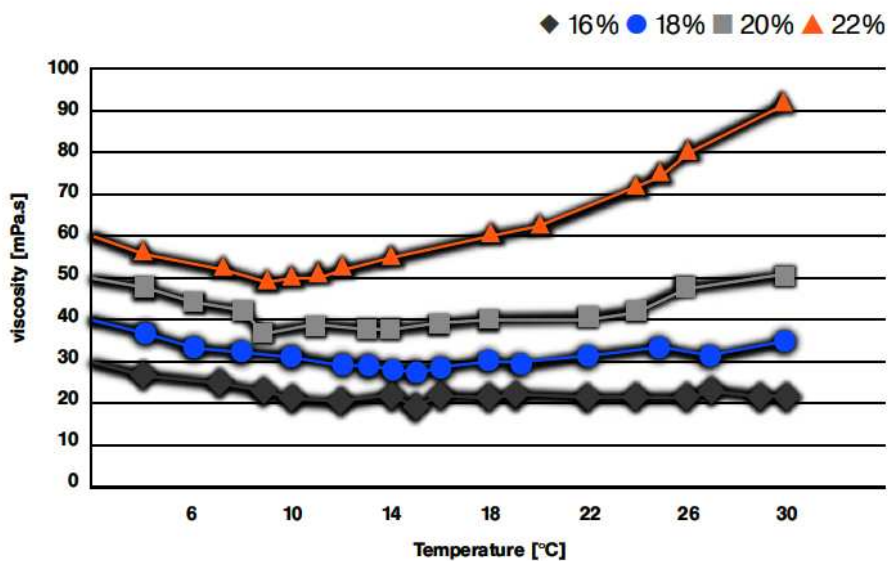


Figure 6 : influence de la température sur la viscosité à différentes concentrations de Poloxamer 407

La figure 7 montre l'influence de la concentration de polymère sur la viscosité à des températures constantes [241]. L'augmentation de la concentration entraîne une augmentation de la viscosité surtout pour des températures supérieures à 20°C et des concentrations de plus de 20%.

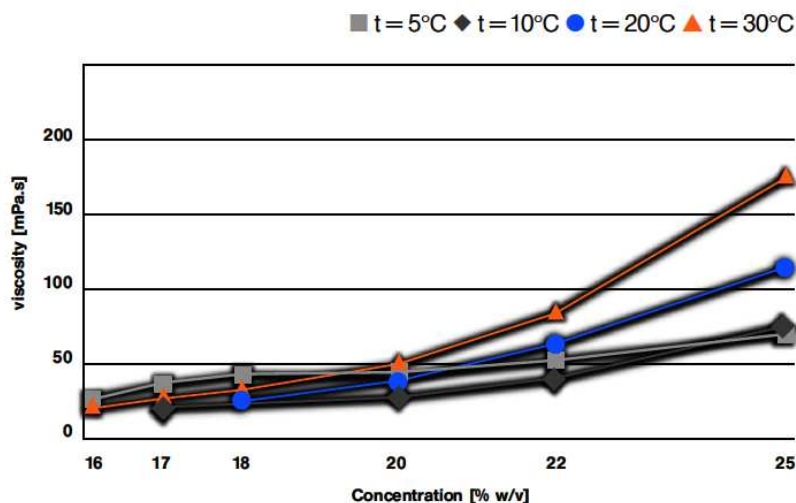


Figure 7 : influence de la concentration sur la viscosité

La température de transition soluble-gel des solutions aqueuses de Poloxamer 407 est aux alentours de 15°C à 25°C à des concentrations de polymère dépassant 16% et est fortement influencée par les composants co-formulés tels que des sels organiques ou

inorganiques, les PEG, solvants, etc [242]. Toutefois cette transition est trop lente (Figure 7) pour permettre une utilisation fiable des solutions aqueuses de poloxamer 407 comme bouchon vasculaire, car le gel n'a pas toujours le temps de se former avant que la solution aqueuse ne se dissolve dans la circulation sanguine.

3.4 PREPARATION DU POLYMERE

Comparée aux méthodes utilisant des températures élevées, la méthode froide montre plus d'avantages. Elle facilite la dissolution du Poloxamer et limite les éventuelles altérations. Poloxamer 407 est mélangé à 4-5°C avec les autres composants (par exemple : médicament) et de l'eau préalablement refroidie jusqu'à obtenir une solution homogène. Il est possible de préparer facilement du Poloxamer 407 à une concentration de 20-30% , tandis que pour une concentration de 35% il est nécessaire de placer le Poloxamer 407 dans un congélateur pour quelques minutes pour liquéfier la préparation [243]. Le pH et l'osmolarité sont ajustés pour favoriser la stabilité et la tolérance de la formulation. La stérilisation par autoclavage (120-C, 15 min, 1 bar) ne paraît pas incompatible et ne semble pas modifier les caractéristiques de viscosité de Poloxamer 407 qui est nécessaire pour préparer des formulations stériles.

3.5 PROPRIETES MECANIQUES DU POLOXAMER 407

3.5.1 Force de résistance du Poloxamer 407

La résistance du gel augmente avec la température et la concentration de Poloxamer 407. Elle peut être altérée en présence de drogues ou d'additifs. D'un côté le diclofénac, l'éthanol et de propylène glycol affaiblissent la résistance du Poloxamer 407, d'autre part le chlorure de sodium, monohydrogénophosphate de sodium et la glycérine augmentent la résistance du gel [244]. La détermination de ce paramètre nécessite d'être complétée par des études d'adhésivité afin d'interpréter les résultats.

3.5.2 Propriétés bio-adhésives du Poloxamer 407

Définir les caractéristiques bio-adhésives est d'une grande importance notamment en cas de temps de contact prolongé, par exemple avec des formulations topiques (rectale, cutanée ou préparations ophtalmiques). La force de bio-adhérence est en général augmentée avec la force de résistance du gel ; et sa valeur est modifiée par les mêmes paramètres (par exemple, la température et la concentration du Poloxamer 407). La présence de différents solvants ou d'agents ioniques peuvent modifier les caractéristiques d'adhérence des formulations du Poloxamer comme cela a été mentionné précédemment.

Pour les formes rectales la détermination des caractéristiques bio-adhésifs est d'un grand intérêt en raison des fuites fréquentes. Maintenir le médicament dans le rectum est un facteur très important pour éviter l'élimination de premier passage hépatique [245, 246]. D'autres tissus physiologiques ont été utilisés comme la cornée de lapin dans le cas des applications ophtalmiques mais le nombre de ces études est très limité.

3.6 LES APPLICATIONS DU POLOXAMER 407

In vitro, l'évaluation constitue un outil de recherche pour les formulations en cours de développement et donc, de nombreux travaux ont été menés afin de préciser les caractéristiques des préparations de Poloxamer 407. In vitro, la libération d'ordre zéro est recherchée, alors qu'in vivo une optimisation de l'activité pharmacologique et des profils pharmacocinétiques est attendue. Les résultats et les potentiels d'intérêts dépendent de la voie d'administration. L'évaluation est basée sur le profil pharmacocinétique, les études de la tolérance et le modèle expérimental (mimant une pathologie utilisant des animaux). Elle est généralement réalisée en comparaison avec d'autres formulations sans Poloxamer 407. Les préparations simples avec le Poloxamer 407 montrent généralement peu d'amélioration, et il est nécessaire d'utiliser des formulations plus complexes comme des combinaisons avec d'autres agents (par exemple, les agents muco-adhésifs, amplificateurs ou autres Poloxamers) ou l'inclusion dans un véhicule ciblé (par exemple, des liposomes, nanoparticules ...).

3.6.1 Poloxamer 407 et ses effets sur les actifs formulés

Quand l'indométacine a été formulée en gels contenant du Poloxamer 407 à des concentrations de 0-30% poids / volume, le taux d'hydrolyse de l'actif a été plus lent dans les gels que dans une solution tampon seul. Il est prédit qu'à un pH de 7,00 et 20°C, le temps nécessaire pour la dégradation de 10% indométhacine est de 2,7 ans à 20% en poids / volume Poloxamer 407 de gel, alors qu'elle est de 48 jours dans la phase solution aqueuse [247].

La dégradation de l'indométacine avec différents systèmes de gel a été étudiée à différentes concentrations de chaque agent gélifiant à pH 10,2 et à 35°C et 45°C [248]. Les résultats indiquent que la protection contre l'hydrolyse de l'indométacine n'a pas été fournie par les solutions visqueuses carbopol et CMC de sodium-gels. La protection a été cependant observée dans le cas d'actifs non ioniques : le gel de poloxamer 407, qui se compose de structures hydrophobes en trois dimensions, où le principe actif peut être à l'abri de l'hydrolyse.

Pour augmenter ou modifier le temps de libération de médicaments faiblement solubles, des dispersions solides ont été obtenues par fusion de Poloxamer 407 et en ajoutant les actifs. Dans une deuxième étape les comprimés ont été formulés par le mélange de ces dispersions solides avec e. g. Methocel K15M, Avicel PH101 et le magnésium stéarate. Les mélanges sont compressés pour obtenir des formulations modifiées à libération prolongée pour administration orale. Les exemples d'ingrédients actifs dont la solubilité et l'efficacité thérapeutique peuvent être améliorées avec la formulation sont le cisapride, la cyclosporine, le diclofénac, la félodipine, l'ibuprofène, l'indométacine, la nicardipine, nifédipine, la théophylline et la terfénadine [249].

Les caractéristiques de libération in vitro de différents actifs dépendent des paramètres de concentration du Poloxamer, de la température et du pH. Par exemple le diclofénac et l'hydrocortisone ont été utilisés comme médicaments modèles et le taux de libération à partir de gel de Poloxamer 407 a été étudié dans un des modèles in vitro la libération sans membrane [250]. Le taux de libération diminue avec l'augmentation de concentration de Poloxamer 407 mais augmente avec la température.

Une relation linéaire a été obtenue entre les taux de libération apparente et la concentration du médicament initial. La libération du diclofénac a été largement dépendante du pH du gel et a été maximale à un pH environ de 7. Tandis que dans le cas

de l'hydrocortisone, aucune dépendance liée au pH n'a été observée. Ainsi, le médicament est libéré par diffusion à travers les canaux aqueux structurés de la matrice de gel. En outre, parmi les différents facteurs affectant la libération du médicament, le pH dans les formulations de gel semble être très important lorsque la drogue formulée est un acide ou une base faible.

3.6.2 Poloxamer 407 dans le traitement des plaies ouvertes et de brûlures revêtements de plaies

Même avec la majorité du corps brûlé, les techniques de fermeture précoce de la plaie entraînent un meilleur taux de survie chez les patients. L'utilisation de préparations de Poloxamer pour la couverture de brûlure et le traitement des plaies ouvertes avec du gel à base de Poloxamer 407 avec ou sans ajout d'agents bactéricides ou d'agents bactériostatiques, ou d'agents de débridement, ou de facteurs de croissance, et d'agents hémostatiques, a été analysée dans une revue de la littérature [251].

Par rapport aux films, les formulations de gel sont avantageuses en raison de leur capacité de circuler dans les creux et suivre la configuration des contours d'une blessure, transportant des additifs au plus près possible de la surface des tissus endommagés.

Des préparations de topiques contenant du facteur de croissance épidermique (EGF), solubles dans l'eau pour le traitement de blessures ouvertes et des brûlures reposant sur le Poloxamer 407 contenant divers stabilisants, ont été évalués et l'activité pharmacologique des préparations de gel a été déterminée avec les modèles de plaie [252]. Comme tous les additifs étudiés conduisent à des effets délétères sur EGF, la stabilité des préparations de topique aqueuse d'EGF ont été formulée avec le Poloxamer 407 comme base de gel en salines en combinaison avec la gélatine ou amastatin comme un inhibiteur de la protéase. L'effet pharmacologique du gel EGF étudié avec le modèle de plaie ouverte chez la souris a révélé d'importants effets de guérison, plus élevés en comparaison avec le gel sans un inhibiteur de la protéase. Le gel d'EGF fait de Poloxamer 407 contenant un inhibiteur de la protéase serait une solution aqueuse prometteuse pour les préparations topique d'EGF.

L'amélioration de la cicatrisation des plaies en transformant le facteur de croissance beta1 (TGF- β 1) a été étudié [253] en relation avec les caractéristiques de libération de différents systèmes de livraison d'actualité tels que le tampon phosphate salin,

un gel de poloxamère 407, DuoDERM hydroactif, et une poly (éthylèneoxyde) hydrogel. Lorsque la libération de ^{125}I TGF- β 1 associée à des transporteurs a été mesurée dans des plaies profondes chez le rat. La guérison de la blessure a été analysée par histologie et par mesure de la surface de la plaie. Il est devenu évident que ces effets ont été plus importants lorsque le TGF- β 1 était formulé avec une formulation de gel poloxamer 407, qui fournit la version la plus active du TGF- β 1. La conclusion était que l'amélioration de la guérison de la plaie par le TGF- β 1 était significativement dépendante du support utilisé pour sa délivrance sur le site de la plaie. Ceci montre l'importance de l'utilisation de systèmes adéquats de support des facteurs de croissance. Il en est ainsi quand d'autres protéines sont utilisées pour améliorer la plaie réparation et la cicatrisation des plaies.

Des préparations topiques telles que des onguents hydrophiles pour le traitement local des brûlures de la peau en profondeur ont été évaluées [254]. Des anesthésiques locaux carbizocaine et lidocaïne ont été utilisés comme médicaments. Des tests ont été effectués entre autres en utilisant Poloxamer 407 sous forme de gel formant composant.

3.6.3 Poloxamer 407 dans les formulations dentaires et rince-bouches

Non seulement une variété de formulations dentaires, rince-bouche et dentifrices sont connus pour être formulés à l'aide Lutrol F 127, mais aussi des formulations semi-solides contenant des tetracyclines à base de Poloxamer 407 ont été préparées pour le traitement de la parodontite par administration directe dans la poche parodontale. Les formulations sont facilement administrées par une seringue équipée d'une aiguille appropriée pour délivrance dans la poche. Elles sont caractérisées par une solution de transition soluble-gel, qui devient semi-solide une fois dans la poche parodontale et, enfin, ils représentent une formulation biocompatible éliminée du corps par les voies normales [255].

3.6.4 Poloxamer 407 dans les formulations orales

Le Poloxamer 407 a été utilisé pour des formules sublinguales ou des préparations orales. La formulation sublinguale acétonide de triamcinolone contenant du Poloxamer 407 (20%) et du carbopol (1%) présentait des résultats prometteurs en raison de la viscosité élevée et de la bioadhésivité, ce qui permettait d'augmenter le temps de contact sublingual [256].

Malheureusement, la plupart du temps, l'administration par voie sublinguale montre des limitations dues à l'adhérence inadaptée à cause de la salivation, des mouvements de la langue et de la déglutition et par conséquent, ne présente pas d'avantages évidents.

Outre l'application par voie sublinguale, certains auteurs ont eu recours aux propriétés adhésives du Poloxamer 407 pour allonger le temps de contact d'agents dans le tractus gastro-intestinal. Un poloxamer 407 (19%) / acide delta-5-aminolévulinique caractérisé par une transformation soluble-gel à 26°C a été évaluée pour analyse photodynamique des lésions du tractus gastro-intestinal [257]. La bonne adhérence dans l'œsophage avec une diffusion efficace du médicament dans la muqueuse a été observée chez la souris en utilisant une méthode de fibre optique spectrofluorimétrique.

3.6.5 Poloxamer 407 dans les formulations ophtalmiques

Les formulations qui contiennent du Poloxamer 407 pour usage ophtalmique sont bien documentées, non seulement dans des documentations sur les brevets [258], où la délivrance de médicaments d'ophtalmologie avec gels de polyoxyalkylène thermoréversible réglables pour le pH est revendiquée. La composition de ce gel est un liquide à température ambiante ou en-dessous et devient un gel avec une osmolalité souhaitée à la température du corps. Par exemple, pour une solution contenant du sulfate de néomycine à 0,55%, du sulfate de polymyxine B à 0,12%, de la glycérine à 0,7%, du Poloxamer 407 à 19,0%, du méthylparaben / propylparaben à 0,1%, et un tampon Tris-HCl : 79,53% présentaient une gélification à environ 33 ° C et de l'osmolalité d'environ 650 mOsm / kg à l'état liquide à pH 7,5 et osmolalité calculée à l'état gélifié a été d'environ 290 mOsm / kg.

Le rôle dans les kératites bactériennes induites par les lentilles de contact, le dépôt de larmes de contact en hydrogel et les possibilités sur la prévention ont été étudiés par Portoles et al [259] . Parmi les autres polymères une série de poloxamer a été testée, le Poloxamer 407 a diminué l'adhérence de *Pseudomonas aeruginosa* aux nouvelles lentilles de contact hydrophiles de 94%. Ce poloxamère est non toxique, stable, soluble dans l'eau, et a une activité anti-microbienne. Ainsi, il pourrait être utilisé pour prévenir la fixation des bactéries aux lentilles de contact, et peut être, par conséquent, un candidat potentiel pour réduire l'incidence des kératites induites par lentilles de contact.

3.6.6 Poloxamer 407 et les formulations rectales

Conserver le médicament au site rectal après administration est un facteur très important pour éviter l'élimination de premier passage hépatique et ainsi, améliorer la biodisponibilité.

L'utilisation de suppositoires liquides nécessite l'ajout d'extra-adjuvants (par exemple, la combinaison des poloxamères, bioadhésif) pour augmenter de manière significative l'absorption du médicament. Les associations synergiques peuvent utiliser différents poloxamer afin d'optimiser la transition solide-gel. Néanmoins, Poloxamer 407 peut interagir avec d'autres polymères. L'incompatibilité a été observée entre l'hydroxypropylméthylcellulose et le Poloxamer 407 et a été résolue par l'ajout de propanediol 1, 2. Utiliser la combinaison de poloxamer (par exemple, 15% Poloxamer 407/ 15 % Poloxamer 188) offre une perspective intéressante d'optimisation de formulation et présente une phase de transition adéquate 30-36°C, Tsol-gel [244].

Les propriétés bioadhésives du Poloxamer 407 peuvent être significativement renforcées par l'ajout de polymères muco-adhésifs comme, l'hydroxypropylcellulose (HPC), le polyvinylpyrrolidone (PVP), le Carbopol, le polycarbophile ou de l'alginate de sodium [246]. La muqueuse rectale est constituée de chaînes d'oligosaccharides avec de l'acide sialique. Les groupes hydrophiles tels que le groupe OH peuvent se lier fortement aux chaînes d'oligosaccharides résultant en une force bioadhésive considérable. Dans l'étude de Ryu et al, la biodisponibilité du propranolol a augmenté de 62% (dans une solution Poloxamer 188 / Poloxamer407) à 84,7% lorsque l'alginate a été ajouté à la préparation [246].

Néanmoins, l'intérêt d'augmenter la bioadhésion a été très débattu et reste discutable; l'adhérence excessive peut endommager la muqueuse rectale et en ajoutant un agent bioadhésif au poloxamer, les suppositoires liquides peuvent induire des irritations. La tolérance rectale du Poloxamer 407 a été confirmée par Park et al [260].

3.6.7 Poloxamer 407 et les applications nasales

Le poloxamer 407 n'est pas recommandé comme transporteur approprié pour la formulation nasale. La libération lente au site d'absorption nasale peut présenter un inconvénient du à une exposition plus longue de peptidase comme il l'a été observé avec l'ACTH dans la solution de Poloxamer 407 [240]. L'ajout de Poloxamer 407 (20%) pour des formulations contenant des exhausteurs tels que le glyconate de sodium et la bacitracine n'a pas induit d'augmentation de la biodisponibilité [261].

3.6.8 Poloxamer 407 et formulation injectable (intramusculaire)

A basse température, la solution de Poloxamer 407 contenant le médicament à libérer est une solution liquide qui peut facilement être injectée par voie intramusculaire dans le corps via une seringue. A une température plus élevée (au-dessus de la température de transition à la température du corps), la formulation devient un gel et la libération du médicament peut être prolongée de façon significative [262]. L'injection locale de Poloxamer 407 a été évaluée afin de promouvoir la libération lente du médicament directement sur le site d'intérêt. Le gel de Poloxamer 407 réduit la dégradation du médicament dans les tissus musculaires et contribue à ralentir la libération dans le plasma. Ainsi, le profil cinétique montre, qu'après l'administration IM, le pic plasmatique est plus large, faible et retardé par rapport aux formulations classiques. Le Poloxamer 407 améliorerait la stabilité des médicaments inclus, en particulier pour les peptides et les protéines comme l'insuline [263].

Le Paclitaxel inclus dans une formulation de Poloxamer 407 à 20% a été injecté dans le mélanome en intra-tumoral chez la souris. La croissance de la tumeur

initiale a été retardée de 67% et le temps de doublement du volume tumoral a été augmenté de 72% par rapport à des contrôles (injection de sérum physiologique) [264].

Une formulation de lidocaïne (2%) a été développée avec Poloxamer 407 (25%) ou avec des dérivés de cellulose comme agent épaississant et a été injectée dans le voisinage du nerf sciatique. Le produit de formulation avec le Poloxamer 407 reflétait mieux la prolongation avec les tests de libération in vitro. L'analyse de tolérance a été satisfaisante; seule une légère irritation du tissu musculaire squelettique a été détectée après administration. Aucun signe d'inflammation marquée n'a été trouvé dans le tissu musculaire entourant le nerf sciatique [265].

Après injection intra-péritonéale chez les rats, la biodisponibilité de l'activité de l'uréase a été doublée par l'utilisation de Poloxamer 407 à 33% par rapport à une simple solution aqueuse [266].

Plus récemment, le Poloxamer 407 (21%) a été utilisé comme moyen d'améliorer l'expression transgénique et de réduire la diffusion du virus après perfusion virale dans des tumeurs, chez des souris présentant un potentiel d'utilisation en thérapie génique virale (109).

Un nouvel axe de recherche correspond à évaluer ce copolymère dans de nouvelles formulations, comme des liposomes ou microsphères inclus dans le Poloxamer 407.

3.6.9 Poloxamer 407 et la formulation de nanoparticules

Il y a quelques années des nanoparticules lipidiques solides (SLN) ont été développés comme des nouveaux systèmes de délivrance de médicaments. Bien que de nombreux transporteurs de drogue de particules, telles que des microsphères, des liposomes, des niosomes, des émulsions, etc, ont été introduits, ils ont quelques inconvénients; par exemple : la faible efficacité d'incorporation, une mauvaise stabilité et le manque de reproductibilité. En attendant, les SLN, en tant que nouvelle drogue de livraison, sont utilisés comme système de piège des drogues avec une haute efficacité et une bonne reproductibilité. Aussi, de petite taille, les SLN peuvent circuler dans le sang pendant une période prolongée. Une préparation du kétoprofène incorporée aux nanoparticules lipidiques solides (Keto-SLN) par ultrasons et microfluidisation et leur évaluation a été étudiée [267]. Le Keto-SLN a été évalué par mesure de la taille des

particules et potentiel zêta, l'efficacité du piégeage, le volume de sédimentation et du schéma de libération in vitro. La granulométrie moyenne était d'environ 0,1 IM et la taille a été dépendante du type et du montant de l'émulsifiant. Le potentiel-zeta a été négatif, l'efficacité de piégeage a été très élevée et la stabilité a été bonne pour au moins 60 jours dans le respect de la taille des particules et de la sédimentation. L'effet analgésique a également été comparable à celle du kétoprofène en suspension. Par conséquent, les systèmes de prestation Kéto-SLN peuvent être utilisés comme agents anti-inflammatoires tels que le kétoprofène et dans d'autres principes actifs tels que les médicaments anticancéreux, analgésiques, etc.

En vue de réduire l'absorption phagocytaire du système réticuloendothélial (RES) après l'injection, leur surface a été modifiée [268] en utilisant des polymères hydrophiles tels que le Poloxamer 407. La détermination de la viabilité a révélé que les SLN sont 10 fois moins cytotoxiques que les nanoparticules polylactides et 100 fois moins que les particules Bucyanoacrylate. Les nanoparticules lipidiques solides modifiées en surface par du Poloxamer 407 à des fins de ciblage de médicaments en systèmes alternatifs de transport colloïdal pour drogue contrôlée livraison sont discutées dans l'article de Mueller et al [269]. Le surfactant polymère est incorporé directement dans le processus de production. Les paramètres de production ont été optimisés pour obtenir des tailles de nanoparticules requises pour les cibles envisagées, par exemple : <150 nm pour les cellules endothéliales. Des capacités de chargement de drogues de 9,8% de la matrice lipidique ont été obtenues, prolongeant in vitro, la libération de drogue qui a atteint plus de 5 semaines (prednisolone). La composition de SLN optimisée s'est avérée être physiquement stable pendant la stérilisation (autoclave) et sur le long terme en dispersion aqueuse. L'influence des revêtements avec des tensioactifs tels que Poloxamer 407 sur le corps de la distribution nanoparticules après une injection intraveineuse à des rats a été étudiée par Brochard et al [270]. Après injection intra veineuse, des nanoparticules ou d'autres transporteurs de drogues colloïdales tels que les liposomes sont rapidement éliminées du sang par le système réticuloendothélial (SER) et distribuées dans les organes du corps. Depuis il a été démontré que les propriétés de surface ont une influence importante sur la distribution du corps.

Une évaluation de Poloxamer 407 gels seul ou en combinaison avec des nanoparticules de polylactique-co-acide glycolique (PLGA) contenant des peptides ou des protéines pour administration parentérale a été réalisée à l'aide d'insuline comme actif [263, 271]. Les techniques in vitro ont été appliquées et l'évaluation in vivo a été

effectuée après application sous cutanée. Les résultats in vivo ont démontré que plus les concentrations de poloxamer 407 étaient élevées dans le gel plus la libération de l'insuline était lente à partir des matrices, indépendamment du véhicule utilisé. Comparées à une solution d'insuline, les administrations de l'insuline in vivo chargées à un gel de Poloxamer 407 ont entraîné un effet hypoglycémique de l'insuline plus lent et plus prolongé ; proportionnellement inverse à la concentration de polymère. Le Poloxamer 407 contenant de l'insuline- Nanoparticules PLGA a eu l'effet hypoglycémique le plus long de toutes les formulations. Cette étude in vitro et in vivo a montré que les formulations de gel contenant soit des drogues ou des formulations nanoparticule-drogues pourraient être utiles pour la préparation des systèmes de libération contrôlée pour les peptides et les protéines ayant une demi-vie courte.

3.6.10 Poloxamer 407 en combinaison avec un gel formé de polymères

Le développement de formulations liquides, thermogélifiants sur le site administré, a un intérêt croissant. Cela comprend par exemple les systèmes de délivrance de médicaments par voie parentérale. Lorsqu'elle est injectée en intra-musculaire la formulation crée un dépôt pour la libération contrôlée de médicaments par gélification à température corporelle. L'ajout de F 68 a fortement influencé les propriétés thermo rhéologiques des formulations de F 127. Contrairement à l'effet commun des sels utilisés (par exemple NaCl) l'ajout de F 68 à F 127 a entraîné une augmentation de la température de transition soluble-gel, probablement dûe à la formation de micelles mixtes [272]. D'autres arguments pour l'utilisation de ces polymères sont leurs capacités solubilisantes et une bonne compatibilité avec les médicaments.

3.6.11 Propriétés pharmacologiques propres du Poloxamer 407

Outre son utilisation galénique comme transporteur thermoréversible, le Poloxamer 407 possède des actions pharmacologiques spécifiques. L'occlusion vasculaire temporaire obtenue avec poloxamère gel peut avoir des applications thérapeutiques [273]. De façon similaire, des données suggèrent que le couple Poloxamer 407-base pourrait être

une micro-émulsion efficace comme agent pour extraire des médicaments lipophiles (par exemple : bupivacaïne) à partir du plasma, en cas de surdosage [274]. Par ailleurs, le Poloxamer 407 a fait l'objet de recherches pharmacologiques dans différents domaines tels que l'immunité, la multiplication des cellules, les cancers et le métabolisme des lipides.

Promotion de la multiplication cellulaire

Le Poloxamer a été proposé comme support pour greffe de matériau osseux par voie topique ou systémique [275, 276]. Il facilite le début de la synthèse du collagène et de la micro-circulation. Du Poloxamer 407 enveloppant une structure endosquelettique non-biodégradable a montré des perspectives intéressantes pour générer les tissus de forme complexe (par exemple, l'oreille humaine) [277]. De très faible concentration de Poloxamer 188 et 407 augmentait la fixation et la croissance des fibroblastes gingivaux humains et pouvait avoir des applications dans la guérison après les plaies chirurgicales précoces [278]. Néanmoins, des études complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre cette action et son éventuelle application.

Propriétés d'Immuno-modulation

Le Poloxamer 407 exerce une modulation importante de la fonction immunitaire et favorise l'action de divers agents. Il existe une amélioration significative des deux réponses immunitaires : à médiation cellulaire et humorale. Divers Poloxamer tels que le Poloxamer 407 ont augmenté l'expression du transgène et amélioré l'expression d'ADN plasmidique dans le muscle squelettique de souris [243]. Des nanoparticules enrobées de Poloxamer 407 offrent une alternative intéressante pour réduire significativement l'absorption hépatique. Le mécanisme précis de reciblage n'est pas encore clair, mais le copolymère travaille comme «camouflage » pour éviter la reconnaissance par les macrophages [279]. Un faible degré de distribution dans divers organes, spécialement le foie a été trouvé.

Ces propriétés d'immuno-modulations ont été proposées pour résoudre les problèmes de biocompatibilité rencontrés dans le développement pharmaceutique. Poloxamer 407 réduit l'activation des neutrophiles observée avec des microsphères de compositions différentes.

Promotion cytotoxique

Le Poloxamer peut interagir avec plusieurs médicaments résistants aux cellules cancéreuses par chemosensibilisation des cellules cancéreuses. La cible pharmacologique de cette cytotoxicité reste incertaine. Cette action anticancéreuse comprend plusieurs mécanismes complexes : fluidification impliquant la membrane cellulaire, l'appauvrissement de l'ATP, l'inhibition de l'efflux de médicaments et la réduction de l'activité de détoxification. Des études préliminaires avec des animaux ont montré que l'activité cytotoxique des agents antinéoplasiques n'est augmentée que de deux à trois ordres de grandeur (doxorubicine et la daunorubicine). La promotion des autres familles d'agents antinéoplasiques est encore inconnue mais a bénéficié d'étude de phase I [280].

3.7 EFFETS INDESIRABLES DU POLOXAMER 407

Pendant longtemps le Poloxamer 407 était considéré comme ayant une bonne tolérance quel que soit le site d'administration utilisé. Ces données ont été modifiées par des études récentes. En fait, l'administration parentérale à haute dose de Poloxamer 407 conduit à des altérations graves du métabolisme des lipides et de la filtration rénale. Il s'agit d'études réalisées sur des animaux en utilisant des doses élevées après administration intra-péritonéale (IP) de Poloxamer 407[281, 282].

Par ailleurs, l'absorption du Poloxamer 407 se fait préférentiellement dans le tissu hépatique par rapport au tissu rénal et peut expliquer des altérations dans le métabolisme des lipides. L'excrétion du poloxamer est essentiellement rénale avec une demi-vie estimée à 20,9 h [266]. Les données sur la pharmacocinétique chez l'homme restent non précisées. Ces paramètres comme la concentration plasmatique, la distribution tissulaire, le métabolisme ou l'élimination peuvent offrir des informations pertinentes sur les risques potentiels liés à l'administration du Poloxamer 407.

3.7.1 Altération du métabolisme lipidique

Plusieurs articles ont souligné l'action potentielle de Poloxamer 407 sur le métabolisme lipidique [283, 284]. L'administration IP de Poloxamer 407 à hautes doses a induit une hypertriglycéridémie et l'hypercholestérolémie significative mais régressives spontanément. Le Poloxamer 407 interfèrerait avec l'activité catalytique de la 3-OH-3 méthylglutaryl coenzyme A réductase, ce qui représente l'étape clé de la biosynthèse du cholestérol [285, 286]. La dose nécessaire de Poloxamer 407 pour produire une hyperlipidémie est communément de 0.5-1 g / kg IP. Néanmoins, une étude tenue par Blonder et al sur des lapins New-Zealand ayant reçu des doses importantes de Poloxamer 407 (137,5 mg / kg poids du corps, dose 50 fois supérieure au dose des études humaines du gel LeGoo) a montré une augmentation temporaire significative des triglycérides sériques et du cholestérol avec une augmentation maximum 2 h après l'injection sous-cutanée [283]. Cet effet était dose-dépendant et n'apparaissait pas avec des doses inférieures de Poloxamer 407. Des études complémentaires sont nécessaires pour clarifier l'impact de cette altération métabolique, qui reste très débattue. L'administration de Poloxamer 407 à des souris sur une longue durée (1 an) n'affectait ni la concentration totale de cholestérol hépatique, ni l'alanine, ni l'activité de l'aspartate. L'administration de Poloxamer 407 n'a pas abouti à augmenter la morbidité ou la mortalité comparativement aux souris témoins [287, 288].

3.7.2 Altération de la capacité de filtration rénale

Li et al ont suggéré que le Poloxamer 407 pourrait modifier la capacité de filtration du rein [282]. Abe et al. ont rapporté de toxicité rénale sévère de Poloxamer 407 chez les lapins et les souris (chez la souris entre 1,7 g et 5,0 g / kg de poids corporel poids soit entre 500 à 1500 fois les doses maximales utilisées dans les études humaines du gel LeGoo) [289]. Des travaux antérieurs effectués avec une inuline / Poloxamer 407 gel, administrée en intra-musculaire, ont montré une diminution de 60% dans la clairance plasmatique de l'insuline par altération de la filtration glomérulaire [290]. Néanmoins, selon Pec et al, le Poloxamer 407 injecté chez l'homme par voie intramusculaire ou sous-cutanée ne saurait pas interférer avec l'élimination rénale d'une protéine éliminée principalement par le rein [266].

3.8 CHOIX DU POLOXAMER POUR LE GEL LEGOO®

L'ensemble de ces données ont été fournies par Pluromed, Inc. (Boston, MA, US)

3.8.1 Choix du Poloxamer 407

Certains polymères de Poloxamer possèdent la propriété thermosensible avec une réversibilité de leur état. Plus précisément, les Poloxamer 188, 338 et 407 sont thermosensibles, ce qui signifie qu'ils sont dans un état liquide à basse température et se transforment en gel lorsque la température augmente.

Ces trois poloxamer spécifiques ont été testés pour leur capacité à agir comme une occlusion artérielle temporaire. Bien que tous trois aient été en mesure d'obstruer les vaisseaux sanguins in vivo, les concentrations requises en polymère Poloxamer 188 étaient très élevées de plus de 35% pour répondre au besoin. Cette haute concentration en polymère a rendu la solution de départ très visqueuse et difficile à injecter. Les polymères Poloxamer 338 et 407 requéraient une concentration moindre d'environ 20%, pour être efficaces. Le Poloxamer 338 a nécessité une température de gélification plus haute que le Poloxamer 407 (figure 8). Le Poloxamer 407 a été choisi en raison de l'abondance de la littérature sur son utilisation dans le domaine médical, y compris l'utilisation comme un implant à dose plus élevée que celle qui serait envisagée pour l'occlusion temporaire des vaisseaux sanguins.

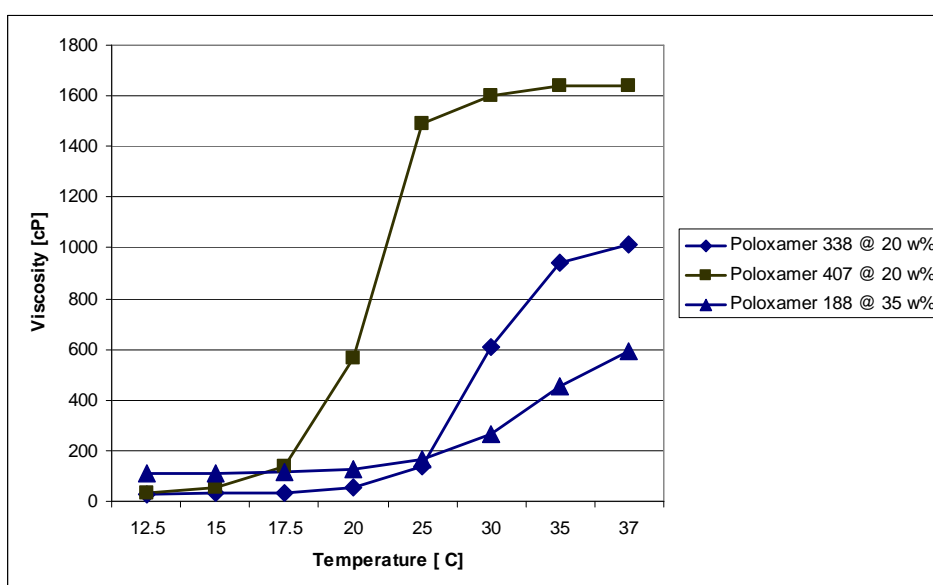


Figure 8 : augmentation de la viscosité avec la température pour 3 différents poloxamers thermosensibles à transition rapide (RTP)

Cependant, comme nous l'avons noté au paragraphe 3.3 ci-dessus, l'augmentation de viscosité avec la température pour chacune de ces solutions (qu'il s'agisse de poloxamer 188, 404 ou 338) était trop lente pour permettre une occlusion efficace et fiable des vaisseaux sanguins, le flux sanguin pouvant causer une dissolution rapide et anticipée avant la complétion du processus de gélation en raison de la nature dynamique d'un vaisseau sanguin avec le flux sanguin à l'intérieur.

Un processus de fractionnement en solution aqueuse a permis d'isoler la fraction la plus thermosensible de ces poloxamers, permettant la préparation de solutions aqueuses qui montrent une augmentation très rapide de la viscosité avec la température (figure 9). En outre, le point où les propriétés thermosensibles et réversibles commencent à apparaître était maintenant clairement définissable (températures de transition), contrairement aux poloxamers de base. Ces nouvelles préparations sont connues sous l'abréviation RTP™ (pour : Rapid Transition Polymer).

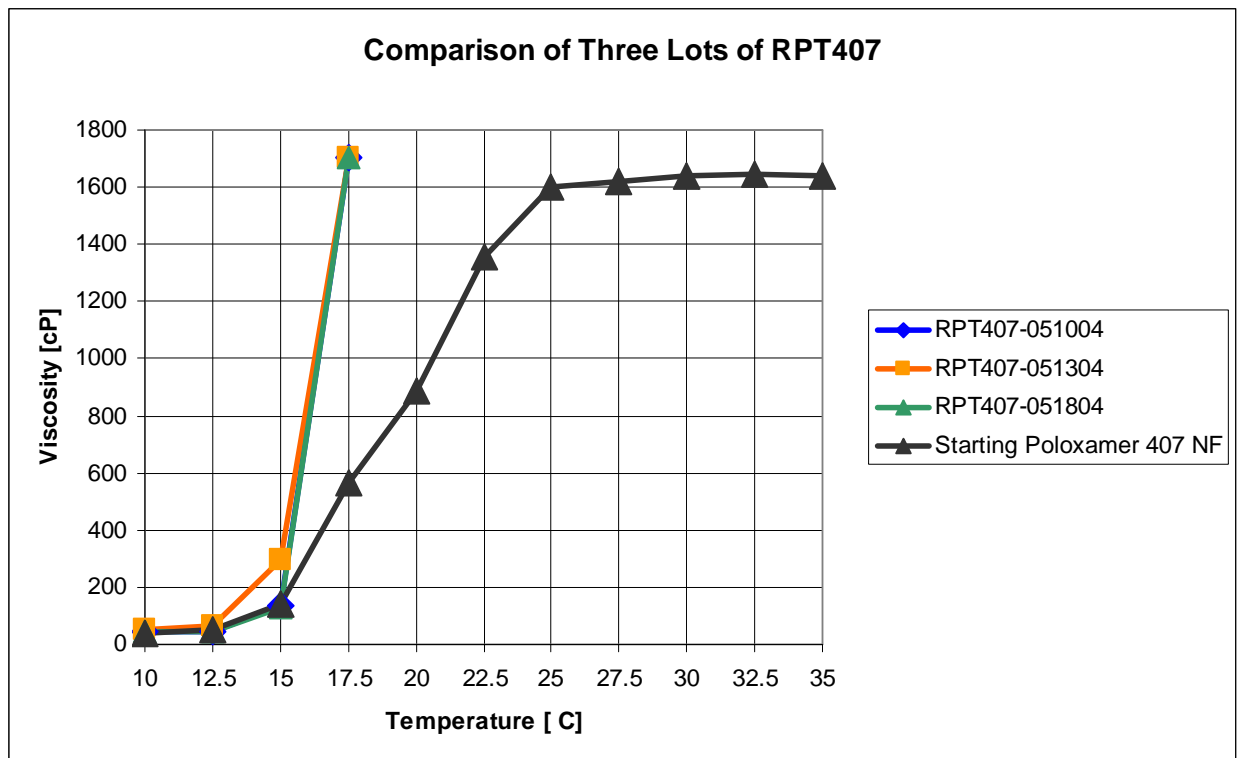


Figure 9 : Comparaison, en préparation aqueuse identique, entre 3 lots de RTP 407 (fraction pure) et poloxamer de base (non fractionné NF)

Le point d'inflexion a donc été choisi comme l'un des critères de qualité. Avec un viscosimètre, la viscosité de RTP 407 a été également mesurée à la température

physiologique de 37 ° C. En raison de l'augmentation rapide de la viscosité de RTP 407, l'occlusion du vaisseau sanguin a été très rapide, nécessitant peu de matériel.

3.8.2 Choix de la concentration

Les propriétés thermosensibles et réversibles de solutions de RTP407 sont apparentes dans la gamme de concentration de 12,5% à 25%. Un temps d'occlusion de 10 à 15 minutes semblait pertinent pour prévoir un délai suffisant pour la plupart des procédures vasculaires. Les temps de dissolution après immersion dans une solution aqueuse ont été étudiés in vitro. Pour les concentrations de 12,5 à 17,5% la réouverture se faisait en moins de 15 minutes, tandis que pour des concentrations de 20 à 25% le temps d'occlusion était très supérieur et suffisant (figure 10)

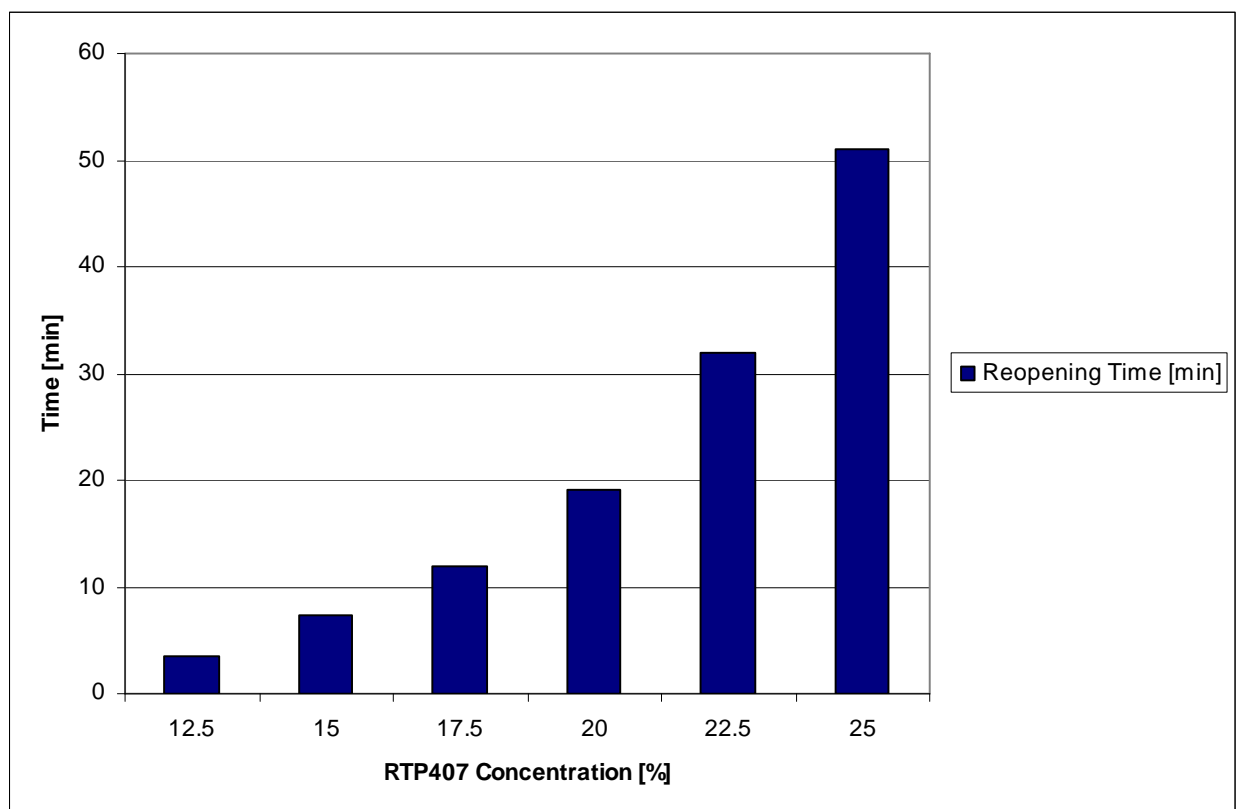


Figure 10 : Temps de Réouverture de différentes concentrations de RTP407

Les concentrations de 20 à 25% ont ensuite été testées in vivo dans un modèle de porc. La concentration de 20% permettait d'obtenir des temps d'occlusion de 10 à 15 minutes dans chaque cas. Les concentrations plus élevées permettaient également des

temps d'occlusion suffisant, mais n'étaient pas nécessaires. Sur la base du diamètre du vaisseau et le temps nécessaire de l'occlusion de 10 minutes, une formule simple a été développée et testée in vivo dans un modèle d'occlusion de l'artère rénale [273].

Une autre considération dans le choix de la concentration pour l'occlusion des vaisseaux était l'exigence de pouvoir ré-ouvrir l'occlusion à volonté avec de la glace. Plus la concentration utilisée était élevée, plus la réouverture du vaisseau sanguin avec la glace était difficile. Ceci a été démontré dans une série d'études comparatives avec les solutions de Poloxamer purifié 407 à 20, 22,5 et 25% dans un modèle porcin [291]. Les deux concentrations répondant le mieux aux critères définis initialement étaient les concentrations à 20 et 22%. Pour une efficacité identique la concentration inférieure a été choisie.

3.8.3 Spécification pour la viscosité

Comme indiqué précédemment, la concentration à 20% de RTP 407 a été choisie pour satisfaire l'exigence d'occlusion transitoire et la réouverture à volonté avec de la glace. Comme indiqué précédemment, le point d'inflexion de la viscosité est typique pour le RTP 407. En règle générale, une forte augmentation en moins de 3 ° C est vue entre 16 - 19 ° C (Figure 11). Cette caractéristique a été choisie comme l'un des critères. En outre, la viscosité à 37 ° C de RTP 407 purifié est sensiblement plus élevée que le poloxamer 407 de base non purifié.

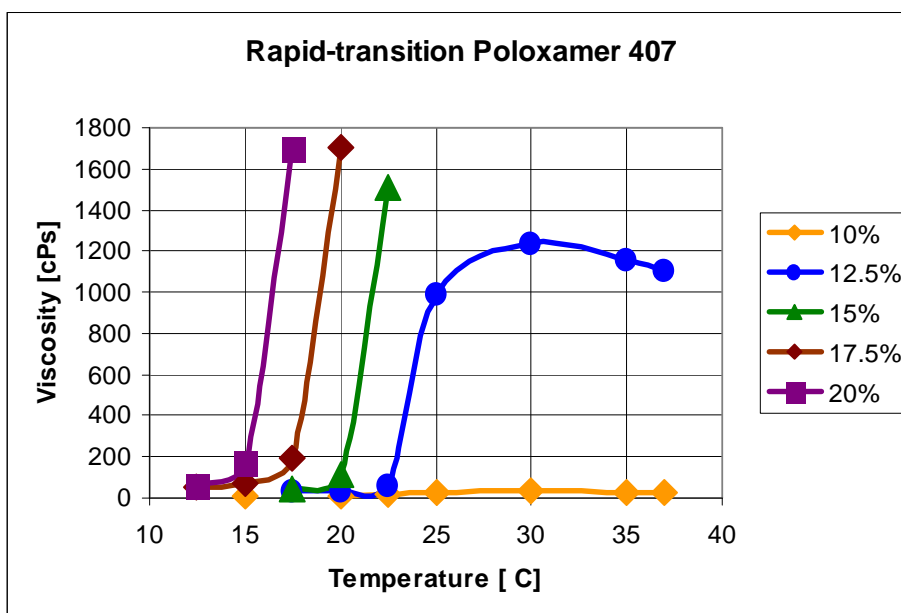


Figure 11 : viscosité de Poloxamer 407 purifié en fonction de la température et de la concentration

3.8.4 Conditionnement

Initialement, la solution de Poloxamer 407 purifiée était emballée dans un flacon en verre. Il était nécessaire de refroidir le flacon pour pouvoir transférer le produit dans une seringue pour l'injection. Cette solution était trop compliquée et il a fallu développer une solution facile d'utilisation. Par conséquent, les seringues pré-remplies ont été développées avec des tailles différentes pour des quantités différentes : 0,25; 0,5; 1; 2,5; 10 ml.

L'injection utilise une canule développée pour cet usage, avec un bout olivaire atraumatique (figure 12).

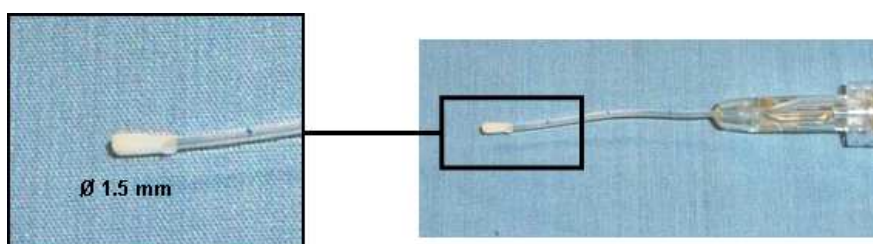


Figure 12 : embout olivaire atraumatique de la canule d'injection de 1.5 mm de diamètre

Il existe différentes taille d'embout : 1 ; 1,5 ; 2 ; 3 ; 4 mm de diamètre.

Il existe par ailleurs deux longueurs de canules : 40 et 80 mm de long (Figure 13).

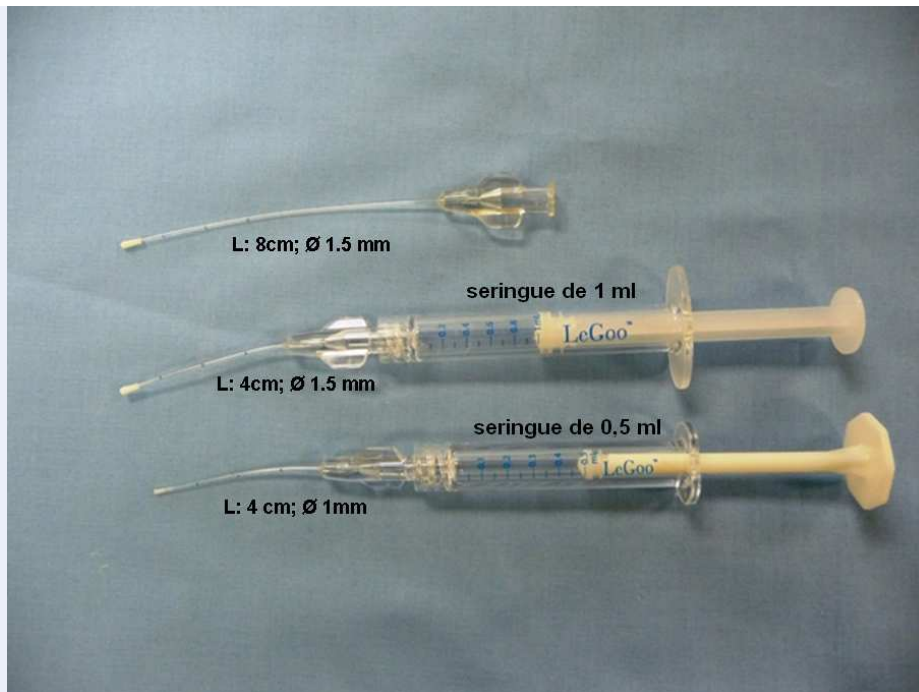


Figure 13 : seringues de 1 et 0,5 ml, avec des canules de longueur 40 et 80 mm de longueur pour un diamètre de 1,5 mm, et une canule de 40 mm de long pour un diamètre de 1 mm

Les seringues de gel peuvent être conservées dans leur emballage pendant deux ans à température ambiante.

3.9 ASPECTS REGLEMENTAIRES

3.9.1 Pluromed

La compagnie Pluromed Inc., est basée à Boston aux Etats-Unis, et a été fondée en 2003 par Jean Marie Vogel et Alex Schwarz. Elle développe des gels réversibles thermosensibles, pour des applications médicales, dont le gel BackStop pour l'urologie (traitement des calculs rénaux), le gel LeGoo pour l'application vasculaire et le Lumagel pour une application endovasculaire en oncologie interventionnelle.

3.9.2 Dispositif médical implantable temporaire

Selon les règles appliquées pour classer les dispositifs médicaux (annexe IX du Livre V bis du code de la santé publique) : ce dispositif n'étant pas un implant et son action étant accessoire (matériaux de comblement pour obturation), il est classé en IIb suivant la règle 7 : DM invasif de type chirurgical à court terme (moins de 60 minutes).

3.9.3 Marquage CE

Le marquage CE a été délivré le 02 mars 2007 par la société BSI (UK) et est référencé sous le numéro 512076. (Annexe 1)

3.10 METHODE D'UTILISATION

3.10.1 Préparation de l'artère coronaire

Après exposition et stabilisation de l'artère coronaire cible à revasculariser, seule la partie antérieure de l'épicaarde et de l'adventice de l'artère doit être disséquée. Il n'est pas nécessaire de disséquer les parties latérales en amont ou en aval comme cela doit être réalisé pour utiliser les élastiques (figure 14).

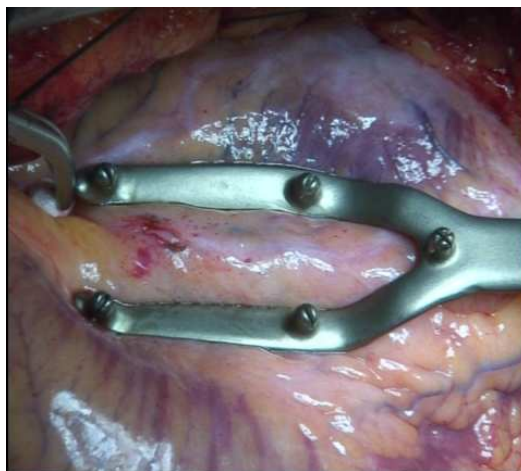


Figure 14 : Dissection de la face antérieure de l'artère coronaire.

3.10.2 Injection du gel

L'injection du gel se fait par l'artériotomie (figure 15 a-b) en utilisant les canules spécifiques avec les embouts olivaires atraumatiques et avec un contrôle du flux d'amont par compression par un petit tampon monté sur pince ou par compression manuel au doigt en amont sur l'artère coronaire.

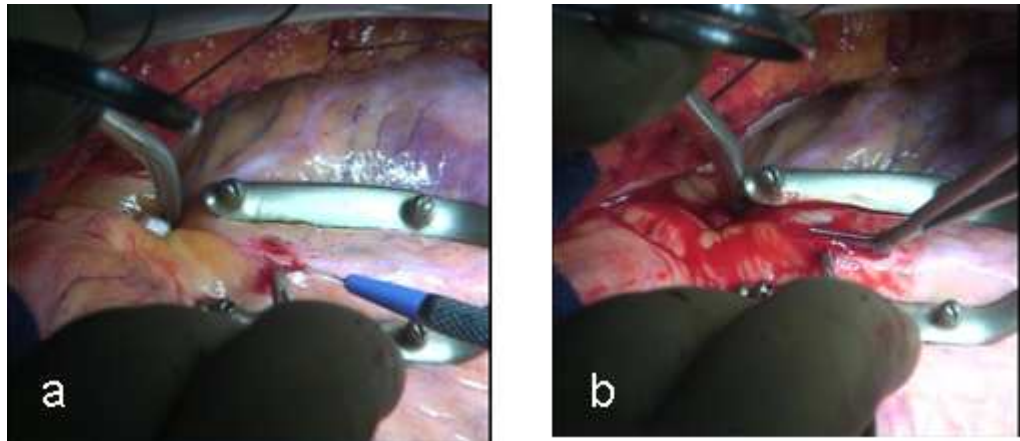


Figure 15 : a/ artériotomie, avec compression d'amont ; b/ l'artériotomie est complétée au ciseau de Potts.

La qualité de l'occlusion dépend de la technique d'injection : injection continue avec un mouvement de retrait, avec une longueur d'occlusion qui dépend du diamètre du vaisseau à occlure. On débute par une injection proximale (figure 16), et en fonction du saignement distal une injection distale peut être réalisée.

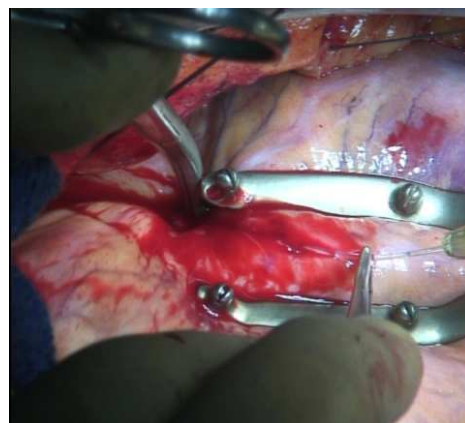


Figure 16 : injection proximale du gel LeGoo au travers de l'artériotomie

L'artère occluse est maintenue ouverte par effet de stent du gel (figure 17).



Figure 17 : Artère coronaire occluse, avec effet de stenting

En cas de saignement résiduel provenant d'une branche septale ou collatérale qui n'aurait pas été occluse au cours de la première injection, une injection peut être réalisée en ciblant directement cette branche si elle est accessible, le plus souvent en utilisant une canule de 1 mm de diamètre. De même si un saignement apparaît en amont ou en aval avant la fin de la réalisation de l'anastomose, une nouvelle injection de gel peut être réalisée.

L'anastomose peut être réalisée, le gel qui est transparent et souple peut se trouver au niveau de l'artériotomie mais peut être traversé par l'aiguille de suture (figure 18).



Figure 18 : suture au niveau de l'artère coronaire

3.10.3 Dissolution du gel

Avant l'achèvement de l'anastomose, il est préférable de dissoudre le gel. La dissolution du gel se fera en premier sur de la partie distale de l'artère coronaire, puis de la partie proximale. La technique décrite au niveau des artères coronaires par la société Pluromed est l'application de glace directement sur l'épicarde en regard de l'artère coronaire. La diminution de température du gel va modifier la configuration des molécules (3.3 Propriétés générales du gel), qui vont se séparer et le gel devient alors liquide et est chassé par le flux sanguin à travers l'anastomose qui est restée ouverte. Cette technique est très efficace mais peut nécessiter de 30 à 60 secondes (figure 19 a-b).

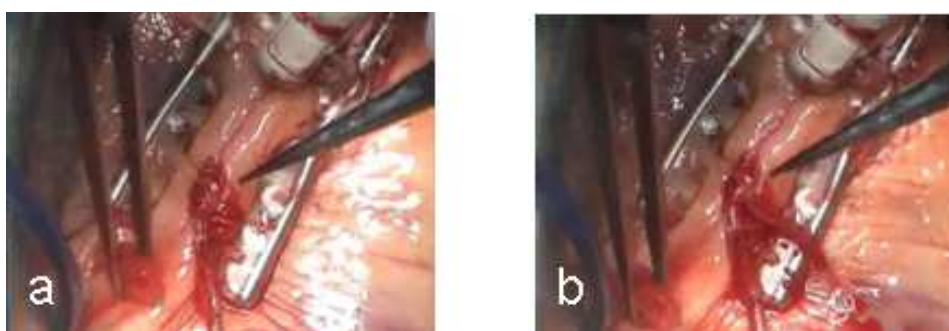


Figure 19 : a/ utilisation de glace pour dissoudre le gel qui est expulsé à travers l'anastomose ; b/ restauration du flux après dissolution du gel

Nous avons développé d'autres techniques pour dissoudre le gel, car la technique de la glace nécessite de congeler des poches de sérum physiologique, qui doivent être sorties et préparées durant la réalisation de l'anastomose, et en cas de présence de graisse sur le cœur (qui isole l'artère coronaire), la dissolution peut être retardée. La technique la plus utilisée actuellement est celle qui permet de casser le bouchon de gel dans l'artère en utilisant une sonde habituellement utilisée pour tester les sténoses dans les artères coronaires : la sonde de Parsonnet (Bard). Cette sonde d'un calibre de 1.5 mm va traverser le bouchon créant un orifice fragilisant le bouchon. La résistance au flux sanguin ne sera plus suffisante et le flux sera restauré en expulsant le gel à travers l'anastomose. Cette technique est simple et permet de tester l'absence de sténose au niveau de l'anastomose, mais nécessite l'utilisation d'une sonde spécifique (figure 20).

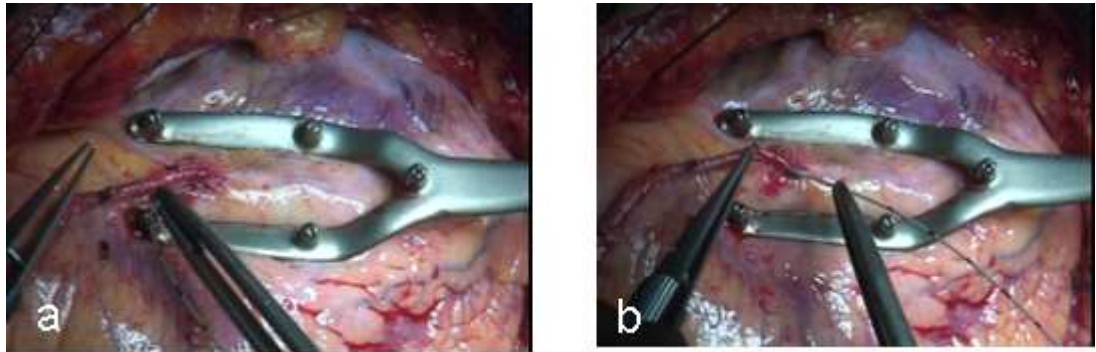


Figure 20 : a/ introduction de la sonde de Parsonnet en aval ; b/ introduction de la sonde de Parsonnet en amont

D'autres techniques sont possibles mais moins utilisées. Un massage par une légère pression sur l'artère coronaire peut être réalisé pour chasser le gel vers l'anastomose qui est encore ouverte. On peut utiliser le doigt (figure 21 a) ou le dos d'une pince à disséquer (figure 21 b). Ces techniques permettent de compléter une dissolution incomplète par une autre technique (glace ou sonde) ou en cas de nécessité de réouverture rapide (mise en place d'un shunt intra-coronaire)

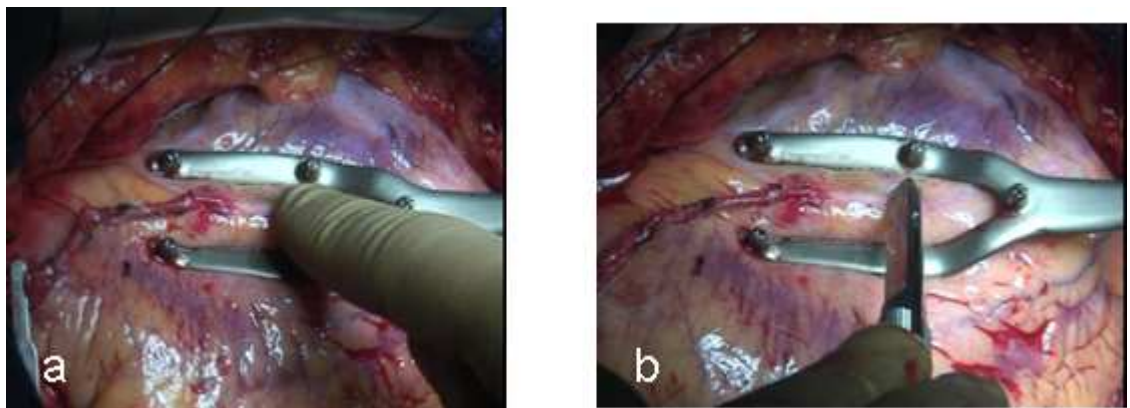


Figure 21 : a/ massage au doigt de l'artère coronaire ; b/ massage avec le dos d'une pince.

La dernière technique possible pour dissoudre le gel est l'injection de sérum physiologique directement dans le vaisseau permet de dissoudre le bouchon de gel. Cette technique est rapide. Elle nécessite une canule spécifique. La canule d'injection peut être utilisée mais ne pourra plus être utilisée pour l'injection de gel, en raison de présence de

sérum physiologique à l'intérieur de la canule qui diminuera la concentration du gel qui sera alors inefficace. De plus il faut éviter l'injection d'air (figure 22).

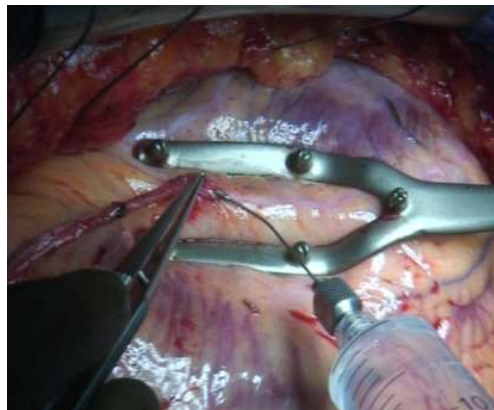


Figure 22 : injection de sérum physiologique directement dans l'artère coronaire.

Compte tenu des caractéristiques du gel, il se dissout spontanément en 10 à 15 minutes environ au contact du sang. Le flux est alors restauré spontanément. Il est simplement nécessaire d'attendre une dizaine de minutes avant d'injecter la protamine utilisée pour antagoniser l'héparine injectée en début de procédure.

Après restauration du flux dans le vaisseau, l'anastomose peut être complétée.

3.10.4 Procédure d'utilisation Pluromed

La société Pluromed a décrit une procédure officielle d'utilisation du gel, par des schémas simples (figure 23).

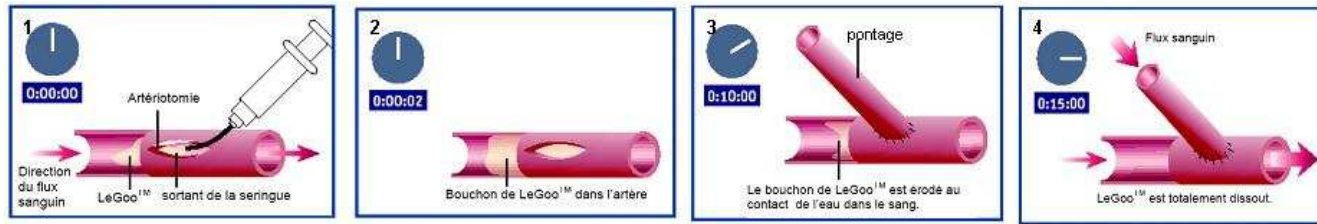


Figure 23 : schéma d'utilisation du gel 1/ injection au travers de l'artériotomie; 2/ artère occluse par le gel, avec artériotomie ouverte ; 3/ confection de l'anastomose ; 4/ dissolution du gel

Cette procédure complète est décrite dans la brochure commerciale fournie par la compagnie Pluromed (Annexe 2)

Fonction endothéliale

4. FONCTION ENDOTHELIALE

La première partie de ce travail a été réalisée dans le laboratoire de chirurgie cardiaque de l'Institut de Cardiologie de Montréal dirigé par le Dr Louis Perrault. En effet la compagnie Pluromed souhaitait réaliser une étude sur la réactivité endothéliale des artères coronaires en condition réelle de chirurgie à cœur battant chez le porc. Le laboratoire ayant une grande expérience dans ce domaine et une expertise à propos de la réactivité endothéliale, des expérimentations ont été réalisées dans le laboratoire.

Il nous a donc semblé nécessaire de rappeler les bases physiologiques de la réactivité endothéliale et leurs différentes voies d'activation et de réactivité.

Alors que l'endothélium a longtemps été considéré comme une barrière inerte ne possédant aucune propriété fonctionnelle majeure, il est maintenant reconnu en tant qu'organe multifonctionnel et régionalement spécifique. Deux types de cellules endothéliales (CE) sont reconnus dans le système cardiovasculaire : les CE endocardiques localisées dans les cavités cardiaques, ainsi que les CE vasculaires qui tapissent l'intérieur des vaisseaux sanguins. Ces deux formes constituent des populations cellulaires distinctes présentant des divergences au niveau de l'origine embryonnaire, de l'organisation du cytosquelette, de la vitesse de croissance en culture et des propriétés électrophysiologiques [292]. À titre d'exemple, les CE endocardiques proviennent de la vasculogénèse de la plaque cardiogénique tandis que les CE vasculaires sont le résultat de l'angiogénèse à partir des cellules mésothéliales de l'épicarde [292]. Toutefois, les deux types partagent des rôles similaires quant à la production des autacoïdes ainsi qu'à la transduction des signaux induits par les neurotransmetteurs, les hormones ou les stimuli mécaniques.

La localisation confère aux CE la possibilité de contrôler sélectivement la perméabilité et le transport des solutés et des macromolécules [293, 294]. De plus, l'endothélium participe à la régulation des facteurs circulants ou générés localement par l'expression d'enzymes extracellulaires, telles que les enzymes de conversion [294]. Au niveau sanguin, l'endothélium sain présente une surface antithrombogénique, antiplaquettaire, anticoagulante ainsi que profibrinolytique [293, 295-297]. Finalement, les CE possèdent un rôle de modulation de la croissance et de la migration, ainsi que de la contraction et de la relaxation des cellules musculaires lisses (CML) sous-jacentes ou des cardiomyocytes [297, 298]. Cette action sur le tonus moteur est le résultat de la libération d'autacoïdes tels que le NO et l'Ang II.

4.1 LE TONUS VASOMOTEUR

Afin de contrôler le tonus vasomoteur, les CE doivent être activées par divers stimuli, incluant les forces de cisaillement ainsi qu'une variété de substances endogènes. Ces dernières sont générées au niveau des cellules du système nerveux autonome (ACh, noradrénaline), sanguines (sérotonine, adénosine diphosphate), ou vasculaires (bradykinine, endothéline [ET-1], Ang II) [298]. En réponse à ces stimuli physiques et humoraux, les CE présentent la capacité de modifier leurs fonctions et leur phénotype de sécrétion afin d'induire une vasodilatation ou une vasoconstriction [299].

4.1.1 Les facteurs relaxants dérivés de l'endothélium

En condition normale, l'activation des CE vasculaires génère de manière prédominante une relaxation des CML sous-jacentes, conférant aux facteurs contractants une contribution mineure. Trois principaux facteurs synthétisés au niveau endothélial participent aux relaxations vasculaires : le NO, la prostacycline (PGI₂) et le facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium (EDHF). Le médiateur primaire des relaxations dépendantes de l'endothélium au niveau des artères de grand calibre (coronaires, cérébrales, mésentériques et pulmonaires) est le NO. Ainsi, en situation physiologique, la PGI₂ et l'EDHF possèdent des rôles mineurs [300].

Monoxyde d'azote Le NO est une molécule de signalisation ubiquitaire générée par la famille des synthétases du NO, enzymes qui catalysent la conversion de l'acide aminé L-arginine en L-citrulline [301]. Trois isoformes de NOS ont été caractérisées, chacune encodée par un gène différent. L'isoforme inductible de la NOS (iNOS) a initialement été découverte au niveau des macrophages mais sa présence est dorénavant démontrée dans presque tous les types cellulaires, incluant les CE et les cardiomyocytes [302-305]. Son activation, indépendante du Ca²⁺, nécessite une stimulation pathologique appropriée par les médiateurs inflammatoires, incluant les cytokines et les lipopolysaccharides, afin d'induire

une libération massive de NO [306]. Les isoformes constitutives sont la forme neuronale (nNOS), présente dans le système nerveux autonome, les ganglions cardiaques, les cellules musculaires lisses et les cardiomyocytes [307], ainsi que la eNOS, principalement localisée dans les cardiomyocytes de même que dans les CE coronariennes et endocardiques [308]. Au niveau des cardiomyocytes, il a toutefois été démontré que les deux isoformes constitutives étaient exprimées dans des compartiments subcellulaires distincts, ce qui permet le couplage avec différentes molécules effectrices et l'induction d'une réponse divergente suite à l'activation enzymatique [309].

Selon le mode de stimulation des CE, l'activation de la eNOS peut survenir par deux mécanismes distincts. D'un côté, l'augmentation des forces de cisaillement au niveau de la paroi vasculaire ou des cavités cardiaques est à la source d'une activation mécanique de l'enzyme. Ce mécanisme implique une phosphorylation par une protéine kinase α -sérine/thréonine (Akt) [310]. D'un autre côté, une variété de substances endogènes peuvent interagir au niveau de leur récepteur endothélial, situé sur la membrane apicale. Suite à l'interaction avec le récepteur couplé aux protéines Gi (récepteurs sérotoninergiques, de l'endothéline et ADRs) ou Gq (récepteurs des kinines et purinergiques), il se produit une augmentation intracellulaire de Ca^{2+} [296]. Cette élévation cationique, combinée à la présence d'oxygène, de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH) et de cofacteurs (tétrahydrobioptérine [BH_4], flavine adénine dinucléotide et flavine mononucléotide), mène à l'activation de la eNOS et ainsi à la formation de NO (Figure 24) [296].

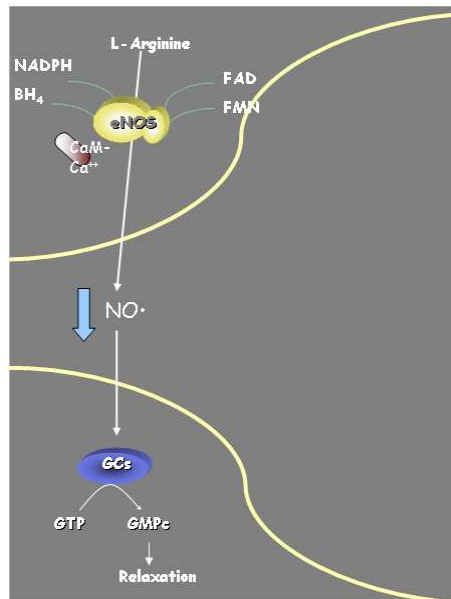


Figure 24 : Synthèse endothéliale du monoxyde d'azote

BH₄ : Tétrahydrobioptérine, Ca²⁺ : Calcium, CaM : Calmoduline, eNOS : Synthétase endothéliale du monoxyde d'azote, FAD : Flavine adénine dinucléotide, FMN : Flavine mononucléotide, GCs : Guanylate cyclase soluble, GMPc : Guanosine monophosphate cyclique, GTP : Guanosine triphosphate, NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit.

Suite à la diffusion du NO au niveau des CML sous-jacentes, la guanylate cyclase soluble est activée et induit une augmentation de la synthèse de la guanosine monophosphate cyclique (GMPc) à partir de la guanosine 3'5-triphosphate [311]. Le second messenger active une protéine kinase G et cette dernière est responsable de l'augmentation de l'efflux du Ca²⁺ des CML, de la recapture du Ca²⁺ dans les réservoirs intracellulaires et de la déphosphorylation de la chaîne légère de la myosine. Ces actions mènent à l'inhibition de l'appareil contractile [312]. La protéine kinase G est également impliquée dans la phosphorylation des canaux K⁺ dépendants du Ca²⁺ afin d'induire une hyperpolarisation et ainsi d'inhiber la vasoconstriction [313].

Facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium Indépendamment de l'activation de la eNOS et de la cyclooxygénase (COX), des relaxations dépendantes de l'endothélium peuvent être induites par un mécanisme de contact ou de diffusion [314]. Les bases moléculaires de ces relaxations demeurent obscures puisqu'elles varient selon le lit vasculaire étudié, l'espèce, le sexe, le vieillissement et la pathologie [315, 316]. Par contre,

que le mécanisme soit physique ou électrique, son initiation repose sur une augmentation intracellulaire endothéliale de Ca^{2+} et sur une activation subséquente des canaux endothéliaux K^+ sensibles au Ca^{2+} , de conductance faible et intermédiaire [315]. Cette ouverture mène à une hyperpolarisation des CE, ensuite transmise aux CML par des jonctions hétérocellulaires ou par la diffusion d'un EDHF. Les facteurs diffusibles proposés à ce jour incluent les ions potassiques, le peroxy-nitrite, le peptide natriurétique de type C, les *S*-nitrosothiols ainsi que l'acide époxyécosatriénoïque (11,12-EET, un métabolite du cytochrome P450 2C8/9) [315, 317-320]. Il semblerait toutefois que chacun de ces EDHF participe à la modulation des jonctions hétérocellulaires, favorisant ainsi la transmission de l'hyperpolarisation endothéliale vers les CML sous-jacentes par le mécanisme de contact [321]. Peu importe le mécanisme de transmission, la contribution de cette voie relaxante varie selon le diamètre des artères [322], étant plus marquée au niveau des artères de résistance. Dans les vaisseaux de conductance, l'EDHF et le NO peuvent contribuer aux relaxations dépendantes de l'endothélium, mais le rôle du NO prédomine en condition physiologique. Toutefois, lorsque la synthèse du NO est inhibée, l'EDHF peut induire des relaxations pratiquement normales [300].

Prostacycline La synthèse de la PGI_2 dépend initialement d'une augmentation intracellulaire endothéliale de Ca^{2+} [323]. Le prostanoloïde vasodilatateur est ensuite formé par une activation chronologique de la phospholipase A_2 , de la COX (également nommée synthétase de la prostaglandine H_2) et de la synthétase de PGI_2 . Contrairement au NO qui diffuse librement à travers la bicouche lipidique des CML, la PGI_2 interagit au niveau de son récepteur membranaire spécifique et ceci limite sa portée d'action [324]. Le récepteur à la PGI_2 est couplé à l'adénylate cyclase, enzyme responsable de la conversion de l'ATP en AMPc [325]. Ce second messager induit la relaxation vasculaire par une hyperpolarisation secondaire à l'ouverture des canaux K^+ sensibles à l'ATP [326]. De plus, l'AMPc est responsable de l'efflux musculaire du Ca^{2+} , ce qui provoque une inhibition de la machine contractile, telle que rencontrée avec le NO [327]. Toutefois, il a récemment été démontré que la PGI_2 pouvait également agir à titre de facteur contractant. Chez les rats vieillissants ou hypertendus, l'expression de la synthétase de la PGI_2 augmente, élevant ainsi la production du prostanoloïde. Sa liaison se produit au niveau du récepteur thromboxane-prostanoloïdes, induisant une contraction plutôt qu'une relaxation [328].

4.1.2 Les facteurs contractants dérivés de l'endothélium

L'endothélium peut induire une contraction du muscle vasculaire sous-jacent en réponse à certains stimuli, par la diminution de la libération des facteurs relaxants et/ou par l'augmentation de celle des facteurs contractants. Ces derniers incluent les prostanoides vasoconstricteurs, l'ET-1, l'Ang II et les espèces réactives oxygénées

Prostanoïdes vasoconstricteurs Les deux principaux prostanoïdes endothéliaux impliqués dans la contraction vasculaire sont la thromboxane A₂ et la prostaglandine H₂. Cette dernière est le précurseur de tous les autres et dérive de l'acide arachidonique suite à l'action de la COX-1 (expression constitutive) ou de la COX-2 (expression inductible). Par la suite, la synthétase de la thromboxane métabolise la prostaglandine H₂ en thromboxane A₂ [329]. Les deux molécules exercent leur action vasoconstrictrice sur les CML par la liaison du récepteur thromboxane-prostanoïde. Conséquemment à la diminution de la concentration intracellulaire d'AMPc, il se produit une augmentation de l'influx du Ca²⁺ par les canaux dépendants du voltage et les canaux-récepteurs [330]. En plus de cette voie de modulation du tonus vasculaire, la COX est à l'origine d'un second mécanisme de vasoconstriction via la production d'anions superoxyde. Ces espèces réactives oxygénées produisent une vasoconstriction par une action directe sur les CML [331] ou par une action indirecte suite à la neutralisation du NO.

Endothéline-1 L'expression de l'ARNm de ET-1 au niveau endothélial est stimulée par l'hypoxie, les facteurs de croissance, l'Ang II et les neurohormones. Ainsi, l'augmentation intracellulaire de Ca²⁺ est à l'origine de la transcription de l'ARNm du précurseur pré-pro-ET-1 [332]. Ce dernier est par la suite converti en big-ET-1 par l'action des convertases et clivé en peptide mature par l'action de l'enzyme de conversion de l'endothéline 1a [157] [333]. L'ET-1 résultante peut se lier à deux sous-types de récepteurs vasculaires, soit ET_A et ET_B. Exprimé à la surface endothéliale, le sous-type ET_B est impliqué dans la génération d'une vasorelaxation par l'induction de la synthèse du NO et de PGI₂. En revanche, lorsque de fortes concentrations d'ET-1 sont présentes, cette

relaxation est contrebalancée par la stimulation musculaire de ET_A et ET_B. De fait, l'activation de la phospholipase C par la protéine Gq couplée aux récepteurs musculaires entraîne la formation d'IP₃ et de DAG. Ces deux molécules sont respectivement responsables de l'augmentation intracellulaire de Ca²⁺ et de l'activation de la protéine kinase C, induisant une contraction des CML [332]. L'ET-1 est le plus puissant vasoconstricteur connu à ce jour. Toutefois, sa production relativement lente provoquée par la transcription de l'ARNm suggère un rôle dans la régulation du tonus à long terme plutôt qu'aigu. En condition basale, sa génération est inhibée par la synthèse du NO, suggérant une participation mineure au niveau de l'homéostasie vasculaire mais majeure en condition pathologique, tel qu'en présence d'une dysfonction endothéliale [334, 335].

Angiotensine II Tel que mentionné précédemment (Sous-section *Système rénine-Ang-aldostérone*, p.20), l'Ang II provient de l'action de la rénine sur le précurseur angiotensinogène, ainsi que de la conversion subséquente de l'Ang I par l'ECA [336]. Le peptide peut lier le sous-type AT₁ localisé au niveau endothélial. Ce dernier est couplé à la phospholipase C et induit une augmentation de la concentration intracellulaire de Ca²⁺ et, subséquemment, de la synthèse de facteurs vasorelaxants NO et PGI₂ [337]. La liaison du même récepteur peut également conduire, par l'intermédiaire de la protéine Gq, à l'activation de l'oxydase de la NAD(P)H [338]. Cette enzyme pro-oxydante est à l'origine de la synthèse du peroxyde d'hydrogène, candidat potentiel au titre de EDHF [339]. En dernier lieu, la liaison du sous-type endothélial AT₂ stimule la production du NO via la phosphorylation de la eNOS au niveau de Ser¹¹⁷⁹ [340]. Toutefois, ces actions sont surpassées par la liaison musculaire de l'Ang II, action qui se solde par une vasoconstriction suite à l'activation du sous-type AT₁ [341]. Ce récepteur, couplé à la protéine Gq, active une protéine kinase C et cette dernière initie une cascade cellulaire qui entraîne une sensibilisation des CML au Ca²⁺ par l'action de la protéine Rho.

Provenant de la conversion de l'Ang II par ECA 2, l'Ang (1-7) possède une action vasomotrice qui va à l'encontre de l'activité principale de l'Ang II. Suite à sa liaison endothéliale, l'Ang (1-7) stimule la production de NO, PGI₂ ou EDHF et la contribution relative de chacun dans la relaxation des CML sous-jacentes varie selon l'espèce et le territoire vasculaire [342, 343]. Les mécanismes impliqués dans la libération de la prostacycline et du EDHF demeurent nébuleux [342]. Toutefois, Sampaio et ses collègues

ont démontré l'implication du récepteur Mas dans la libération du monoxyde d'azote [344]. Suite à l'interaction de l'agoniste, il s'en suit une phosphorylation du site stimulant Ser¹⁷⁷⁷ ainsi qu'une déphosphorylation du site inhibiteur Thr⁴⁹⁵ au niveau de la eNOS, subséquemment à l'activation de la voie PI3K-Akt [344].

4.2 AUTRES FONCTIONS ENDOTHELIALES

L'endothélium cardiaque exerce une fonction paracrine sur la performance du myocarde, par la libération de facteurs diffusibles incluant le NO, les prostanoïdes, les peptides natriurétiques, l'Ang II, l'ET-1, les kinines et les espèces réactives oxygénées. Inversement, les cardiomyocytes peuvent également affecter la fonction endothéliale, selon leur état métabolique et mécanique. En effet, les facteurs libérés interagissent avec les CE afin d'induire la libération des médiateurs de la contractilité cardiaque [345]. Les facteurs relaxants NO et Ang (1-7) sont impliqués dans l'inhibition du remodelage des cellules musculaires lisses vasculaires ainsi que des cardiomyocytes. Ils contrôlent la survie cellulaire et préviennent le développement de l'hypertrophie, de la prolifération, de la migration et de la fibrose [342]. Le NO présente également une action anti-inflammatoire : l'inhibition de l'expression des molécules d'adhésion à la surface endothéliale empêche l'attachement des cellules pro-inflammatoires [293, 295, 297]. De plus, la liaison de l'Ang (1-7) au sous-type musculaire AT₂ inhibe l'effet de promotion de la prolifération, de l'hyperplasie intimale et de l'hypertrophie induit par le sous-type AT₁, en plus de favoriser l'apoptose [346, 347]. L'action des facteurs vasoconstricteurs tels ET-1 et Ang II est à l'inverse de celle des facteurs relaxants. À titre d'exemple, l'activation musculaire du sous-type AT₁ régule la croissance, la prolifération et la migration cellulaire, la déposition de matrice extra-cellulaire ainsi que la stimulation de l'inflammation [341].

En résumé, les facteurs endothéliaux jouent un rôle fondamental dans le contrôle de l'intégrité fonctionnelle et structurelle de la paroi artérielle et cardiaque, ainsi que dans la régulation de la pression artérielle systémique par son tonus vasomoteur. Ces actions physiologiques sont rendues possibles grâce à un équilibre entre la libération des facteurs autacoïdes présentant des actions opposées, tels le NO et l'Ang II.

Article 1

TEMPORARY CORONARY OCCLUSION DURING OFF-PUMP CORONARY BYPASS GRAFTING WITH THE NEW POLOXAMER P407 DOES NOT CAUSE ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN EPICARDIAL CORONARY ARTERIES

Olivier Bouchot, Marie-Claude Aubin, Michel Carrier, William E Cohn,
Louis P Perrault.

Journal of Thoracic Cardio Vascular Surgery.2006; 132(5):1144-9.

5. ARTICLE 1

5.1 INTRODUCTION

La chirurgie cardiaque à cœur battant (CB) évite l'utilisation de solutions de cardioplégie pour l'arrêt cardiaque et le clampage aortique. Elle peut limiter les dommages liés à l'ischémie du myocarde nécessaire à la chirurgie sous circulation extracorporelle. De plus la chirurgie à cœur battant induit moins de stress oxydatif et de peroxydation lipidique que la chirurgie à cœur arrêté sous CEC. Elle permet aussi de diminuer le saignement post-opératoire.

De nombreuses techniques hémostatiques sont actuellement utilisées en CB, comme les shunts intraluminaux, les clamps vasculaires, les soufflettes à CO₂, et les élastiques, mais leur utilisation peut être associée à des lésions mécaniques de l'endothélium. La technique optimale pour assurer une hémostase sur le site artériotomie pendant la construction de l'anastomose reste à développer.

La nouvelle formulation du poloxamer 407 (RTP407; Pluromed Inc, Woburn, Massachusetts) est un gel biocompatible avec les cellules et le sang, non thrombogène, qui possède une faible toxicité à des doses élevées, et a de faible propriété immunogène. Il est soluble dans des solutions aqueuses à basse température et se solidifie comme un gel à la température corporelle. Cette thermoréversibilité du P407 l'a rendu utile pour les implants transdermiques pour le contrôle des diffusions des médicaments et comme occlusion vasculaire temporaire. L'intégrité de la réactivité microvasculaire a été évaluée après occlusion avec P407, mais son impact au site d'injection dans les artères coronaires épicaudiques n'a pas été évalué.

L'objectif de cette étude était d'étudier les effets de RTP407 sur la vasorelaxation endothélium-dépendante des artères coronaires épicaudiques après une occlusion temporaire pendant la réalisation de pontages coronaires à cœur battant dans un modèle porcin.

5.2 ARTICLE

Temporary coronary artery occlusion during off-pump coronary artery bypass grafting with the new poloxamer P407 does not cause endothelial dysfunction in epicardial coronary arteries

Olivier Bouchot, MD,^{a,*} Marie-Claude Aubin, MSc,^{b,*} Michel Carrier, MD,^c William E. Cohn, MD,^d and Louis P. Perrault, MD, PhD^{b,c}

ET

Objective: The aim of this study was to assess the efficacy of the novel reversible thermosensitive gel poloxamer 407 for occlusion of the coronary vessel necessary for minimally invasive operations and its effects on coronary endothelium.

Methods: Domestic swine were submitted to occlusion of the left anterior descending or right coronary artery using the poloxamer. The left and right internal thoracic arteries were used as grafts to perform coronary artery bypasses. Animals were humanely killed after 3 hours of perfusion (acute; n = 8) or 3 days (subacute; n = 6). The vascular reactivity of coronary artery was evaluated in response to serotonin and bradykinin. Histologic studies were performed to analyze cardiomyocyte necrosis and endothelial coverage.

Results: The gel led to an occlusion of 7.8 ± 2.2 minutes. Concentration-response curves of occluded coronary segments showed no difference of endothelium-dependent relaxations in both operated groups ($P < .05$ vs control). Histologic studies demonstrated the absence of cardiomyocyte necrosis after coronary artery occlusion in the acute group; a small infarct zone was detected in 1 animal in the subacute group, resulting from an occlusion of the first diagonal branch. The endothelial layer coverage was preserved in both groups.

Conclusion: The poloxamer 407 represents a promising technique for obtaining hemostasis at the site of anastomosis during construction of bypasses during beating heart coronary artery surgery, without damage to the endothelium or ischemic consequence.

Beating heart coronary artery surgery avoids the need for cardioplegic arrest and aortic clamping and may limit the ischemic damage to the myocardium associated with conventional cardiopulmonary bypass.¹ Moreover, off-pump coronary artery bypass (OPCAB) induces considerably less oxidative stress and lipid peroxidation than does on-pump bypass and offers in most cases a bloodless surgical field.^{2,3} Many techniques are currently used for OPCAB, including intraluminal shunts, vascular clamps, gas jet blowers, and snares, but their use may be associated with mechanical injury of the endothelium.⁴⁻⁷ The optimal technique to ensure hemostasis at the arteriotomy site during construction of the anastomosis remains to be developed.

The poloxamer 407 (P407; Pluromed Inc, Woburn, Mass) gel is biocompatible with cells and body fluids, nonthrombogenic, possesses low toxicity at high doses, and has weak immunogenic properties.⁸⁻¹⁰ It is soluble in aqueous solutions at low temperature and shows gelation behavior at body temperature. This reverse thermosensitive formulation has made P407 attractive for transdermal implants to

From the Department of Cardiovascular Surgery, Le Bocage Hospital,^a Dijon, France; the Department of Pharmacology, Université de Montréal,^b Montreal, Quebec, Canada; the Department of Surgery, Montreal Heart Institute,^c Montreal, Quebec, Canada; and the Department of Surgery,^d Texas Heart Institute, Houston, Tex.

Financial support for this study was provided by Pluromed Inc (Woburn, Mass) for Food and Drug Administration application. The authors had full control of study design, implementation, data analysis, and manuscript preparation.

Received for publication Feb 2, 2006; revisions received April 5, 2006; accepted for publication April 24, 2006.

Address for reprints: Louis P. Perrault, MD, PhD, Research Center, Montreal Heart Institute, 5000 Belanger St East, Montreal, Quebec H1T 1C8, Canada (E-mail: louis.perrault@icm-mhi.org).

*These authors contributed equally to the work.

J Thorac Cardiovasc Surg 2006;132:1144-9
0022-5223/\$32.00

Copyright © 2006 by The American Association for Thoracic Surgery

doi:10.1016/j.jtcvs.2006.04.028

Abbreviations and Acronyms

| | |
|-------|--|
| BK | = bradykinin |
| 5-HT | = 5-hydroxytryptamine (serotonin) |
| KCl | = potassium chloride |
| LAD | = left anterior descending coronary artery |
| OPCAB | = off-pump coronary artery bypass grafting |
| P407 | = poloxamer 407 |
| RCA | = right coronary artery |

control the delivery of various drugs¹¹ and for temporary vascular occlusion because it solidifies only when it gets in contact with warm blood.¹² The integrity of the microvascular reactivity has been evaluated after occlusion with P407,¹³ but its impact at the injection site in epicardial coronary arteries has not been evaluated. The objective of this study was to study the effects of P407 on endothelium-dependent vasorelaxation of epicardial coronary arteries after temporary occlusion during construction of coronary bypass grafts in a porcine model of OPCAB.

Materials and Methods**Anesthesia**

Twenty Landrace Yorkshire pigs of either gender, aged 8 ± 1 weeks and weighing 25 ± 4 kg, were included in this study. Animals were maintained and tested in accordance with the recommendations of the "Guidelines on the Care and Use of Laboratory Animals" issued by the Canadian Council on Animals and the "Guidelines of Animal Care," and these practices were approved by a local animal ethics committee.

Swine were anesthetized by an intramuscular injection of a mixture of ketamine (20 mg/kg; Rogarsetic, Toronto, Ontario, Canada) and xylazine (2 mg/kg; Rompun, Cambridge, Ontario, Canada), and induction was achieved by mask ventilation with 2% isoflurane (Abbott Laboratories, Montreal, Quebec, Canada). Subsequently, the animals were intubated with a 6F cuffed endotracheal tube by an orotracheal approach with a straight blade. Artificial ventilation with an oxygen/air mixture was provided throughout the surgical intervention to maintain an arterial oxygen saturation of 95%, and a light anesthesia was induced by isoflurane 1% vol/vol. Respiratory control was maintained by frequent determinations of arterial blood gases and acidosis was balanced with 8.4% sodium bicarbonate (Abbott Laboratories, Quebec, Quebec, Canada). The electrocardiogram was recorded with 4 subcutaneous limb electrodes. Hair was shaved in the operative field and the skin was disinfected with a surgical scrub and a chlorhexidine 0.5% solution. A catheter was placed in an auricular vein for administration of antibiotics at the beginning of the operation (Excenel 0.06 mL/kg; Pharmacia & Upjohn, Orangeville, Ontario, Canada) and for intravenous fluid infusion during the operation. Arterial cannulation was performed through the right femoral artery for blood pressure analysis and a rectal probe was used for monitoring the temperature.

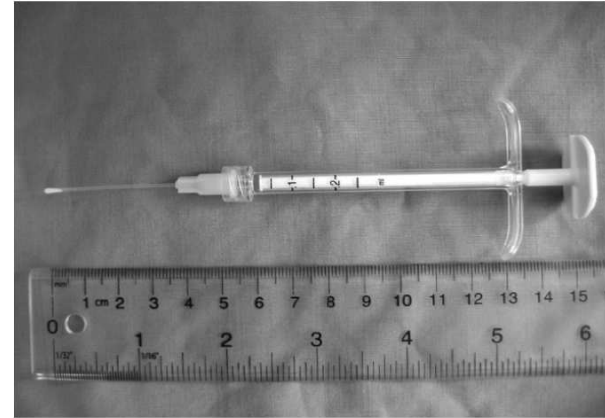


Figure 1. Cardiac control syringe used for the injection of P407 (20% wt/vol).

Surgical Technique

After median sternotomy, the left or right internal thoracic artery was harvested as a pedicle to be used as a bypass graft to the left anterior descending (LAD) or the right coronary artery (RCA). After intravenous administration of 300 U/kg heparin (Leo Pharma, Ajax, Ontario, Canada), the pericardium was opened. The middle third of the LAD (distal to the first diagonal) or the proximal RCA was stabilized with the Octopus 4 tissue stabilizer (Medtronic, Inc, Minneapolis, Minn). After stabilization of the blood pressure, an incision 4 mm in length was performed on the LAD or RCA, while a light finger compression was applied 20 mm before the arteriotomy to avoid bleeding and to limit the gel diffusion beyond the proximal branches. P407 (20%, 250 μ L) was then injected with a cardiac control syringe (Pluromed Inc, Woburn, Mass) in the proximal part of the LAD or RCA. The distal part of the catheter (made of polypropylene and styrene butadiene rubber: 13.8 mm in length, 0.9 mm and 1.5 mm for the internal and external diameters; Pluromed) is smooth with an olivary body extremity to render it atraumatic for the endothelium (Figure 1). After introduction of the catheter 15 mm into the coronary artery, the gel was rapidly injected with a progressive retracted movement to avoid uneven coating of the gel, which could compromise the efficacy of the occlusion. The left internal thoracic artery was anastomosed on the LAD or the right internal thoracic artery on the RCA with a polypropylene monofilament 7-0 suture. A new injection of gel or ice to liquefy the gel was required in some experiments ($n = 5$ in the acute group and $n = 3$ in the subacute group).

Acute Group Protocol

Animals ($n = 8$) were humanely killed after 3 hours of reperfusion of the bypassed coronary arteries and the heart was removed to study vascular reactivity and perform histologic examination.

Subacute Group Protocol

After 3 hours of reperfusion, the chest was closed in multiple layers. An intradermal injection of an analgesic (Marcaine,

0.5 mg/mL; Astra Zeneca, Mississauga, Ontario, Canada) and an intramuscular injection of a second analgesic (buprenorphine, 0.6 mg; Reckitt Benckiser Healthcare (UK) Limited, Solihull, United Kingdom) were given at the end of the operation, and the animals ($n = 12$) were left to recover in temperature-controlled quarters. Swine received an intramuscular injection of the antibiotic ceftiofur sodium (Excenel, 0.06 mL/kg; Pharmacia & Upjohn, Orangeville, Ontario, Canada) for the 2 following days and were given an aspirin (325 mg) daily. Animals were humanely killed by exsanguination through a median sternotomy, using the previously described anesthetic technique. The heart was removed for vascular reactivity studies and histologic examination.

Coronary Harvesting

The heart was rapidly placed in a modified Krebs-bicarbonate solution (composition in mmol/L: NaCl 118.3, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25, ethylenediaminetetraacetic acid 0.026, dextrose 11.1; control solution) for harvesting of coronary arteries. The LAD, the left circumflex, and right epicardial coronary arteries were dissected free from adherent fat and connective tissue and were divided into rings 4 mm in length.

Vascular Reactivity Studies

Rings were then placed in organ chambers filled with the Krebs-bicarbonate solution (20 mL), maintained at 37°C, and oxygenated with a mixture of 95% oxygen/5% carbon dioxide. The rings were suspended between 2 metal stirrups, 1 connected to an isometric force transducer. Data were recorded on data acquisition software (IOS3; Emka Inc, Paris, France). After 30 minutes of stabilization, tension on rings was progressively increased to the optimal tension of its active length-tension curve (approximately 3.5g), as determined by measuring the contraction to potassium chloride (KCl, 30 mmol/L) at different levels of stretch. A maximal contraction was determined with KCl (60 mmol/L) and the baths were then washed. Rings were excluded if they failed to contract with KCl (exclusion rate of less than 5%). Afterward, all studies were performed in the presence of indomethacin (10^{-5} mol/L; to prevent the endogenous production of prostanoids), propranolol (10^{-7} mol/L; to prevent the activation of β -adrenergic receptors), and ketanserin (10^{-6} mol/L; incubated 45 minutes before the addition of serotonin to antagonize smooth muscle cell serotonin 5-hydroxytryptamine [5-HT₂] receptors). After 45 minutes of stabilization, prostaglandin F_{2 α} (range 2×10^{-6} to 10^{-5} mol/L) was added to achieve contraction, averaging 50% of the maximal contraction to KCl (60 mmol/L).

Endothelium-dependent Relaxations

The nitric oxide-mediated relaxation pathway was studied by constructing concentration-response curves to serotonin (5-HT; 10^{-10} to 10^{-5} mol/L, an agonist binding to endothelial 5-HT_{1D} receptors coupled to Gi proteins) and to bradykinin (BK; 10^{-12} to 10^{-6} mol/L, an agonist binding to endothelial B₂ receptors coupled to Gq proteins leading to the release of nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarizing factor). Since we have previously demonstrated that the 3 vessels types possess the same vascular reactivity, the left circumflex coronary artery was used as the control (data not shown).

Endothelium-independent Relaxations

Endothelium-independent relaxations were studied by the addition of a bolus of sodium nitroprusside (10^{-5} mol/L, an exogenous nitric oxide donor) to assess the maximal dilation.

Histologic Studies

Cardiomyocyte necrosis. Surgical biopsy specimens were taken from the anterior, posterior, and lateral free left ventricle and from the interventricular septum. They were then fixed in 10% buffered formalin, embedded in paraffin, and cut in 4- μ m thick sections for histologic documentation. Each section was examined by an experienced cardiovascular pathologist blinded to the surgical procedure. Necrosis was determined using hematoxylin phloxine safran.

Endothelial coverage. Segments of fresh coronary arteries were stained with silver nitrate to evaluate the endothelial cell coverage. Control and P407 rings were opened longitudinally to obtain strips 4×8 mm in size and were pinned to the bottom of a Petri dish. Samples were first fixed for 10 minutes with 0.1 mol/L phosphate buffer containing paraformaldehyde and glutaraldehyde. After a 1-minute wash with a sucrose solution, rings were exposed for 1 minute to 0.25% silver nitrate solution, followed by a second 1-minute wash and a second fixation period of 2 minutes. Incubation was then carried out for 3 hours in a sodium cacodylate solution under a spotlight. The stained samples were mounted whole on glass slides and the percent surface area covered by intact endothelium was then estimated by 2 blinded examiners with the aid of a microscope (magnification $\times 250$).

Drugs. All solutions were prepared daily; 5-HT creatinine sulfate (serotonin), BK, glutaraldehyde, indomethacin, ketanserin, paraformaldehyde, propranolol, prostaglandin F_{2 α} , silver nitrate, and sodium cacodylate were purchased from Sigma (Oakville, Ontario, Canada). Poloxamer 407 was provided by Pluromed (Lincoln, Mass.).

Statistical analysis and data interpretation. Relaxations are expressed as a percentage of the maximal contraction to prostaglandin F_{2 α} (for 5-HT) or 5-HT (for BK), presented as mean \pm standard error of the mean; n refers to the number of animal used. Analysis of variance studies were performed to compare concentration-response curve. The Student t test for paired/unpaired observations was used for the contractions.

Results

Baseline Data

Acute group. Of the 8 animals used in the acute group, 1 died intraoperatively of ventricular fibrillation (excluded from results) after presenting unstable hemodynamics before the anastomosis. Epinephrine was administered to restore blood pressure before the injection of P407 but led to ventricular fibrillation. Electrical cardioversion and heart massage were instituted to restore the heart rhythm but failed, leading to death. Four animals required electrical cardioversion and inotropic drug support for ventricular fibrillation episodes during coronary reperfusion. The first injection of the gel led to a successful occlusion for 8.3 ± 2.1 minutes and a second injection was necessary in 4 cases. The mean volume for the first and second injections ($n = 5$)

was $190 \pm 20 \mu\text{L}$ and $160 \pm 70 \mu\text{L}$, respectively, totaling $300 \pm 110 \mu\text{L}$. The mean anastomosis time with the gel was 11.3 ± 1.8 minutes.

Subacute group. Six of 12 animals used in the subacute group died. In 4 cases, death was due to occlusion of the first diagonal branch during performance of the anastomosis. One animal died after having unstable hemodynamics before the beginning of surgery and 1 died of arrhythmia during the reperfusion. These pigs were thus excluded from data analysis. The occlusion time for the first injection was 7.2 ± 2.4 minutes and the dosage was $200 \mu\text{L}$. A second injection was needed 3 times, and the quantity used was $130 \pm 60 \mu\text{L}$. The total dose was $380 \pm 350 \mu\text{L}$. The anastomosis time was 11.3 ± 2.7 minutes.

Vascular Reactivity Studies

Contractions. The amplitude of the contractions to KCl, to prostaglandin $F_{2\alpha}$, and to the concentration of prostaglandin $F_{2\alpha}$ needed to achieve the target level of contraction to KCl were not statistically different between control and P407 epicardial coronary artery rings in both the acute and the subacute groups (Table 1).

Endothelium-dependent relaxations. Concentration-response curves to 5-HT and BK of arteries occluded with P407 (LAD and RCA rings) in both groups showed no statistically significant difference compared with the left circumflex artery control rings ($P < .05$ for both agonists), confirming the absence of alterations in endothelium-dependent relaxations (Figures 2 and 3).

Endothelium-dependent relaxations. Relaxation reached 100% after the bolus of sodium nitroprusside in both the acute and subacute groups (data not shown).

Histologic Studies

Cardiomyocyte necrosis. In the myocardium vascularized by the LAD or RCA occluded with P407, there was no necrosis zone in the acute group. In the subacute group, a necrosis zone in the right ventricle was limited to the

TABLE 1. Contraction to KCl (60 mmol/L) and prostaglandin $F_{2\alpha}$

| Agonist | Control (n = 15) | Acute (n = 12) | Subacute (n = 11) | P |
|---------------------------------|------------------|----------------|-------------------|----|
| KCl 60 mmol/L (g) | 7.9 ± 0.8 | 8.8 ± 1.1 | 8.3 ± 1.1 | NS |
| PG (g) | 5.1 ± 0.6 | 5.6 ± 0.6 | 4.8 ± 0.6 | NS |
| Dosage of PG (10^{-6} mol/L) | 3.2 ± 0.5 | 3.2 ± 0.6 | 3.2 ± 0.6 | NS |
| Ratio PG/KCl (%) | 67.0 ± 6.8 | 68.4 ± 5.9 | 59.6 ± 7.3 | NS |

n represents the number of rings used. KCl, Potassium chloride; PG, prostaglandin $F_{2\alpha}$; NS, not significant. Data are presented as mean \pm standard deviation.

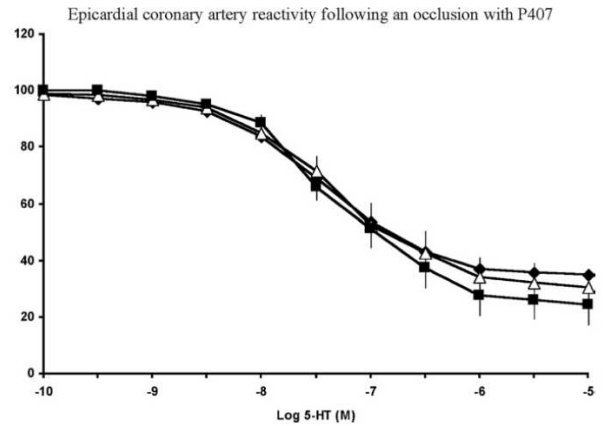


Figure 2. Cumulative concentration-response curves to serotonin (5-HT) in rings of porcine coronary arteries occluded with P407 from the acute group (◆), the subacute group (■) and controls (△). Responses are expressed as the percent of relaxation to the contraction induced by prostaglandin $F_{2\alpha}$. Results are presented as the mean \pm standard deviation.

collateral ligature at the site of the anastomosis (1.5×1.8 cm) and to a zone in the left ventricle (4×3 cm); the latter remains unexplained because no atherothrombosis was found in the infarcted zone. Contraction bands were present in hearts from both groups, resulting from electrical cardioversion.

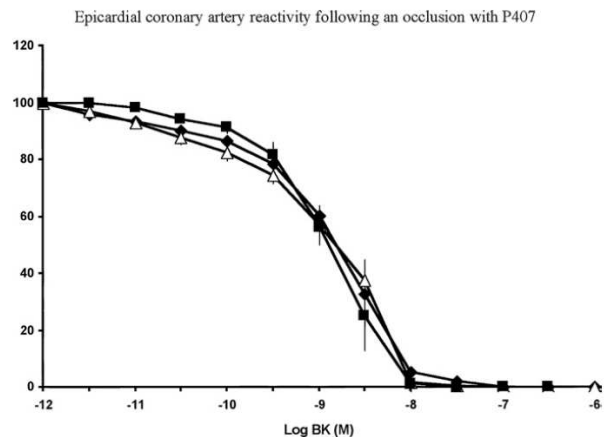


Figure 3. Cumulative concentration-response curves to bradykinin (BK) in rings of porcine coronary arteries occluded with P407 (◆), the subacute group (■) and controls (△). Responses are expressed as the percent of relaxation to the contraction induced by serotonin. Results are presented as the mean \pm standard deviation.

Endothelial coverage. P407-occluded vessels from both groups were compared with control strips. Histologic study of the endothelial cell coverage demonstrated preservation of the endothelial layer in P407 strips (100% of controls) (Figure 4).

Discussion

The major findings of the present study are as follows: injection of P407 (1) creates a successful occlusion of epicardial coronary arteries during OPCAB and (2) causes no significant decrease in endothelium-dependent relaxations mediated by the Gi- and Gq-protein pathways. The necessity of a bloodless field to obtain optimal visibility during performance of the anastomosis is an issue of concern in OPCAB. The most widely used variant of OPCAB involves use of sutures or silicone rubber tapes (Silastic; Dow Corning Corporation, Midland, Mich) to snare the coronary artery extravascularly, upstream and downstream from the anastomotic site on the target artery. However, examination with scanning electron microscopy showed that snares cause focal endothelial denudation and atherosclerotic plaque rupture.¹⁴ Furthermore, these occlusive systems do not allow distal coronary perfusion. Intracoronary shunts used as hemostatic devices in OPCAB also have the advantage of allowing myocardial protection by maintaining distal coronary perfusion. However, shunts cause a severe endothelial dysfunction¹⁵ due to rubbing of the endothelial layer during the positioning and the removal of the devices.¹⁶ In fact, shunting to obtain total hemostasis at the anastomotic site and a satisfactory intracoronary flow to perform anastomosis under optimal conditions requires a slightly oversized shunt, but an oversized shunt is associated with severe endothelial dysfunction and intimal lesions.¹⁷

The polymer solution is injected as a soft gel at room temperature ($\sim 20^{\circ}\text{C}$) into the arteriotomy, and the rise in temperature leads to a stiff gel. The gel will start to dissolve in blood, and when the concentration of the polymer decreases below approximately 12.5 w%, it turns back into a liquid and quickly dilutes in blood to a concentration at which it cannot turn back into a gel at physiologic temperatures. Alternatively, cooling of the gel with ice or cold saline does liquefy the gel as the temperature falls below the gelation point. As a liquid, it quickly dilutes in blood and again there is no possibility for it to turn back into a gel at physiologic temperatures. P407 is not metabolized and is excreted renally with a half-life of approximately 25 hours.

The current study shows that the hemostatic technique involving intracoronary P407 to achieve a clear operative field does not cause endothelial dysfunction, demonstrated by the preservation of the epicardial coronary artery endothelium-dependent relaxations. This is supported by the absence of significant alterations of endothelial cell signaling pathway involving the Gi protein-mediated relaxations, as demon-

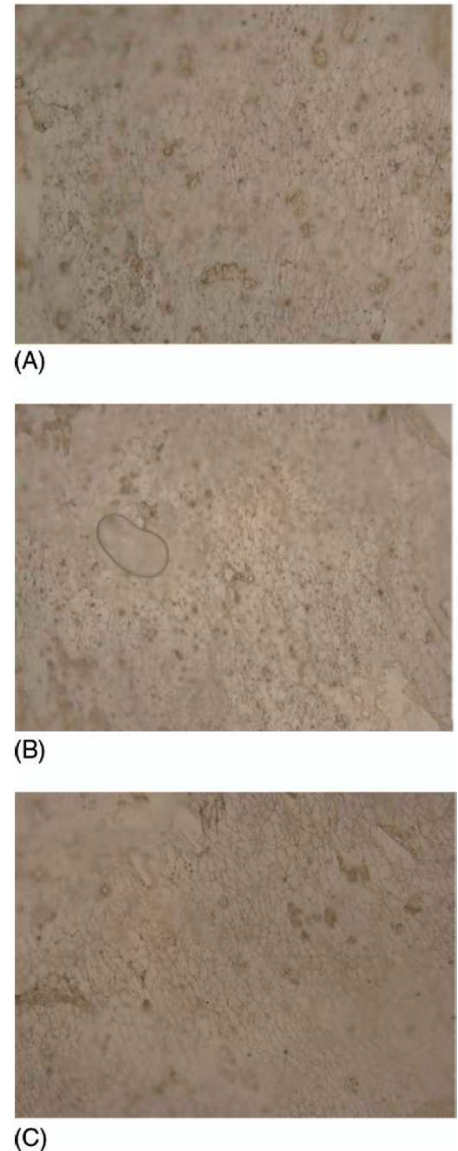


Figure 4. Representative photomicrograph (magnification $\times 250$) of silver nitrate staining showing preservation of the endothelial layer of control strips (A), strips occluded with P407 in the acute group (100% of controls) (B), and strips occluded with P407 in the subacute group (100% of controls) (C).

strated by concentration-response curves to 5-HT, and the Gq protein-mediated pathway, as demonstrated by concentration-response curves to BK.

Boodhwani and colleagues¹³ have demonstrated that temporary occlusion of the LAD with P407 does not cause abnormalities in coronary flow during reperfusion, does not

adversely affect regional myocardial function, and has no effect on endothelium-independent microvessel relaxation. Endothelium-dependent relaxation to adenosine diphosphate is preserved whereas response to substance P is mildly impaired, perhaps because of a local effect of the gel.¹³ In addition to coronary anastomosis, P407 effectively occluded renal and pulmonary arteries subjected to glue embolization.⁹ This study demonstrates that this agent has the potential to be used to protect a territory during polymer, particulate, or chemo-embolizations.

Limitations

The present results validate the efficacy and safety of P407 on the beating heart for minimally invasive coronary artery bypass grafting in the acute impact on endothelial function per se in healthy blood vessels. Obviously, caution must be used when extrapolating this conclusion to atherosclerotic vessels, which may have a lesser tolerance to both operative manipulation and ischemia-reperfusion.¹⁸ On the other hand, in chronically occluded vessels with a large collateral blood flow and generous retrograde perfusion, back bleeding at the anastomotic site may be controlled imperfectly but tolerance to temporary occlusion may be greater.

In conclusion, the novel reversible thermosensitive gel P407 is safe and efficacious for temporary occlusion of the coronary vessel necessary for minimally invasive coronary artery operations. No negative effects were demonstrated on coronary endothelial function, as assessed by the preservation of the endothelial coverage and of endothelium-dependent relaxations.

We thank Marie-Pierre Mathieu and Émilie Reny-Nolin for their technical assistance, and Karine Tétrault for statistical analysis.

References

1. Borst C, Santamore WP, Smedira NG, Bredee JJ. Minimally invasive coronary artery bypass grafting: on the beating heart and via limited access. *Ann Thorac Surg.* 1997;63:S1-5.
2. Matata BM, Soshowski AW, Galinanes M. Off pump bypass graft operation significantly reduces oxidative stress and inflammation. *Ann Thorac Surg.* 2000;69:785-91.
3. Wildhirt SM, Schulze C, Conrad N, Sreejayan N, Reichenspurner H, von Ritter C, et al. Reduced myocardial cellular damage and lipid peroxidation in off-pump versus conventional coronary artery bypass grafting. *Eur J Med Res.* 2000;5:222-8.
4. Wippermann J, Albes JM, Brandes H, Kosmehl H, Bruhin R, Wahlers T. Acute effects of tourniquet occlusion and intraluminal shunts in beating heart surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2003;24:757-61.
5. Fonger JD, Yang XM, Cohen RA, Haudenschild CC, Shemin RJ. Human mammary artery endothelium sparing with fibrous jaw clamping. *Ann Thorac Surg.* 1995;60:351-5.
6. Perrault LP, Menasché P, Wassef M, Bidouard JP, Janiak P, Ville-neuve N, et al. Endothelial effects of hemostatic devices for continuous cardioplegia or minimally invasive operations. *Ann Thorac Surg.* 1996;62:1158-63.
7. Perrault LP, Nickner C, Desjardins N, Carrier M. Effects on coronary endothelial function of the Cohn stabilizer for beating heart bypass operations. *Ann Thorac Surg.* 2000;70:1111-4.
8. Park H, Park, K. Biocompatibility issues of implantable drug delivery. *Pharm Res.* 1996;13:1770-6.
9. Raymond J, Metcalfe A, Salazkin I, Schwarz A. Temporary vascular occlusion with poloxamer 407. *Biomaterials.* 2004;25:3983-9.
10. Ricci EJ, Lunardi LO, Nanclares DMA, Marchetti JM. Sustained release of lidocaine from Poloxamer 407 gels. *Int J Pharm.* 2005;288:235-44.
11. Craig DQM. Pharmaceutical material science—resuscitation or reincarnation? *J Pharm Pharmacol.* 1996;46:119-26.
12. Qui Y, Park, K. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001;53:321-9.
13. Boodhwani M, Cohn WE, Feng J, Mieno S, Ramlawi B, Schwarz A, et al. Safety and efficacy of a novel gel for vascular occlusion in off-pump surgery. *Ann Thorac Surg.* 2005;80:2333-7.
14. Hangler HB, Pfaller K, Antretter H, Dapunt OE, Bonatti JO. Coronary endothelial injury after local occlusion on the human beating heart. *Ann Thorac Surg.* 2001;71:122-7.
15. Chavanon O, Perrault LP, Menasché P, Carrier M, Vanhoutte PM. Endothelial effects of hemostatic devices for continuous cardioplegia or minimally invasive operation. *Ann Thorac Surg.* 1999;68:1118-20.
16. Vanhoutte PM, Shimokawa H. Endothelium-derived relaxing factor and coronary vasospasm. *Circulation.* 1989;80:1-9.
17. Demaria R, Fortier S, Malo O, Carrier M, Perrault LP. Influence of intracoronary shunt size on coronary endothelial function during off-pump coronary artery bypass. *Heart Surg Forum.* 2003;6:72-6.
18. Amrani M, Chester AH, Jayakumar J, Yacoub MH. Aging reduces postischemic recovery of coronary endothelial function. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1996;111:238-45.

5.3 DISCUSSION

Les principales conclusions de la présente étude sont les suivantes : l'injection de RTP407(1) crée une occlusion artères coronaires épicaudiques au cours PACCB (2), ne cause aucune diminution significative de la relaxation endothélium-dépendante médiée par les voies Gi-Gq-protéines.

La nécessité d'un champ exsangue afin d'obtenir une visibilité optimale pendant l'exécution de l'anastomose est un sujet de préoccupation en chirurgie à cœur battant. La technique la plus largement utilisée en OPCAB est l'utilisation de fil de sutures sur tourniquet ou d'élastique appelés « vessel loop » (Silastic; Dow Corning Corporation, Midland, Michigan) pour isoler l'artère coronaire, en amont et en aval du site anastomotique sur l'artère cible. Cependant, l'examen au microscope électronique à balayage a montré que cette technique est responsable de lésions endothéliales et de rupture de plaque athérosclérose. En outre, ces systèmes occlusifs ne permettent pas de perfusion coronaire distale. Les shunts intra-coronaires utilisés comme dispositifs hémostatiques en OPCAB ont l'avantage de la protection myocardique permettant le maintien d'une perfusion coronarienne distale. Cependant, les shunts peuvent provoquer des lésions endothéliales graves entraînant une dysfonction endothéliale due au frottement des dispositifs contre la couche endothéliale pendant la pose et l'enlèvement de ceux-ci. En fait, les manœuvres pour obtenir l'hémostase totale du site anastomotique et un débit distal satisfaisant pour effectuer une anastomose dans des conditions optimales nécessitent un shunt légèrement surdimensionné, mais un shunt surdimensionné est associé à une dysfonction endothéliale sévère et des lésions intinales.

La solution de polymère est injectée sous forme de gel doux à température ambiante (20 ° C) dans l'artère au travers de l'artériotomie, et la hausse des températures conduit à un gel solide. Le gel va commencer à se dissoudre au contact du sang - lorsque la concentration du polymère diminue en-dessous d'environ 12,5%, il retourne à l'état liquide et se dilue rapidement dans le sang à une concentration en-dessous de laquelle il ne peut pas redevenir un gel à des températures physiologiques. Par ailleurs, le refroidissement du gel avec de la glace ou une solution saline froide va liquéfier le gel. Sous forme liquide, il se dilue rapidement dans le sang et là encore, il n'y a pas de

possibilité pour qu'il redevienne un gel à des températures physiologiques. RTP407 n'est pas métabolisé et est excrété par voie rénale avec une demi-vie d'environ 25 heures.

Cette étude montre qu'en injectant le gel RTP407 en intra-coronaire on obtient une bonne hémostasie sans altérer les artères coronaires et en préservant la fonction endothéliale. Cette hypothèse est étayée par l'absence de modification importante des voies de signalisation des cellules endothéliales impliquant les médiateurs Gi-protéines, comme le montre les courbes concentration-réponse au 5-HT, et les médiateurs Gq-protéine, tel qu'établi par les courbes concentrations réponse de BK.

Boodhwani et al ont démontré que l'occlusion temporaire d'artère coronaire avec le gel RTP407 ne provoque pas d'anomalies du débit coronaire pendant la reperfusion, ne porte pas atteinte à la fonction myocardique régionale, et n'a pas effet sur la relaxation des microvaisseaux indépendants de l'endothélium. La relaxation endothélium-dépendante de l'adénosine diphosphate est conservée alors que la réponse à la substance P est légèrement diminuée, peut-être en raison d'un effet local du gel. Dans l'étude de Raymond, le gel RTP 407 a efficacement occlut les artères rénales et pulmonaires. Cette étude a démontré que ce gel peut être utilisé pour protéger un territoire au cours d'injection de chimio-embolisation.

Limitations

Les résultats actuels permettent de valider l'efficacité et la sécurité de l'utilisation du gel P 407 au niveau des artères coronaires sur le cœur battant permettant la réalisation de pontages coronariens sans effets sur la fonction endothéliale. De toute évidence, la prudence doit être de mise lors de l'extrapolation de cette conclusion pour les artères athéromateuses, qui peuvent avoir une moindre tolérance à la fois au cours des manipulations et de l'ischémie-reperfusion.

Par ailleurs, en cas d'occlusion chronique des artères coronaires le flux sanguin et la perfusion rétrograde peuvent être importants avec, retour sanguin sur le site anastomotique qui peut être contrôlé imparfaitement mais la tolérance à l'occlusion temporaire peut être plus grande.

En conclusion, le nouveau gel réversible thermosensible à base de RTP407 est sûr et efficace pour l'occlusion temporaire des vaisseaux coronaires nécessaire pour la chirurgie coronarienne à cœur battant. Aucun effet négatif n'a été démontré sur la fonction endothéliale coronaire, tel qu'évaluée par la préservation de l'endothélium et de la relaxation endothélium-dépendante.

Article 2

TEMPORARY INTERNAL THORACIC OCCLUSION DURING OFF-PUMP CORONARY BYPASS GRAFTING WITH THE NEW POLOXAMER P407 DOES NOT CAUSE ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

Marie-Claude Aubin, **Olivier Bouchot**, Michel Carrier, William E Cohn,
Louis P Perrault.

Journal of Thoracic Cardio Vascular Surgery.2006; 132(3):685-6.

6. ARTICLE 2

6.1 INTRODUCTION

Les effets bénéfiques de la revascularisation coronaire sont maintenant bien établis. Toutefois, l'application de clamp vasculaire pour parvenir à un champ opératoire exsangue lors de l'anastomose est susceptible d'altérer l'intégrité de l'artère thoracique interne. La propriété réversible et thermosensible rapide des formulations de RTP 407 (dérivé du poloxamer 407) les rendent intéressantes pour l'occlusion vasculaire temporaire parce que ces solutions se solidifient à la température du corps et se dissolvent par simple refroidissement.

Par conséquent, le but de cette étude était d'évaluer l'effet de l'occlusion avec le gel RTP407 sur l'endothélium de l'artère thoracique interne.

6.2 ARTICLE

Temporary internal thoracic artery occlusion during off-pump coronary artery bypass grafting with the new poloxamer P407 does not cause endothelial dysfunction

Marie-Claude Aubin, MSc,^a Olivier Bouchot, MD,^b Michel Carrier, MD,^c William E. Cohn, MD,^d and Louis P. Perrault, MD, PhD,^{a,c} Montreal, Quebec, Canada, Dijon, France, and Houston, Tex

The positive effects of coronary revascularization are now well established. However, the application of vascular clamps to achieve a bloodless field during the anastomosis might alter the integrity of the internal thoracic artery.¹ The reverse thermosensitive formulation of the poloxamer 407 (P407) makes it attractive for temporary vascular occlusion because it only solidifies when in contact with body temperature.² Therefore, the purpose of this study was to assess the effect of occlusion with P407 on internal thoracic artery endothelium function.

Methods

Surgical procedure. The chests of 9 Landrace swine of either sex (25 ± 4 kg) were entered through a median sternotomy.³ The left internal thoracic artery was harvested as a pedicle from the subclavian artery. After distal section, the blood flow was controlled by means of proximal finger compression. P407 (20%, 200 μ L) was injected with a Cardiac Control Syringe (Pluromed Inc, Woburn, Mass) into the arteries. The distal part of the catheter (made of polypropylene and styrene butadiene rubber) is smooth, with an olivary body extremity to render it atraumatic for the endothelium. After introduction of the catheter 15 mm into the thoracic arteries, the gel was rapidly injected with a progressive retracted movement to avoid uneven coating of the gel, which can compromise the efficacy of the occlusion. After a 15-minute period of occlusion, the thoracic artery was harvested and separated in 2 sections: P407 (vessel in contact with the gel) and control (no gel).

Vascular reactivity studies. Vascular reactivity was studied in organ chamber experiments, as previously described.³ The maximal contraction was determined with 100 mmol/L KCl, and all

studies were performed in the presence of indomethacin (10^{-5} mol/L) and propranolol (10^{-7} mol/L). The nitric oxide-mediated relaxation pathway was studied by constructing concentration-response curves to acetylcholine and bradykinin. Endothelium-independent relaxations were studied in the presence of the nitric oxide donor sodium nitroprusside.

Endothelial coverage. The endothelial cell coverage was evaluated with silver nitrate staining, as previously described.³

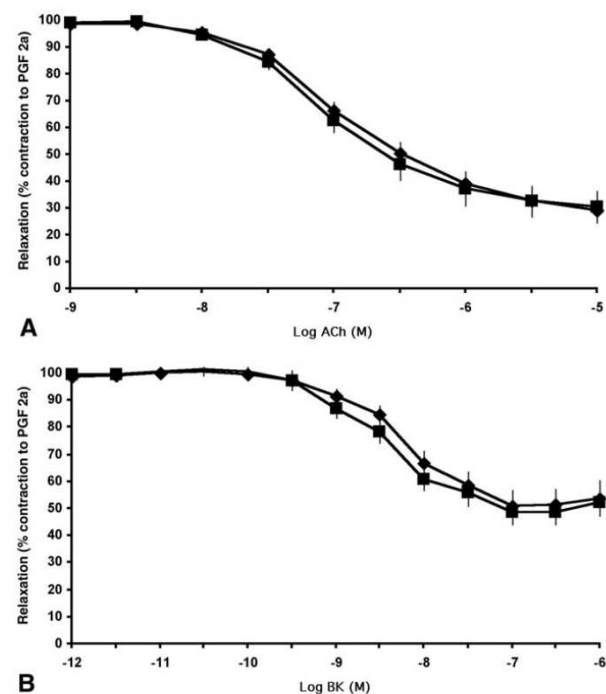


Figure 1. Concentration-response curves to acetylcholine (ACh; A) and bradykinin (BK; B) in rings of thoracic arteries occluded with P407 (squares) and control rings (diamonds). Responses are expressed as the percentage of relaxation to the contraction induced by prostaglandin F_{2 α} . Results are presented as the mean \pm standard error of the mean.

From the Department of Pharmacology, Université de Montréal,^a Montreal, Quebec, Canada; the Department of Cardiovascular Surgery, Le Bocage Hospital,^b Dijon, France; the Department of Surgery, Montreal Heart Institute and Université de Montréal, and the Department of Pharmacology, Université de Montréal,^c Montreal, Quebec, Canada; and the Department of Surgery, Texas Heart Institute,^d Houston, Tex.

Received for publication March 29, 2006; accepted for publication May 9, 2006.

Address for reprints: Louis P. Perrault, MD, PhD, Research Center, Montreal Heart Institute, 5000 Belanger Street East, Montreal, Quebec, H1T 1C8, Canada (E-mail: louis.perrault@icm-mhi.org).

J Thorac Cardiovasc Surg 2006;132:685-6

0022-5223/\$32.00

Copyright © 2006 by The American Association for Thoracic Surgery

doi:10.1016/j.jtcvs.2006.05.004

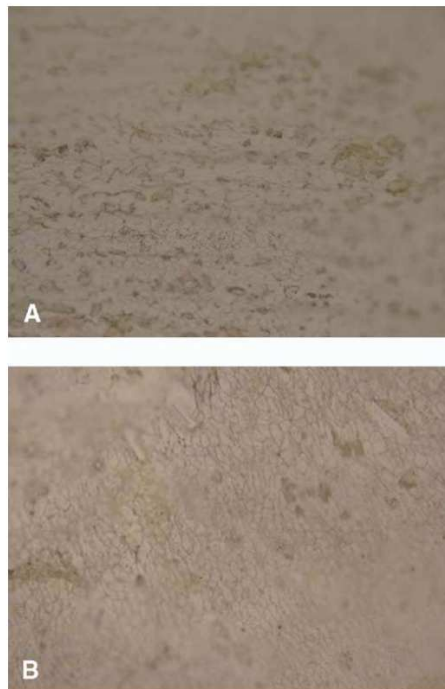


Figure 2. Photomicrograph (original magnification 250 \times) of silver nitrate staining showing preservation of the endothelial layer of control strips (A) and strips occluded with P407 (100% of control values; B).

Results

The 15-minute period of occlusion was successful in all cases, with the necessity of a second injection only once. The mean quantity of the gel was 0.22 ± 0.02 mL, and the use of ice for the dissolution of the gel was needed in 8 of 9 cases.

Vascular reactivity studies. Concentration-response curves to acetylcholine and bradykinin of thoracic arteries occluded with P407 showed no significant difference compared with that seen in control rings ($P < .05$), (Figures 1 and 2). Moreover, relaxation reached 100% after the bolus of sodium nitroprusside in both groups (data not shown).

Endothelial coverage. Preservation of the endothelial layer was demonstrated in P407 rings, with no significant difference compared with that seen in control rings (Figure 2).

Discussion

The major findings of the present study are that injection of P407 (1) creates a successful occlusion of the thoracic arteries; (2) causes no significant decrease in endothelium-dependent relaxations mediated by the Gi and Gq protein pathways, as demonstrated by concentration-response curves to acetylcholine and bradykinin, respectively; and (3) does not alter the endothelial coverage.

The necessity of a bloodless field to obtain optimal visibility during performance of the anastomosis is an issue of concern in coronary artery bypass. The most widely used technique to occlude thoracic arteries in coronary reconstruction is fibrous jaw clamping. However, examination with scanning electron microscopy showed that jaw clamping causes focal endothelial denudation and atherosclerotic plaque rupture.^{1,4}

Boodhwani and colleagues⁵ have demonstrated that temporary occlusion of the left anterior descending coronary artery with P407 does not cause abnormalities in coronary flow during the reperfusion, does not adversely affect regional myocardial function, and has no effect on endothelium-independent microvessel relaxation. Endothelium-dependent relaxation to adenosine diphosphate is preserved, whereas response to substance P is mildly impaired, perhaps because of a local effect of the gel.

In conclusion, the novel reversible thermosensitive gel P407 is safe and efficacious for temporary occlusion of the thoracic vessel.

References

1. Kuo J, Ramstead K, Salih V, Coumbe A, Graham TR, Lewis CT. Effect of vascular clamp on endothelial integrity of the internal mammary artery. *Ann Thorac Surg.* 1993;55:923-6.
2. Qui Y, Park K. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001;53:321-9.
3. Malo O, Carrier M, Shi YF, Tardif JC, Tanguay JF, Perrault LP. Specific alterations of endothelial signal transduction pathways of porcine epicardial coronary arteries in left ventricular hypertrophy. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2003;42:275-86.
4. Fonger JD, Yang XM, Cohen RA, Haudenschild CC, Shemin RJ. Human mammary artery endothelial sparing with fibrous jaw clamping. *Ann Thorac Surg.* 1995;60:551-5.
5. Boodhwani M, Cohn WE, Feng J, Mieno S, Ramlawi B, Schwarz A, et al. Safety and efficacy of a novel gel for vascular occlusion in off-pump surgery. *Ann Thorac Surg.* 2005;80:2333-7.

6.3 DISCUSSION

Les principales conclusions de l'étude sont que l'injection de P407 (1) crée avec succès une occlusion des artères thoraciques internes; (2) ne provoque pas de diminution significative de la relaxation endothélium-dépendante médiée par les voies de la protéine Gi et les voies de la protéine Gq, comme en témoignent les courbes concentration-réponse à l'acétylcholine et la bradykinine, respectivement, et (3) ne modifie pas la couche endothéliale. La nécessité d'un champ exsangue afin d'obtenir une visibilité optimale pendant l'exécution de l'anastomose est un sujet de préoccupation pour la réalisation des pontages coronaires. La technique la plus largement utilisée pour obturer les artères thoraciques dans la chirurgie coronarienne est les clamps plastiques dits bulldog. Toutefois, l'examen en microscopie électronique à balayage a montré qu'il cause des lésions focales avec dénudation endothéliale et la rupture des plaques d'athéromes. Boodhwani et ses collègues ont démontré que l'occlusion temporaire de l'artère inter ventriculaire antérieure avec le gel RTP407 ne provoque pas d'anomalie du débit coronaire lors de la reperfusion, ne porte pas atteinte à la fonction myocardique régionale, et n'a aucun effet sur la relaxation des microvaisseaux indépendante de l'endothélium. La relaxation endothélium-dépendante de l'adénosine diphosphate est conservée, alors que la réponse à la substance P est un peu déficitaire, peut-être en raison d'un effet local du gel. En conclusion, le nouveau gel réversible thermosensible P407 est sûr et efficace pour l'occlusion temporaire des artères thoraciques internes.

Article 3

CLINICAL EXPERIENCE WITH A NOVEL THERMOSENSITIVE TEMPORARY COROANRY ARTERY OCCLUDER (LEGOO)

**Olivier Bouchot, Robert E Berger, Jean-Pierre Berne, François Brunotte,
Roger Brenot**

Annals of Thoracic Surgery 2010;89:1912-7.

7. ARTICLE 3

7.1 INTRODUCTION

Un champ opératoire exsangue facilite la visualisation claire et un placement précis des points de suture au cours de la construction des anastomoses vasculaires. Une visualisation optimale est particulièrement importante lors des opérations sur des petits vaisseaux dans lesquels les anomalies de sutures peuvent compromettre la perméabilité de l'anastomose vasculaire. Au cours de la chirurgie coronarienne à cœur battant, l'absence de clampage de l'aorte entraîne une perfusion coronarienne qui peut gêner la réalisation des anastomoses. Actuellement les techniques d'occlusion temporaire vasculaire pour OPCAB comprennent des clamps vasculaires, des tourniquets, des élastiques, des ballons et des obturateurs internes ou des shunts. Ces dispositifs sont toutefois associés à des inconvénients. L'occlusion vasculaire temporaire idéale doit être facile à appliquer, ne doit pas nécessiter de dissection de l'artère coronaire de son lit du myocarde, doit être atraumatique à la fois pour la paroi vasculaire et l'endothélium, obtenir un champ opératoire exsangue, sans nécessité d'utilisation d'autre dispositif pour supprimer le sang, et être efficace même pour les artères pathologiques. Le retrait du dispositif à l'achèvement de l'anastomose devrait être facile, instantané, et atraumatique.

LeGoo (Pluromed, Woburn, MA), un polymère thermosensible, est un liquide visqueux à température ambiante, mais devient solide instantanément à l'exposition de la température du corps. Par conséquent, lors de son introduction dans un vaisseau sanguin à température corporelle, le liquide visqueux se transforme instantanément en bouchon solide occlusif qui respecte les contours d'une lumière même si l'artère est déformée par la maladie athéromateuse. Le bouchon peut être facilement pénétré par les aiguilles de suture et maintient une configuration cylindrique du vaisseau cible, facilitant le placement précis des points de suture. Le bouchon de LeGoo soit se dissout spontanément après 10 à 20 minutes in situ ou peut être dissout par des massages aux doigts, l'application de glace ou de solution saline froide sur la surface du vaisseau, ou l'utilisation d'un instrument qui modifie la structure du gel (sonde). Une fois dissous, LeGoo ne peut former un nouveau bouchon et est excrété par les reins. Si le bouchon de gel LeGoo se dissout spontanément avant la fin de l'anastomose, des injections supplémentaires peuvent reconstituer l'oblitération pour la poursuite de la procédure.

7.2 ARTICLE

Clinical Experience With a Novel Thermosensitive Temporary Coronary Artery Occluder (LeGoo)

Olivier Bouchot, MD, Robert L. Berger, MD, Jean Pierre Berne, MD, François Brunotte, MD, and Roger Brenot, MD

Department of Cardiovascular Surgery, Dijon Hospital, Dijon, France; and Department of Surgery, BIDMC and Harvard Medical School, Boston, Massachusetts

Background. A bloodless field is important for visualizing relevant anatomical structures and facilitating construction of high-quality coronary anastomoses during off-pump coronary artery bypass graft surgery (OPCABG). Currently employed devices can damage target arteries as well as myocardium and are not uniformly effective, especially with diseased arteries.

Methods. LeGoo (Pluomed, Woburn, MA) is a thermosensitive polymer that is a viscous liquid at room temperatures and changes into a firm occlusive plug instantaneously when exposed to body temperatures. The polymer is nontoxic and neither metabolized nor absorbed. It dissolves spontaneously or can be dissolved at will by cooling. LeGoo was instilled through the arteriotomy of 99 coronaries in 50 patients during construction of OPCABG anastomoses.

Results. LeGoo formed an occlusive endoluminal plug instantaneously and blocked blood flow into the surgical field. In 89 vessels with available information, the quality

of bloodless field was satisfactory, without need for substantial use of blood removal systems or application of another device in 81 vessels (91%). Resort to other means was prompted by serious arrhythmia (1 case) epicardial bleeding (1 vessel), bleeding from collateral branches (3 vessels), and shortcomings in design of the injecting catheter (3 vessels) that has been corrected. Intraoperative and perioperative profiles of these patients were similar to those reported from other OPCABG series. Abnormal bleeding, coagulopathy, metabolic derangements, and evidence of LeGoo embolization were not observed.

Conclusions. In this first large-scale human experience, LeGoo had been an atraumatic, safe, and effective temporary coronary artery occluder. It produced a bloodless field during OPCABG in 91% of target vessels. Improvements on these results with further experience is anticipated.

(Ann Thorac Surg 2010;89:1912-7)

© 2010 by The Society of Thoracic Surgeons

A bloodless surgical field facilitates clear visualization and accurate placement of sutures during construction of vascular anastomoses. Optimal visualization is especially important during operations on small vessels in which misplaced sutures can compromise patency of the vascular connection. During off-pump coronary artery bypass graft surgery (OPCABG), the unclamped ascending aorta allows ample blood flow into coronary arteries that may blur relevant structures and impede accurate placement of sutures. Currently employed temporary vascular occluders for OPCABG include vascular clamps, snares, balloons, loops, and internal obturators or shunts. These devices, however, are associated with serious shortcomings [1-10].

The ideal temporary vascular occluder is easy to apply, does not require dissection of the coronary artery from its myocardial bed, is atraumatic to both vessel wall and endothelium, provides a bloodless field without the need for blood removal devices, and is effective even in diseased

vessels. Removal of the device at completion of the anastomosis should be easy, instantaneous, and atraumatic.

LeGoo (Pluomed, Woburn, MA), a thermosensitive polymer, is a viscous liquid at room temperature but changes into a firm plug instantaneously on exposure to body temperatures [11]. Consequently, when introduced into a blood vessel at body temperature, the viscous liquid injectate transforms instantaneously into a firm occlusive plug that conforms to the contour of a lumen even when distorted by arterial disease. The plug can be easily penetrated by surgical needles and maintains a cylindrical configuration of the target vessel, facilitating accurate placement of sutures. The LeGoo plug either dissolves spontaneously after 10 to 20 minutes in situ or can be dissolved at will by hand massage, application of ice/cold saline over the surface of the vessel, or use of an instrument that disrupts the physical integrity of the firm gel. Once dissolved, LeGoo does not form a new plug and is excreted through the kidneys [11]. If the LeGoo plug dissolves spontaneously before completion of the anastomosis, additional injections can reconstitute the occluder for continuation of the procedure.

Accepted for publication March 4, 2010.

Address correspondence to Dr Berger, Clinical Research, Division Cardiothoracic Surgery, Beth Israel Deaconess Medical Center, 185 Pilgrim Rd, Deaconess, Ste 201, Boston, MA 02215; e-mail: robert_berger@hms.harvard.edu.

Dr Berger discloses that he has a financial relationship with Pluomed, Inc.

LeGoo is deployed initially in a proximal direction. Backbleeding is managed by insertion of the polymer distally. LeGoo can also be injected directly into the orifices of smaller collateral branches that spill blood into the surgical field and obscure vision.

Extensive preclinical experimentation demonstrated that LeGoo is nontoxic and neither metabolized nor absorbed. The plug dissolves from its micellar form into unimeric molecules that are excreted through the kidney. LeGoo did not impair vascular reactivity, endothelium-dependent relaxation, or damage endothelial and myocardial structures. Moreover, there was no evidence of LeGoo embolization into distal coronary bed [12-16]. LeGoo received a CE (*Conformite Europeenne*) mark in the European Union but is not approved as yet by the Food and Drug Administration.

The purpose of this communication is to report on the first large scale experience with LeGoo in humans during OPCABG.

Material and Methods

The CE designation exempts LeGoo from the need for approval by Ethics Committees in participating European Union countries. The polymer is supplied in sterile syringes of various sizes (0.25, 0.5, 1.0, 2.5, and 5.0 mL), cannula of different diameters (1.0, 1.5, 3.0, and 4.0 mm) to fit the lumen of the target vessel, and in two lengths (40 mm and 80 mm) to facilitate access to application sites. The tip of the cannula is olive shaped and soft to prevent injury to endothelium. The syringes are stored at room temperature.

The learning curve for using LeGoo is short. For in vitro practice and testing, the viscous liquid is injected into a 2- to 3-mm diameter transparent plastic tube, which is then immersed in warm water resulting in instantaneous formation of a firm plug. For dissolution, the in vitro plug is immersed in cold water (Fig 1).

Between June 2007 and August 2009, LeGoo was used in 50 consecutive patients with symptomatic coronary artery disease for temporary coronary artery occlusion during OPCABG by one surgeon (O.B.) at Le Bocage Hospital, Dijon, France. The protocol specified that initially LeGoo would be used for all coronary anastomoses but if the operative field would remain obscured blood or

evidence of myocardial ischemia (ST-segment elevation, arrhythmia, and so forth) develops after administration of LeGoo, blood removal devices and internal shunts would be used.

Operative Details

The OPCABG was performed through median sternotomy under general anesthesia. Hemodynamics, electrocardiograms, and urinary output were monitored. Pedicled left internal mammary artery (LIMA) or right internal mammary artery (RIMA), saphenous vein, and radial artery conduits were used. The harvested LIMA and RIMA pedicles were wrapped in sterile gauze soaked in papaverine hydrochloride. The pericardium was opened. Heparin, 150 IU/kg body weight, was administered and repeated, if necessary, to maintain an activated clotting time between 200 and 300 seconds during construction of the anastomosis. The target coronary arteries were identified and stabilized with the Octopus 4 (Medtronic, Minneapolis, MN) or the Coroneo heart stabilizer (Coroneo, Montreal, Quebec). Gentle finger or instrument pressure was applied on the target vessel proximal to the planned arteriotomy site to stop blood flow. A 4-mm long incision was made in the target coronary artery. A specially designed catheter, with soft olive shaped tip (Pluromed) of appropriate diameter and length, attached to a syringe prefilled with LeGoo, was inserted through the coronary arteriotomy and advanced in a proximal direction for about 1.5 to 2 cm. The viscous liquid LeGoo was injected by hand while the cannula was slowly withdrawn. Proximal pressure on the coronary artery was released. Lack of blood flow from a proximal direction and a dry operative field signaled that LeGoo had solidified and the resultant plug was occlusive. For backbleeding, LeGoo was instilled distally in a manner similar to the proximal injection. Bleeding from side branches were managed by direct injection of the polymer into the orifice of the offending branch. If a bloodless field could not be obtained or visible myocardial ischemia or serious cardiac arrhythmia developed, the plug was immediately dissolved and a shunt was employed. Evidence of myocardial ischemia in the territory of the vessel occluded by LeGoo was recorded.

Once the operative field became bloodless, the conduit was anastomosed to the coronary arteriotomy with con-

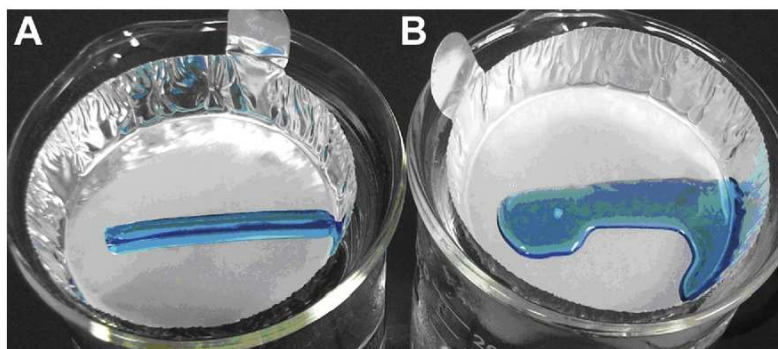


Fig 1. Formation of LeGoo plug: Viscous liquid LeGoo was injected into a plastic tube at room temperature and immersed in a warm bath at body temperatures (A). A firm plug formed instantaneously. The plug was extruded from the tube and kept at body temperature. Note the circular plug (A). Viscous liquid was injected into a plastic tube at room temperature and immersed in a bath at room temperature (B). The contents were extruded from the plastic tube and kept at room temperature. LeGoo remained soft gel. Note the amorphous blotch (B).

tinuous 8-0 or 7-0 polypropylene sutures. If the LeGoo plug dissolved before completion of the anastomosis and bleeding into the surgical field resumed, additional LeGoo was injected to reconstitute the plug and restore a bloodless field. Upon completion of the suture line and before snugging the continuous suture, the gel plug was allowed to dissolve spontaneously or through the application of sterile ice, cold saline, hand massage, or Parsonnet Vascular Probe (Bard, Covington, GA). When blood flow through the anastomosis was brisk, the continuous suture was tightened and tied.

The volume of LeGoo administered with each injection, the number of proximal and distal injections, as well as occlusion times required to complete the anastomosis were recorded. The quality of bloodless field was classified as follows: excellent = no bleeding into anastomotic field; good = minimal bleeding into anastomotic field, anastomosis performed without substantial use of accessory blood removal devices; fair = moderate bleeding into anastomotic field, anastomosis performed with substantial use of blood removal equipment or placement of another occlusive device; poor = profuse bleeding into anastomotic field, continuous use of blood removal device or placement of another vessel occluder was necessary. The operating surgeon assigned each vessel to one of the four categories. An "excellent" or "good" classification provided a sufficiently bloodless field and visualization for accurate suturing, and qualified as "satisfactory."

Blood urea nitrogen, creatinine, electrolytes, hemograms, and other clinically indicated tests were obtained before surgery and postoperatively. Electrocardiography (12 leads) was recorded before and after the operation and at least once daily or more often if clinically indicated. Serum troponin I levels were determined before the operation and at 0 to 12 hours and 12 to 24 hours postoperatively or beyond if indicated. Transthoracic echocardiograms to monitor left ventricular wall motion were performed preoperatively, the day before discharge, and more frequently if indicated. The diagnosis of myocardial infarction was entertained when at least two of the following criteria were met: (1) increase in troponin I greater than 5 µg/L, (2) development of ischemic ST-T waves or new Q waves, and (3) changes of regional wall motion on echocardiogram. Impairment of renal function was defined as a more than 50 µmol/L increase in serum creatinine from baseline or the need to institute dialysis.

Postoperative Management

After completion of the operation, the patients were transferred to a recovery facility with an endotracheal in place. Appropriate cardiorespiratory and metabolic monitoring continued during the hospital stay.

Statistics

Descriptive data are expressed as mean and standard deviations of the mean. Percentages are given when appropriate.

Results

The profiles of the patients in the present study resembled those in other series undergoing operative myocardial revascularization (Table 1) [17-19]. The patients were predominantly male, with comorbidities commonplace among an elderly population. All patients exhibited cardiac symptoms. Single-vessel disease was present in one quarter of the group whereas the rest had multivessel disease. The left ventricular ejection fraction was preserved in three quarters of the group, and the remainder showed varying degrees of impairment (Table 1).

The overwhelming majority of operations were elective, but urgent and emergent procedures were also performed (Table 2). LeGoo was used initially for constructing a total of 99 bypass grafts during 50 OPCABG operations for 2.0 grafts per patient. The conduits used varied. Just under three fourths of the patients received

Table 1. Variables in 50 Patients

| Variable | Value |
|--|--------------|
| Age, years, mean ± SD | 65.4 ± 13.8 |
| Male/female, n (%) | 42/8 (84/16) |
| Risk factors, n (%) | |
| Hypertension | 34 (68) |
| Diabetes mellitus | 14 (28) |
| Dyslipidemia | 31 (62) |
| Obesity | 18 (36) |
| Smoking history | 26 (52) |
| CAD in family | 15 (30) |
| Comorbidities, n (%) | |
| PVD | 7 (14) |
| CVD | 5 (10) |
| Renal disease (creatinine >200 µmol/L) | 4 (8) |
| COPD | 2 (4) |
| Recent MI (<6 weeks) | 10 (20) |
| EuroSCORE additive | 4.2 ± 3.4 |
| EuroSCORE logistic | 5.2 ± 7.1 |
| Severity of angina (CCSAC), n (%) | |
| Class 1 | 7 (14) |
| Class 2 | 22 (44) |
| Class 3 | 14 (28) |
| Class 4 | 7 (14) |
| Extent of CAD, n (%) | |
| Single vessel | 13 (26) |
| Double vessel | 22 (58) |
| Triple or more vessels | 15 (18) |
| LM involvement | 8 (16) |
| LV ejection fraction, n (%) | |
| >50 | 37 (74) |
| 30-50 | 11 (22) |
| <30 | 2 (4) |

CAD = coronary artery disease; CCSAC = Canadian Cardiovascular Society Angina Classification; COPD = chronic obstructive lung disease; CVD = cerebrovascular disease; EuroSCORE = European System for Cardiac Operative Risk Evaluation; LM = left main coronary artery; LV = left ventricle; MI = myocardial infarction; PVD = peripheral vascular disease.

two or more bypass grafts. Almost 60% of the vessels received only a single injection of LeGoo, close to one third required two injections, and only 8% needed a third proximal administration for completing the anastomosis. Information about the quality of the anastomotic field was available from 89 vessels. Excellent or good categories reflecting a satisfactory bloodless field for performing the anastomosis without substantial use of adjunct blood removal system or insertion of alternate vascular devices was achieved in 81 of the 89 vessels (91%; Table 3). In eight vessels, LeGoo did not provide satisfactory conditions. In six of these arteries, the operative field was obscured by blood either through flow from collateral

Table 2. Operative Variables

| Variable | Value |
|-------------------------------------|-------------|
| Priority of surgery, n (%) | |
| Elective | 43 (86) |
| Urgent | 2 (4) |
| Emergent | 5 (10) |
| Arteries bypassed (n = 99), n (%) | |
| LAD | 47 (47) |
| Diagonal | 13 (13) |
| Ramus intermedius | 2 (2) |
| Marginal/circumflex | 22 (22) |
| RCA | 15 (15) |
| Conduits (n = 99), n (%) | |
| LIMA | 61 (61) |
| RIMA | 25 (25) |
| SV | 11 (11) |
| RA | 2 (2) |
| No. bypasses per patient | |
| One | 13 (26) |
| Two | 25 (50) |
| Three or more | 12 (24) |
| No. LeGoo injections, 99 coronaries | |
| Proximal | |
| One | 99 |
| Two | 32 |
| Three | 8 |
| Distal | |
| One | 99 |
| Two | 31 |
| Three | 2 |
| LeGoo injected, mL per patient | |
| Proximal, mean ± SD | 0.27 ± 0.13 |
| Distal, mean ± SD | 0.16 ± 0.09 |
| Time per anastomosis, minutes | 10.5 ± 2.2 |
| Methods of LeGoo removal, n | |
| Spontaneous | 10 |
| Ice/cold saline | 61 |
| Massage | 10 |
| Parsonnet vascular probe | 10 |

LAD = left anterior descending artery; LIMA = left internal mammary artery; RA = radial artery; RCA = right coronary artery; RIMA = right internal mammary artery; SV = saphenous vein.

Table 3. Quality of Bloodless Field, 89 Vessels

| Category | No. (%) |
|------------|-----------|
| Excellent* | 53 (58.9) |
| Good* | 28 (31.1) |
| Fair | 7 (8.9) |

* Excellent and good indicate that visualization of operative field is satisfactory for accurate suturing.

branches (three vessels) or use of smaller size catheters (1.5 mm) than required for larger vessels early in our experience. The latter shortcoming has been remedied by manufacturing cannula with larger diameters. In all these six vessels, LeGoo was replaced with vessel loops. In 1 patient, excessive bleeding was noted from the epicardium. Another patient had ST-segment elevation and a life-threatening tachyarrhythmia 4 minutes after deployment of LeGoo. The polymer was dissolved and replaced with an internal shunt. Normal sinus rhythm returned, the ST-segment elevation receded, and the operation was completed without further problems.

After completion of the anastomoses, LeGoo dissolved spontaneously in approximately 10% of vessels. In the rest, the plug was dissolved by application of ice or cold saline over the vessels in the majority of cases, but also with manual massage or a Parsonnet Vascular Probe in smaller number of patients (Table 2).

Conversion of an OPCABG to cardiopulmonary bypass or use of intra-aortic balloon pump was not necessary in any of the 50 patients. Inotropes beyond 24 hours were administered after seven operations. The changes in other postoperative variables were within the limits commonly associated with OPCABG (Table 4) [17-19]. One patient sustained a myocardial infarction. All 6 patients who developed atrial fibrillation responded to amiodorone with return of normal sinus rhythm. The elevated creatinine levels returned to baseline in all patients, and renal dialysis was not required.

On the first postoperative day, 1 patient had ischemic ST-segment elevation and a rise in troponin I to 5.3 µg/mL. Coronary angiogram revealed stenosis of LIMA

Table 4. Postoperative Variables, 50 Patients

| Variable | Value |
|---|-----------|
| Endotracheal intubation, hours, mean ± SD | 6.0 ± 3 |
| Chest tube drainage, mL, mean ± SD | 474 ± 315 |
| Reoperation for bleeding, no. patients (%) | 1 (2) |
| Transfused, no. patients (%) | 9 (18) |
| Myocardial infarct, no. patients (%) | 1 (2) |
| Transient atrial fibrillation, no. patients (%) | 6 (12) |
| Creatinine increase > 50 µmol | 5 (10) |
| Intensive care unit stay, days, mean ± SD | 3.0 ± 4.4 |
| Length of hospitalization, days, mean ± SD | 8.0 ± 5.6 |
| Troponin I | |
| Baseline, µg/L, mean ± SD | 0.2 ± 0.8 |
| Postoperative peak, µg/L, mean ± SD | 1.7 ± 2.7 |

close to the anastomotic site, possibly secondary to injury from a vascular clamp. An emergency OPCABG was performed, the defective anastomosis was taken down, and no residual LeGoo was found. A new LIMA to LAD connection was constructed using LeGoo. Recovery ensued without complications. One patient with a history of a recent cerebrovascular accident experienced an episode of transient ischemic attack.

Comment

Off-pump CABG, an accepted alternative to on-pump CABG, requires an atraumatic and effective temporary coronary occluder, for optimal outcome. However, presently employed occluders are associated with a variety of shortcomings [1-8]. Dissection of the coronary artery from its myocardial bed for placement of clamps and snares runs the risk of myocardial injury, with chamber penetration at its most extreme form. The compressive force exerted by the various occlusive devices may traumatize the coronary artery, especially diseased ones with friable walls. Internal balloons, obturators, and shunts tend to injure the endothelium. The endothelial damage ranges from dysfunction through structural injury resulting in hyperplasia or thrombus formation to eventual occlusion. Moreover, atherosclerotic involvement of a coronary artery distorts the circular configuration of the lumen and impedes effective occlusion by any of the presently available devices. Suckers and blowers traumatize red cells, injure vascular endothelium, and can introduce air emboli [9,10]. Thus, the need for improvements on existing vascular occluders to enhance safety and efficacy is apparent.

LeGoo is a nonionic, thermosensitive, surfactant polymer with rapid liquid to gel transition. The polymer is nontoxic, nonabsorbed, and nonmetabolized and does not embolize. Preclinical studies in animals demonstrated a high degree of safety and efficacy [11-15].

Boodhwani and colleagues [12] reported that in swine, formation and duration of the occlusive LeGoo gel plug, correlated with concentration and amount injected. The polymer plug served as an effective vascular occluder. Endothelium-dependent microvessel relaxation was not impaired with polymer concentrations below 22.5% [12]. Microscopic sections of myocardium supplied by LeGoo occluded vessels showed mild ischemia-reperfusion-related contraction changes without evidence of permanent damage or small vessel embolization [13]. Bouchot and associates [14] found that, in pigs, LeGoo was effective as a temporary vascular occluder during OPCABG anastomoses. The endothelium of the coronary arteries showed no functional or structural damage and the myocardium exhibited no ischemic injury attributable to the polymer plug [14].

Cohn and colleagues [15] observed in pigs that during LIMA to LAD anastomoses, injection of LeGoo through a coronary arteriotomy in a proximal direction reduced blood flow into the field from 5.25 ± 1.65 mL/min to 0.54 ± 0.53 mL/min. The surgical field was dry, and relevant anatomical structures were clearly visible with-

out the need for substantial use of blood removal devices. Postoperative angiograms revealed patent anastomoses without filling defects attributable to residual LeGoo. Myocardial samples obtained from territories supplied by LeGoo-blocked vessels showed no residual or embolized polymer and ischemic damage. Aubin and associates [16] administered LeGoo into transected porcine IMAs that stopped blood flow for 15 minutes in eight of the nine vessels without impairing endothelial function or structure.

These preclinical studies indicated that LeGoo is a safe, atraumatic, and effective temporary vascular occluder. Cautious use of the polymer in humans for vascular surgery was initiated. The present communication on 50 OPCABG operations describes the first major published vascular experience with LeGoo. The operating surgeon was satisfied with performance of the polymer. Administration proved easy and simple. There was no detectable evidence of systemic or local toxicity, or injury to endothelium, vessel wall, and myocardium. Similarly, no systemic metabolic or local embolic complications were manifested. LeGoo proved an effective vascular occluder in 91% of targeted coronary arteries. The lack of success in 9% of vessels was attributable to (1) bleeding into the arteriotomy from collateral channels, (2) use of catheters smaller in diameter than that of the target coronary arteries in our early experience, and (3) serious cardiac arrhythmia secondary to ischemia produced by target vessel occlusion. The complication was handled effectively by immediate dissolution of the LeGoo plug and insertion of a shunt to channel blood flow to the ischemic myocardium. Limited catheter size availability has been corrected, and at present, five different diameters and two lengths are manufactured.

The clinical course of patients in the present experience resembled that observed in other OPCABG series reported in the literature [17-19]. No adverse events attributable to LeGoo were noted.

To validate the results obtained from the present study, a randomized clinical trial involving 110 OPCABG patients comparing LeGoo and vessel loop is in progress.

In addition to the use with OPCABG, LeGoo has also been employed in an exploratory manner for on-pump CABG, peripheral vascular surgery, and arteriovenous shunt for dialysis. A randomized clinical trial with another LeGoo-like polymer product, Backstop (Pluromed), designed for use during lithotripsy to block reflux of stone fragments from the ureter into the kidney has been completed, and the product is approved by the Food and Drug Administration for human use.

In conclusion, LeGoo, a thermosensitive polymer, was used as a temporary vascular occluder in 99 coronary arteries of 50 humans during OPCABG for obtaining a bloodless surgical field while constructing the distal anastomoses. LeGoo provided satisfactory bloodless field in more than 91% of vessels. Improvement on LeGoo injection cannula design (size and length) promises a higher rate of success. Deployment of LeGoo was simple and easy. Formation of an occlusive plug was instantaneous. Similarly, dissolution of the LeGoo plug after

completion of the anastomosis was easy, reliable and quick. No evidence of endothelial damage at LeGoo deployment sites in the coronary artery was detected. There was no indication of embolization to myocardium or to other organs. The present human experience confirmed the results of extensive preclinical experiments indicating that LeGoo is a safe and effective temporary occluder in the coronary tree and probably in various other vascular and tubular structures in the body as well.

Pluromed, Inc, Woburn, Massachusetts, provided the LeGoo for this study at no cost.

References

1. Wippermann J, Albes JM, Brandes H, et al. Chronic ultrastructural effects of temporary intraluminal shunts in a porcine off-pump model. *Ann Thorac Surg* 2004;78:543-8.
2. Wippermann J, Albes JM, Brandes H, et al. Acute effects of tourniquet occlusion and intraluminal shunt in beating heart surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003;24:757-61.
3. Hangler H, Mueller L, Ruttman E, et al. Shunt or snare: coronary endothelial damage due to hemostatic devices for beating heart coronary surgery. *Ann Thorac Surg* 2008;86:1873-7.
4. Demaria RG, Fortier S, Malo O, et al. Influence of intracoronary shunt size on coronary endothelial function during off-pump coronary artery bypass. *Heart Surg Forum* 2003;6:160-8.
5. Emmiler M, Kocogullari CU, Ela Y, et al. Influence of intracoronary shunt on myocardial damage: a prospective randomized study. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008;34:1000-4.
6. Vural AH, Takarabi K, Murayama J, et al. Intracoronary shunt versus bulldog clamp in off-pump bypass surgery. Endothelial trauma: shunt versus clamp. *J Surg Res* 2008;150:261-5.
7. Okazaki Y, Yalcinkaya S, Turk T, et al. Coronary endothelial damage during off-pump CABG related to coronary-clamping and gas insufflation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;19:834-9.
8. Burfeind WR, Duhaylongsod FG, Annex BH, et al. High-flow gas insufflation to facilitate MIDCABG: effects on coronary endothelium. *Ann Thorac Surg* 1998;66:1246-9.
9. Mair H, Sergeant P. Air embolism caused by blower mister. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;127:897.
10. Korkmaz AA, Guden M, Korkmaz F, et al. Coronary air embolism in off-pump surgery caused by blower mister-device. *J Card Surg* 2008;23:583.
11. Raymond J, Metcalfe A, Salazkin I, Schwarz A. Temporary vascular occlusion with poloxamer 407. *Biomaterials* 2004;25:3983-9.
12. Boodhwani M, Feng J, Mieno S, et al. Effects of purified poloxamer 407 gel on vascular occlusion and the coronary endothelium. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006;29:736-41.
13. Boodhwani M, Cohn WE, Feng J, et al. Safety and efficacy of a novel gel for vascular occlusion in off-pump surgery. *Ann Thorac Surg* 2005;80:2333-7.
14. Bouchot O, Aubin M-C, Carrier M, et al. Temporary coronary artery occlusion during off-pump coronary artery bypass grafting with the new poloxamer P407 does not cause endothelial dysfunction in epicardial coronary arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;132:1144-9.
15. Cohn WE, Tuzun E, Simonak R, et al. Hemostatic control of coronary arteries with poloxamer 407 reverse thermal-polymer during off pump coronary artery bypass surgery in a pig model. *Innovations* 2007;2:36-9.
16. Aubin MC, Bouchot O, Carrier M, Cohn WE, Perrault LP. Temporary internal thoracic artery occlusion during off-pump coronary artery bypass grafting with the new poloxamer P407 does not cause endothelial dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;132:685-6.
17. Shroyer AL, Grover FL, Hattler B, et al. On-pump versus off pump coronary artery bypass surgery. *N Engl J Med* 2009;361:1827-37.
18. Reston JT, Tregear SJ, Turkelson CM. Meta-analysis of short-term and mid-term outcomes following off-pump coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 2003;76:1510-5.
19. Mohammed AA, Agnihotri AK, Roland RJ. Postoperative comprehensive assessment of cardiac troponin testing after coronary bypass graft surgery. *Circulation* 2009;120:843.

7.3 DISCUSSION

La revascularisation coronarienne Off-pump est une alternative acceptable à la chirurgie de pontage coronarien avec circulation extra-corporelle, et nécessite une occlusion coronaire temporaire atraumatique et efficace, pour un résultat optimal. Cependant, les obturateurs actuellement utilisés sont associés à une variété de lacunes. La dissection de l'artère coronaire dans le myocarde pour le placement de pinces et pièges peut entraîner le risque de lésions du myocarde, avec pénétration dans le ventricule dans sa forme la plus extrême. La force de compression exercée par les différents dispositifs occlusifs peut traumatiser l'artère coronaire, en particulier les malades avec des artères athéromateuses fragiles. Les ballons internes, obturateurs, et shunts ont tendance à léser l'endothélium. Les lésions endothéliales varient d'un dysfonctionnement structurel avec risque d'hyperplasie à la formation de thrombus avec une éventuelle occlusion. En outre, en cas d'athérosclérose coronarienne, l'occlusion par les dispositifs est plus difficile et moins efficace. L'utilisation de soufflettes peut traumatiser les globules rouges, blesser l'endothélium vasculaire, et peut entraîner une embolie gazeuse introduite. Ainsi, la nécessité d'améliorer les dispositifs d'occlusion vasculaire existants afin d'améliorer la sécurité et l'efficacité est évidente. LeGoo est un agent non-ionique, thermosensible, surfactant avec une transition rapide de liquide en gel. Le polymère est non toxique, non absorbé et non métabolisé et ne peut emboliser. Les études précliniques chez l'animal ont démontré un degré élevé de sécurité et d'efficacité. Boodhwani et ses collègues ont rapporté que chez les porcs, la formation et la durée de l'occlusion du gel LeGoo sont corrélées avec la concentration et la quantité injectée. Le polymère a été efficace comme obturateur vasculaire. La relaxation endothélium-dépendante des microvaisseaux n'a pas été modifiée avec un polymère avec des concentrations inférieures à 22,5%. Les coupes microscopiques du myocarde fournies après occlusion par le gel LeGoo ont montré de légères lésions d'ischémie-reperfusion sans preuve d'embolisation permanente. Bouchot et associés ont montré que, chez les porcs, LeGoo a été efficace comme occlusion temporaire vasculaire au cours d'anastomose coronarienne à cœur battant. L'endothélium des artères coronaires n'a révélé aucun dommage fonctionnel ou structurel et le myocarde ne présentait aucune lésion ischémique attribuable au bouchon de polymère. Cohn et ses collègues ont observé au cours d'anastomose entre l'artère thoracique interne et l'IVA chez le porc, que l'injection de LeGoo par une artériotomie coronaire dans une

direction proximale réduit le flux sanguin dans le champ opératoire de $5,25 \pm 1,65$ ml / min à $0,54 \pm 0,53$ ml / min. Le champ opératoire était sec et les structures anatomiques étaient clairement visibles sans nécessiter l'utilisation importante de dispositifs de lavage du sang. Les angiographies post-opératoires ont révélé des anastomoses perméables sans défaut attribuable à la persistance résiduelle de gel LeGoo. Les échantillons myocardiques des territoires concernés par le gel LeGoo ne présentaient aucun résidu ou embolisation du polymère ni de lésions ischémiques.

Aubin et associés ont administré le gel LeGoo dans l'artère thoracique interne de porc porcine et arrêté la circulation sanguine pendant 15 minutes dans huit des neuf vaisseaux, sans altérer la fonction endothéliale ou de la structure.

Ces études précliniques ont indiqué que LeGoo est sécuritaire, atraumatique, et efficace pour l'occlusion vasculaire temporaire. L'utilisation prudente du polymère chez l'homme pour la chirurgie vasculaire peut alors débuter. La présente communication sur 50 opérations OPCABG décrit la principale expérience vasculaire publiée avec LeGoo. Le chirurgien a été satisfait de la performance du polymère. L'administration s'est avérée facile et simple. Il n'y avait pas de signe détectable de toxicité systémique ou locale, ou de lésion endothéliale, ou de la paroi vasculaire et du myocarde. De même, aucune complication embolique systémique ou local métabolique n'a été manifestée. LeGoo a prouvé une occlusion vasculaire efficace dans 91% des artères coronaires ciblées. Le manque de succès dans 9% des vaisseaux a été attribuable à (1) un saignement dans l'artériotomie des artères collatérales, (2) l'utilisation de canules de diamètre plus petit que celui de l'artère coronaire cible dans les premières expériences, et (3) une arythmie cardiaque grave secondaire à l'ischémie produite par l'occlusion coronarienne. Cette complication a été traitée de manière efficace par la dissolution immédiate du bouchon de gel LeGoo et l'insertion d'un shunt intra coronaire permettant de restaurer le flux sanguin distal et supprimer l'ischémie myocardique. La disponibilité limitée des tailles du cathéter a été corrigée, et à l'heure actuelle, cinq différents diamètres et deux longueurs sont fabriqués. L'évolution clinique des patients dans l'expérience présente ressemblait à celle observée dans d'autres séries OPCABG rapportées dans la littérature. Aucun effet indésirable attribuable à LeGoo n'a été noté. Pour valider les résultats obtenus par la présente étude, un essai clinique randomisé impliquant 110 OPCABG patients comparant LeGoo et vessel loop est en cours.

En plus de l'utilisation en OPCABG, LeGoo a également été employé au cours de la chirurgie coronarienne à cœur arrêté sous circulation extra corporelle, chirurgie vasculaire

périphérique, et fistule artério-veineuse de dialyse. Un essai clinique randomisé a été récemment complété avec un autre produit basé sur le même polymère que LeGoo, BackStop (Pluromed), conçu pour être utilisé au cours de la lithotripsie pour bloquer la migration de fragments de calcul de l'uretère dans le rein. Le produit est approuvé par la Food and Drug Administration pour usage humain.

En conclusion, LeGoo, une formulation polymérique thermosensible, a été utilisé comme un dispositif d'occlusion vasculaire temporaire dans 99 coronaires artères chez 50 hommes au cours d'OPCABG pour l'obtention d'un champ opératoire sans effusion de sang lors de la réalisation d'anastomoses. LeGoo permet des conditions satisfaisantes sur l'absence de sang dans plus de 91% des vaisseaux. L'amélioration du design de la canule d'injection (taille et la longueur) de LeGoo promet un meilleur taux de réussite. Le déploiement de LeGoo était simple et facile. La formation d'un bouchon occlusif a été instantanée.

De même, la dissolution de LeGoo après la confection de l'anastomose était facile, fiable et rapide. Aucune preuve de lésion endothéliale liée à LeGoo au site d'injection dans l'artère coronaire n'a été détectée. Il n'y avait aucune embolisation au niveau du myocarde ou d'autres organes. L'expérience actuelle de l'homme a confirmé les résultats de nombreuses expériences précliniques indiquant que LeGoo est sécuritaire et efficace pour l'occlusion temporaire dans les artères coronaires et probablement dans les différents d'autres vaisseaux dans le corps.

Article 4

**RANDOMIZED CLINICAL TRIAL COMPARING A
THERMOSENSITIVE POLYMER (LEGOO®) WITH
CONVENTIONNAL VESSEL LOOP FOR
TEMPORARY CORONARY OCCLUSION DURING
OFF-PUMP CORONARY ARTERY BYPASS (OPCAB)
SURGERY**

Gerhard Wimmer- Greinecker, **Olivier Bouchot**, Jean-Philippe Verhoye,
Louis P Perrault, Jochen Borgermann, Anno Diegler, Leen Van Garsse,
Ardawan J Rastan.

Annals of Thoracic Surgery. Sous presse (Annexe 3)

8. ARTICLE 4

8.1 INTRODUCTION

Le débat entre la chirurgie de revascularisation coronarienne à cœur battant (PCCB) versus à cœur arrêté sous circulation extra-corporelle (PCCA) continue d'avoir lieu. Le bénéfice est de plus en plus certain pour les patients à haut risque. Un champ opératoire exsangue au niveau de l'artériotomie est requis pour pouvoir réaliser des anastomoses coronariennes de très grandes qualités. Les systèmes classiques extravasculaire et intra-vasculaire d'occlusion temporaire des artères coronaires utilisés pendant PCCB comprennent shunts intra-coronaires, clamps, élastiques et les tourniquets avec ou sans l'ajout d'insufflateur de CO₂. Malheureusement, ces techniques peuvent causer des dysfonctionnements endothéliaux ou des lésions de la paroi coronaire et ne sont pas toujours efficaces dans le contrôle du saignement sanguin par les artères collatérales ou le retour sanguin distal. De plus les shunts intra-coronaires croisent le champ opératoire et peuvent interférer avec la réalisation de la suture rendant la procédure inutilement difficile. Par ailleurs, les insufflateurs de CO₂ peuvent provoquer des dissections coronariennes ou une embolie gazeuse. LeGoo (Pluromed, Inc. Woburn, MA Etats-Unis) est un nouveau gel réversible thermo-sensibles. Les études animales ont démontré qu'il est sécuritaire, facile à appliquer et une alternative efficace aux méthodes traditionnelles d'occlusion temporaire de l'artère coronaire au cours de PCCB. Les récentes expériences cliniques chez l'homme indiquent également que LeGoo est une méthode sûre et très efficace pour l'interruption temporaire du débit au cours de la chirurgie sans CEC et MIDCAB. Toutefois, un essai clinique randomisé manquait. Le but de cet essai clinique prospectif randomisé était de comparer la faisabilité, la sécurité et l'efficacité de LeGoo aux élastiques classiques pour obtenir un champ opératoire anastomotique exsangue au cours de PCCB. L'hypothèse est que LeGoo fournit un champ opératoire exsangue dans une plus grande proportion d'anastomoses par rapport aux dispositifs classiques d'occlusion temporaire.

8.2 ARTICLE

Randomized clinical trial comparing a thermosensitive polymer (LeGOO®) with conventional vessel loops for temporary coronary artery occlusion during off-pump coronary artery bypass (OPCAB) surgery

Gerhard Wimmer-Greinecker MD, Olivier Bouchot MD, Jean P. Verhoye MD, Louis P. Perrault MD, Jochen Börgermann MD, Anno Diegeler MD, Leen Van Garsse MD, Ardawan J Rastan MD

Department of Cardiothoracic Surgery, Heart and Vessel Center, Bad Bevensen, Germany (G.W.G.), University Hospital, Department of Cardiovascular Surgery Dijon, France (O.B.), Cardio-Pneumologic Center, Pontchaillou Hospital, Rennes, France (J.P.V.), Montreal Heart Institute, Montreal, Canada (L.P.P.), Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein Westfalen, Bad Oeynhausen, Germany (J.B.), Department of Cardiac Surgery, Heart and Vessel Center, Bad Neustadt, Germany (A.D.), Department of Cardiothoracic Surgery, Maastricht University Medical Centre, Maastricht, Netherlands (L.V.G.), Department of Cardiac Surgery, Heart Center Leipzig, Germany (A.J.R.).

Short title: Thermosensitive Polymer (LeGoo) for temporary coronary vessel occlusion

Key words: Polymer, LeGoo Trial, OPCAB, distal anastomosis, coronary artery bypass grafting

Text body word count: 3455 words

The study was supported by Pluromed, Inc., Woburn, Massachusetts, USA,

Clinical Trial Registration Information: The study was registered with clinicaltrials.gov. The identifier was NCT00985634.

Address of the corresponding author:

Gerhard Wimmer-Greinecker, MD, PhD
Department of Cardiothoracic Surgery
Heart and Vessel Center Bad Bevensen
Roemstedter Str. 25
D- 29549 Bad Bevensen
Germany
49 5821 82 1702
49 5821 82 1777 (Fax)
Email : g.wimmer-greinecker@hgz-bb.de

Abstract

Objective: During OPCAB surgery a bloodless surgical field is mandatory for visualization and construction of optimal coronary anastomoses. Presently used temporary vascular occluders are known to cause endothelial dysfunction and vessel injury. The present prospective multicenter randomized clinical trial evaluates safety/efficacy of a novel thermosensitive polymer (LeGoo) as an atraumatic temporary vascular occluder.

Methods: Between 7/2008 and 2/2010, 110 patients undergoing OPCAB were randomized between LeGoo (LG) and conventional vessel loops (VL) for coronary artery occlusion during construction of the distal anastomosis. A semi-quantitative 4-point scale was used to evaluate the degree of bloodless surgical field and surgical comfort. Duration of coronary artery occlusion was also recorded. Safety during the operation and ensuing 30 days was evaluated by a composite endpoint of Major Adverse Cardiac Events (MACE) that consisted of a) death from all causes, b) graft occlusion, c) myocardial infarction and d) low cardiac output.

Results: 56 patients (117 distal anastomoses) were randomized to LeGoo and 54 patients (122 anastomoses) to vessel loop. There were 2 anastomoses crossed over from LeGoo to the control arm and 3 from control to LeGoo. Five anastomoses in LG patients were treated with an alternative device (shunts). Satisfactory hemostasis was achieved in 88.0% (103 of 117) of LG compared to 60.7% (74 of 122) of VL anastomoses ($p<0.001$). Mean total anastomotic time was 12.8 minutes in LG and 15.1 minutes in VL ($p<0.001$) groups. This difference was more pronounced for arteries on the posterior and lateral than on the anterior walls of the heart. Composite adverse events were similar in the two groups: 3 of 48 LG patients and 3 of 46 VL patients. There was one death in the LG group. One patient experienced myocardial infarction in LG group, and 1 in VL arm. No operation was converted from OPCAB to CABG with CPB.

Conclusion: LeGoo is a safe and effective temporary coronary occluder during OPCAB. It provided a dry surgical field for visualization of anastomotic field and surgical comfort more frequently than conventional vessel loops. In addition anastomotic times were shorter with LG. Major cardiac adverse events were similar in the LG and VL arms.

Introduction

There is considerable debate about the superiority of off-pump coronary artery bypass (OPCAB) surgery over conventional on pump coronary artery bypass grafting (cCABG) [1, 2]. Evidence is growing that certain high-risk patient subgroups benefit from avoiding CPB and cardioplegic arrest [3-6]. Optimal visualization for working in a bloodless field is mandatory in OPCAB for crafting high quality coronary anastomosis. Conventional extravascular and intravascular temporary coronary occlusive devices used during OPCAB include intracoronary shunts, clamps, vessel loops and snares with or without the addition of CO₂-blowers. Unfortunately, these techniques may cause endothelial dysfunction or coronary wall injury [7-9] and are not always effective in controlling collateral and retrograde coronary blood flow, especially in the face of total coronary occlusion. Moreover intracoronary shunts crowd the operative field and may interfere with placement of sutures making the procedure unnecessarily difficult [10]. In addition, CO₂-blowers may cause coronary vascular dissection or air embolism.

LeGoo (Pluomed, Inc. Woburn, MA USA) is a novel reverse thermo-sensitive gel. Animal studies demonstrated that it is safe, easy to apply and an effective alternative to traditional methods of temporary coronary artery occlusion during OPCAB surgery [11-15]. Recent clinical experience in humans also indicates that LeGoo is a safe and highly effective method for temporary flow interruption during OPCAB and MIDCAB surgery [16-18]. A randomized clinical trial however lacked. The purpose of this prospective randomized clinical trial was to compare feasibility, safety and efficacy of LeGoo to conventional vessel loops in obtaining a bloodless anastomotic field during OPCAB. The study hypothesis postulated that LeGoo provides a bloodless surgical field in a larger proportion of anastomoses than conventional temporary occluders.

Materials and Methods

Between 8/2008 and 1/2010, a total 110 patients undergoing off-pump coronary artery bypass surgery were randomized in a 1:1 ratio between LeGoo (LG) and vessel loops (VL) for temporary coronary artery occlusion at nine study centers in Europe and Canada. Elective operations with at least one >70% proximal coronary stenosis and an age of 18-79 were included. Exclusion criteria were left ventricular ejection fraction <40%, left main coronary stenosis >50%, previous cardiac surgery, logistic EuroSCORE >10, urgent or emergent surgery, FEV₁ (1-second forced expiratory volume) <45% of predicted, intramyocardial coronary arteries, plasma creatinine >200 µmol/l and plasma bilirubin >21 µmol/l. An Institutional Review Board at each site approved the protocol, and all patients provided written informed consent consistent with the Declaration of Helsinki, the International Conference on Harmonisation, and all local regulations.

LeGoo is a non-toxic, non-absorbed and non-metabolized polymer that is a viscous liquid at room temperature and transits to a solid gel instantaneously when exposed to body temperatures [21]. Intravascular administration of LeGoo produces a firm gel plug that lasts a number of minutes, allowing work in a bloodless field [11-18]. The gel dissolves spontaneously after minutes or when desired instantaneously by topical application of crushed ice or iced saline. Once dissolved below a minimum concentration, the polymer does not re-solidify and is excreted unmetabolized from the body.

LeGoo is supplied in pre-filled syringes as a sterile, single-use product available in volumes ranging from 250 µl to 10 ml, to accommodate a range of vessel sizes and desired plug lengths. Each LeGoo kit also contains specially designed sterile, soft olive-tipped cannula of various diameters and lengths in order to fit different size vessels and reach coronaries at different location on the heart. Prior to use, the appropriate sized cannula is attached to the LeGoo syringe. LeGoo received CE mark (Conformité Européenne).

In the present study, LeGoo was administered in the beating heart by temporarily occluding blood flow in the target coronary of a beating heart with a small surgical swab placed proximal to the intended site of anastomosis. A stab wound was made at the desired location in the coronary artery, followed by completion of the arteriotomy. Appropriate sized cannulae were inserted proximally and distally for LeGoo administration through the arteriotomy for a distance of approximately 2 cm. LeGoo was injected and the occlusive surgical swab was removed once the newly formed firm gel plugs stopped blood flow into the field. In cases of inadequate initial hemostasis or resumption of bleeding into the

anastomotic field due to dissolution of the polymer plug, additional LeGoo was administered.

In the control group, proximal snares or vessel loops were used to control bleeding into the arteriotomy. Distal vessel snares were applied when necessary but are usually not recommended in order to avoid potential vessel damage. CO₂ blowers were employed at the discretion of the operating surgeon. It was required that surgeons have experience with the use of LeGoo in at least five OPCAB operations before participating in the study.

The primary study endpoint was based on the hemostasis in the anastomotic field using the following 4-point semi quantitative scale:

1. Excellent hemostasis - no bleeding into operative field
2. Good hemostasis - minimal bleeding into operative field that does not interfere with suturing
3. Fair hemostasis - modest bleeding into the operative field requiring intermittent use of another device to control bleeding
4. Poor hemostasis - copious bleeding into the operative field requiring continuous use of another device to control bleeding

Hemostasis was considered satisfactory at levels 1 or 2 on the above scale. Levels 3 and 4 were regarded as unacceptable bleeding into the field manifested by the need for CO₂ blowers, intracoronary shunts, or other occluders.

Secondary efficacy endpoints consisted of the time required from beginning preparation of the anastomotic site to the point vessel occlusion was achieved, the total duration of crafting the anastomosis, the number of blood or blood product units transfused during hospitalization and the difference between preoperative and discharge haemoglobin values.

Primary safety endpoint was expressed in terms of a composite of four Major Adverse Cardiac Events (MACE): a) death from all causes, b) graft occlusion, c) low cardiac output syndrome and d) myocardial infarction intra-operatively and up to the 30-day follow up visit. The definition of myocardial infarction was based on the SYNTAX study definition and in accordance to the early ESC postop CABG Type V universal definition of myocardial infarction [19, 20].

Statistical analysis

Analyses were conducted using SAS System Software, Version 9.2 (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA). Randomization was performed in a 1:1 fashion, stratified by study center, using variable block sizes. The study was powered to test the null hypothesis of inferiority, against the one-

sided alternative hypothesis of non-inferiority in the rates of satisfactory hemostasis between the LeGoo and Control groups, using a 10% non-inferiority margin. A test of superiority in these rates was to be performed if the null hypothesis of inferiority was rejected. The significance level for this test was set at 0.0245 (one-sided), to account for a single interim analysis at the midpoint of the trial. The sole pre-specified purpose of the interim analysis was to re-estimate the sample size requirements, as no prior data was available to estimate the expected rate of successful hemostasis for the LeGoo group during study planning. The interim analysis showed that no increase in the original planned sample size was required. Continuous variables were described using mean \pm standard deviation and discrete variables were reported as counts and percentages. For outcomes measured per anastomosis, a Generalized Estimating Equation (GEE) model was fit, in order to take into account the correlation of the repeated measures within patients. An identity link was used for continuous outcomes (applying transformations as necessary to meet model assumptions) and a logistic GEE model was fit to the binary outcome. All other variables were analyzed using the t-test or Wilcoxon Rank Sum test for continuous and ordered variables, and chi-square or Fisher's Exact test for discrete outcomes. Analysis was performed on an intention-to-treat as well as an as-treated basis. A probability of <0.05 was considered significant for all hypothesis tests other than primary effectiveness. All reported p-values are two-sided. Missing values were not replaced by imputed values.

Results

55 patients were randomized to the LeGoo arm and 55 were randomized to the control-arm. Patient demography, cardiac and extracardiac characteristics, and pattern of coronary artery disease were similar (Table 1). Coronary artery size, severity of stenosis, grafted arteries and conduits used were also similar in the two arms of the trial (Table 2).

Administration of LeGoo proved simple and safe. The learning curve was short. Injection of LeGoo took seconds and the polymer turned into a firm gel immediately after injection. Blood flow into the anastomotic field stopped simultaneously. No adverse events were associated with injection of LeGoo. The time required to apply the occlusive device on the coronary arteries and total duration of anastomosis were significantly longer in the VL than LG arms (Table 2). This difference was more pronounced for arteries on the posterior and lateral than on the anterior walls of the heart indicating

that LeGoo is especially advantageous in difficult access areas, as already observed during MIDCAB [18].

The semi quantitative 4-point scale used for analyzing quality of haemostasis during performance of the anastomosis revealed that quality of bloodless field was satisfactory in a significantly higher percentage of the LeGoo than vessel loop groups (Table 2). There were 2 anastomoses crossed over from LeGoo to the control arm and 3 from control to LeGoo. Five anastomoses in LG patients were treated with an alternative device (shunts). Total anastomosis times (define) were greater on the posterior and lateral wall of the heart with VL but not with LG. (Table 2)

Preoperative and discharge haemoglobins and the number of units of blood transfused during the hospital stay were similar in the two groups (-3.2 ± 1.7 for LG vs. -3.1 ± 1.9 for VL ($p=0.9$), and 0.6 ± 1.6 (median 0) vs. 0.7 ± 1.8 (median 0), respectively.

One-month follow-up was 95% for LeGoo patients (53/56) and 96% for controls (52/54). The composite 30-day safety endpoint (MACE) showed no differences between LG and VL. (Table 3).

One patient in the LeGoo-group died from a severe postoperative coagulopathy. Occlusion of all grafts in that patient resulted in an irreversible low cardiac output syndrome. Two additional patients in the LeGoo-group had graft occlusions (one to a severely diseased 1 mm artery and the other had a twisted conduit). There was no graft occlusion in the control arm. One patient in each group suffered from a perioperative myocardial infarction.

Atrial fibrillation was observed in 25.0 % of the patients in the LeGoo-group and in 14.8 % in the controls ($p = n.s.$). Other cardiac and non cardiac related complications were similar in the two groups (Table 4).

Discussion

This randomized clinical trial demonstrates that LeGoo, a novel reverse thermo-sensitive polymer, is safe and more effective than conventional vessel loops in achieving a bloodless anastomotic field during performance of OPCAB surgery.

OPCAB is a well established technique for coronary artery bypass grafting in many centers worldwide because of growing evidence that subgroups of high risk patients benefit from avoiding

cardiopulmonary bypass and cardioplegic arrest [3-6].

A variety of temporary coronary artery occluders are currently in use to achieve a bloodless field but each has shortcomings and none enjoys universal acceptance. Clamps, shunts and vessel loops cause endothelial or vessel wall damage. Loops or snares can also injure the myocardium during placement resulting on a rare occasion in serious bleeding [7].

Intracoronary shunts may injure endothelium and induce endothelial dysfunction. Moreover, the presence of the device crowds the operative field and may render suturing cumbersome [8, 9]. Nonetheless, shunts are frequently employed in an effort to avoid the risk of regional ischemia associated with occlusive devices. Agostini showed that LeGoo can be used to seal the space between shunt and vessel wall to obtain a bloodless field, facilitating the use of smaller shunts that are less likely to damage the endothelium [16]. CO₂-blowers must be used with caution as they can dissect the coronary and also produce air embolism [10]. Finally, several mechanical anastomotic devices have also been developed, but have not gained general acceptance for a variety of reasons.

LeGoo (Pluromed Inc, Woburn, Mass) is nonthrombogenic and biocompatible. It is not absorbed or metabolized but breaks up into its physical components and is excreted from the body. [21]. LeGoo is derived from a poloxamer through a proprietary fractionation process designed to yield the rapid phase change required to function effectively as a temporary vascular plug. The firm gel plug formed from LeGoo conforms to the contour of the vessel wall even in the presence of atherosclerotic disfiguration. The plug dissolves spontaneously after a number of minutes. When desired, LeGoo can be dissolved instantaneously by application of ice or cold saline. [11-15, 21].

In extensive animal studies, LeGoo has proven safe and effective as a temporary atraumatic coronary occluder. [11-18]. In addition, Manchio et al. used LeGoo in rat femoral arteries and concluded that the polymer showed promise to achieve haemostasis during microvascular anastomoses [22].

In experimental animals, selective vessel occlusion by LeGoo facilitates bloodless partial resection of solid organs. For this objective Moinzadeh et al. developed an angiographic delivery technique for selective occlusion of a branch renal artery that supplies the lower pole segment by LeGoo-XL™, now called Lumagel™ [23]. Using this technique, robotically assisted partial nephrectomies were performed in animals with minimal blood loss.

Bouchot et al. reported on the use of LeGoo in humans as a temporary coronary artery occluder during elective OPCAB in 50 patients with 99 distal coronary anastomosis [17]. The method provided

satisfactory bloodless field in 91% of the anastomoses. The average duration of occlusion was 10.5 ± 2.2 minutes. LeGoo proved safe in these patients without device related adverse events; i.e. instances of coagulopathy, metabolic derangements, evidence of distal LeGoo embolization, etc. Repeat injection of LeGoo was necessary in approximately one third of the patients either because the injected gel was too cold or because insufficient volume was used to produce a plug of required length. Inadequate plug length may be encountered in patients with diffuse distal disease, severe kinking of the LAD, and with arteriotomies close to a high-grade stenosis. In one patient ventricular fibrillation was observed after a 4 minute coronary occlusion period by LeGoo. The LeGoo plug was dissolved immediately by application of cold liquid, an intracoronary shunt was inserted and NSR returned.

Rastan et al. used LeGoo in 10 consecutive patients during minimally invasive direct coronary artery bypass (MIDCAB), Visibility was excellent and the field was less crowded with LeGoo than with conventional devices [18].

The present randomized clinical trial supports previous observations during extensive animal experimentation and during limited clinical experience with OPCAB surgery about the advantages of LeGoo as an atraumatic temporary vascular occluder. LeGoo proved easy to apply, safe and superior to conventional vessel loop in obtaining bloodless operative field. It appears especially advantageous over conventional devices on inferior and lateral walls of the heart, and arteries that were previously stented, heavily diseased and fragile, completely occluded and have large collateral flows.

Discussion points

Limitations

Angiographic confirmation of graft patency and long-term outcome were not considered in this study. Because of the limited number of patients and anastomoses the study size might have been too small to detect minor differences in bypass function.

Conclusions

In conclusion LeGoo proved a safe and superior alternative to vessel loop in this randomized clinical trial on OPCAB surgery comparing LG with VL. Adverse event rates and blood transfusion rates were similar in the study and control arms. LeGoo provided a bloodless surgical field that allowed superior visibility and avoided clutter by surgical instruments.

Preferential indications for the use of the thermosensitive gel over conventional devices include stented coronary arteries, fragile and diffusely diseased vessels, large retrograde blood flow into the anastomotic field and arteries on posterior, lateral and inferior surfaces of the heart. LeGoo might also be indicated in CABG patients with cumbersome coronary blood flow into anastomotic field in spite effective cardioplegic arrest.

Disclosures

There are no disclosures to declare. Ardawan J Rastan was study principal investigator. All other authors were site investigators and have no other conflicts of interest. The study was supported by Pluomed, Inc., Woburn, Massachusetts, USA, but the company was not involved in the decision to publish the results of the study. All authors have participated in the interpretation of the data, drafting and review of this manuscript and have approved its submission.

References

1. Shroyer AL, Grover FL, Hattler B, et al.; Veterans Affairs Randomized On/Off Bypass (ROOBY) Study Group. *N Engl J Med.* 2009;361:1827-37
2. Puskas JD, Kilgo PD, Lattouf OM, et al.; Off-pump coronary bypass provides reduced mortality and morbidity and equivalent 10-year survival. *Ann Thorac Surg.* 2008;86:1139-46
3. Sellke FW, DiMaio JM, Caplan LR, et al.; Robbins RC. Comparing on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting: Numerous studies but few conclusions. A scientific statement from the American Heart Association Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia in collaboration with the Interdisciplinary Working Group on Quality of Care and Outcomes Research. *Circulation.* 2005;111:2858-64
4. Rastan AJ, Eckenstein JI, Hentschel B, et al.; Emergency coronary artery bypass surgery for acute coronary syndrome: Beating heart versus conventional cardioplegic cardiac arrest strategies. *Circulation.* 2006;114:I-477-85
5. Cheng DC, Bainbridge D, Martin JE, Novick RJ. Does off-pump coronary artery bypass reduce mortality, morbidity, and resource utilization when compared with conventional coronary artery bypass? A meta-analysis of randomized trials. *Anesthesiology.* 2005;102:188-203
6. Wijeyesundera DN, Beattie WS, Djaiani G, et al.; Off-pump coronary artery surgery for reducing mortality and morbidity meta-analysis of randomized and observational studies. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:872-82
7. Hangler H, Mueller L, Ruttman E. Shunt or snare: coronary endothelial damage due to hemostatic devices for beating heart coronary surgery. *Ann Thorac Surg.* 2008;86:1873-7

8. Demaria RO, Fortier S, Malo O. Influence of intracoronary shunt size on coronary endothelial function during off-pump coronary artery bypass. *Heart Surg Forum*. 2003;6:160-8.
9. Gerosa G, Bottio T, Valente M, Thiene G, Casarotto D. Intracoronary artery shunt: an assessment of possible coronary artery wall damage. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003;125:1160-2
10. Okazaki Y, Takarabe K, Murayama J. Coronary endothelial damage during off-pump CABG related to coronary-clamping and gas insufflation. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2001;19:834-9
11. Bouchot O, Aubin MC, Carrier M, Cohn WE, Perrault LP. Temporary coronary artery occlusion during off-pump coronary artery bypass grafting with the new poloxamer P407 does not cause endothelial dysfunction in epicardial coronary arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006;132:1144-9
12. Aubin MC, Bouchot O, Carrier M, Cohn WE, Perrault LP. Temporary internal thoracic artery occlusion during off-pump coronary artery bypass grafting with the new poloxamer P407 does not cause endothelial dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006;132:685-6
13. Mommerot A, Aubin MC, Carrier M, Cohn WE, Perrault. Use of the purified poloxamer 407 for temporary coronary occlusion in off-pump CABG does not cause myocardial injury. *Innovations*. 2007;2:201-4
14. Boodhwani M, Cohn WE, Feng J, et al.; Safety and efficacy of a novel gel for vascular occlusion in off-pump surgery. *Ann Thorac Surg*. 2005;80:2333-7
15. Boodhwani M, Feng J, Mieno S, et al. Effects of purified poloxamer 407 gel on vascular occlusion and the coronary endothelium. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2006;29:736-41
16. Agostini M, Lemut F, DiGregorio V, Grossi C. Thermosensitive polymer use for shunt sealing in off-pump coronary artery bypass. *Innovations* 2010;5:122-4

17. Bouchot O, Berger RL, Berne JP, Brunotte F, Brenot R. Clinical experience with a novel thermosensitive temporary coronary artery occluder (LeGoo). *Ann Thorac Surg.* 2010;89:1912-7
18. Rastan AJ, Noack T, Subramanian S, et al.; Facilitated anastomosis using a reverse thermosensitive polymer for temporary coronary occlusion in off-pump minimally invasive direct coronary artery bypass surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2010 Aug 25. [Epub ahead of print]
19. Serruys PW, Morice MC, Kappetein AP, et al. SYNTAX Investigators. Percutaneous coronary intervention versus coronary-artery bypass grafting for severe coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2009;360:961-72
20. Thygesen K, Alpert JS, White HD; Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50:2173-95
21. Raymond J, Metcalfe A, Salazkin I, Schwarz A. Temporary vascular occlusion with poloxamer 407. *Biomaterials* 2004;25:3983-9
22. Manchio JV, Litchfield CR, Zeheb R, Bryan DJ. Evaluation of a novel reverse thermosensitive polymer for use in microvascular surgery. *J Reconstr Microsurg.* 2009;25:69-76
23. Moinzadeh A, Flacke S, Libertino JA, et al.; Temporary segmental renal artery occlusion using reverse phase polymer for bloodless robotic partial nephrectomy. *J Urol.* 2009;182:1582-7

Table 1. Baseline characteristics of the LeGoo OPCAB study population

| | LeGoo N=56 | Control N=54 | P-value |
|---------------------------------------|---------------|-----------------|---------|
| Extracardiac variables | | | |
| Age, year | 63.7 ± 9.9 | 64.4 ± 8.3 | 0.7 |
| Female, % | 19.6 | 14.8 | 0.6 |
| Diabetes, % | 28.6 | 16.7 | 0.2 |
| COPD, % | 3.6 | 9.3 | 0.3 |
| Peripheral vascular disease, % | 12.5 | 25.9 | 0.09 |
| Body mass index | 28.8 ± 3.9 | 28.0 ± 4.1 | 0.3 |
| Cardiac profile | | | |
| LV Ejection fraction, % | 61.3 ± 11.2 | 60.5 ± 9.1 | 0.7 |
| NYHA class II-IV | 60.7 | 63.0 | 0.8 |
| CCS class II-IV | 82.1 | 87.0 | 0.6 |
| Previous myocardial infarction, % | 12.5 | 7.4 | 0.5 |
| Abnormal Q wave in preop ECG, % | 19.6 | 9.3 | 0.2 |
| Atrial fibrillation, % | 5.4 | 7.4 | 0.7 |
| Preop antiplatelet medication, % | 78.6 | 83.3 | 0.6 |
| Pulmonary arterial hypertension % | 3.6 | 11.1 | 0.2 |
| Systemic hypertension, % | 78.6 | 75.9 | 0.8 |
| Laboratory values | | | |
| Plasma creatinine, µmol/L | 85.6 ± 20.5 | 82.6 ± 18.5 | 0.4 |
| Plasma bilirubin I, µmol/L | 10.8 ± 5.8 | 10.1 ± 5.1 | 0.5 |
| Hemoglobin, g/dL | 13.5 ± 2.0 | 13.8 ± 1.8 | 0.5 |
| Extent of coronary involvement | | | 0.4 |
| 1-VD, % | 25.0 | 20.4 | |
| 2-VD, % | 30.4 | 27.8 | |
| 3-VD, % | 44.6 | 50.0 | |
| 4-VD, % | 0 | 1.9 | |
| s/p PCI/Stent | 30.4 | 29.6 | 0.9 |
| Logistic EuroSCORE, % | 2.3 ± 1.8 | 2.5 ± 1.5 | 0.1 |

COPD =- chronic obstructive pulmonary disease; CCS = Canadian Cardiovascular Society; ECG = electrocardiogram; NYHA = New York Heart Association; PCI = percutaneous coronary intervention; s/p = status post; VD = vessel disease

Table 2. Coronary pathology and bypass grafting

| | Coronary anastomoses | | P-value |
|--|----------------------|-------------------|---------|
| | LeGoo N=121 | Control N=127 | |
| Distribution of vessel size | | | 0.2 |
| 1-2 mm, % | 71.1 | 63.0 | |
| 2-3 mm, % | 26.4 | 33.9 | |
| >3 mm, % | 2.5 | 3.1 | |
| Degree of vessel stenosis | | | 0.14 |
| >50%, % | 6.6 | 9.4 | |
| >70%, % | 58.7 | 43.3 | |
| >90%, % | 34.7 | 47.2 | |
| Grafted vessel | | | 0.5 |
| LAD, % | 42.1 | 40.2 | |
| Diagonal, % | 13.2 | 13.4 | |
| Marginal, % | 14.8 | 18.1 | |
| Circumflex, % | 5.0 | 3.1 | |
| RCA, % | 8.3 | 14.2 | |
| PDA, % | 5.0 | 5.5 | |
| Others, % | 11.6 | 5.5 | |
| Grafts | | | 0.7 |
| LIMA, % | 56.3 | 48.8 | |
| RIMA, % | 14.3 | 15.0 | |
| Saphenous vein, % | 24.4 | 29.9 | |
| Radial artery, % | 5.0 | 6.3 | |
| Details of anastomoses | | | 0.3 |
| End-to-side, % | 85.1 | 89.8 | |
| Side to side | 14.9 | 11.2 | |
| Time required to occlude vessel, min (median) | 1.8 | 4.6 | <0.001 |
| Duration of anastomosis, total, min | 12.8 ± 4.7 | 15.4 ± 6.1 | <0.001 |
| to LAD/diagonal territory, min | 12.9 ± 4.9 | 14.4 ± 5.3 | |
| to marginal/circumflex territory, min | 12.2 ± 3.7 | 16.1 ± 5.6 | |
| to RCA/PDA territory, min | 13.8 ± 6.1 | 17.6 ± 8.2 | |
| Bloodless field satisfactory-Levels 1&2 % (# anastomosis) | 88% (103/117) | 60.7% (74/122) | <0.0001 |
| | patients N=56 | patients N=54 | |
| Number of anastomosis/pts | 2.3 ± 1.0 | 2.3 ± 0.9 | 0.9 |
| Duration of surgery, min | 180 ± 55 | 164 ± 41 | 0.08 |
| Post-procedural hospital stay, d | 8.6 ± 4.7 | 8.0 ± 3.7 | 0.5 |

All data and percentages are given on an as-treated basis. LAD = left anterior descending artery; LIMA, left internal mammary artery; PDA, posterior descending artery, RCA, right coronary artery; RIMA, right coronary artery.

Table 3. Composite 30-day safety endpoint

| Safety components (MACE) | LeGoo patients | | Control patients | | P-value |
|---------------------------|----------------|-----|------------------|-----|---------|
| | N | % | N | % | |
| Death-All causes | 1/55 | 1.8 | 0/51 | 0 | ns |
| Graft occlusion | 3/55 | 5.5 | 0/51 | 0 | ns |
| Low cardiac output | 1/55 | 1.8 | 2/51 | 3.9 | ns |
| Myocardial infarction | 1 | 2.1 | 1/46 | 2.2 | ns |
| Composite safety endpoint | 3/48 | 6.3 | 3/46 | 6.5 | 0.0425 |

The pre-specified safety research hypothesis was that LeGoo would not be worse than control by more than 10%, with 95% confidence. The null and alternative hypotheses were: $H_0: \pi_L - \pi_c \geq 0.10$; versus $H_a: \pi_L - \pi_c < 0.10$, where π_L represents the safety composite event rate for LeGoo and π_c the rate for control. The p-value associated with this hypothesis test is 0.0425. Hence non-inferiority with a delta of 10% is established.

Table 4. Postoperative complications

| Safety elements | LeGoo patients N=56 | | Control patients N=54 | | P-value |
|---------------------------------|------------------------|------|--------------------------|------|---------|
| | N | % | N | % | |
| Surgical | | | | | |
| Postop bleeding | 0 | 0 | 1 | 1.9 | 0.5 |
| Hemorrhage - from graft | 0 | 0 | 1 | 1.9 | 0.5 |
| Wound infection | 2 | 3.6 | 1 | 1.9 | >0.9 |
| Cardiac | | | | | |
| Atrial fibrillation | 14 | 25.0 | 8 | 14.8 | 0.2 |
| Atrial flutter | 1 | 1.8 | 0 | 0 | >0.9 |
| AV block >I° | 0 | 0 | 2 | 3.7 | 0.2 |
| Cardiac arrest | 1 | 1.8 | 0 | 0 | >0.9 |
| Cardiac tamponade | 0 | 0 | 1 | 1.9 | 0.5 |
| Pericardial effusion | 2 | 3.6 | 2 | 3.7 | >0.9 |
| Cerebrovascular accident | 1 | 1.8 | 0 | 0 | |
| Pulmonary | | | | | |
| Pneumonia | 0 | 0 | 1 | 1.9 | 0.5 |
| Atelectasis | 2 | 3.6 | 4 | 7.4 | 0.4 |
| Pleural effusion | 9 | 16.1 | 9 | 16.7 | >0.9 |
| Pneumothorax | 1 | 1.8 | 0 | 0 | >0.9 |
| Others | | | | | |
| Paralytic ileus | 1 | 1.8 | 0 | 0 | >0.9 |
| Acute renal failure | 1 | 1.8 | 1 | 1.9 | >0.9 |
| Urinary tract infection | 2 | 3.6 | 0 | 0 | 0.5 |

AV, atrioventricular

8.3 DISCUSSION

Cette étude clinique randomisée montre que LeGoo, nouveau polymère thermo-reversible, est sûr et plus efficace que les élastiques classiques pour obtenir un champ opératoire exsangue pendant PCCB.

PCCB est une technique bien établie pour les pontages coronariens dans de nombreux centres à travers le monde parce qu'il est de plus en plus évident que les sous-groupes de patients à haut risque bénéficient de l'absence de circulation extra-corporelle et l'arrêt cardiaque par cardioplégie.

Une variété de dispositifs d'occlusion temporaire des artères coronaires est actuellement utilisée pour réaliser un champ opératoire exsangue, mais chacune a des inconvénients et aucune ne jouit d'une acceptation universelle. Les clamps, les élastiques et les shunts causent des lésions endothéliales ou des dommages de la paroi du vaisseau. Les élastiques ou les tourniquets peuvent aussi endommager le myocarde au cours du placement résultant en de rares occasions dans de graves hémorragies.

Les shunts intra-coronaires peuvent endommager l'endothélium et induisent une dysfonction endothéliale. En outre, la présence du dispositif dans le champ opératoire peut rendre la suture difficile. Néanmoins, les shunts sont fréquemment employés pour éviter le risque d'ischémie régionale associé à des dispositifs d'occlusion. Agostini a montré que LeGoo peut être utilisé pour occlure l'espace entre le shunt et paroi du vaisseau afin d'obtenir un champ opératoire exsangue, facilitant l'utilisation de petits shunts qui sont moins susceptibles d'endommager l'endothélium. Les insufflateurs de CO₂ doivent être utilisés avec prudence car ils peuvent entraîner des embolies gazeuses et disséquer l'artère coronaire. Enfin, plusieurs dispositifs d'anastomoses mécaniques ont également été développés, mais n'ont pas gagné l'acceptation générale pour différentes raisons. LeGoo (Pluromed Inc. Woburn, Massachusetts) est non thrombogène et biocompatible. Il n'est ni absorbé ni métabolisé, mais se décompose en ses éléments physiques et est excrété par le corps. LeGoo est dérivé d'un poloxamer par un procédé de fractionnement exclusif conçu pour permettre un changement rapide de phase nécessaire pour fonctionner efficacement en tant que bouchon temporaire vasculaire. Le bouchon de gel formé de LeGoo maintient les contours de la paroi du vaisseau, même en présence d'athérosclérose. Le bouchon se dissout spontanément après un certain nombre de minutes.

Si on le désire, on peut dissoudre LeGoo par l'application de glace ou de sérum physiologique froid.

Dans les études complètes sur les animaux, LeGoo s'est avéré sûr et efficace en tant qu'occlusion temporaire atraumatique des artères coronaires. En outre, Manchio et al utilisent LeGoo dans les artères fémorales chez le rat et ont conclu que le polymère a permis de réaliser l'hémostase au cours d'anastomoses microvasculaire.

Au cours des expériences animales, l'occlusion sélective des vaisseaux par LeGoo facilite la résection partielle d'organes solides sans effusion de sang. Pour cet objectif Moinzadeh. et al ont développé une technique angiographique d'injection pour l'occlusion sélective d'une branche de l'artère rénale qui vascularise le pôle inférieur, par LeGoo-XL™ maintenant appelé Lumagel™. En utilisant cette technique, des néphrectomies partielles robotiques assistées ont été effectuées chez les animaux avec une perte de sang minime.

Bouchot et al. ont rapporté l'utilisation de LeGoo chez l'homme comme occlusion coronaire temporaire au cours de PCCB chez 50 patients avec 99 anastomoses coronaires distales. L'hémostase fournie a été satisfaisante sans effusion de sang dans 91% des anastomoses. La durée moyenne de l'occlusion était de $10,5 \pm 2.2$ minutes. LeGoo s'était avéré sans danger chez ces patients, sans effets indésirables liés au dispositif, à savoir aucun cas de coagulopathie, troubles métaboliques, d'embolisation distale de LeGoo etc. Une ré-injection de LeGoo était nécessaire dans environ un tiers des patients, soit parce que le gel injecté était trop froid soit parce que le volume utilisé était insuffisant pour produire un bouchon (longueur insuffisante). Une longueur inadéquate peut être rencontrée chez des patients atteints de la maladie distale diffuse, « kinking » de l'IVA, et avec artériotomie à proximité d'une sténose très serrée. Chez un patient, une fibrillation ventriculaire a été observée après une période de 4 minutes occlusion coronaire par LeGoo. Le bouchon de LeGoo a été dissous immédiatement par application de liquide froid, et un shunt intra-coronaire a été inséré et le rythme cardiaque restauré. Rastan et al ont utilisé LeGoo chez 10 patients consécutifs au cours de chirurgie coronarienne mini-invasive, la visibilité était excellente et le champ opératoire était moins encombré avec LeGoo qu'avec des dispositifs classiques.

Le présent essai clinique randomisé conforte les observations précédentes au cours d'expérimentation animale et au cours de l'expérience clinique limitée avec PCCB sur l'intérêt de LeGoo comme occlusion vasculaire atraumatique temporaire. LeGoo s'est avéré facile à appliquer, sûr et de qualité supérieure aux élastiques classiques à obtenir un

champ opératoire sans effusion de sang. Il semble particulièrement avantageux par rapport aux dispositifs conventionnels sur les artères inférieures et latérales du cœur et sur des artères qui ont été précédemment stentées, très malades et fragiles, complètement obstruées et qui ont des flux par des collatérales importantes.

Limitations

La confirmation angiographique de la perméabilité du greffon et les résultats à long terme n'ont pas été considérés dans cette étude.

En raison du nombre limité de patients et d'anastomoses, la taille de l'étude aurait pu être trop petite pour détecter des différences mineures de perméabilité des pontages.

Conclusions

En conclusion LeGoo est une alternative sûre et de qualité supérieure aux élastiques dans cette clinique randomisée sur les PCCB comparant LeGoo et les élastiques conventionnels. Le taux d'événements indésirables et les taux de transfusion sanguine ont été similaires dans le groupe LeGoo et contrôle. LeGoo a fourni un champ opératoire exsangue qui a permis une visibilité supérieure et éviter l'encombrement par des instruments chirurgicaux. Les indications préférentielles pour l'utilisation du gel thermosensible par rapport aux dispositifs classiques comprennent les artères coronaires stentées, fragiles, avec de la maladie diffuse des vaisseaux, un flux sanguin rétrograde important à travers l'artériotomie et des artères sur les faces postérieures, latérales et inférieures du cœur. LeGoo pourrait également être indiqué dans les pontages coronariens chez les patients avec le débit sanguin coronaire important dans le champ anastomotique en dépit d'un arrêt cardioplégique efficace.

Discussion générale

9. DISCUSSION GENERALE

La chirurgie coronarienne à cœur battant reste encore peu répandue comme technique de revascularisation coronarienne en comparaison avec la revascularisation à cœur arrêté sous circulation extra-corporelle. En France, elle avait atteint environ 15% de revascularisations coronariennes en 2007, mais elle se situe maintenant aux alentours de 8%.

Ce désintérêt pour cette chirurgie est multifactoriel. En premier lieu, il y a peu d'équipes en France qui réalisent de manière systématique une revascularisation coronarienne à CB. Il en résulte des difficultés pour former les jeunes chirurgiens à cette technique chirurgicale. La plupart sont obligés de se former hors des frontières dans des équipes où la formation pour la chirurgie à cœur battant est reconnue (Paul Sergent, Belgique ; Raymond Cartier : Canada ; Antonio Calafiore : Italie). Un autre frein est qu'il s'agit d'une chirurgie très exigeante d'un point de vue chirurgical et anesthésique. Ce dernier point est crucial et une bonne collaboration entre le chirurgien et l'anesthésiste est primordiale compte tenu des mobilisations du cœur et du risque de troubles hémodynamiques au cours de ces manœuvres d'exposition des territoires latéraux et postérieurs.

En ce qui concerne la technique chirurgicale, elle permet de réaliser toutes les revascularisations possibles, grâce aux techniques d'expositions (fils de traction péricardique postérieurs, succion d'apex) et avec une bonne stabilisation (stabilisateur par compression ou succion). En ce qui concerne le saignement au niveau de l'anastomose, actuellement aucune technique ne permet d'obtenir une bonne hémostase sans nécessiter différents artifices techniques pour obtenir un champ exsangue. L'utilisation d'élastiques passés autour de l'artère coronaire semble être une technique très répandue mais qui souvent ne permet pas d'obtenir un champ exsangue. Dans ce cas il est nécessaire d'utiliser d'autres artifices pour améliorer la visualisation de l'anastomose : par exemple l'utilisation de la soufflette à sérum physiologique plus ou moins associée au CO₂.

D'autres équipes préfèrent maintenir une petite perfusion distale en utilisant un shunt intra-coronaire. Dans un certain nombre de cas, l'hémostase autour du shunt n'est pas satisfaisante, et il faut avoir recours au lavage du sang qui persiste au niveau de l'artériotomie (artères calcifiées, branches septales ou collatérales).

Même si l'on obtient un champ opératoire au niveau de l'anastomose avec peu ou pas de sang, l'ensemble de ces techniques entraîne des lésions des artères coronaires pouvant aller des lésions endothéliales à la rupture de plaque. Jusqu'à maintenant il n'existait pas de

système d'occlusion artérielle atraumatique qui soit efficace, sécuritaire, reproductible, et simple d'utilisation.

Le développement du gel LeGoo avait pour objectif d'apporter une solution à ce problème crucial pour réussir une anastomose dans les meilleures conditions possibles.

Ce gel a été développé à partir d'un polymère ancien (connu depuis les années 50) le Poloxamer 407. Ce polymère a la particularité d'être thermosensible. Il est liquide pour des températures inférieures à 20 ° et il devient visqueux au-delà de 20°C, pour devenir un gel à la température du corps humain (37°C). Cette propriété est réversible, car quand on refroidit le gel il redevient liquide. LeGoo est formulé à partir d'un dérivé du poloxamer 407, RTP407, qui démontre un changement de phase plus rapide entre l'état visqueux (température ambiante) et le gel, ce qui est nécessaire pour l'occlusion fiable de vaisseaux sanguins.

Les premières formulations à base de RTP407 ont été utilisées en expérimentation animale par Raymond et al [273], qui ont démontré la possibilité d'occlure différentes artères de manière complètement réversible. L'autre particularité du gel est que la viscosité varie avec la concentration : plus la concentration est élevée et plus il sera solide. A l'inverse si la concentration est trop faible ($\leq 10\%$) il ne peut plus se former en gel, et donc se séparera en molécules individuelles pour être éliminé par le rein en environ 21 heures.

Boodwani et al ont étudié l'effet de différentes concentrations sur la réactivité des micro artères myocardiques [291]. Ils ont défini que les concentrations de 20 et 22 % étaient les mieux adaptées pour l'occlusion temporaire.

Auparavant les mêmes auteurs avaient montré l'absence de lésions myocardiques et l'absence de micro-embolie dans le myocarde après injection de gel dans les artères coronaires [348]. En effet la crainte de tous les chirurgiens qui découvrent le gel est le risque d'embolie dans les artères myocardiques distales. Cette crainte est infondée. En effet quand le gel se dissout sous l'effet du froid ou spontanément après environ 10 -15 minutes au contact du sang, il se sépare en molécules individuelles qui seront éliminées par le rein en environ 21 heures. Leur concentration est alors trop faible pour former à nouveau un gel dans une autre artère. A la température du corps humain il faut une concentration supérieure ou égale à 18% pour obtenir un gel.

Toutefois il n'avait pas été démontré la possibilité d'utiliser le gel LeGoo pour la réalisation de pontages coronariens à cœur battant. Ces expériences ont pu être réalisées dans le laboratoire de chirurgie expérimentale de l'Institut de Cardiologie de Montréal, qui possède aussi une expertise pour l'analyse de la réactivité endothéliale des artères

coronaires. Ces expérimentations ont été réalisées par l'auteur de ce travail. Il a été démontré la faisabilité de réaliser des anastomoses coronariennes à cœur battant en utilisant le gel pour l'occlusion temporaire des artères coronaires sans altérer l'endothélium dans sa structure ou son fonctionnement [349].

Au cours de la même période des occlusions d'artère thoraciques internes ont été réalisées avec le gel LeGoo. Ces occlusions ont été maintenues durant 15 minutes, et l'analyse n'a pas révélé de dysfonctionnement de l'endothélium [350].

La compagnie Pluromed a obtenu le marquage CE en Mars 2007. La première utilisation en clinique humaine a eu lieu en Juin 2007 dans notre équipe par l'auteur de ce travail, au cours d'une revascularisation coronarienne à cœur battant. Entre Juin 2007 et aout 2009, 50 patients ont pu bénéficier de cette technique, avec des résultats qui ont été publiés dans *Annals of Thoracic Surgery* [351]. Quarante deux anastomoses ont pu être réalisées. Tous les territoires ont été pontés (antérieur 60 ; Latéral : 24 ; droite : 15). Les greffons étaient dans 86 cas des ATI, dans 11 cas des greffons veineux et 2 artères radiales ont été utilisées. Les résultats ont montré qu'au cours de l'anastomose, l'hémostase au niveau de l'artériotomie avait été satisfaisante dans 91% des cas. Dans un tiers des cas une deuxième injection a été nécessaire. Un patient opéré pour une lésion sur l'IVA isolée a présenté 4 min après l'occlusion des arythmies ventriculaires et une modification du segment ST. Le gel a été rapidement dissous, et un shunt intra coronaire a été introduit avec disparition des arythmies et du sus décalage de ST. Un autre patient a présenté une élévation anormale de la troponine I à J1 en rapport avec une lésion sténosante 1 cm en aval de l'anastomose sur l'artère thoracique interne. Une nouvelle anastomose a été réalisée à CB.

L'expérience en chirurgie à CB de l'auteur se porte actuellement à 88 patients, pour 186 anastomoses coronariennes, avec un taux de satisfaction pour l'hémostase de plus 90%.

Rastan et al ont débuté leur expérience un an et demi plus tard et ont publié en 2010 leur expérience initiale sur 20 patients en chirurgie à CB par mini-thoracotomie, comparant le gel aux élastiques conventionnels [352]. Ils ont montré une meilleure qualité de l'hémostase, mais aussi des niveaux d'enzymes myocardiques plus bas dans le groupe occlusion par le gel LeGoo.

Ces deux premières études cliniques humaines, observationnelles ont montré la possibilité de réaliser des pontages coronariens à CB en utilisant le gel LeGoo avec des complications post opératoires comparables à la littérature.

Toutefois il était nécessaire en ce qui concerne l'occlusion coronaire de démontrer l'efficacité du gel par rapport à la technique de référence : la technique des « vessels

loops » : élastiques en silicone passés autour de l'artère coronaire dans le myocarde pour serrer l'artère coronaire.

Cette étude randomisée, multicentrique (7 centres européens, 1 centre canadien) a été conduite de juillet 2008 à Février 2010, et a inclus 110 patients (56 dans le groupe LeGoo : LG et 54 dans le groupe Vessel Loop : VL). Il n'y avait pas de différence pré opératoire significative entre les deux groupes. Cent dix sept anastomoses ont été réalisées dans le groupe LG et 122 dans le groupe VL. L'évaluation s'est faite sur une analyse semi quantitative de la qualité de l'hémostase. Le taux de satisfaction a été de 88% dans le groupe LG contre 60.7% dans le groupe VL. Ceci s'est traduit par des durées d'anastomoses plus courtes dans le groupe LG. Les temps moyens étaient de 12.8 min LG vs 15.1 VL ($p < 0.001$). Cette différence était plus marquée pour les territoires latéraux et postérieurs. Il y avait une différence d'environ 2 minutes pour les territoires antérieurs et de plus de 4 minutes pour les territoires latéraux et postérieurs. Il n'a pas été retrouvé de différence significative en termes d'événements majeurs post opératoires (décès, infarctus du myocarde, bas débit cardiaque).

Cette étude a montré que le gel LeGoo permet d'améliorer très nettement le confort chirurgical quant à la réalisation des anastomoses. En effet l'absence de saignement, la simplicité d'utilisation, la possibilité de réinjecter du gel et le maintien de l'ouverture des berges de l'artériotomie facilite la réalisation des anastomoses, ce qui se traduit par des temps d'occlusion coronarien plus courts. L'injection intra coronaire du gel ne s'était pas traduite par des complications supérieures en post-opératoire, notamment en ce qui concerne les événements cardiaques.

Une dernière étude a permis d'utiliser le gel en complément de l'utilisation des shunts intra-coronaires [353]. Nombreux chirurgiens pensent que le maintien d'une perfusion distale est nécessaire pour éviter les événements ischémiques myocardiques, et les troubles hémodynamiques possibles [226, 228, 229]. Toutefois cette perfusion reste modeste compte tenu de la taille interne des shunts. Le plus souvent ils doivent être surdimensionnés pour permettre une hémostase correcte (avec les lésions endothéliales possibles). Il peut persister un saignement qui en plus d'avoir quelque chose dans l'artériotomie va perturber la confection de l'anastomose. Agostini et al ont ainsi démontré que l'on pouvait utiliser le gel LeGoo autour du shunt intra coronaire pour supprimer le saignement résiduel fréquent. Cette technique permet selon l'auteur de ne pas surdimensionner les shunts et d'utiliser des shunts intra-coronaires plus petits. Cette technique

semble très intéressante mais il convient d'être prudent dans l'injection du gel afin d'éviter d'occlure le shunt si tant est qu'il soit nécessaire.

Après plusieurs publications sur les expérimentations animales avec le gel LeGoo [273, 291, 348-350], démontrant le caractère sécuritaire du gel sur les artères et le myocarde, l'expérience humaine actuelle au travers de différentes publications [351-353, 355] est très encourageante pour l'utilisation plus large du LeGoo en chirurgie coronarienne à cœur battant.

Conclusions Perspectives

10. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La chirurgie coronarienne à cœur battant devrait être la chirurgie de référence pour la revascularisation coronaire, grâce à un apprentissage de la technique pour l'exposition du cœur, la gestion de la revascularisation, et de l'hémodynamique. Pour le contrôle du saignement, différents procédés existent, avec leurs avantages mais surtout leurs inconvénients. L'utilisation du gel thermoréversible LeGoo répond aux inconvénients des autres dispositifs : il est simple d'utilisation, efficace et sécuritaire. L'ensemble de ces points a été étudié au cours des différentes études réalisées par l'auteur que se soit chez l'animal pour les premiers cas de pontages à cœur battant puis chez l'humain pour les premiers cas cliniques, et validé par une étude randomisée, multicentrique internationale. Ces études ont également permis de démontrer l'absence d'atteinte de l'endothélium coronaire, et le caractère sécuritaire chez l'humain.

Les perspectives d'utilisation du gel en font un outil indispensable pour la réalisation de pontages coronariens à cœur battant, dans des conditions optimales d'absence de saignement au cours de la réalisation de l'anastomose. La réalisation d'anastomoses délicates pourrait être facilitée dans d'autres situations.

Chirurgie coronarienne à cœur battant sous circulation extra-corporelle

Le gel LeGoo peut aussi être utilisé au cours de la chirurgie coronarienne à cœur battant sous CEC d'assistance. Cette technique chirurgicale est très intéressante chez les patients avec une altération de la fonction ventriculaire gauche. Elle évite l'ischémie, et permet des mobilisations du cœur sans entraîner de bas débit cardiaque. Par contre le contrôle du saignement est identique à la chirurgie à CB. Le gel a donc sa place dans ce type de chirurgie. Le gel dans cette indication a été utilisé chez 16 patients par l'auteur pour réaliser 37 anastomoses coronariennes. L'utilisation du gel est identique que pour l'utilisation en chirurgie à CB sans CEC

Chirurgie coronarienne à cœur arrêté sous circulation extra-corporelle

Dans un certain nombre de cas au cours de la chirurgie coronarienne à CA-CEC, il persiste un saignement lié à la perfusion par des artères collatérales. Le gel peut être utilisé en plus petite quantité. Ces cas sont souvent rencontrés avec l'utilisation de la mini-circulation extra-corporelle, où il faut maintenir un certain volume dans le cœur, ce qui est responsable de saignement résiduel au niveau des artériotomies des artères coronaires. L'utilisation de ce gel est alors très intéressante pour obtenir un champ opératoire exsangue et réaliser une anastomose dans de bonnes conditions. L'auteur a utilisé le gel pour améliorer l'hémostase chez 13 patients au cours de 31 anastomoses sur les artères coronaires. La quantité de gel nécessaire dans ce type d'indication est faible.

Chirurgie vasculaire périphérique

Le gel LeGoo peut être utilisé en chirurgie vasculaire pour occlure des artères de petits calibres. Les artères cibles les plus intéressantes sont les artères infra-gonales qui sont souvent petites, fragiles et calcifiées. Le contrôle du saignement de ces artères peut être délicat, et différentes techniques existent mais toutes ont des inconvénients. La technique classique des clamps mécaniques est peu coûteuse mais peut entraîner des lésions traumatiques sévères des artères avec des ruptures de plaques artérielles. L'utilisation de sonde d'occlusion intra artérielle comme des ballonnets de Fogarty limite les ruptures de plaques mais la confection de l'anastomose peut être gênée par la présence de ces sondes au niveau de l'artériotomie. Enfin l'utilisation des bandes d'Esmarch peut entraîner des lésions d'ischémie sur un membre mal vascularisé. L'utilisation du gel semble donc être appropriée pour ce type d'anastomose sur ces petites artères fragiles. Le premier rapport a été publié par l'équipe anglaise d'Alun Davies sur 11 patients dont 5 pour des revascularisations des membres inférieurs et une revascularisation sous le genou, les autres se situant au niveau de l'artère poplitée haute [356]. Notre propre expérience est en cours de révision pour publication, et se compose de 14 anastomoses sur des artères sous le genou chez 14 patients, avec des résultats très satisfaisants en termes d'hémostase et de perméabilité de pontage.

En ce qui concerne des artères de plus gros calibre, la limite théorique est des diamètres d'artère iliaque. Le gel pourrait avoir un intérêt en cas d'artères extrêmement calcifiées

comme chez les insuffisants rénaux ou au cours des transplantations rénales. Toutefois il est rare que l'on ne puisse pas trouver une zone libre de plaque d'athérome pour le clampage, De plus la quantité pour occlure une artère iliaque est importante de l'ordre de 10 ml (0,2ml pour les artères coronaires) avec un coût non négligeable.

Enfin une application importante en chirurgie vasculaire périphérique qui reste à développer, concerne la chirurgie des artères carotides. Dans notre expérience une occlusion d'artère carotide externe a été réalisée avec un bon résultat. Par contre aucune expérimentation n'a encore été conduite sur l'artère carotide interne et l'impact cérébral de l'injection directe de gel LeGoo dans une artère à destinée cérébrale n'est pas connu et nécessitera une évaluation.

Chirurgie des abords d'hémodialyse

Une autre application est en cours d'évaluation par notre équipe. Il s'agit de l'utilisation du gel pour la confection de fistule artério-veineuse (FAV) au poignet (Protocole FAV-LeGoo). Cette étude de faisabilité est actuellement en phase terminale d'inclusion de 20 malades.

L'équipe du Charing Cross de Londres a publié un premier rapport avec leur expérience d'utilisation périphérique dont 7 créations de FAV [356]. Cette chirurgie se développe de plus en plus avec le taux croissant de patients dialysés du au vieillissement de la population et à l'incidence croissante du diabète. Malheureusement cette population de patients a des artères souvent calcifiées. Le clampage de ces artères est souvent impossible ou à risque de lésions artérielles. On peut utiliser un garrot brachial qui nécessite la réalisation d'une anesthésie locorégionale. L'utilisation du gel permet d'éviter une telle anesthésie et d'obtenir une bonne hémostase, même sous anesthésie locale avec des niveaux de pression artérielle plus hauts.

La seule modification technique à apporter dans ce cas est la nécessité d'un bouchon d'occlusion plus long lié à cette hypertension relative.

Micro chirurgie

L'utilisation du gel LeGoo a été possible sur les artères fémorales de rat [357], ce qui laisse présager la possibilité d'utiliser le gel pour des sutures microvasculaires, par exemple pour les lambeaux musculaires. Cette application a été récemment publiée avec des résultats prometteurs chez 5 patients pour l'occlusion de l'artère du lambeau libre par Giessler et al.[358]

Néphrectomie partielle

Une version endovasculaire du gel a été développée (Lumagel®), et a permis de réaliser des néphrectomies partielles après embolisation endovasculaire partielle d'un rein, les néphrectomies partielles étant réalisées sous assistance robotique chez le porc [359]. Avec cette embolisation partielle les néphrectomies partielles saignaient moins, avec maintien de la vascularisation du reste du rein [360].

D'autres champs d'applications futurs restent à développer.

L'évolution du gel devrait permettre d'obtenir des occlusions de meilleure qualité pour des temps plus longs ou en injectant des quantités plus faibles.

Nous pensons que l'utilisation du gel LeGoo devrait permettre de développer à nouveau la chirurgie coronarienne à cœur battant, en améliorant très nettement le confort d'anastomose du chirurgien. Ce développement devra passer par la formation des plus jeunes chirurgiens.

Annexes

11. ANNEXE

11.1 ANNEXE 1 : Marquage CE

EC Certificate



Full Quality Assurance

No. CE 512076

Issued to:

Pluromed, Inc.
25K Olympia Avenue
Woburn
Massachusetts
01801
USA

In respect of:

The design, development and manufacture of reverse thermosensitive poloxamer based devices (Legoo™) and related accessories for transient occlusion of blood vessels

on the basis of our examination under the requirements of Council Directive 93/42/EEC, Annex II, Section 3.2.

For and on behalf of the British Standards Institution, a Notified Body for the above Directive (Notified Body Number 0086):

Alastair Trivett, Managing Director, BSI Product Services – Global

First Issued: 2 Mar 2007

Date: 2 Mar 2007

Expiration Date: 1 Mar 2012

Page: 1 of 1

Conditions of Approval

Validity of this certificate is conditional on the quality system being maintained to the requirements of the Directive. This approval excludes all products designed and/or manufactured by a third party on behalf of the company named on this certificate, unless specifically agreed with BSI.



BSI Product Services

Kitemark House, Maylands Avenue, Hemel Hempstead, Hertfordshire HP2 4SQ United Kingdom
Tel +44 (0)1442 230442 www.bsi-global.com
BSI Group Headquarters: 389 Chiswick High Road, London W4 4AL Tel: (0)208 996 9000

PS089/0107/EP

11.2 ANNEXE 2 : Brochure d'utilisation du gel LeGoo

LeGoo®
internal vessel occluder

clampless
vascular
surgery

Pharmed

LeGoo® clampless vascular surgery

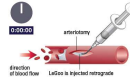
A bloodless field is imperative for clear visualization and accurate placement of sutures during surgery, yet conventional occlusion techniques risk damage to blood vessels.

LeGoo® is a water-soluble gel that forms a temporary vascular plug at body temperature. LeGoo's gentle mechanism of action minimizes the risk of vessel damage while providing a superior bloodless surgical field.

To restore flow, LeGoo is dissolved by applying ice to the vessel or by infusing cold saline. Once dissolved, LeGoo cannot reform a gel because the concentration is too low. The diluted material passes through the microcirculation and is excreted in urine.

Easy to apply

The surgeon creates an arteriotomy and injects LeGoo retrograde while withdrawing the cannula. LeGoo can allow for a shorter dissection.



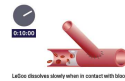
Provides a bloodless surgical field

Within seconds, the higher temperature inside the vessel causes LeGoo to form a plug that prevents blood flow.



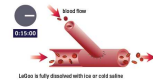
Easier to create anastomosis

LeGoo keeps the vessel cylindrical to ease sewing and can be seen through.



Blood flow is easily restored

Applying ice or infusing cold saline causes dissolution. Blood flow is naturally restored as the LeGoo plug dissolves.



atraumatic occlusion blood-free anastomosis

- No radial pressure (unlike clamps, loops, or balloons)
- Enables surgery on fragile and calcified vessels
- Provides a bloodless surgical field
- Minimizes dissection
- Stents vessels for easier suturing and can be sewn through
- Can be dissolved at will to restore flow

Surgical applications include:

- Coronary bypass
- Peripheral bypass
- Femoral, popliteal, tibial, peroneal, distal bypass
- AV fistula for access
- Occlusion of aortic branches

Winner of the EACTS Techno-College Award for Best Breakthrough in the Field of Thoracic and Cardiovascular Surgery

LeGoo®
internal vessel occluder

LeGoo® injection



Anastomosis in a bloodless field



LeGoo is dissolved with sterile ice



Pharmed

Pharmed, Inc.
175-F New Boston St.
Woburn, MA 01897
+1-781-832-3074
sales@pharmed.com
www.pharmed.com

LeGoo® Catalog Items

| P/N | Volume per syringe | Description | Cannula included in each pouch |
|---------|--------------------|---|---|
| 10-0025 | 0.25 mL | Two 0.25 mL syringes, each in a sterile pouch | 1.0 mm OD x 4 cm long 1.5 mm OD x 4 cm long 1.5 mm OD x 6 cm long |
| 10-0050 | 0.50 mL | Two 0.50 mL syringes, each in a sterile pouch | 1.0 mm OD x 4 cm long 1.5 mm OD x 4 cm long 1.5 mm OD x 6 cm long |
| 10-0100 | 1.00 mL | Two 1.0 mL syringes, each in a sterile pouch | 1.5 mm OD x 4 cm long 1.5 mm OD x 6 cm long 3.0 mm OD x 8 cm long |
| 10-0250 | 2.50 mL | Two 2.5 mL syringes, each in a sterile pouch | 3.0 mm OD x 8 cm long |
| 10-0500 | 5.00 mL | One 5.0 mL syringe in a sterile pouch | 4.0 mm OD x 8 cm long |
| 10-1000 | 10.0 mL | One 10.0 mL syringe in a sterile pouch (custom) | — |

LeGoo Reference Guide

| Vessel Inner Diameter | Syringe | Cannula | Volume Proximal | Volume Distal |
|-----------------------|-------------------|---------------------------|-----------------|---------------|
| 1.5 mm Ø | 0.25 mL (10-0025) | 1 mm Ø x 4 cm (15-1040) | 0.00 mL | 0.01 mL |
| 2 mm Ø | 0.25 mL (10-0025) | 1.5 mm Ø x 4 cm (15-1040) | 0.06 mL | 0.02 mL |
| 3 mm Ø | 0.5 mL (10-0050) | 2 mm Ø x 5.0 cm (21102) | 0.2 mL | 0.07 mL |
| 4 mm Ø | 1.0 mL (10-0100) | 3 mm Ø x 8 cm (15-3080) | 0.5 mL | 0.2 mL |
| 5 mm Ø | 2.5 mL (10-0250) | 3 mm Ø x 8 cm (15-3080) | 1.0 mL | 0.3 mL |
| 6 mm Ø | 5.0 mL (10-0500) | 4 mm Ø x 8 cm (15-4080) | 2.0 mL | 0.7 mL |
| 7 mm Ø | 5.0 mL (10-0500) | 4 mm Ø x 8 cm (15-4080) | 3.0 mL | 1.0 mL |
| 8 mm Ø | 10.0 mL (10-1000) | 5 mm Ø x 5.0 cm (21105) | 4.0 mL | 1.3 mL |
| 9 mm Ø | 10.0 mL (10-1000) | 6 mm Ø x 5.0 cm (21106) | 6.0 mL | 2.0 mL |

Guidance only. Refer to Instructions for Use. Recommended volume does not include priming of cannula or LeGoo delivered outside of the vessel.

The following cannulas are also sold separately

| P/N | Tip Outer Diameter | Length | Cannula per carton |
|---------|--------------------|--------|--------------------|
| 15-1040 | 1.0 mm | 4.0 cm | 20 |
| 15-1040 | 1.5 mm | 4.0 cm | 20 |
| 15-1040 | 1.5 mm | 6.0 cm | 20 |
| 15-3080 | 3.0 mm | 8.0 cm | 20 |
| 15-4080 | 4.0 mm | 8.0 cm | 20 |

© 2016 Pharmed, Inc. LeGoo is not yet approved by the FDA for sale in the USA. 1210007-101-10



11.3 ANNEXE 3 : Lettre acceptation publication article 4

**THE ANNALS OF
THORACIC SURGERY**

[Home](#) [Author Area](#) [Reviewer Area](#) [Personal Info.](#) [ATS Home](#) [Sign Out](#)
[Submit New Manuscript](#) [Queue Summary](#) [Feedback](#) [Help](#) [FAQ](#)

Decision Letter

[\[Return to Queue\]](#)

To: Gerhard Wimmer-Greinecker <g.wimmer-greinecker@hgz-bb.de>
From: ats@uphs.upenn.edu
Subject: ATS/2011/302976 - Manuscript Accepted
Cc:

RE: MS ID# ATS/2011/302976
TITLE: Randomized clinical trial comparing a thermosensitive polymer (LeGOO) with conventional vessel loops for temporary coronary artery occlusion during off-pump coronary artery bypass (OPCAB) surgery

Dear Dr. Wimmer-Greinecker:

Your revised paper has been received and is accepted for publication in The Annals of Thoracic Surgery. Thank you for being responsive.

The Editorial Office will check your submission for style points prior to transmitting it to our publisher. You will be contacted via email if more information is required, or if a correction needs to be made.

Congratulations and thank you for permitting us to publish this excellent contribution in The Annals.

Sincerely,

L. Henry Edmunds, Jr, M.D.
Editor

OLIVIER BOUCHOT, CHU le Bocage, 2 bd maréchal de Lattre de Tassigny , BP77908
dijon, 21079 France
Tel: () 33 3 80 29 33 52, Fax: () 33 3 80 29 33 52, Email: obouchot@free.fr

The Annals of Thoracic Surgery
3440 Market Street, Suite 306, Philadelphia, PA 19104-3325 USA
Tel: (215) 349-5542; Fax: (215) 614-0416; Email: ats@uphs.upenn.edu
Copyright © 2011 by The Society of Thoracic Surgeons

Références Bibliographiques

12. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Carrel, A., *VIII. On the Experimental Surgery of the Thoracic Aorta and Heart*. Ann Surg, 1910. **52**(1): p. 83-95.
2. Jonnesco, T., *Traitement chirurgical de l'angine de poitrine par la resection du sympathique cervicothoracique*. Bulletin académique médical, 1920. **84**: p. 93.
3. Mc Eachern CG, M.G., Hall GE., *Sudden occlusion of coronary arteries following removal of cardiosensory pathways*. Archives of internal medicine, 1940. **65**: p. 661.
4. Moritz, A.R., C.L. Hudson, and E.S. Orgain, *Augmentation of the Extracardiac Anastomoses of the Coronary Arteries through Pericardial Adhesions*. J Exp Med, 1932. **56**(6): p. 927-31.
5. Hudson, C.L., A.R. Moritz, and J.T. Wearn, *The Extracardiac Anastomoses of the Coronary Arteries*. J Exp Med, 1932. **56**(6): p. 919-25.
6. Beck, C.S., *The Development of a New Blood Supply to the Heart by Operation*. Ann Surg, 1935. **102**(5): p. 801-13.
7. Beck, C.S., *Principles Underlying the Operative Approach to the Treatment of Myocardial Ischemia*. Ann Surg, 1943. **118**(5): p. 788-806.
8. Schildt, P., E. Stanton, and C.S. Beck, *Communications between the Coronary Arteries Produced by the Application of Inflammatory Agents to the Surface of the Heart*. Ann Surg, 1943. **118**(1): p. 34-45.
9. Battezzati, M., A. Tagliaferro, and G. De Marchi, *[Ligation of the two internal mammary arteries in vascular disorders of the myocardium; preventive note concerning the first experimental and clinical findings]*. Minerva Med, 1955. **46**(87): p. 1178-88.
10. Gross, L., L. Blum, and G. Silverman, *Experimental Attempts to Increase the Blood Supply to the Dog's Heart by Means of Coronary Sinus Occlusion*. J Exp Med, 1937. **65**(1): p. 91-108.
11. Hahn, R.S., M. Kim, and C.S. Beck, *Revascularization of the heart; observations on the circulation following arterialization of the coronary sinus*. Am Heart J, 1952. **44**(5): p. 772-80.
12. Beck, C.S., E. Stanton, and et al., *Revascularization of heart by graft of systemic artery into coronary sinus*. J Am Med Assoc, 1948. **137**(5): p. 436-42.

13. Grant, R., *Development of cardiac coronary vessels in rabbit. heart* 1926. **13**: p. 261.
14. Vineberg, A.M., *Development of an anastomosis between the coronary vessels and a transplanted internal mammary artery.* Can Med Assoc J, 1946. **55**(2): p. 117-9.
15. Donald B, L.K., Groves F, Sones M, Shirey KE, *Increased myocardial perfusion by internal mammary artery implant: Vineberg's operation.* Ann Thorac Surg, 1963. **158**(4): p. 526.
16. Bloomer, W.E., R.A. Vidone, and A.A. Liebow, *Implantation of the Splenic Artery into the Myocardium as a Source of Collateral Circulation.* Yale J Biol Med, 1964. **36**: p. 295-305.
17. Rasmussen, P.C. and W.E. Bloomer, *Experimental Studies in Circulatory Support for Coronary Arterial Surgery Using Left Atrium to Subclavian Artery Bypass.* Circulation, 1964. **29**: p. SUPPL:145-51.
18. Bailey, C.P., A. May, and W.M. Lemmon, *Survival after coronary endarterectomy in man.* J Am Med Assoc, 1957. **164**(6): p. 641-6.
19. Longmire, W.P., Jr., J.A. Cannon, and A.A. Kattus, *Direct-vision coronary endarterectomy for angina pectoris.* N Engl J Med, 1958. **259**(21): p. 993-9.
20. Goetz, R.H., et al., *Internal mammary-coronary artery anastomosis. A nonsuture method employing tantalum rings.* J Thorac Cardiovasc Surg, 1961. **41**: p. 378-86.
21. Senning, A., *Strip grafting in coronary arteries. Report of a case.* J Thorac Cardiovasc Surg, 1961. **41**: p. 542-9.
22. Sones, F.M., Jr. and E.K. Shirey, *Cine coronary arteriography.* Mod Concepts Cardiovasc Dis, 1962. **31**: p. 735-8.
23. Demikhov, V.P., *[Transplantation of the heart, lungs and other organs].* Eksp Khir Anesteziol, 1969. **14**(2): p. 3-8.
24. Garrett, H.E., E.W. Dennis, and M.E. DeBakey, *Aortocoronary bypass with saphenous vein graft. Seven-year follow-up.* Jama, 1973. **223**(7): p. 792-4.
25. Shumaker, H., *The evolution of cardiac surgery.* Indianapolis, 1992: p. 141.
26. Kolessov, V.I., *Mammary artery-coronary artery anastomosis as method of treatment for angina pectoris.* J Thorac Cardiovasc Surg, 1967. **54**(4): p. 535-44.
27. Green, G.E., S.H. Stertzler, and E.H. Reppert, *Coronary arterial bypass grafts.* Ann Thorac Surg, 1968. **5**(5): p. 443-50.

28. Bailey, C.P. and T. Hirose, *Successful internal mammary-coronary arterial anastomosis using a "minivascular" suturing technic*. Int Surg, 1968. **49**(5): p. 416-27.
29. Favalaro, R.G., *Saphenous vein autograft replacement of severe segmental coronary artery occlusion: operative technique*. Ann Thorac Surg, 1968. **5**(4): p. 334-9.
30. Favalaro, R.G., *Saphenous vein graft in the surgical treatment of coronary artery disease. Operative technique*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1969. **58**(2): p. 178-85.
31. Kolessov, V.I. and E.V. Kolessov, *Treatment of angina pectoris by means of mammary-coronary anastomosis*. Bull Soc Int Chir, 1969. **28**(3): p. 366-71.
32. Favalaro, R.G., *Double internal mammary artery implants: operative technique*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1968. **55**(4): p. 457-65.
33. Favalaro, R.G., et al., *Double internal mammary artery-myocardial implantation. Clinical evaluation of results in 150 patients*. Circulation, 1968. **37**(4): p. 549-55.
34. Johnson, W.D., et al., *Extended treatment of severe coronary artery disease: a total surgical approach*. Ann Surg, 1969. **170**(3): p. 460-70.
35. Loop, F.D., et al., *Influence of the internal-mammary-artery graft on 10-year survival and other cardiac events*. N Engl J Med, 1986. **314**(1): p. 1-6.
36. Grondin, C.M., et al., *Comparison of late changes in internal mammary artery and saphenous vein grafts in two consecutive series of patients 10 years after operation*. Circulation, 1984. **70**(3 Pt 2): p. I208-12.
37. Benetti, F.J., *Direct coronary surgery with saphenous vein bypass without either cardiopulmonary bypass or cardiac arrest*. J Cardiovasc Surg (Torino), 1985. **26**(3): p. 217-22.
38. Benetti, F.J., et al., *Direct myocardial revascularization without extracorporeal circulation. Experience in 700 patients*. Chest, 1991. **100**(2): p. 312-6.
39. Ankeney, J.L., *Coronary artery surgery survival studies*. Ann Thorac Surg, 1979. **28**(5): p. 405-6.
40. Trapp, W.G. and R. Bisarya, *Placement of coronary artery bypass graft without pump oxygenator*. Ann Thorac Surg, 1975. **19**(1): p. 1-9.
41. Grondin, C.M., et al., *Aortocoronary graft: technical modifications that may improve short- and long-term results*. Can J Surg, 1973. **16**(4): p. 261-7.
42. DelRossi, A.J. and G.M. Lemole, *A new retractor to aid in coronary artery surgery*. Ann Thorac Surg, 1983. **36**(1): p. 101-2.

43. Roux, D., et al., *New helper instrument in cardiac surgery*. Ann Thorac Surg, 1989. **48**(4): p. 595-6.
44. Pym, J., *Off-pump arterial grafting: 125 cases using the Medtronic-Utrecht Octopus*. Eur J Cardiothorac Surg, 1999. **16 Suppl 1**: p. S88-94.
45. Jansen, E.W., et al., *Coronary artery bypass grafting without cardiopulmonary bypass using the octopus method: results in the first one hundred patients*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1998. **116**(1): p. 60-7.
46. Jansen, E.W., et al., *Utrecht experience with less invasive coronary surgery*. Perfusion, 1998. **13**(4): p. 231-6.
47. van Dijk, D., et al., *Cognitive and cardiac outcomes 5 years after off-pump vs on-pump coronary artery bypass graft surgery*. Jama, 2007. **297**(7): p. 701-8.
48. El-Hamamsy, I., et al., *Long-term results after systematic off-pump coronary artery bypass graft surgery in 1000 consecutive patients*. Circulation, 2006. **114**(1 Suppl): p. I486-91.
49. Halkos, M.E. and J.D. Puskas, *Off-pump coronary surgery: where do we stand in 2010?* Curr Opin Cardiol. **25**(6): p. 583-8.
50. Butler, J., et al., *Effect of cardiopulmonary bypass on systemic release of neutrophil elastase and tumor necrosis factor*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1993. **105**(1): p. 25-30.
51. Edmunds, L.H., Jr., *Inflammatory response to cardiopulmonary bypass*. Ann Thorac Surg, 1998. **66**(5 Suppl): p. S12-6; discussion S25-8.
52. Kapoor, M.C. and T.R. Ramachandran, *Inflammatory response to cardiac surgery and strategies to overcome it*. Ann Card Anaesth, 2004. **7**(2): p. 113-28.
53. Larmann, J. and G. Theilmeier, *Inflammatory response to cardiac surgery: cardiopulmonary bypass versus non-cardiopulmonary bypass surgery*. Best Pract Res Clin Anaesthesiol, 2004. **18**(3): p. 425-38.
54. Harris, D.N., et al., *Brain swelling in first hour after coronary artery bypass surgery*. Lancet, 1993. **342**(8871): p. 586-7.
55. Finkel, M.S., et al., *Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide*. Science, 1992. **257**(5068): p. 387-9.
56. Royston, D., *The inflammatory response and extracorporeal circulation*. J Cardiothorac Vasc Anesth, 1997. **11**(3): p. 341-54.

57. Al-Ruzzeh, S., et al., *Off-pump coronary artery bypass surgery is associated with reduced neutrophil activation as measured by the expression of CD11b: a prospective randomized study*. Heart Surg Forum, 2003. **6**(2): p. 89-93.
58. Wan, S., et al., *Avoiding cardiopulmonary bypass in multivessel CABG reduces cytokine response and myocardial injury*. Ann Thorac Surg, 1999. **68**(1): p. 52-6; discussion 56-7.
59. Matata, B.M., A.W. Sosnowski, and M. Galinanes, *Off-pump bypass graft operation significantly reduces oxidative stress and inflammation*. Ann Thorac Surg, 2000. **69**(3): p. 785-91.
60. Ascione, R., et al., *Inflammatory response after coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass*. Ann Thorac Surg, 2000. **69**(4): p. 1198-204.
61. Taggart, D.P., *Respiratory dysfunction after cardiac surgery: effects of avoiding cardiopulmonary bypass and the use of bilateral internal mammary arteries*. Eur J Cardiothorac Surg, 2000. **18**(1): p. 31-7.
62. Serrano, C.V., Jr., et al., *Reduced expression of systemic proinflammatory and myocardial biomarkers after off-pump versus on-pump coronary artery bypass surgery: a prospective randomized study*. J Crit Care. **25**(2): p. 305-12.
63. Paparella, D., et al., *Myocardial injury after off-pump coronary artery bypass grafting operation*. Eur J Cardiothorac Surg, 2007. **32**(3): p. 481-7.
64. Brown, J.R., et al., *Long-term survival and cardiac troponin T elevation in on- and off-pump coronary artery bypass surgery*. Heart Surg Forum, 2008. **11**(3): p. E163-8.
65. Czerny, M., et al., *Inflammatory response and myocardial injury following coronary artery bypass grafting with or without cardiopulmonary bypass*. Eur J Cardiothorac Surg, 2000. **17**(6): p. 737-42.
66. Chowdhury, U.K., et al., *Myocardial injury in coronary artery bypass grafting: on-pump versus off-pump comparison by measuring high-sensitivity C-reactive protein, cardiac troponin I, heart-type fatty acid-binding protein, creatine kinase-MB, and myoglobin release*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2008. **135**(5): p. 1110-9, 1119 e1-10.
67. Ascione, R., et al., *Beating versus arrested heart revascularization: evaluation of myocardial function in a prospective randomized study*. Eur J Cardiothorac Surg, 1999. **15**(5): p. 685-90.

68. Domanski, M.J., et al., *Association of myocardial enzyme elevation and survival following coronary artery bypass graft surgery*. *Jama*. **305**(6): p. 585-91.
69. Lahtinen, J., et al., *Off-pump versus on-pump coronary artery bypass surgery in high-risk patients (EuroSCORE \geq 6)*. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2007. **55**(1): p. 13-8.
70. Selvanayagam, J.B., et al., *Effects of off-pump versus on-pump coronary surgery on reversible and irreversible myocardial injury: a randomized trial using cardiovascular magnetic resonance imaging and biochemical markers*. *Circulation*, 2004. **109**(3): p. 345-50.
71. Roach, G.W., et al., *Adverse cerebral outcomes after coronary bypass surgery. Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group and the Ischemia Research and Education Foundation Investigators*. *N Engl J Med*, 1996. **335**(25): p. 1857-63.
72. Moller, J.T., et al., *Long-term postoperative cognitive dysfunction in the elderly ISPOCD1 study. ISPOCD investigators. International Study of Post-Operative Cognitive Dysfunction*. *Lancet*, 1998. **351**(9106): p. 857-61.
73. Taggart, D.P., S.M. Browne, and P.W. Halligan, *Neurocognitive function after coronary-artery bypass surgery*. *N Engl J Med*, 2001. **345**(7): p. 544-5.
74. Taggart, D.P. and S. Westaby, *Neurological and cognitive disorders after coronary artery bypass grafting*. *Curr Opin Cardiol*, 2001. **16**(5): p. 271-6.
75. Pugsley, W., et al., *The impact of microemboli during cardiopulmonary bypass on neuropsychological functioning*. *Stroke*, 1994. **25**(7): p. 1393-9.
76. Brown, W.R., et al., *Longer duration of cardiopulmonary bypass is associated with greater numbers of cerebral microemboli*. *Stroke*, 2000. **31**(3): p. 707-13.
77. Cleveland, J.C., Jr., et al., *Off-pump coronary artery bypass grafting decreases risk-adjusted mortality and morbidity*. *Ann Thorac Surg*, 2001. **72**(4): p. 1282-8; discussion 1288-9.
78. Racz, M.J., et al., *A comparison of short- and long-term outcomes after off-pump and on-pump coronary artery bypass graft surgery with sternotomy*. *J Am Coll Cardiol*, 2004. **43**(4): p. 557-64.
79. Mack, M.J., et al., *Comparison of coronary bypass surgery with and without cardiopulmonary bypass in patients with multivessel disease*. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2004. **127**(1): p. 167-73.

80. Sedrakyan, A., et al., *Off-pump surgery is associated with reduced occurrence of stroke and other morbidity as compared with traditional coronary artery bypass grafting: a meta-analysis of systematically reviewed trials*. Stroke, 2006. **37**(11): p. 2759-69.
81. Calafiore, A.M., et al., *Impact of aortic manipulation on incidence of cerebrovascular accidents after surgical myocardial revascularization*. Ann Thorac Surg, 2002. **73**(5): p. 1387-93.
82. Edelman, J.J., et al., *Coronary artery bypass grafting with and without manipulation of the ascending aorta--a meta-analysis*. Heart Lung Circ. **20**(5): p. 318-24.
83. Emmert, M.Y., et al., *Aortic no-touch technique makes the difference in off-pump coronary artery bypass grafting*. J Thorac Cardiovasc Surg.
84. Zamvar, V., et al., *Assessment of neurocognitive impairment after off-pump and on-pump techniques for coronary artery bypass graft surgery: prospective randomised controlled trial*. Bmj, 2002. **325**(7375): p. 1268.
85. Hammon, J.W., et al., *Single crossclamp improves 6-month cognitive outcome in high-risk coronary bypass patients: the effect of reduced aortic manipulation*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2006. **131**(1): p. 114-21.
86. Nishiyama, K., et al., *Temporal pattern of strokes after on-pump and off-pump coronary artery bypass graft surgery*. Ann Thorac Surg, 2009. **87**(6): p. 1839-44.
87. Diegeler, A., et al., *Neuromonitoring and neurocognitive outcome in off-pump versus conventional coronary bypass operation*. Ann Thorac Surg, 2000. **69**(4): p. 1162-6.
88. Abu-Omar, Y., et al., *Solid and gaseous cerebral microembolization during off-pump, on-pump, and open cardiac surgery procedures*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2004. **127**(6): p. 1759-65.
89. Bowles, B.J., et al., *Coronary artery bypass performed without the use of cardiopulmonary bypass is associated with reduced cerebral microemboli and improved clinical results*. Chest, 2001. **119**(1): p. 25-30.
90. Lloyd, C.T., et al., *Serum S-100 protein release and neuropsychologic outcome during coronary revascularization on the beating heart: a prospective randomized study*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2000. **119**(1): p. 148-54.

91. Bucerius, J., et al., *Predictors of delirium after cardiac surgery delirium: effect of beating-heart (off-pump) surgery*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2004. **127**(1): p. 57-64.
92. Athanasiou, T., et al., *Off-pump myocardial revascularization is associated with less incidence of stroke in elderly patients*. Ann Thorac Surg, 2004. **77**(2): p. 745-53.
93. Baba, T., et al., *Early neuropsychological dysfunction in elderly high-risk patients after on-pump and off-pump coronary bypass surgery*. J Anesth, 2007. **21**(4): p. 452-8.
94. Taggart, D.P., et al., *Is cardiopulmonary bypass still the cause of cognitive dysfunction after cardiac operations?* J Thorac Cardiovasc Surg, 1999. **118**(3): p. 414-20; discussion 420-1.
95. Van Dijk, D., et al., *Cognitive outcome after off-pump and on-pump coronary artery bypass graft surgery: a randomized trial*. Jama, 2002. **287**(11): p. 1405-12.
96. Al-Ruzzeh, S., et al., *Effect of off-pump coronary artery bypass surgery on clinical, angiographic, neurocognitive, and quality of life outcomes: randomised controlled trial*. Bmj, 2006. **332**(7554): p. 1365.
97. Abu-Omar, Y., et al., *Short-term changes in cerebral activity in on-pump and off-pump cardiac surgery defined by functional magnetic resonance imaging and their relationship to microembolization*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2006. **132**(5): p. 1119-25.
98. Moller, C.H., et al., *Three-year follow-up in a subset of high-risk patients randomly assigned to off-pump versus on-pump coronary artery bypass surgery: the Best Bypass Surgery trial*. Heart. **97**(11): p. 907-13.
99. Zanardo, G., et al., *Acute renal failure in the patient undergoing cardiac operation. Prevalence, mortality rate, and main risk factors*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1994. **107**(6): p. 1489-95.
100. Mehta, R.H., et al., *Impact of recovery of renal function on long-term mortality after coronary artery bypass grafting*. Am J Cardiol. **106**(12): p. 1728-34.
101. Chertow, G.M., et al., *Preoperative renal risk stratification*. Circulation, 1997. **95**(4): p. 878-84.
102. Zakeri, R., et al., *Relation between mild renal dysfunction and outcomes after coronary artery bypass grafting*. Circulation, 2005. **112**(9 Suppl): p. I270-5.

103. Barbosa, R.R., et al., *Impact of renal failure on in-hospital outcomes after coronary artery bypass surgery*. Arq Bras Cardiol.
104. van de Wal, R.M., et al., *Mild preoperative renal dysfunction as a predictor of long-term clinical outcome after coronary bypass surgery*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2005. **129**(2): p. 330-5.
105. Stallwood, M.I., et al., *Acute renal failure in coronary artery bypass surgery: independent effect of cardiopulmonary bypass*. Ann Thorac Surg, 2004. **77**(3): p. 968-72.
106. Rahmanian, P.B., et al., *Logistic risk model predicting postoperative renal failure requiring dialysis in cardiac surgery patients*. Eur J Cardiothorac Surg.
107. Gerritsen, W.B., et al., *Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting: oxidative stress and renal function*. Eur J Cardiothorac Surg, 2001. **20**(5): p. 923-9.
108. Karkouti, K., et al., *Hemodilution during cardiopulmonary bypass is an independent risk factor for acute renal failure in adult cardiac surgery*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2005. **129**(2): p. 391-400.
109. Puskas, J.D., et al., *Off-pump coronary artery bypass grafting provides complete revascularization with reduced myocardial injury, transfusion requirements, and length of stay: a prospective randomized comparison of two hundred unselected patients undergoing off-pump versus conventional coronary artery bypass grafting*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2003. **125**(4): p. 797-808.
110. Tang, A.T., et al., *Leukodepletion reduces renal injury in coronary revascularization: a prospective randomized study*. Ann Thorac Surg, 2002. **74**(2): p. 372-7; discussion 377.
111. Tang, A.T., et al., *A prospective randomized study to evaluate the renoprotective action of beating heart coronary surgery in low risk patients*. Eur J Cardiothorac Surg, 2002. **22**(1): p. 118-23.
112. Loeff, B.G., et al., *Off-pump coronary revascularization attenuates transient renal damage compared with on-pump coronary revascularization*. Chest, 2002. **121**(4): p. 1190-4.
113. Cartier, R., *Off-pump surgery and chronic renal insufficiency*. Ann Thorac Surg, 2000. **69**(6): p. 1995-6.
114. Massoudy, P., et al., *Coronary artery bypass surgery and acute kidney injury-- impact of the off-pump technique*. Nephrol Dial Transplant, 2008. **23**(9): p. 2853-60.

115. Ascione, R., et al., *On-pump versus off-pump coronary revascularization: evaluation of renal function*. *Ann Thorac Surg*, 1999. **68**(2): p. 493-8.
116. Schwann, N.M., et al., *Does off-pump coronary artery bypass reduce the incidence of clinically evident renal dysfunction after multivessel myocardial revascularization?* *Anesth Analg*, 2004. **99**(4): p. 959-64, table of contents.
117. Gamoso, M.G., et al., *Off-pump versus on-pump coronary artery bypass surgery and postoperative renal dysfunction*. *Anesth Analg*, 2000. **91**(5): p. 1080-4.
118. Chukwuemeka, A., et al., *Renal dysfunction in high-risk patients after on-pump and off-pump coronary artery bypass surgery: a propensity score analysis*. *Ann Thorac Surg*, 2005. **80**(6): p. 2148-53.
119. Asimakopoulos, G., et al., *Renal function after cardiac surgery off- versus on-pump coronary artery bypass: analysis using the Cockcroft-Gault formula for estimating creatinine clearance*. *Ann Thorac Surg*, 2005. **79**(6): p. 2024-31.
120. Weerasinghe, A., et al., *Coronary artery bypass grafting in non-dialysis-dependent mild-to-moderate renal dysfunction*. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2001. **121**(6): p. 1083-9.
121. Weerasinghe, A., et al., *Functional renal outcome in on-pump and off-pump coronary revascularization: a propensity-based analysis*. *Ann Thorac Surg*, 2005. **79**(5): p. 1577-83.
122. Seabra, V.F., et al., *Off-pump coronary artery bypass surgery and acute kidney injury: a meta-analysis of randomized controlled trials*. *Clin J Am Soc Nephrol*. **5**(10): p. 1734-44.
123. Hix, J.K., et al., *Effect of off-pump coronary artery bypass graft surgery on postoperative acute kidney injury and mortality*. *Crit Care Med*, 2006. **34**(12): p. 2979-83.
124. Bucerius, J., et al., *On-pump versus off-pump coronary artery bypass grafting: impact on postoperative renal failure requiring renal replacement therapy*. *Ann Thorac Surg*, 2004. **77**(4): p. 1250-6.
125. Loganathan, S., et al., *Off-pump versus on-pump coronary artery bypass procedures: postoperative renal complications in an Asian population*. *Ann Acad Med Singapore*. **39**(2): p. 112-6.
126. Reston, J.T., S.J. Tregear, and C.M. Turkelson, *Meta-analysis of short-term and mid-term outcomes following off-pump coronary artery bypass grafting*. *Ann Thorac Surg*, 2003. **76**(5): p. 1510-5.

127. Di Mauro, M., et al., *Does off-pump coronary surgery reduce postoperative acute renal failure? The importance of preoperative renal function.* Ann Thorac Surg, 2007. **84**(5): p. 1496-502.
128. Panesar, S.S., et al., *Early outcomes in the elderly: a meta-analysis of 4921 patients undergoing coronary artery bypass grafting--comparison between off-pump and on-pump techniques.* Heart, 2006. **92**(12): p. 1808-16.
129. Park, M., et al., *Prevention and treatment of acute kidney injury in patients undergoing cardiac surgery: a systematic review.* Am J Nephrol. **31**(5): p. 408-18.
130. Coleman, M.D., S. Shaefi, and R.N. Sladen, *Preventing acute kidney injury after cardiac surgery.* Curr Opin Anaesthesiol. **24**(1): p. 70-6.
131. Nigwekar, S.U., et al., *Off-pump coronary artery bypass surgery and acute kidney injury: a meta-analysis of randomized and observational studies.* Am J Kidney Dis, 2009. **54**(3): p. 413-23.
132. Ascione, R., et al., *Predictors of atrial fibrillation after conventional and beating heart coronary surgery: A prospective, randomized study.* Circulation, 2000. **102**(13): p. 1530-5.
133. Athanasiou, T., et al., *Do off-pump techniques reduce the incidence of postoperative atrial fibrillation in elderly patients undergoing coronary artery bypass grafting?* Ann Thorac Surg, 2004. **77**(5): p. 1567-74.
134. Athanasiou, T., et al., *Does off-pump coronary artery bypass reduce the incidence of post-operative atrial fibrillation? A question revisited.* Eur J Cardiothorac Surg, 2004. **26**(4): p. 701-10.
135. Turk, T., et al., *Atrial fibrillation after off-pump coronary artery surgery: a prospective, matched study.* J Int Med Res, 2007. **35**(1): p. 134-42.
136. Enc, Y., et al., *Atrial fibrillation after surgical revascularization: is there any difference between on-pump and off-pump?* Eur J Cardiothorac Surg, 2004. **26**(6): p. 1129-33.
137. Place, D.G., et al., *Postoperative atrial fibrillation: a comparison of off-pump coronary artery bypass surgery and conventional coronary artery bypass graft surgery.* J Cardiothorac Vasc Anesth, 2002. **16**(2): p. 144-8.
138. Marasco, S.F., et al., *No decrease in incidence of atrial fibrillation in patients undergoing off-pump coronary artery bypass grafting.* Heart Lung Circ, 2002. **11**(2): p. 102-6.

139. Siebert, J., et al., *Atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting: does the type of procedure influence the early postoperative incidence?* Eur J Cardiothorac Surg, 2001. **19**(4): p. 455-9.
140. Potger, K.C., et al., *Transfusion and bleeding in coronary artery bypass grafting: an on-pump versus off-pump comparison.* J Extra Corpor Technol, 2007. **39**(1): p. 24-30.
141. Sellke, F.W., et al., *Comparing on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting: numerous studies but few conclusions: a scientific statement from the American Heart Association council on cardiovascular surgery and anesthesia in collaboration with the interdisciplinary working group on quality of care and outcomes research.* Circulation, 2005. **111**(21): p. 2858-64.
142. Kuss, O., B. von Salviati, and J. Borgermann, *Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting: a systematic review and meta-analysis of propensity score analyses.* J Thorac Cardiovasc Surg. **140**(4): p. 829-35, 835 e1-13.
143. Sun, X., et al., *Current practice and outcomes of off-pump multivessel coronary artery bypass.* Asian Cardiovasc Thorac Ann, 2009. **17**(4): p. 362-7.
144. Murphy, G.J., et al., *Safety, efficacy, and cost of intraoperative cell salvage and autotransfusion after off-pump coronary artery bypass surgery: a randomized trial.* J Thorac Cardiovasc Surg, 2005. **130**(1): p. 20-8.
145. Oo, A.Y., et al., *Is off-pump coronary surgery justified in EuroSCORE high-risk cases? A propensity score analysis.* Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2003. **2**(4): p. 660-4.
146. Nuttall, G.A., et al., *A comparison of bleeding and transfusion in patients who undergo coronary artery bypass grafting via sternotomy with and without cardiopulmonary bypass.* J Cardiothorac Vasc Anesth, 2003. **17**(4): p. 447-51.
147. Huffmyer, J. and J. Raphael, *The current status of off-pump coronary bypass surgery.* Curr Opin Anaesthesiol. **24**(1): p. 64-9.
148. Shroyer, A.L., et al., *On-pump versus off-pump coronary-artery bypass surgery.* N Engl J Med, 2009. **361**(19): p. 1827-37.
149. Tanaka, K.A., et al., *Heparin anticoagulation in patients undergoing off-pump and on-pump coronary bypass surgery.* J Anesth, 2007. **21**(3): p. 297-303.
150. Paparella, D., et al., *Activation of the coagulation system during coronary artery bypass grafting: comparison between on-pump and off-pump techniques.* J Thorac Cardiovasc Surg, 2006. **131**(2): p. 290-7.

151. Goel, P., et al., *Efficacy of cell saver in reducing homologous blood transfusions during OPCAB surgery: a prospective randomized trial*. *Transfus Med*, 2007. **17**(4): p. 285-9.
152. Parolari, A., et al., *Meta-analysis of randomized trials comparing off-pump with on-pump coronary artery bypass graft patency*. *Ann Thorac Surg*, 2005. **80**(6): p. 2121-5.
153. Khan, N.E., et al., *A randomized comparison of off-pump and on-pump multivessel coronary-artery bypass surgery*. *N Engl J Med*, 2004. **350**(1): p. 21-8.
154. Lim, E., et al., *A systematic review of randomized trials comparing revascularization rate and graft patency of off-pump and conventional coronary surgery*. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2006. **132**(6): p. 1409-13.
155. Sousa Uva, M., et al., *Early graft patency after off-pump and on-pump coronary bypass surgery: a prospective randomized study*. *Eur Heart J*. **31**(20): p. 2492-9.
156. Puskas, J.D., et al., *Off-pump vs conventional coronary artery bypass grafting: early and 1-year graft patency, cost, and quality-of-life outcomes: a randomized trial*. *Jama*, 2004. **291**(15): p. 1841-9.
157. Yanagisawa, M., et al., *A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells*. *Nature*, 1988. **332**(6163): p. 411-5.
158. Kobayashi, J., et al., *Early outcome of a randomized comparison of off-pump and on-pump multiple arterial coronary revascularization*. *Circulation*, 2005. **112**(9 Suppl): p. I338-43.
159. Lingaas, P.S., et al., *Clinical and radiologic outcome of off-pump coronary surgery at 12 months follow-up: a prospective randomized trial*. *Ann Thorac Surg*, 2006. **81**(6): p. 2089-95.
160. Balacumaraswami, L., et al., *Does off-pump total arterial grafting increase the incidence of intraoperative graft failure?* *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2004. **128**(2): p. 238-44.
161. Puskas, J.D., et al., *Off-pump and on-pump coronary artery bypass grafting are associated with similar graft patency, myocardial ischemia, and freedom from reintervention: long-term follow-up of a randomized trial*. *Ann Thorac Surg*. **91**(6): p. 1836-43.
162. Widimsky, P., et al., *One-year coronary bypass graft patency: a randomized comparison between off-pump and on-pump surgery angiographic results of the PRAGUE-4 trial*. *Circulation*, 2004. **110**(22): p. 3418-23.

163. Magee, M.J., et al., *Coronary artery bypass graft failure after on-pump and off-pump coronary artery bypass: findings from PREVENT IV*. Ann Thorac Surg, 2008. **85**(2): p. 494-9; discussion 499-500.
164. Hannan, E.L., et al., *Off-pump versus on-pump coronary artery bypass graft surgery: differences in short-term outcomes and in long-term mortality and need for subsequent revascularization*. Circulation, 2007. **116**(10): p. 1145-52.
165. Angelini, G.D., et al., *Effects of on- and off-pump coronary artery surgery on graft patency, survival, and health-related quality of life: long-term follow-up of 2 randomized controlled trials*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2009. **137**(2): p. 295-303.
166. Moller, C.H., et al., *Clinical outcomes in randomized trials of off- vs. on-pump coronary artery bypass surgery: systematic review with meta-analyses and trial sequential analyses*. Eur Heart J, 2008. **29**(21): p. 2601-16.
167. Moller, C.H., et al., *Graft patency after off-pump versus on-pump coronary artery surgery in high-risk patients*. Scand Cardiovasc J. **44**(3): p. 161-7.
168. Kim, K.B., et al., *Ten-year experience with off-pump coronary artery bypass grafting: lessons learned from early postoperative angiography*. J Thorac Cardiovasc Surg. **139**(2): p. 256-62.
169. Straka, Z., et al., *Off-pump versus on-pump coronary surgery: final results from a prospective randomized study PRAGUE-4*. Ann Thorac Surg, 2004. **77**(3): p. 789-93.
170. Wijeyesundera, D.N., et al., *Off-pump coronary artery surgery for reducing mortality and morbidity: meta-analysis of randomized and observational studies*. J Am Coll Cardiol, 2005. **46**(5): p. 872-82.
171. Legare, J.F., K.J. Buth, and G.M. Hirsch, *Conversion to on pump from OPCAB is associated with increased mortality: results from a randomized controlled trial*. Eur J Cardiothorac Surg, 2005. **27**(2): p. 296-301.
172. Puskas, J.D., et al., *Off-pump coronary artery bypass disproportionately benefits high-risk patients*. Ann Thorac Surg, 2009. **88**(4): p. 1142-7.
173. Hueb, W., et al., *Five-year follow-up of a randomized comparison between off-pump and on-pump stable multivessel coronary artery bypass grafting. The MASS III Trial*. Circulation. **122**(11 Suppl): p. S48-52.
174. Raja, S.G., et al., *10-year follow-up of off-pump multivessel coronary artery bypass grafting*. Asian Cardiovasc Thorac Ann. **18**(3): p. 260-5.

175. Takagi, H., M. Matsui, and T. Umemoto, *Off-pump coronary artery bypass may increase late mortality: a meta-analysis of randomized trials*. *Ann Thorac Surg*. **89**(6): p. 1881-8.
176. Filardo, G., et al., *Comparing Long-Term Survival Between Patients Undergoing Off-Pump and On-Pump Coronary Artery Bypass Graft Operations*. *Ann Thorac Surg*.
177. Nathoe, H.M., et al., *A comparison of on-pump and off-pump coronary bypass surgery in low-risk patients*. *N Engl J Med*, 2003. **348**(5): p. 394-402.
178. Al-Ruzzeh, S., et al., *Does off-pump coronary artery bypass (OPCAB) surgery improve the outcome in high-risk patients?: a comparative study of 1398 high-risk patients*. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2003. **23**(1): p. 50-5.
179. Barandon, L., et al., *Off-pump coronary artery bypass surgery in very high-risk patients: adjustment and preliminary results*. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2008. **7**(5): p. 789-93.
180. Emmert, M.Y., et al., *Off-pump coronary bypass surgery is safe in patients with a low ejection fraction (< or =25%)*. *Heart Surg Forum*. **13**(3): p. E136-42.
181. Emmert, M.Y., et al., *Routine off-pump coronary artery bypass grafting is safe and feasible in high-risk patients with left main disease*. *Ann Thorac Surg*. **89**(4): p. 1125-30.
182. Takase, S., et al., *Short-term and long-term outcomes of octogenarians after off-pump coronary artery bypass surgery*. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. **58**(11): p. 561-7.
183. Kerendi, F., et al., *Impact of off-pump coronary artery bypass graft surgery on postoperative pulmonary complications in patients with chronic lung disease*. *Ann Thorac Surg*. **91**(1): p. 8-15.
184. Kerendi, F., C.D. Morris, and J.D. Puskas, *Off-pump coronary bypass surgery for high-risk patients: only in expert centers?* *Curr Opin Cardiol*, 2008. **23**(6): p. 573-8.
185. Mosorin, M.A., et al., *Immediate and 5-year outcome after coronary artery bypass surgery in very high risk patients (additive EuroSCORE \geq 10)*. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. **52**(2): p. 271-6.
186. Cartier, R., *Off-pump coronary artery revascularization in octogenarians: is it better?* *Curr Opin Cardiol*, 2009. **24**(6): p. 544-52.

187. Moller, C.H., et al., *No major differences in 30-day outcomes in high-risk patients randomized to off-pump versus on-pump coronary bypass surgery: the best bypass surgery trial*. *Circulation*. **121**(4): p. 498-504.
188. Munos, E., et al., *Beating-heart coronary artery bypass surgery with the help of mini extracorporeal circulation for very high-risk patients*. *Perfusion*. **26**(2): p. 123-31.
189. Darwazah, A.K., et al., *Myocardial revascularization using on-pump beating heart among patients with left ventricular dysfunction*. *J Cardiothorac Surg*. **5**: p. 109.
190. Lev-Ran, O., et al., *'No touch' techniques for porcelain ascending aorta: comparison between cardiopulmonary bypass with femoral artery cannulation and off-pump myocardial revascularization*. *J Card Surg*, 2002. **17**(5): p. 370-6.
191. Prapas, S.N., et al., *Aorta no-touch off-pump coronary artery revascularization in octogenarians: 5 years' experience*. *Heart Surg Forum*, 2009. **12**(6): p. E349-53.
192. Prapas, S.N., et al., *Female risk using OPCAB, pi-circuit, and aorta no-touch coronary revascularization*. *Heart Surg Forum*, 2009. **12**(6): p. E344-8.
193. Kim, W.S., et al., *Total arterial revascularization in triple-vessel disease with off-pump and aortic no-touch technique*. *Ann Thorac Surg*, 2008. **86**(6): p. 1861-5.
194. Bisleri, G. and C. Muneretto, *Y grafting for coronary artery bypass: is it as good as single grafting?* *Curr Opin Cardiol*, 2009. **24**(6): p. 553-8.
195. Lev-Ran, O., et al., *No-touch aorta off-pump coronary surgery: the effect on stroke*. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005. **129**(2): p. 307-13.
196. Ricci, M., et al., *Preventing neurologic complications in coronary artery surgery: the "off-pump, no-touch" technique*. *Am Heart J*, 2000. **140**(3): p. 345-7.
197. Misfeld, M., et al., *Neurologic complications after off-pump coronary artery bypass grafting with and without aortic manipulation: Meta-analysis of 11,398 cases from 8 studies*. *J Thorac Cardiovasc Surg*.
198. Mishra, M., et al., *Propensity case-matched analysis of off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting in patients with atheromatous aorta*. *Ann Thorac Surg*, 2006. **82**(2): p. 608-14.
199. Schultz, S.C., S. Woodward, and G. Ebra, *Resource utilization in off-pump versus conventional coronary artery bypass grafting in a community hospital: a comparative analysis using propensity scoring*. *Heart Surg Forum*. **14**(2): p. E81-6.

200. Lamy, A., et al., *A cost comparison of off-pump CABG versus on-pump CABG at one-year: The Canadian off-pump CABG registry*. Can J Cardiol, 2006. **22**(8): p. 699-704.
201. Ramadan, A.S., et al., *Five years follow-up after Y-graft arterial revascularization: on pump versus off pump; prospective clinical trial*. Interact Cardiovasc Thorac Surg. **10**(3): p. 423-7.
202. Girardi, P.B., et al., *Comparative costs between myocardial revascularization with or without extracorporeal circulation*. Arq Bras Cardiol, 2008. **91**(6): p. 340-6.
203. Al-Ruzzeh, S., et al., *Economic evaluation of coronary artery bypass grafting surgery with and without cardiopulmonary bypass: cost-effectiveness and quality-adjusted life years in a randomized controlled trial*. Artif Organs, 2008. **32**(11): p. 891-7.
204. Angelini, G.D., et al., *Early and midterm outcome after off-pump and on-pump surgery in Beating Heart Against Cardioplegic Arrest Studies (BHACAS 1 and 2): a pooled analysis of two randomised controlled trials*. Lancet, 2002. **359**(9313): p. 1194-9.
205. Kastanioti, C., *Costs, clinical outcomes, and health-related quality of life of off-pump vs. on-pump coronary bypass surgery*. Eur J Cardiovasc Nurs, 2007. **6**(1): p. 54-9.
206. Noiseux, N., et al., *Do patients after off-pump coronary artery bypass grafting need the intensive care unit? A prospective audit of 85 patients*. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2008. **7**(1): p. 32-6.
207. Bakaeen, F.G., et al., *Does the level of experience of residents affect outcomes of coronary artery bypass surgery?* Ann Thorac Surg, 2009. **87**(4): p. 1127-33; discussion 1133-4.
208. Anderson, R.P., et al., *The Society of Thoracic Surgeons/American Association for Thoracic Surgery off-pump training program*. Ann Thorac Surg, 2006. **81**(2): p. 782-4.
209. Song, H.K., et al., *Safe evolution towards routine off-pump coronary artery bypass: negotiating the learning curve*. Eur J Cardiothorac Surg, 2003. **24**(6): p. 947-52.
210. Karamanoukian, H.L., et al., *Perspectives of a cardiac surgery resident in-training on off-pump coronary bypass operation*. Ann Thorac Surg, 2000. **69**(1): p. 42-5; discussion 45-6.

211. Ascione, R., et al., *Trainees operating on high-risk patients without cardiopulmonary bypass: a high-risk strategy?* Ann Thorac Surg, 2004. **78**(1): p. 26-33.
212. Caputo, M., et al., *Monitoring the performance of residents during training in off-pump coronary surgery.* J Thorac Cardiovasc Surg, 2004. **128**(6): p. 907-15.
213. Asimakopoulos, G., et al., *How safe is it to train residents to perform off-pump coronary artery bypass surgery?* Ann Thorac Surg, 2006. **81**(2): p. 568-72.
214. Halkos, M.E. and J.D. Puskas, *Teaching off-pump coronary artery bypass surgery.* Semin Thorac Cardiovasc Surg, 2009. **21**(3): p. 224-8.
215. Cartier, R., *Off pump coronary artery bypass Surgery*, ed. M.i. unit. 2005.
216. Cartier, R., *Systematic off-pump coronary artery revascularization: experience of 275 cases.* Ann Thorac Surg, 1999. **68**(4): p. 1494-7.
217. Cartier, R. and R. Blain, *Off-pump revascularization of the circumflex artery: technical aspect and short-term results.* Ann Thorac Surg, 1999. **68**(1): p. 94-9.
218. Hart, J.C., J.D. Puskas, and J.F. Sabik, 3rd, *Off-pump coronary revascularization: current state of the art.* Semin Thorac Cardiovasc Surg, 2002. **14**(1): p. 70-81.
219. Borst, C., et al., *Coronary artery bypass grafting without cardiopulmonary bypass and without interruption of native coronary flow using a novel anastomosis site restraining device ("Octopus").* J Am Coll Cardiol, 1996. **27**(6): p. 1356-64.
220. Sepic, J., et al., *Cardiac positioning using an apical suction device maintains beating heart hemodynamics.* Heart Surg Forum, 2002. **5**(3): p. 279-84.
221. Vicol, C., et al., *Optimizing use of the octopus system for off-pump total arterial myocardial revascularization with the TY graft.* Ann Thorac Surg, 2004. **77**(2): p. 731-3.
222. Goh, K., et al., *Vascular clamp for hemostasis and stabilization during minimally invasive direct coronary artery bypass.* Ann Thorac Surg, 1999. **68**(2): p. 585-6.
223. Walia, A.S. and S.D. Kole, *Clamp for coronary artery operations.* Ann Thorac Surg, 1998. **65**(5): p. 1475-6.
224. Hangler, H.B., et al., *Coronary endothelial injury after local occlusion on the human beating heart.* Ann Thorac Surg, 2001. **71**(1): p. 122-7.
225. Wippermann, J., et al., *Acute effects of tourniquet occlusion and intraluminal shunts in beating heart surgery.* Eur J Cardiothorac Surg, 2003. **24**(5): p. 757-61.
226. Bergsland, J., et al., *Intracoronary shunt prevents ischemia in off-pump coronary artery bypass surgery.* Ann Thorac Surg, 2009. **87**(1): p. 54-60.

227. Lucchetti, V., et al., *Intracoronary shunt prevents left ventricular function impairment during beating heart coronary revascularization*. Eur J Cardiothorac Surg, 1999. **15**(3): p. 255-9.
228. Menon, A.K., et al., *Occlusion versus shunting during MIDCAB: effects on left ventricular function and quality of anastomosis*. Ann Thorac Surg, 2002. **73**(5): p. 1418-23.
229. Yeatman, M., et al., *Intracoronary shunts reduce transient intraoperative myocardial dysfunction during off-pump coronary operations*. Ann Thorac Surg, 2002. **73**(5): p. 1411-7.
230. Wippermann, J., et al., *Chronic ultrastructural effects of temporary intraluminal shunts in a porcine off-pump model*. Ann Thorac Surg, 2004. **78**(2): p. 543-8.
231. Hangler, H., et al., *Shunt or snare: coronary endothelial damage due to hemostatic devices for beating heart coronary surgery*. Ann Thorac Surg, 2008. **86**(6): p. 1873-7.
232. Hangler, H.B., et al., *Effects of intracoronary shunts on coronary endothelial coating in the human beating heart*. Ann Thorac Surg, 2004. **77**(3): p. 776-80.
233. Emmiler, M., et al., *Influence of intracoronary shunt on myocardial damage: a prospective randomized study*. Eur J Cardiothorac Surg, 2008. **34**(5): p. 1000-4.
234. Demaria, R.G., et al., *Influence of intracoronary shunt size on coronary endothelial function during off-pump coronary artery bypass*. Heart Surg Forum, 2003. **6**(3): p. 160-8.
235. Burfeind, W.R., Jr., et al., *High-flow gas insufflation to facilitate MIDCABG: effects on coronary endothelium*. Ann Thorac Surg, 1998. **66**(4): p. 1246-9.
236. Korkmaz, A.A., et al., *Coronary air embolism in off-pump surgery caused by blower-mister device*. J Card Surg, 2008. **23**(5): p. 583-5.
237. Mair, H. and P. Sergeant, *Air embolism caused by blower mister*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2004. **127**(3): p. 897.
238. Okazaki, Y., et al., *Coronary endothelial damage during off-pump CABG related to coronary-clamping and gas insufflation*. Eur J Cardiothorac Surg, 2001. **19**(6): p. 834-9.
239. Schmolka, R., *polymer controlled drug delivery*, in CRC. 1991. p. 189-214.
240. Dumortier, G., et al., *A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics*. Pharm Res, 2006. **23**(12): p. 2709-28.

241. Lenaerts V, T.C., Quartern M, Rieg-Falson F, Couvreur P, *Temperature-dependent rheological behavior of Pluronic F-127 aqueous solutions* International Journal of Pharmaceutics 1987. **39**(1-2): p. 121-127.
242. Pandit NK, K.J., *Loss of gelation ability of Pluronic® F127 in the presence of some salts* International Journal of Pharmaceutics 1996. **145**(1-2): p. 129-136.
243. Kabanov, A., E. Batrakova, and V. Alakow, *Pluronic block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery*. J Control Release, 2002. **82**(2-3): p. 189-212.
244. Yong, C., et al., *Effect of sodium chloride on the gelation temperature, gel strength and bioadhesive force of poloxamer gels containing diclofenac sodium*. Int J Pharm, 2001. **226**(1-2): p. 195-205.
245. Le RAy, A., et al., *Development of a continuous flow adhesion cell for the assessment of hydrogel adhesion*. Drug Dev Ind Pharm, 1999. **25**(8): p. 897-904.
246. Ryu, J., et al., *increased bioavailability of propanolol in rats by retaining thermally gelling liquid suppositories in the rectum*. J Control Release, 1999. **59**(2): p. 163-172.
247. Tomida, H., N. Kuwada, and S. Kiryu, *Hydrolysis of indomethacin in Pluronic F-127 gels*. Acta Pharm Suec, 1988. **25**(2): p. 87-96.
248. Benjamin H, I.F., Ghaly GM, Khalafallah N, Alexandria journal of pharmaceutical sciences, 1994. **8**(1): p. 19-23.
249. Clancy MJ, C.K., Myers M, WO 96-IE39 960701.
250. Tomida, H., et al., *In vitro release characteristics of diclofenac and hydrocortisone from Pluronic F-127 gels*. Acta Pharm Suec, 1987. **24**(5): p. 263-72.
251. Henry RL, S.I., Crit.Rev. Biocompat., 1989. **5**(3): p. 207-20.
252. Lee YC, P.E., Chi SC, Yakche hakhoechi 1995. **25**(3): p. 177-84.
253. Puolakkainen, P.A., et al., *The enhancement in wound healing by transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1) depends on the topical delivery system*. J Surg Res, 1995. **58**(3): p. 321-9.
254. Dukova K, K.J., *Formulation of Topical Preparations for Local Treatment of Burns*. acta pharma univ comeniana, 1990. **44**: p. 19-42.
255. Esposito E, C.V., Scabbia A, Trombelli L, D'Antona P, Menegatti E, Nastruzzi C, *Comparative analysis of tetracycline-containing dental gels: Poloxamer- and monoglyceride-based formulations* International Journal of Pharmaceutics 1996. **142**(1): p. 9-23.

256. Shin, S., J. Kim, and I. Oh, *Mucoadhesive and physicochemical characterization of Carbopol-Poloxamer gels containing triamcinolone acetonide*. Drug Dev Ind Pharm, 2000. **26**(3): p. 307-312.
257. Bourre, L., et al., *Potential efficacy of a delta 5-aminolevulinic acid thermosetting gel formulation for use in photodynamic therapy of lesions of the gastrointestinal tract*. Pharmacol Res, 2002. **45**(2): p. 159-165.
258. Viegas TX, R.L., Levinson RS, *US 5300295 A 940405*.
259. Portoles, M. and M.F. Refojo, *The role of tear deposits on hydrogel contact lenses induced bacterial keratitis: Pseudomonas aeruginosa adhesives*. Adv Exp Med Biol, 1994. **350**: p. 421-6.
260. Park, Y., et al., *Effect of sodium chloride on the release absorption and safety of diclofenac sodium delivered by poloxamer gel*. Int J Pharm, 2003. **28**(7): p. 823-831.
261. Wutrich, P., M. Martenet, and P. Buri, *Effect of formulation additives upon the intranasal bioavailability of a peptide drug tetracosactide (ACTH 1-24)*. Pharm Res, 1994. **11**(2): p. 278-282.
262. Anderson, B., N. Pandit, and S. Mallapragada, *Understanding drug release from poly(ethylene oxide)-b-poly(propylene oxide)-b-poly(ethylene oxide) gels*. J Control Release, 2001. **70**(1-2): p. 157-167.
263. Barichello, J.M., et al., *Absorption of insulin from pluronic F-127 gels following subcutaneous administration in rats*. Int J Pharm, 1999. **184**(2): p. 189-98.
264. Amiji, M., et al., *Intratumoral administration of Paclitaxel in an in situ gelling poloxamer 407 formulation*. Pharm Dev Technol, 2002. **7**(2): p. 195-202.
265. Paavola, A., et al., *Controlled release of lidocaine from injectable gels and efficacy in rat nerve block*. Pharm Res, 1995. **12**(12): p. 1997-2002.
266. Pec, E., Wout ZG, Johnston TP, *Biological activity of urease formulated in Poloxamer 407 after intraperitoneal injection in the rat*. J Pharm Sci, 1992. **81**(7): p. 626-630.
267. Baek, M., Lee SY, Jee UK, Yakche hakhoechi, 1996. **26**(4): p. 245-256.
268. Müller R, M.S., Weyhers H, Mehnert W, *Phagocytic Uptake and Cytotoxicity of Solid Lipid Nanoparticles (SLN) Sterically Stabilized with Poloxamine 908 and Poloxamer 407* Journal of Drug Targeting, 1996. **4**(3): p. 161-170.
269. Mueller RH, M.W., Lucks JS, Schwarz C, Zur M, Annette W H; Freitas C, Ruehl D, Eur. J. Pharm. Biopharm, 1995. **41**(1): p. 62-9.

270. Borchard, G. and J. Kreuter, *Interaction of serum components with poly(methylmethacrylate) nanoparticles and the resulting body distribution after intravenous injection in rats*. J Drug Target, 1993. **1**(1): p. 15-9.
271. Barichello, J.M., et al., *Enhanced rectal absorption of insulin-loaded Pluronic F-127 gels containing unsaturated fatty acids*. Int J Pharm, 1999. **183**(2): p. 125-32.
272. Ruchatz, F., P. Kleinebudde, and B.W. Muller, *Residual solvents in biodegradable microparticles. Influence of process parameters on the residual solvent in microparticles produced by the aerosol solvent extraction system (ASES) process*. J Pharm Sci, 1997. **86**(1): p. 101-5.
273. Raymond, J., et al., *Temporary vascular occlusion with poloxamer 407*. Biomaterials, 2004. **25**(18): p. 3983-9.
274. Varshney, M., et al., *Pluronic microemulsions as nanorervoirs for extraction of bupivacaine from normal saline*. J Am Chem Soc, 2004. **126**(16): p. 5108-5112.
275. Fowler, E., et al., *Evaluation of pluronic polyols as carriers for grafting materials study in rat calvaria defects*. J Periodontol, 2002. **73**(2): p. 191-197.
276. Clokie, C. and M. Urist, *Bone morphometric protein excipients, comparative observations on poloxamer*. Plast Reconstr Surg, 2000. **105**(2): p. 628-637.
277. Arevalo-Silva, C., et al., *Internal support of tissue-engineered cartilage*. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2000. **126**(12): p. 1448-1452.
278. Hokett, S., et al., *Pluronic polyol effects on human gingival fibroblast attachment and growth*. J Periodontol, 2000. **71**(5): p. 803-809.
279. Moghimi, S., *Re-establishing the long circulatory behaviour of poloxamine-coated particles after repeated intravenous administration applications in cancer drug delivery and imaging*. Biochim Biophys Acta, 1999. **1472**(1-2): p. 399-403.
280. Danson, S., et al., *Phase I dose escalation and pharmacokinetic study of pluronic polymer bound doxorubicin (SP1049C) in patients with advanced cancer*. Br J Cancer, 2004. **90**(11): p. 2085-2091.
281. Palmer WK, E.E., Johnston TP, *Poloxamer 407 induced atherogenesis in the C57BL/6 mouse*. Atherosclerosis, 1998. **136**(1): p. 115-123.
282. Li C, P.K., Johnston TP, *Disposition of Poloxamer 407 in rats following a single intraperitoneal injection assessed using a simplified colorimetric assay*. J Pharm Biomed Anal, 1996. **14**(5): p. 659-665.
283. Blonder, J., et al., *Dose dependent hyperlipidemia in rabbits following administration of poloxamer 407 gel*. Life Sci, 1999. **65**(21): p. 261-266.

284. Palmer, W., E. Emeson, and T. Johnston, *The poloxamer 407 induced hyperlipidemic atherogenic animal model*. Med Sci Sports Exerc, 1997. **29**(11): p. 1416-1421.
285. Johnston, T., et al., *Potential downregulation of HMG-CoA reductase after prolonged administration of P-407 in C57BL/6 mice*. J Cardiovasc Pharmacol, 1999. **34**(6): p. 831-842.
286. Johnston, T. and W. Palmer, *Effect of poloxamer 407 on the activity of microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase in rats*. J Cardiovasc Pharmacol, 1997. **29**(5): p. 580-585.
287. Johnston, T., H. Beris, and J. Kennedy, *Effects on splenic, hepatic, hematological, and growth parameters following high dose poloxamer 407 administration to rats*. Int J Pharm, 1993. **100**: p. 279-284.
288. Johnston, T., et al., *Potency effect of select statin drugs in a new mouse model of hyperlipidemia and atherosclerosis*. Int J Pharm, 2001. **229**(1-2): p. 75-86.
289. Abe, T., et al., *Evaluation of pluronic F127 as a base for gradual release of anticancer drug*. Gan To Kagaku Ryoho, 1990. **17**(8): p. 1546-1550.
290. Johnston, T. and S. miller, *Inulin disposition following intramuscular administration of an inulin/poloxamer gel matrix* J Parenter Sci Technol, 1989. **43**(6): p. 279-286.
291. Boodhwani, M., et al., *Effects of purified poloxamer 407 gel on vascular occlusion and the coronary endothelium*. Eur J Cardiothorac Surg, 2006. **29**(5): p. 736-41.
292. Kuruvilla, L. and C.C. Kartha, *Molecular mechanisms in endothelial regulation of cardiac function*. Mol Cell Biochem, 2003. **253**(1-2): p. 113-23.
293. Schiffrin, E.L., *The endothelium and control of blood vessel function in health and disease*. Clin Invest Med, 1994. **17**(6): p. 602-20.
294. Flavahan, N.A. and P.M. Vanhoutte, *Endothelial cell signaling and endothelial dysfunction*. Am J Hypertens, 1995. **8**(5 Pt 2): p. 28S-41S.
295. Fishman, A.P., *Endothelium: a distributed organ of diverse capabilities*. Ann N Y Acad Sci, 1982. **401**: p. 1-8.
296. Boulanger, C.M. and P.M. Vanhoutte, *G proteins and endothelium-dependent relaxations*. J Vasc Res, 1997. **34**(3): p. 175-85.
297. Rubanyi, G.M., *The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases*. J Cardiovasc Pharmacol, 1993. **22 Suppl 4**: p. S1-14.

298. Mombouli, J.V. and P.M. Vanhoutte, *Endothelial dysfunction: from physiology to therapy*. J Mol Cell Cardiol, 1999. **31**(1): p. 61-74.
299. von Appen, K., et al., *Endothelium: the next frontier in biocompatibility*. Artif Organs, 1993. **17**(12): p. 985-95.
300. Komori, K. and P.M. Vanhoutte, *Endothelium-derived hyperpolarizing factor*. Blood Vessels, 1990. **27**(2-5): p. 238-45.
301. Palmer, R.M., D.S. Ashton, and S. Moncada, *Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine*. Nature, 1988. **333**(6174): p. 664-6.
302. Bredt, D.S., et al., *Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase*. Nature, 1991. **351**(6329): p. 714-8.
303. Schulz, R., E. Nava, and S. Moncada, *Induction and potential biological relevance of a Ca(2+)-independent nitric oxide synthase in the myocardium*. Br J Pharmacol, 1992. **105**(3): p. 575-80.
304. Smith, J.A., et al., *Porcine ventricular endocardial cells in culture express the inducible form of nitric oxide synthase*. Br J Pharmacol, 1993. **108**(4): p. 1107-10.
305. Shindo, T., et al., *Nitric oxide synthesis in rat cardiac myocytes and fibroblasts*. Life Sci, 1994. **55**(14): p. 1101-8.
306. Berges, A., et al., *Role of nitric oxide and oxidative stress in ischaemic myocardial injury and preconditioning*. Acta Cardiol, 2003. **58**(2): p. 119-32.
307. Danson, E.J., J.K. Choate, and D.J. Paterson, *Cardiac nitric oxide: emerging role for nNOS in regulating physiological function*. Pharmacol Ther, 2005. **106**(1): p. 57-74.
308. Ursell, P.C. and M. Mayes, *Anatomic distribution of nitric oxide synthase in the heart*. Int J Cardiol, 1995. **50**(3): p. 217-23.
309. Williams, J.C., et al., *The sarcolemmal calcium pump, alpha-1 syntrophin, and neuronal nitric-oxide synthase are parts of a macromolecular protein complex*. J Biol Chem, 2006. **281**(33): p. 23341-8.
310. Dimmeler, S., et al., *Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation*. Nature, 1999. **399**(6736): p. 601-5.
311. Rapoport, R.M. and F. Murad, *Endothelium-dependent and nitrovasodilator-induced relaxation of vascular smooth muscle: role of cyclic GMP*. J Cyclic Nucleotide Protein Phosphor Res, 1983. **9**(4-5): p. 281-96.
312. Kung, C.F. and T.F. Luscher, *Different mechanisms of endothelial dysfunction with aging and hypertension in rat aorta*. Hypertension, 1995. **25**(2): p. 194-200.

313. Lincoln, T.M., P. Komalavilas, and T.L. Cornwell, *Pleiotropic regulation of vascular smooth muscle tone by cyclic GMP-dependent protein kinase*. Hypertension, 1994. **23**(6 Pt 2): p. 1141-7.
314. Feletou, M. and P.M. Vanhoutte, *Endothelium-derived hyperpolarizing factor*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 1996. **23**(12): p. 1082-90.
315. McGuire, J.J., H. Ding, and C.R. Triggle, *Endothelium-derived relaxing factors: a focus on endothelium-derived hyperpolarizing factor(s)*. Can J Physiol Pharmacol, 2001. **79**(6): p. 443-70.
316. Griffith, T.M., *Endothelium-dependent smooth muscle hyperpolarization: do gap junctions provide a unifying hypothesis?* Br J Pharmacol, 2004. **141**(6): p. 881-903.
317. Busse, R., et al., *EDHF: bringing the concepts together*. Trends Pharmacol Sci, 2002. **23**(8): p. 374-80.
318. Fisslthaler, B., et al., *Cytochrome P450 2C is an EDHF synthase in coronary arteries*. Nature, 1999. **401**(6752): p. 493-7.
319. Chauhan, S.D., et al., *Release of C-type natriuretic peptide accounts for the biological activity of endothelium-derived hyperpolarizing factor*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(3): p. 1426-31.
320. Batenburg, W.W., et al., *L-S-nitrosothiols: endothelium-derived hyperpolarizing factors in porcine coronary arteries?* J Hypertens, 2004. **22**(10): p. 1927-36.
321. Sandow, S.L., *Factors, fiction and endothelium-derived hyperpolarizing factor*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2004. **31**(9): p. 563-70.
322. Nagao, T., S. Illiano, and P.M. Vanhoutte, *Heterogeneous distribution of endothelium-dependent relaxations resistant to NG-nitro-L-arginine in rats*. Am J Physiol, 1992. **263**(4 Pt 2): p. H1090-4.
323. White, D.G. and W. Martin, *Differential control and calcium-dependence of production of endothelium-derived relaxing factor and prostacyclin by pig aortic endothelial cells*. Br J Pharmacol, 1989. **97**(3): p. 683-90.
324. Coleman, R.A., W.L. Smith, and S. Narumiya, *International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes*. Pharmacol Rev, 1994. **46**(2): p. 205-29.
325. Kukovetz, W.R., et al., *Prostacyclin increases cAMP in coronary arteries*. J Cyclic Nucleotide Res, 1979. **5**(6): p. 469-76.

326. Ribalet, B., S. Ciani, and G.T. Eddlestone, *ATP mediates both activation and inhibition of K(ATP) channel activity via cAMP-dependent protein kinase in insulin-secreting cell lines*. J Gen Physiol, 1989. **94**(4): p. 693-717.
327. Bukoski, R.D., et al., *Intracellular Ca²⁺ and force determined simultaneously in isolated resistance arteries*. Am J Physiol, 1989. **257**(5 Pt 2): p. H1728-35.
328. Vanhoutte, P.M. and E.H. Tang, *Endothelium-dependent contractions: when a good guy turns bad!* J Physiol, 2008.
329. Moncada, S. and J.R. Vane, *Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood-vessel walls*. N Engl J Med, 1979. **300**(20): p. 1142-7.
330. Huang, J.S., et al., *Cell signalling through thromboxane A2 receptors*. Cell Signal, 2004. **16**(5): p. 521-33.
331. Tang, E.H., et al., *Calcium and reactive oxygen species increase in endothelial cells in response to releasers of endothelium-derived contracting factor*. Br J Pharmacol, 2007. **151**(1): p. 15-23.
332. Luscher, T.F. and M. Barton, *Biology of the endothelium*. Clin Cardiol, 1997. **20**(11 Suppl 2): p. II-3-10.
333. Levin, E.R., *Endothelins*. N Engl J Med, 1995. **333**(6): p. 356-63.
334. Boulanger, C. and T.F. Luscher, *Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitric oxide*. J Clin Invest, 1990. **85**(2): p. 587-90.
335. Vanhoutte, P.M., *Endothelin-1. A matter of life and breath*. Nature, 1994. **368**(6473): p. 693-4.
336. Skeggs, L.T., et al., *Biochemistry and kinetics of the renin-angiotensin system*. Fed Proc, 1967. **26**(1): p. 42-7.
337. Pueyo, M.E., et al., *Angiotensin II stimulates the production of NO and peroxynitrite in endothelial cells*. Am J Physiol, 1998. **274**(1 Pt 1): p. C214-20.
338. Griendling, K.K., et al., *Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells*. Circ Res, 1994. **74**(6): p. 1141-8.
339. Cai, H., et al., *NAD(P)H oxidase-derived hydrogen peroxide mediates endothelial nitric oxide production in response to angiotensin II*. J Biol Chem, 2002. **277**(50): p. 48311-7.
340. Yayama, K., et al., *Angiotensin II stimulates endothelial NO synthase phosphorylation in thoracic aorta of mice with abdominal aortic banding via type 2 receptor*. Hypertension, 2006. **48**(5): p. 958-64.

341. Allen, A.M., J. Zhuo, and F.A. Mendelsohn, *Localization and function of angiotensin AT1 receptors*. Am J Hypertens, 2000. **13**(1 Pt 2): p. 31S-38S.
342. Santos, R.A. and A.J. Ferreira, *Angiotensin-(1-7) and the renin-angiotensin system*. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2007. **16**(2): p. 122-8.
343. Ferrario, C.M., *Angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-(1-7): an evolving story in cardiovascular regulation*. Hypertension, 2006. **47**(3): p. 515-21.
344. Sampaio, W.O., et al., *Angiotensin-(1-7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways*. Hypertension, 2007. **49**(1): p. 185-92.
345. Ramaciotti, C., et al., *Endothelial cells regulate cardiac contractility*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992. **89**(9): p. 4033-6.
346. Carey, R.M. and H.M. Siragy, *Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation*. Endocr Rev, 2003. **24**(3): p. 261-71.
347. Santos, R.A., et al., *Angiotensin-(1-7) and its receptor as a potential targets for new cardiovascular drugs*. Expert Opin Investig Drugs, 2005. **14**(8): p. 1019-31.
348. Boodhwani, M., et al., *Safety and efficacy of a novel gel for vascular occlusion in off-pump surgery*. Ann Thorac Surg, 2005. **80**(6): p. 2333-7.
349. Bouchot, O., et al., *Temporary coronary artery occlusion during off-pump coronary artery bypass grafting with the new poloxamer P407 does not cause endothelial dysfunction in epicardial coronary arteries*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2006. **132**(5): p. 1144-9.
350. Aubin, M.C., et al., *Temporary internal thoracic artery occlusion during off-pump coronary artery bypass grafting with the new poloxamer P407 does not cause endothelial dysfunction*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2006. **132**(3): p. 685-6.
351. Bouchot, O., et al., *Clinical experience with a novel thermosensitive temporary coronary artery occluder (LeGoo)*. Ann Thorac Surg. **89**(6): p. 1912-7.
352. Rastan, A., T. Noack, and G.K. Subramaniam, *Facilitated anastomosis using a reverse thermosensitive polymer for temporary coronary occlusion in off pump minimally invasive direct coronary artery bypass surgery*. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2010. **25**.
353. Agostini, M., et al., *Thermosensitive polymer use for shunt sealing in off pump artery bypass*. Innovation, 2010. **5**: p. 122-4.

355. Wimmer-Greinecker, G., et al., *randomized clinical trial comparing a thermosensitive polymer (legoo®)with conventionnal vessel loop fot temporary coronary occlusion during off-pump coronary artery bypass (opcab) surgery*. *An Thorac surg*, 2011.
356. Shalhoub, J., A. Thapar, and A. Davies, *The use of reverse Thermosensitive polymer (Legoo) for temporary vessel occlusion in clampless perpheral vascular surgery*. *Vascular and Endovascular surgery*, 2011. **45**(5): p. 422-425.
357. Manchio, J., et al., *evaluation of novel reverse thermosensitive polymer for use in microvascular surgery*. *J Reconstr Surgery*, 2009. **25**: p. 69-76.
358. Giessler GA et al. *Clampless anastomosis with an intraluminal thermosensitive gel: First application in reconstructive microsurgery and literature review . J Plast Reconstr Aesthet Surg.2011*
359. Moinzahed, A., S. Flacke, and J. Libertino, *Temporary segmental renal artery occlusion using reverse phase polymer for bloodless robotic partial nephrectomy*. *J Urol*, 2009. **182**: p. 1582-7.
360. Flacke S et al. . *Endovascular temporary vessel occlusion with a reverse-thermosensitive polymer for bloodless minimally invasive renal surgery*. *J Vasc Interv Radiol*. 2010 May;21(5):711-8

Travaux de l'auteur en rapport avec le travail

13. TRAVAUX DE L'AUTEUR EN RAPPORT AVEC LE TRAVAIL

13.1 PUBLICATIONS

-Aubin MCA, **Bouchot O**, Carrier M, Cohn WE, Perrault LP. Temporary internal mammary artery occlusion during off pump CABG with the new poloxamer P407 does not cause endothelial dysfunction. J Thorac CardioVasc surg 2006;132:685-6

-**Bouchot O**, Aubin MCA, Carrier M, Cohn WE, Perrault LP. Temporary coronary artery occlusion during off pump CABG with the new poloxamer P407 does not cause endothelial dysfunction in epicardial coronary arteries. J Thorac Cardiovasc Surg. 2006 Nov; 132(5):1144-9.

-**Bouchot O**, Berger RL, Berne JP, Brunotte F, Brenot R. Clinical experience with a novel thermosensitive temporary coronary artery occluder (LeGoo). Ann Thorac Surg. 2010 Jun;89(6):1912-7

- Gerhard Wimmer-Greinecker, **Olivier Bouchot**, Jean-Philippe Verhoye, Louis P Perrault, Jochen Borgermann, Anno, Diegler, Leen Van Garsse, Ardawan J Rastan. Randomized clinical trial comparing a thermosensitive polymer (legoo®) with conventional vessel loop for temporary coronary occlusion during off-pump coronary artery bypass (opcab) surgery. Annals of Thoracic Surgery. Sous presse.

- Benjamin Kretz, Eric Steinmetz, Joaquim Dominguez, Claire Favier, Roger Brenot, **Olivier Bouchot**. First results of clampless surgery in peripheral vascular bypass with a thermoreversible polymer, LeGoo®. Soumis à Journal of Vascular Surgery. Accepté avec correction.

13.2 PRESENTATIONS

- Résultats d'une étude randomisée comparant un gel thermoréversible (Legoo®) versus les vessel loop en chirurgie à cœur battant. **O Bouchot**, G Wimmer-Greinecker, J.-P

Verhoye, L Perrault, J Börgermann, A Diegeler, Van Garsse L, Rastan A. **SFCTCV**
Décembre 2010, Paris

- Gerhard Wimmer-Greinecker, **Olivier Bouchot**, Jean-Philippe Verhoye, Louis P Perrault, Jochen Borgermann, Anno, Diegler, Leen Van Garsse, Ardawan J Rastan. Randomized clinical trial comparing a thermosensitive polymer (legoo®) with conventional vessel loop for temporary coronary occlusion during off-pump coronary artery bypass (opcab) surgery. **EACTS** , Genève, septembre 2010

- **O Bouchot** , E Steinmetz, JP Berne, R Berger, F Brunotte, R Brenot. Temporary vascular occlusion during surgery of small vessels in human using the gel Legoo™: preliminary results **European Society for Surgical Research**. Mai 2009, Nimes , France. Abstract publié dans BJS 2009. 96 (S5)

- **O Bouchot**, JP Berne, RL Berger, R Brenot, M David.; Temporary Atraumatic Coronary Artery Occlusion with a Thermosensitive Gel (LeGoo™) during OPCAB in Humans: Preliminary Results. **ISMICS** Juin 2008; Boston

- **Bouchot O**, Aubin MC, Carrier M, Perrault LP Coronary and internal mammary artery reversible occlusion with the new gel Poloxamer 407 during OPCAB preserves the endothelial function. **ESCVS** Mai 2006 Saint Petersburg. Abstract publié dans Interactive Cardio Vascular and Thoracic Surgery. 2006 ;5(S1) :S44.

- **Bouchot O**, Aubin MC, Carrier M, Perrault LP Coronary and internal mammary artery reversible occlusion with the new gel Poloxamer 407 during OPCAB preserves the endothelial function. **ISMICS** Juin 2006, San Francisco

- **O Bouchot**, MC Aubin, M Carrier, LP Perrault. Occlusion temporaire des artères mammaires internes et coronaires par un nouveau gel de Poloxamer 407 au cours de la revascularisation coronarienne à cœur battant. **SFCTCV** Juin 2006, Bordeaux 1^{er} prix de communication Générale de santé (3000€)

- **O Bouchot**, E Steinmetz, JP Berne, B Kretz, R Brenot, M David. Occlusion temporaire à l'aide d'un gel des artères de petit calibre chez l'humain : résultats préliminaires. **SFCTCV** Décembre 2007, Paris.