



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



Ecole Doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement)

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

Mention : « Sciences de la Vie et de la Santé » par

Fabrice Vanhuyse

***Evaluation des bénéfices thérapeutiques apportés par
l'hypothermie dans le traitement du choc cardiogénique
sous ECMO chez l'animal***

Membres du jury :

Rapporteurs :	M. Pascal Leprince	PU-PH-Université Paris VI, France
	M. André Vincentelli	PU-PH –Université de Lille, France
Examineurs :	M^{me} Schwebel Carol	PU-PH –Université de Grenoble, France
	M^{me} Marie-Reine Losser	PU-PH Université de Lorraine, France
Directeur de Thèse	M. Bruno Levy	PU-PH –Université de Lorraine, France
Co-Directeur :	M. Nguyen Tran	MCU –Université de Lorraine, France
Invité	M. Juan-Pablo Maureira	PU-PH Université de Lorraine, France

Faculté de Médecine, INSERM U 1116, Risque cardiovasculaire, rigidité-fibrose et hypercoagulabilité, 9 avenue Forêt de Haye, 54505 Vandœuvre-Lès-Nancy

Table des matières

1. Liste des abréviations	3
2. Préambule.	5
3. Première partie : concepts généraux	8
3.1. Définition du choc cardiogénique.	9
3.2. Physiopathologie	10
3.2.1. Dysfonction ventriculaire gauche	11
3.2.2. Nouvelle approche physiopathologique	15
3.2.3. Dysfonction ventriculaire droite	17
3.2.4. Lésion d'ischémie reperfusion	18
3.3. ECMO (extracorporeal membrane oxygénation)	21
3.3.1. Historique	21
3.3.2. Principe de l'ECMO	23
3.3.3. Complications de l'ECMO.....	26
3.3.4. Hypothermie	28
3.4. Deuxième partie : travaux de recherche	35
3.5. Matériel et méthodes	36
3.5.1. Choix du modèle animal.....	36
3.5.2. Préparation de l'animal	37
3.5.3. Protocole d'anesthésie	37
3.5.4. Mise en place du monitoring hémodynamique	38
3.5.5. Circuit d'ECMO	39
3.5.6. Protocole de choc cardiogénique	39
3.5.7. ECMO et gestion hémodynamique	40
3.5.8. Etude par cathéter de conductance Millar	41
3.5.9. Réponse norépinéphrine pression artérielle moyenne.....	42
3.5.10. Cytokines	42
3.5.11. Analyse de Western Blot	42
3.5.12. Thromboélastométrie	45
3.6. Résultats.....	47
3.6.1. Résultats du choc cardiogénique.....	47
3.6.2. Normothermie versus hypothermie modérée	49
3.6.3. Perfusion de liquide	52
3.6.4. Dose de norépinéphrine et réactivité vasculaire	52
3.6.5. Réactivité vasculaire.....	53
3.6.6. Fonction cardiaque	54

3.6.7. Western Blot de la carotide et artères mésentériques	55
3.6.8. Cytokines	57
3.6.9. Saignement et paramètres ROTEM.....	58
4. Troisième partie : discussion, perspectives, conclusion	61
4.1. Discussion.....	62
4.1.1. Choix du modèle animal et expérimental	62
4.1.2. Effet de l'hypothermie modérée sur la réactivité vasculaire en état de choc cardiogénique	64
4.1.3. Effet de l'hypothermie modérée sur la fonction cardiaque	66
4.1.4. Les effets physiologiques de l'hypothermie et la tolérance en état de choc cardiogénique traité avec VA-ECMO	68
4.1.5. Complications de l'hypothermie.....	69
4.2. Perspectives à court terme	71
4.3. Conclusion	72
5. Références	74
6 Résumé	85
7 Summary	85

1. Liste des abréviations

Akt : protéine kinase B

ATP: adenosine triphosphate

bcl2 : *B-cell lymphoma 2*

CHRU : Centre hospitalier régional universitaire

CO₂: dioxyde de carbone

ECMO : Extracorporeal membrane oxygenation

IDM: Infarctus du myocarde

Ikb Liver kinase B

IL :: Interleukine

IM: intramusculaire

IV: intraveineux

IVA: artère interventriculaire antérieure

Kda: Kilodalton

NF-κB : nuclear factor-kappa B

NO: monoxyde d'azote

NSE: Enolase NeuroSpécifique

O₂:: Oxygène

P.H.R.C : Programme Hospitalier de Recherche Clinique

p38 P38 mitogen-activated protein kinases

PAPS: pression artérielle pulmonaire systolique

PH : potentiel d'hydrogène

PRSW: Preload-recrutable stroke work

RLO: radicaux libres dérivés de l'oxygène

ROTEM : rotational thromboelastometry

TNF : tumor necrosis factor

VA ECMO: ECMO veinoarterielle

VD: ventricule droite

VG: ventricule gauche

VV ECMO: ECMO Veinoveineuse

2. Préambule.

Le choc cardiogénique est une pathologie grave pouvant mettre rapidement le pronostic vital du patient en jeu. (1-4) Malgré de nombreux progrès réalisés dans sa prise en charge, la mortalité liée à cette affection reste très élevée, passant de 50,3% en 1997 à 44,2% en 2012. (2-4) (1,2)

Le choc cardiogénique est une pathologie qui est fréquemment rencontrée en réanimation avec une prévalence en augmentation (4,1% entre 1997-2000 à 7,7% entre 2009-2012) (2-4). Il survient chez 5 à 8 % des patients présentant un infarctus du myocarde (IDM) avec surélévation du segment ST et chez 2.5% des IDM sans surélévation du segment ST (non stemi). Cela représente environ 40 000 à 50 000 nouveaux cas par an aux États-Unis (5,6).

Le traitement du choc cardiogénique reste un problème majeur et de nouvelles pistes thérapeutiques doivent être explorées afin d'améliorer la survie de ces malades.

Une thérapeutique et avancée importante de ces dernières années en réanimation est l'ECMO (Extracorporeal Membrane Oxygenation). L'ECMO est une technique dérivée de la circulation extracorporelle qui permet de restaurer un débit circulatoire et ainsi une perfusion des différents organes. Cette technique est utilisée de plus en plus fréquemment dans le traitement du choc cardiogénique depuis quelques années (7-9). Dans le service de réanimation médicale du CHRU de Nancy, cette thérapeutique a pris une place importante dans le traitement du choc cardiogénique avec plus de 100 patients traités annuellement par une ECMO. Mais force est de constater, que malgré la restauration d'un flux circulatoire adéquat, nous restons confrontés à une mortalité élevée chez ces malades.(10)

Cette problématique nous a fait réfléchir à la prise en charge de ces patients .Nous avons émis l'hypothèse que la restauration seule d'un débit circulatoire n'est probablement pas suffisante pour traiter ces patients et qu'il faudrait envisager une prise en charge plus globale afin de mieux contrôler les perturbations induites par le choc cardiogénique et les troubles physiologiques inhérents à la mise en place d'une ECMO chez ces malades.

L'ECMO restaure un débit macrocirculatoire, mais le débit microcirculatoire des différents organes est influencé par d'autres perturbations physiologiques liées à la survenue du choc cardiogénique. Il est admis que le choc cardiogénique entraîne de nombreuses perturbations microcirculatoires et inflammatoires, que nous expliquerons plus en détail dans ce manuscrit (10-13).

Lors de la restauration de la perfusion des différents organes avec l'ECMO, des phénomènes d'ischémie reperfusion se développent et celles-ci sont responsables de nouvelles répercussions délétères (14). Il est donc nécessaire d'envisager de nouvelles stratégies permettant de moduler ces phénomènes afin d'améliorer les résultats de la prise en charge du choc cardiogénique sous ECMO. Nous avons envisagé plusieurs possibilités d'amélioration et notamment celle de l'hypothermie thérapeutique.

L'hypothermie est une technique consistant à refroidir un patient à une température corporelle basse et durant un temps déterminé et prolongé. L'hypothermie est, en règle générale, modérée et est comprise entre 32 °C et 34 °C.(15) Elle a d'abord été essentiellement utilisée en réanimation dans les suites d'un arrêt cardiocirculatoire. L'objectif principal de l'hypothermie est de limiter dans ce cas les dommages cérébraux liés à l'arrêt cardio-respiratoire en plaçant le patient en hypothermie contrôlée (15-17). L'hypothermie dans cette indication a pu démontrer son effet protecteur sur le système cérébral et a ainsi permis

d'améliorer le pronostic neurologique des patientes victimes d'un arrêt cardiaque récupéré.

(16)(18-22)

Ces résultats ont amené à inclure l'hypothermie dans les recommandations internationales de prise en charge de l'arrêt cardiaque chez l'adulte. Dans cette indication, l'hypothermie est maintenue pendant 12 à 24 heures. (17)(23,24)

Dans ce travail, nous rappelons les fondements théoriques concernant le choc cardiogénique, l'ECMO et l'hypothermie. Nous rapporterons ensuite notre travail expérimental qui a été par la suite le socle du développement d'un P.H.R.C. clinique sur l'intérêt de l'hypothermie dans le traitement du choc cardiogénique sous ECMO. Nous discutons également nos résultats en les comparant aux données de la littérature. Nous tenterons également d'apporter une explication physiologique sur les bénéfices thérapeutiques apportés par l'hypothermie dans le traitement du choc cardiogénique sous ECMO. A la fin de ce manuscrit nous présenterons nos projets expérimentaux.

3. Première partie : concepts généraux

3.1. Définition du choc cardiogénique.

Le choc cardiogénique peut être défini comme étant une défaillance aiguë et sévère de la pompe cardiaque entraînant une diminution de perfusion des différents organes. Cette pompe contractile génère le débit cardiaque et le débit coronaire, indispensable à la pérennité myocardique. (25) Si la diminution de perfusion se prolonge, il en résultera une ischémie myocardique et une altération fonctionnelle des autres organes (foie, rein etc.). Cet état peut amener à une défaillance multorganique suite à l'altération profonde de la perfusion tissulaire et à l'anoxie tissulaire.(26) La défaillance de la pompe cardiaque peut concerner la fonction systolique et/ou diastolique.(18)

Dans sa définition hémodynamique, le choc cardiogénique associe une hypotension artérielle (pression artérielle systolique < 90 mmHg), un index cardiaque abaissé ($< 2,2$ litres/minute/ m^2) et une pression artérielle pulmonaire occlusion > 18 mm Hg. (3,18). Dans le développement de notre modèle, nous appliquons cette définition pour valider la mise en état de choc de nos animaux.(2,11,19-21)

Le plus souvent ce choc résulte d'une défaillance ventriculaire gauche, mais des défaillances ventriculaires droites peuvent occasionner également un choc cardiogénique. D'un point de vue étiologique plus de 70% des chocs cardiogéniques sont liés à un IDM, ST+, associé ou non aux complications mécaniques (rupture du septum, de la paroi ventriculaire ou du pilier mitral).(5,19,21)(27) Dans certains cas le choc cardiogénique survient de manière aiguë et soudaine apparaissant ainsi « comme un coup de tonnerre dans un ciel serein » ou parfois il survient dans le cadre d'une décompensation d'une cardiopathie sous-jacente.(2,19) (28) Lors

de la réalisation d'autopsie chez les patients décédés d'un choc cardiogénique, il a pu être démontré qu'une perte de plus de 40 % du myocarde du ventriculaire gauche avait pour conséquence le développement d'un choc cardiogénique. Cette notion repose sur les résultats d'un travail anatomo-pathologique publié par Alonso et coll. dans les années 70.(22) Les auteurs ont comparé les lésions myocardiques observées chez 22 patients décédés d'un choc cardiogénique dans les suites d'un infarctus à celles de 10 patients également décédés dans les suites d'un infarctus mais n'ayant pas développé d'état de choc cardiogénique. Chez les patients ayant développé un choc cardiogénique, la proportion de ventricule gauche infarci atteignait 51 % contre 23 % seulement chez les patients n'ayant pas développé de choc cardiogénique.(22)(29) Il est à noter qu'en cas d'altération préalable de la fonction ventriculaire, une atteinte plus localisée du ventricule pourra être également coupable du développement d'un choc cardiogénique.

D'autres étiologies que l'atteinte ischémique peuvent être la cause d'un choc cardiogénique comme les atteintes valvulaires (rétrécissement aortique, insuffisance valvulaire aiguë causée par une endocardite), les troubles du rythme ou de la conduction, une embolie pulmonaire, une tamponnade, une cardiomyopathie dilatée, une dissection aortique, une myocardite, une hyperthyroïdie, un shunt droit-gauche, une cause toxique (les antidépresseurs tricycliques, les bêta-bloquants, les digitaliques, la nivaquine, les carbamates etc.),... (2,23,24)(2,11)

3.2. Physiopathologie

Le plus souvent le choc cardiogénique est caractérisé par une défaillance ventriculaire gauche, mais il n'est pas le seul élément retrouvé dans le développement d'un choc cardiogénique.

Une participation d'autres composants du système circulatoire dans le développement du choc est possible. Une défaillance ventriculaire droite peut être à l'origine du développement du choc ou une répercussion de la défaillance cardiaque gauche.(23,25,26)

3.2.1. Dysfonction ventriculaire gauche

Le modèle de choc cardiogénique qui a été utilisé pour nos recherches se base sur la dysfonction ventriculaire gauche. D'un point de vue clinique, la défaillance ventriculaire gauche s'accompagne de signes congestifs en amont (œdème pulmonaire cardiogénique) et de signes de bas débit en aval (signes de choc et de défaillance d'organes). D'un point de vue physiopathologique, la dysfonction ventriculaire gauche peut être à dominante systolique, diastolique ou systolodiastolique.

L'atteinte ischémique du ventricule gauche entraîne une altération de sa fonction contractile due à une perte du contingent cardiomyocitaire suite à une ischémie occasionnée par un défaut de perfusion coronaire (2,25,27,30). Cette altération fonctionnelle peut être, en fonction des situations, irréversible ou transitoire. L'impact de cette atteinte sur la fonction ventriculaire est variable parce qu'il existe une hétérogénéité des situations d'ischémie myocardique et donc une hétérogénéité de l'atteinte fonctionnelle. Ces dommages ont pour conséquence une diminution du volume d'éjection ventriculaire gauche, responsable ainsi d'une diminution du débit cardiaque. Cette situation est à l'origine de l'enclenchement d'une boucle physiopathologique négative.(2,4,23,26)

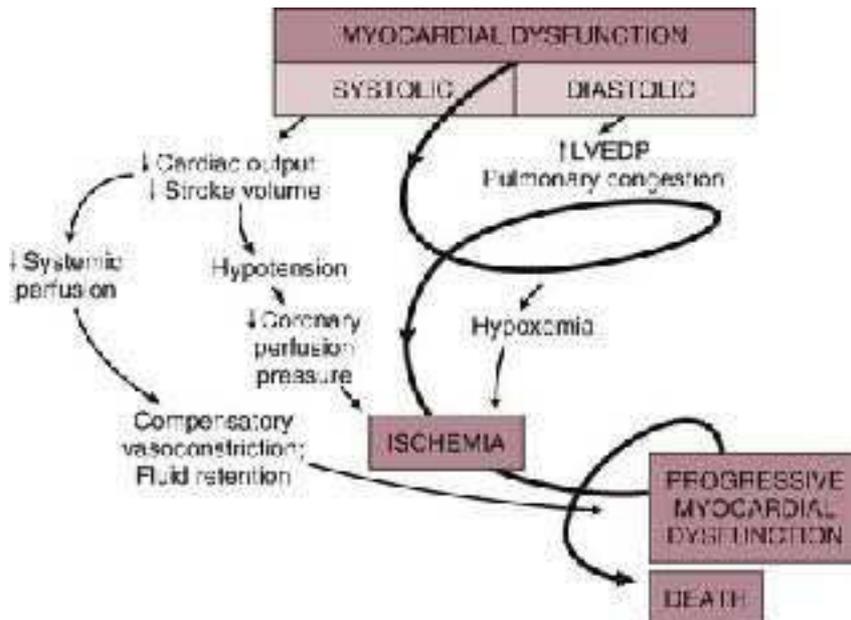


Figure 1 : *Physiopathologie classique de la boucle d'auto-aggravation du choc cardiogénique d'après Hollenberg (23)*

Il est important de rappeler que la perfusion du muscle myocardique par le système coronaire dépend du gradient de pression entre la circulation coronaire et le ventricule gauche mais également de la durée de la phase diastolique. Dans un choc cardiogénique, le patient présente un état d'hypotension artérielle et d'une tachycardie responsable d'une diminution de la durée de la phase diastolique.(2,27,28) Ceci engendra un état d'hypoperfusion coronaire aggravant ainsi l'ischémie myocardique (4).

Il existe également une augmentation de la pression diastolique du ventricule gauche au cours du choc cardiogénique, ce qui aggrave la réduction de la perfusion coronaire. De plus, cette hypoperfusion myocardique peut être aggravée dans certains cas par des lésions préexistantes d'athérosclérose coronarienne diminuant ainsi le débit coronarien.(2,18,23)

Une congestion pulmonaire et une hypoxie dues à l'augmentation de la pression au niveau de l'oreillette gauche occasionnées par la rétention hydrique et par l'altération de la fonction diastolique du ventricule gauche peuvent être observées. Cette hypoxie participe également à l'aggravation de l'état ischémique. En réponse à la dysfonction myocardique et dans le but de maintenir au mieux la perfusion des organes périphériques, une réaction neurohormonale peut être observée.(2,3,18,23) Cette hypoperfusion provoque une libération de catécholamines et une augmentation de la concentration de vasopressine et d'angiotensine-2, responsables d'une vasoconstriction et d'une rétention hydrique afin d'augmenter la perfusion coronaire et périphérique. Le prix à payer de ces modifications est une augmentation de la post-charge participant ainsi à l'altération de la fonction myocardique.(2,23) Néanmoins, (30)cette explication physiopathologique « classique » ne prend pas en compte un certain nombre de phénomènes survenant au cours du choc cardiogénique et de nouvelles approches physiopathologiques dans la compréhension du choc cardiogénique ont été évoquées depuis quelques années.(11)

Plusieurs travaux expérimentaux réalisés dans les années 1970 ont mis en évidence l'existence de facteurs déprimeurs myocardiques circulants au cours de la réalisation d'état de choc cardiogénique expérimental chez le chien. Lim et al. publient en 2003 une étude portant sur 62 patients admis en réanimation pour un état de choc cardiogénique.(29) Dans cette étude, 65 % (soit 40 patients) des patients étaient décédés. Dans le groupe des patients décédés, 45 % (soit 18 patients) avaient normalisé leur index cardiaque avant le décès ($IC > 2,2 \text{ l min m}^2$). (29) Ces patients constituaient ainsi une première preuve que le décès au cours d'un état de choc cardiogénique n'était pas lié uniquement à la boucle d'auto-aggravation précédemment

décrite et à l'épuisement des réserves myocardiques mais que d'autres facteurs devaient intervenir dans la physiopathologie du choc cardiogénique.

L'étude SHOCK a montré la présence d'un syndrome inflammatoire de réponse systémique (SIRS=Systemic inflammatory response syndrome) chez les patients en choc cardiogénique en l'absence de contexte infectieux.(20) (31,32) Ces patients développent de la fièvre, une hyperleucocytose et une augmentation de la protéine C réactive. Chez certains patients, une chute des résistances vasculaires systémiques a également pu être observée, de la même manière que dans le choc septique, reflétant une hypovolémie relative occasionnée par une vasoplégie.

D'autres études ont par la suite rapporté l'existence d'un état inflammatoire aigu au cours du choc cardiogénique ou dans les suites d'un infarctus du myocarde .Une analyse ancillaire de l'étude COMMA (COMplement Inhibition in Myocardial infarction treated with Angioplasty) a par exemple montré une élévation notable de la protéine C-réactive, de l'interleukine 6 (IL-6) et du le tumor necrosis factor- α (TNF- α) dans les suites d'un syndrome coronarien aigu avec élévation du segment ST.(30)(33) De même, l'élévation des taux plasmatiques de molécules d'adhésion à l'endothélium, telle que l'E-sélectine, a été rapportée chez les patients en choc cardiogénique (11,31). L'E-sélectine joue un rôle dans l'inflammation en créant des interactions faibles et transitoires entre les cellules endothéliales et les leucocytes. Ces constatations ont permis de remettre les concepts physiopathologiques classiques du choc cardiogénique en question. De nouveaux schémas ont été proposés dans lesquels les médiateurs de l'inflammation, le monoxyde d'azote (NO) ou le stress oxydatif jouent un rôle majeur .

3.2.2. Nouvelle approche physiopathologique

Le NO et les médiateurs de l'inflammation semblent jouer un rôle majeur dans l'installation, la pérennisation et l'aggravation des défaillances d'organes au cours de l'état de choc cardiogénique.(32-35) Ces médiateurs, cardiotoxiques dans certaines circonstances pathologiques, pourraient être les fameux facteurs dépresseurs myocardiques identifiés par Glenn et coll. dès 1971.(36)Ainsi, un relargage massif de cytokines a été mis en évidence en situation d'ischémie reperfusion coronaire, après une angioplastie transluminale. Certains de ces médiateurs de l'inflammation, tels que l'interleukine 1 (Il-1) ou le TNF peuvent être responsables d'une altération la fonction myocardique (12,35). Le NO a, quant à lui, une dualité d'effet vis-à-vis du myocarde.(33) Le NO est produit par l'enzyme *Nitric Oxide Synthase* (NOS) dont il existe trois isoformes : deux sont constitutives (cNOS), la NOS endothéliale (eNOS) et la NOS neuronale (nNOS) et une est inductible (iNOS). L'enzyme *Nitric Oxide Synthase* constitutif produit de faibles quantités de NO. Ces enzymes utilisent l'acide aminé L-arginine, l'oxygène et le NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) comme substrats pour synthétiser le NO. Son activité est régulée par la concentration en Ca²⁺ intracellulaire. Lorsqu'il est synthétisé en faible quantité sous l'action de la NO synthase endothéliale (eNOS), le NO est une molécule cardio protectrice. (32-35,37) La iNOS est présente dans divers types cellulaires dont les macrophages et les granulocytes et serait indépendante du calcium cytoplasmique. L'exposition *in vitro* et *in vivo* de cellules musculaires lisses à certains médiateurs inflammatoires dont l'IL-1 et le TNF α provoque une induction de la iNOS. Une fois induite, la iNOS demeure active pour 4 à 24 heures, produisant près de 100 fois plus de NO que les NOS constitutives. La stimulation de la iNOS

provoquant une production massive de NO est responsable de la formation en excès de dérivés toxiques tels que les peroxy-nitrites qui ont de nombreux effets délétères. (32-35,37)

Le NO en forte concentration et les peroxy-nitrites sont responsables d'effets dépressifs myocardiques propres, d'une diminution de la réponse aux catécholamines, d'une vasodilatation systémique, d'une inhibition de la chaîne respiratoire mitochondriale, d'une anomalie du métabolisme glucidique et d'effets pro-inflammatoires. Une amélioration significative du pronostic vital a été observée chez les souris knock-out (absence d'expression du gène) pour le gène de la iNOS ou en cas d'administration d'agents bloquant la NOS [43, 44]. Plus récemment, Cotter et al. ont mis en évidence chez l'homme une amélioration du pronostic grâce au blocage non spécifique de la NOS. (38)

Le mécanisme de cette inflammation est déclenché par la libération de molécules à partir de la zone myocardique infarctée et de zones myocardiques hypo-perfusées. Ces molécules libérées sont ensuite reconnues par les cellules du système immunitaire qui activent par la suite une cascade intracellulaire. Cela entraîne une activation des gènes codants pour des cytokines telles que les interleukines et le TNF- α . Ces médiateurs de l'inflammation sont ensuite libérés dans le système circulatoire et sont d'abord responsables d'une inflammation locale et s'ils atteignent une concentration suffisante, ils occasionnent une inflammation systémique. (11,39-42) La fonction myocardique s'altérant, le muscle réduit ainsi sa consommation en oxygène. Par conséquent, les cellules à risque peuvent survivre dans une zone viable, mais sans contraction créant un état d'hibernation myocardique.

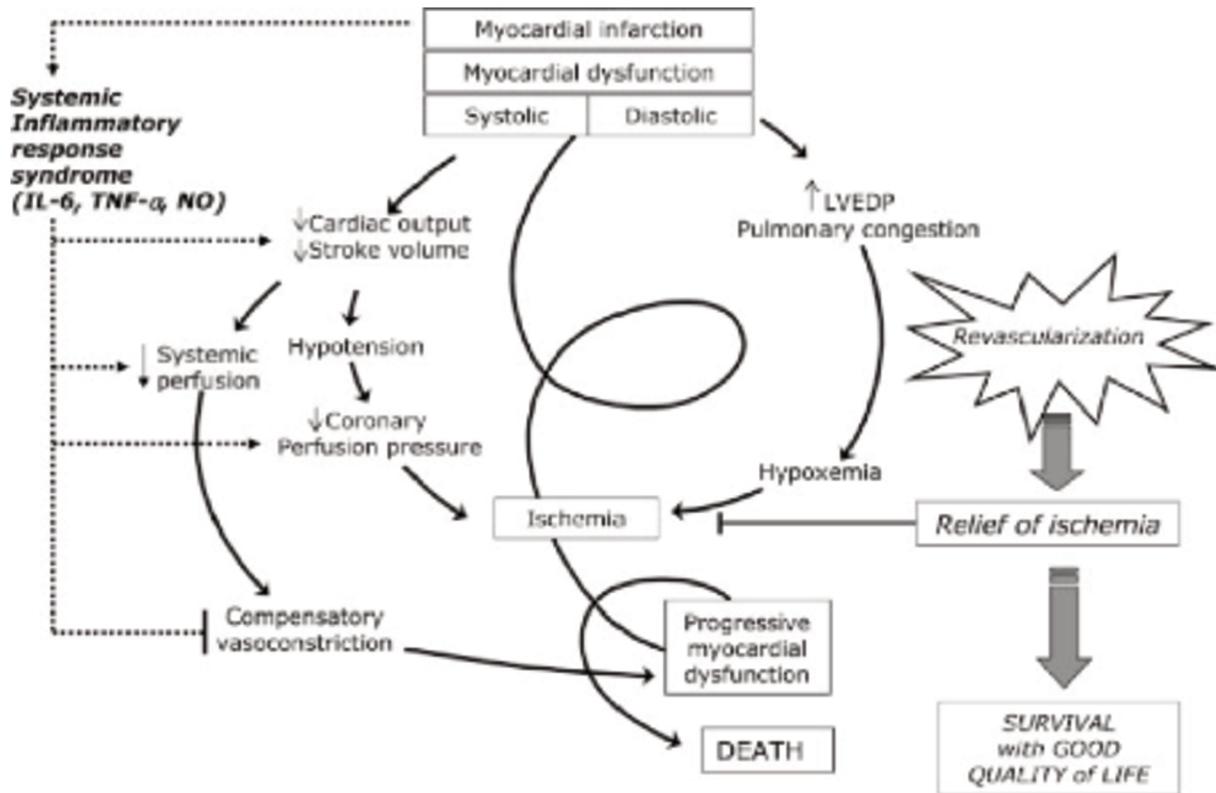


Figure 2 : Concept actuel de la physiopathologie du choc cardiogénique d'après R.Reynolds (43)

3.2.3. Dysfonction ventriculaire droite

L'état de choc cardiogénique comporte également souvent une dysfonction ventriculaire droite (VD) qui est fréquemment mal évaluée et mal comprise. Cette altération de la fonction ventriculaire droite peut être soit indirectement liée à la dysfonction du ventricule gauche, soit directement à une atteinte propre du VD.(36,37) Cette dysfonction s'explique soit par une élévation de la pression artérielle pulmonaire (embolie pulmonaire, hypertension artérielle pulmonaire, hyperinflation alvéolaire associée à la ventilation mécanique) soit par une atteinte ischémique myocardique du VD. (8,44-47)Le VD a la particularité de disposer de peu de réserves systoliques et il présente ainsi une sensibilité élevée à l'ischémie.(44) Dans la majorité des situations rencontrées en pratique clinique, la dysfonction systolique

ventriculaire droite est liée à l'association d'une élévation de la pression artérielle pulmonaire et d'une ischémie ventriculaire droite. L'insuffisance ventriculaire droite, si elle n'est pas traitée, s'installe rapidement dans une boucle d'auto-aggravation.(37) La perfusion coronaire droite est systolodiastolique et dépend donc des pressions artérielles systémiques, des pressions ventriculaires droites et de la pression artérielle pulmonaire systolique (PAPS). (46-49) Ainsi, une élévation importante de la PAPS s'accompagne d'une contrainte à l'éjection ventriculaire droite et d'une baisse de la perfusion systolique coronaire droite. Ces deux éléments participent à l'altération des propriétés inotropes. Dans un premier temps, le VD ischémique se dilate, retardant ainsi la baisse du débit circulatoire. Mais cette dilatation du VD peut s'accompagner d'une insuffisance tricuspide, aggravant la « surpression » auriculaire droite et baissant encore plus le retour veineux. Cette élévation majeure de la pression dans l'oreillette droite est responsable d'une baisse encore plus importante de la perfusion diastolique coronaire droite et donc d'une aggravation du tableau.(37) Elle entraîne une baisse du débit circulatoire à travers l'artère pulmonaire et ainsi une baisse de la pré charge du VG. (44,46-49)

3.2.4. Lésion d'ischémie reperfusion

L'ischémie myocardique se définit comme un déséquilibre entre les besoins en O₂ et en nutriments du tissu myocardique et leurs apports par la circulation coronaire. (38)En condition physiologique, lorsque le flux sanguin coronaire assure un apport adéquat en O₂ et en nutriments aux tissus cardiaques, la synthèse d'ATP requise pour l'activité contractile du myocarde est essentiellement dépendante du métabolisme oxydatif. (14,50,51) Une interruption de l'apport d'oxygène (situation ischémique due à une hypoperfusion coronaire)

aux myocytes, suite à une occlusion coronaire, a pour conséquence si elle dure plus d'une minute, un arrêt de la chaîne respiratoire mitochondriale. (14) Cela entraîne le passage d'un mode de fonctionnement aérobie à un mode anaérobie. La glycolyse en mode anaérobie permet la production d'ATP et fonctionne environ 40 minutes, mais n'est suffisante que pour maintenir temporairement le fonctionnement des pompes ioniques sans que cela permette une contraction myocardique. (14) Lorsque cet état dure plus longtemps, le fonctionnement des pompes est à son tour altéré, ce qui entraîne une entrée massive de Na^+ dans le compartiment intracellulaire. (52-54) L'entrée de Na^+ est due à la baisse d'activité des pompes Na^+/K^+ -ATPases et de l'échangeur Na^+/H^+ dont le rôle est d'extraire les ions acides. La baisse d'activité de ces pompes rend le milieu plus acide et provoque une surcharge sodique responsable d'un œdème cellulaire massif. De plus, les canaux de la paroi mitochondriale appelés mitochondrial permeability transition pore (MPTP) qui sont habituellement fermés s'ouvrent (39,40). La perte de l'imperméabilité de la mitochondrie entraîne la mort de la mitochondrie qui devient œdémateuse. Son potentiel de membrane chute, ses cristae se rompent, et ses composants comme le cytochrome C et les radicaux libres sont déversés dans la cellule. Ces composants vont activer les caspases (enzymes digérant les composants cellulaires). Le cycle de Krebs s'arrête et la cellule meurt. (53,55-57)

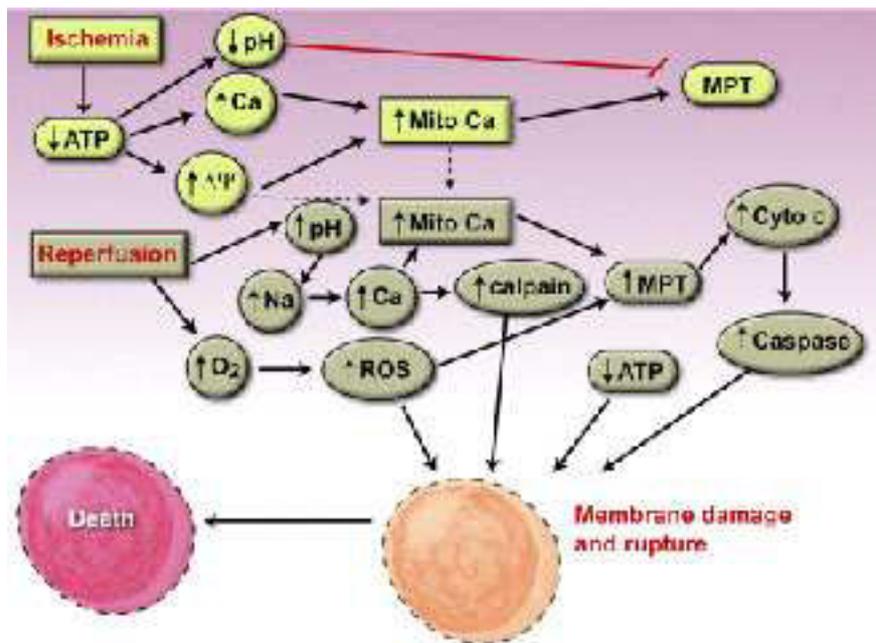


Figure 3 : Physiopathologie du syndrome d'ischémie reperfusion d après Murphy (58-60)

Bien que la perfusion d'un myocarde ischémié soit indispensable pour éviter des lésions ischémiées irréversibles, il est admis que cette reperfusion en elle-même puisse occasionner des lésions supplémentaires. De nombreuses études cliniques ont mis en évidence que la reperfusion s'accompagne d'effets délétères propres et d'une accélération du processus de mort cellulaire initié par l'ischémie, aboutissant au concept de « syndrome de reperfusion ». (54,59,61) (41-45) Au moment de la reperfusion de l'artère coronaire, le débit sanguin local est augmenté d'un facteur 7 par rapport à l'état de base et est donc responsable d'une ré-oxygénation brutale et rapide provoquant une production massive de radicaux libres dérivés de l'oxygène (RLO). (62-66) Les RLO sont impliqués de manière importante dans l'aggravation de la surcharge calcique initiée en période ischémiée et sont responsables d'un stress oxydatif sévère impliqué dans de nombreuses altérations cellulaires. (63,67)

Hearse introduit ainsi, en 1978, le concept du « paradoxe de l'oxygène » en montrant la dualité inévitable entre la nécessité d'apports en O₂ pour la survie cellulaire et la production

délétère de RLO liée à cet apport dont vont résulter les lésions cellulaires de stress oxydant. (46,47) (68,69) La production massive de RLO, associée à la surcharge calcique cytosolique au cours de la reperfusion, a été démontrée également comme responsable d'altérations de la fonction mitochondriale (56).

En dépit de beaucoup de recherches sur des thérapies pouvant atténuer ces lésions de reperfusion, il n'existe pas encore en pratique clinique de molécules nous permettant de lutter contre ce phénomène (49). L'hypothermie pourrait être une thérapeutique modulatrice de ce phénomène. (70)

3.3. ECMO (extracorporeal membrane oxygenation)

3.3.1. Historique

L'ECMO est une thérapeutique dérivée de la circulation extracorporelle utilisée en chirurgie cardiaque. Le premier à considérer l'utilisation d'un circuit extracorporel pour permettre un soutien de la fonction cardiaque et pulmonaire fut un médecin utopiste anglais, Benjamin Ward Richardson, en 1856. (71,72) A cette époque, il était impossible d'empêcher la coagulation du sang, ce qui l'a contraint à abandonner son idée. Un prérequis essentiel au développement de cette technique a été la découverte de l'héparine en 1916 par Jay Mc Lean. (73-75)

John Heysham Gibbon J.r., chirurgien américain, commence ses recherches en 1931 dans le but de développer une machine de circulation extracorporelle. En mai 1953, il utilise cette machine pour la première fois chez l'homme, réalisant ainsi la première intervention à cœur

ouvert.(76-78) (50)La machine de Gibbon a eu un succès limité et était presque abandonnée, car un certain nombre de chirurgiens étaient convaincus que la circulation croisée qui consiste à connecter le patient à un volontaire sain, avait plus d'avenir que la machine mécanique. (76,77,79)En 1955, John Webster Kirklin ,un chirurgien américain, à la Mayo Clinique aux États Unis améliore le système développé par Gibbon.(80-82)(50) (50)Les modifications apportées par Kirklin ont permis la création d'une machine suffisamment performante et fiable, stimulant ainsi la communauté chirurgicale pour son utilisation en pratique clinique. Par la suite, en 1965, Rashkind a été le premier à utiliser un oxygénateur à bulles comme support respiratoire en néonatalogie.(78,82) Cet oxygénateur est composé de microbulles gazeuses en contact direct avec le sang et se comportant ainsi comme une véritable alvéole pulmonaire. Leur utilisation ne pouvant être que de courte durée et il a fallu développer d'autres systèmes pour pouvoir oxygéner sur de plus longues durées. En 1969, Dorson développe un nouveau concept d'oxygénateur et rapporte la première utilisation d'un oxygénateur à membranes en pédiatrie.(78,79,82) Il développe un système avec une fine membrane semi-perméable microporeuse (pores de 0.3-0.8 microns, épaisseur 80-150 microns) de grande surface (1.8-2.5 m²) qui sépare le sang des gaz, cette membrane est perméable au gaz mais imperméable aux éléments constituant le sang et permet ainsi l'oxygénation du sang. Grâce à tous ces développements, en 1970 Baffes rapporte la première utilisation de l'ECMO comme support pour l'oxygénation d'un enfant atteint d'une cardiopathie congénitale bénéficiant d'une chirurgie cardiaque. (83)

En 1975, Bartlett rapporte la première utilisation fructueuse de l'ECMO dans le traitement d'une insuffisance respiratoire chez un nouveau-né atteint d'une détresse respiratoire sévère. (83,84) Par la suite de nombreux progrès ont été réalisés dans le domaine : des canules, des

circuits et des machines permettant progressivement de rapporter des premiers résultats encourageant de l'ECMO.(84) Le développement s'est ensuite poursuivi améliorant la fonctionnalité et la sécurité de l'ECMO, permettant ainsi une utilisation plus simple en pratique clinique.

3.3.2. Principe de l'ECMO

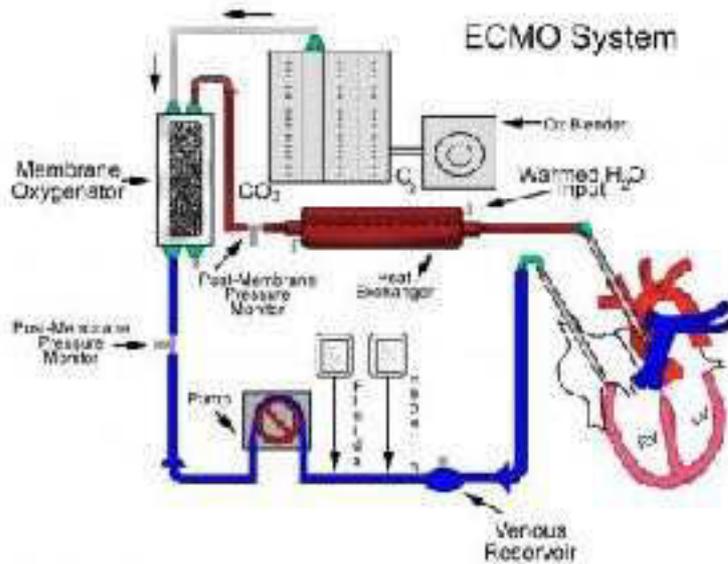


Figure4 : schéma d'un système d'ECMO

L'ECMO est une technique qui permet à la fois de suppléer la fonction cardiaque et ou la fonction pulmonaire. Le sang veineux, désoxygéné, est aspiré au moyen d'une pompe mécanique centrifuge via une canule dite « veineuse » qui est insérée dans le système veineux du patient. Par la suite, le sang veineux traverse un oxygénateur constitué d'une membrane semi-perméable (oxygénateur à membrane) permettant des échanges d'oxygène et de dioxyde de carbone (CO_2) entre le compartiment gazeux et le compartiment sanguin. Au travers de ce compartiment d'hématose, le sang sera « artérialisé », c'est-à-dire qu'il s'enrichit en oxygène et se décarboxyle.(84)

La différence entre les ECMO d'assistance respiratoire et celles qui sont utilisées pour une assistance circulatoire et respiratoire dépend du site de réinjection du sang oxygéné. Si le sang est réinjecté dans le système veineux, on parle d'assistance respiratoire exclusive (ECMO veino-veineuse [VV-ECMO]). À l'inverse, si le sang est réinjecté dans le système artériel (ECMO veino-artérielle [VA-ECMO]), le débit de réinjection concourt à restaurer un débit circulatoire.(84)

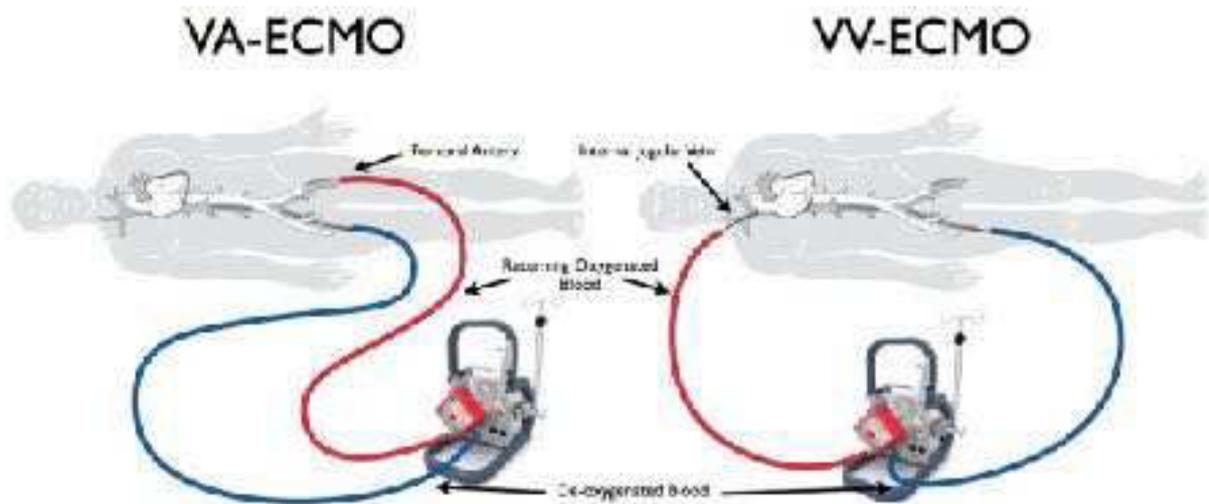


Figure 5 : schéma illustratif d'une ECMO veino artérielle versus une ECMO veino-veineuse

Tous les circuits sont également équipés d'un échangeur thermique afin de pouvoir assurer une stabilité thermique du patient. On distingue également deux types d'ECMO, celles qui sont dites « périphériques » et les autres dites « centrales ». Cette distinction dépend du site de position des canules. Pour les ECMO « périphériques », les deux canules sont situées dans un vaisseau périphérique, qu'il s'agisse de deux veines (fémorale et jugulaire par exemple) ou d'une veine et d'une artère (veine et artère fémorales le plus souvent). Elle permet une plus grande facilité d'accès et une mise en place rapide. Elle peut-être réalisée au lit du malade ce

qui permet ainsi d'assurer un retour rapide à une perfusion satisfaisante chez les patients en choc cardiogénique sévère ou en arrêt cardiaque.(84)

Pour les ECMO dites « centrales », la canule veineuse est positionnée directement dans la veine cave supérieure, tandis que la canule artérielle est positionnée dans l'aorte.(84)

L'ECMO est une assistance de courte durée qui peut durer de quelques jours à quelques semaines. Elle est utilisée en attente de récupération, en attente de décision et ou en attente d'une transplantation ou d'une assistance cardiaque de longue durée.(76)

3.3.3. Complications de l'ECMO

Du fait de la complexité de la technique, il existe de nombreuses complications pouvant être liées à la pose d'une ECMO. Il est important de prendre en considération ces complications car elles peuvent être responsables d'une morbidité importante chez ces malades.(84) Toutes modifications de la prise en charge « classique » doivent prendre en compte les répercussions sur les complications attendues de l'ECMO.

Les complications fréquemment rencontrées en pratique clinique sont :

3.3.3.1. *Complication hémorragique*

Une des complications les plus fréquemment rencontrées est l'hémorragie qui peut se rencontrer dans 30 à 60 % des cas.(84) (51) L'ECMO nécessite une anticoagulation systémique à base d'héparine. Il est nécessaire de maintenir une balance entre une anticoagulation excessive qui sera responsable de problèmes hémorragiques et un sous-dosage résultant en une formation de caillots dans le circuit et l'oxygénateur. Les saignements peuvent survenir au site d'implantation des canules, dus à une plaie de l'artère fémorale ou à un malpositionnement de la canule qui s'est déplacée. Des problèmes hémorragiques peuvent également survenir au niveau de différents organes, soit à la suite d'une manœuvre traumatique (aspiration,..), soit parfois de manière spontanée (83,85,86). Les hémorragies peuvent être en partie dues à des troubles de l'hémostase, consistant en une thrombopénie, des altérations de la fonction plaquettaire et des diminutions des facteurs de coagulation, auxquels s'ajoutent une activation de la fibrinolyse et une hémodilution. (71)

Le traitement conventionnel de ces hémorragies comprenant la transfusion plaquettaire, le plasma frais congelé (PFC), les culots de globules rouges (CGR) est parfois insuffisant. Les

conséquences peuvent alors devenir très rapidement dramatiques et finalement entraîner le décès du patient.

Une thérapeutique de sauvetage qui peut parfois être utile dans cette situation critique est l'utilisation du facteur VII recombinant activé (rFVIIa / NovoSeven®) (87) (article joint).

Il pourrait donc être intéressant d'évaluer les répercussions de l'hypothermie sur les complications hémorragiques rencontrées lors de l'utilisation de l'ECMO, car l'hypothermie peut avoir des conséquences sur la coagulation.(88)

3.3.3.2. Complications thrombotique et ischémique

Une autre complication potentielle de cette thérapeutique est la formation de thrombus au niveau du circuit. Les thrombus se forment le plus souvent au niveau des zones de turbulences élevées comme les zones de connexions des tuyaux.(56) Une des complications de la formation de ces caillots est la défaillance de l'oxygénateur ou un passage de ceux-ci dans la circulation systémique responsable d'embolies. (84)

Des complications ischémiques liées à l'obstruction de l'artère en cas de canulation périphérique peuvent également être rencontrées au niveau du membre inférieur surtout s'il n'existent pas de reperfusion distale du membre canulé.(84)

3.3.3.3. Complication infectieuse

Les complications infectieuses sont très fréquentes sous ECMO et peuvent s'observer en fonction des études et de la durée de l'ECMO dans 10 à 50 % des cas. (83,84,89,90)Si l'ECMO se prolonge au-delà de 3 semaines, une infection systématique des canules est

observée (89-92). Les infections de ces malades peuvent également survenir dans le cadre de complications de réanimation telles que la pneumopathie ou l'infection de cathéters (89,91).

3.3.4. Hypothermie

Depuis de nombreuses années, une réduction importante de la température des organes (< 28 °C) a montré son efficacité en chirurgie cardiaque lors de certaines interventions.(93) La baisse de température est également utilisée de manière systématique dans la préservation d'organe en vue d'une transplantation.(94-96) Mais lorsque la température est descendue de manière si importante, il existe des risques d'arythmie ventriculaire importants et d'une instabilité hémodynamique rendant son utilisation inenvisageable à cœur battant. (97-99)

La définition de l'hypothermie thérapeutique modérée est l'obtention d'une température corporelle entre 32 et 34°C.(100) Elle a été étudiée dans plusieurs modèles expérimentaux de lésions neurologiques aiguës en raison de ses potentiels effets neuroprotecteurs (61-63).

C'est en 2002 que les résultats des premiers essais randomisés ont validé l'efficacité clinique de cette thérapeutique dans la prise en charge de la mort subite ressuscitée.

(16,101-103) L'hypothermie thérapeutique a donc pris une place importante dans la prise en charge de la mort subite, notamment dans le contexte de l'infarctus du myocarde aigu.

(104)

1. Neuroprotection

Les mécanismes de protection neuronale liée au froid sont multiples et certains restent encore mal compris. Initialement, son effet protecteur a été attribué à une diminution du métabolisme cérébral avec une diminution de la consommation du glucose et de l'oxygène.(102) Par la

suite, il a été remarqué que la protection neuronale est liée à bien d'autres mécanismes qu'à simplement une réduction des besoins en oxygène occasionnés par la baisse de température. (105-107)(63-66)

Un effet essentiel de l'hypothermie entrant dans le principe de neuroprotection est la modulation voire la suppression de la cascade négative occasionnée par le phénomène d'ischémie reperfusion. (49,67). L'hypothermie permet une diminution de l'inflammation et l'inhibition des voies provoquant l'œdème cérébral. Sur le plan moléculaire, une diminution de la transcription des facteurs NF- κ B, TNF- α (pro-inflammatoire), MMP9 (cytokine impliquée dans l'œdème cérébral) et de l'expression du NSE (Neuron-Specific Enolase) peut être observée. Un taux de NSE > 80 ng/ml (valeur normale entre 6 et 8 ng/ml) est un marqueur et un indicateur pronostique de l'avenir neurologique des patients après un arrêt cardiaque. (68-70). L'hypothermie diminue ainsi la génération des ROS impliqués dans les dommages cellulaires. Enfin, elle atténue les mécanismes liés à la dégénérescence de la barrière hémato-encéphalique et le remodelage post ischémique cérébral. (108)

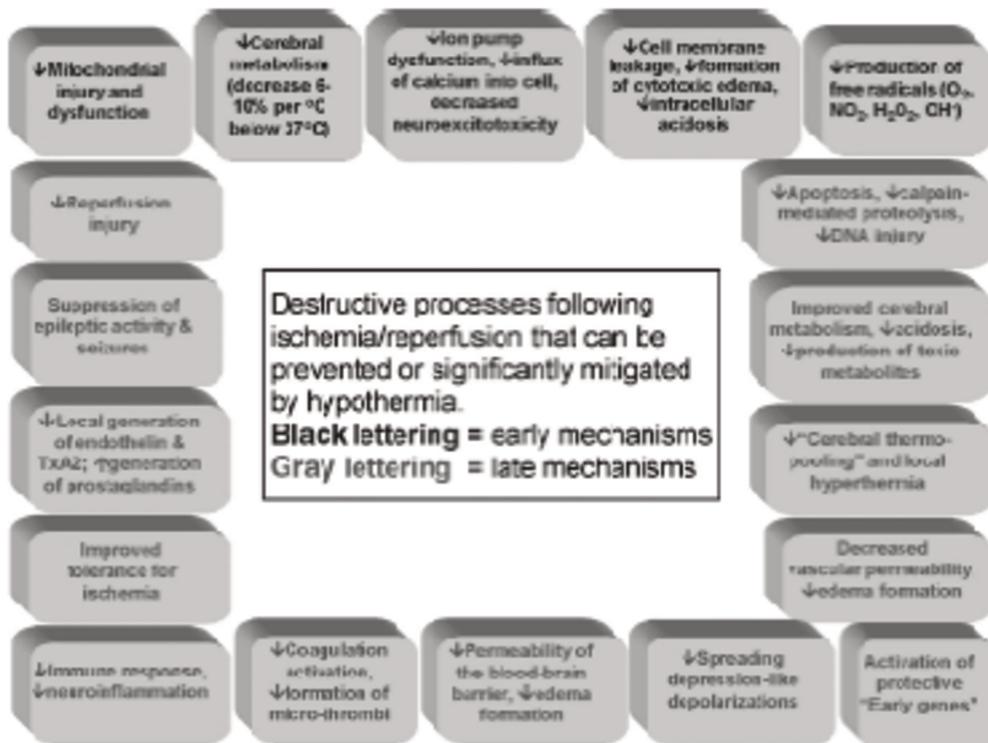


Figure 6.: Mecanisme neuroprotecteur de l'hypothermie modérée d'après Darwazeh (109)

3.3.4.1. Cardioprotection

En matière de cardioprotection, plusieurs travaux expérimentaux ont montré que la taille d'un infarctus était directement liée à la température cardiaque. Chien et al ont démontré dans leur étude expérimentale chez des lapins anesthésiés que la taille d'infarctus induit par une occlusion coronaire de 30 min est réduite de 8 % pour chaque réduction de 1°C de la température cardiaque (71). Une étude réalisée chez des patients ayant un infarctus du myocarde antérieur et traités par hypothermie inférieure à 35C au moment de la reperfusion avaient une taille d'infarctus significativement moindre par rapport aux patients contrôles (9 versus 18 %). (110,111)

Il a été démontré dans de nombreux modèles animaux expérimentaux (chez le chien , le porc et la brebis) que la cardioprotection ainsi procurée par l'hypothermie était maximale pour des

températures cardiaques aux environs de 32 °C. De nombreux auteurs pensent que le rapport bénéfice risque d'une hypothermie plus sévère (< 30 °C) serait par ailleurs défavorable compte tenu du risque d'effets indésirables, notamment sur le plan rythmologique. (15,101,111-113)

Un élément important dans l'effet cardioprotecteur de l'hypothermie est sa vitesse d'instauration. Il a été démontré qu'une hypothermie débutée précocement à la 5^{ème} min d'ischémie chez des lapins soumis à 30 min occlusion coronaire aboutissait à une quasi-abolition de l'infarctus alors que si elle est débutée tardivement (25^{ème} min d'ischémie) le bénéfice de l'hypothermie était perdu. (111,114,115)

Un des concepts majeurs de la cardio protection induite par l'hypothermie est la conservation de l'énergie.(43,73) L'hypothermie réduit les besoins métaboliques du myocarde et préserve l'adénosine triphosphate et le glycogène. Le métabolisme cellulaire diminue exponentiellement avec la température. Le métabolisme cellulaire baisse de 7% par degré. (112). L'hypothermie améliore également la stabilité de la membrane cellulaire par une réduction de l'acidose. Elle permet une réduction de la surcharge cellulaire en Na⁺ et Ca²⁺ diminuant ainsi l'œdème cellulaire. Une autre de ses actions importantes est son action au niveau mitochondriale. À côté de leur rôle fondamental dans le métabolisme énergétique, les mitochondries occupent une place majeure dans le processus de mort cellulaire programmée (39,40,67,75). Dans des situations telles que l'ischémie reperfusion et le stress oxydatif, la mitochondrie est considérée comme l'organelle provoquant la mort cellulaire. En condition physiologique normale, la membrane mitochondriale interne est imperméable aux molécules électriquement chargées. Dans ces conditions, les échanges ne se font que par l'intermédiaire de transporteurs spécifiques hautement régulés. En revanche, dans certaines situations comme

lors des phénomènes d'ischémie ou d'ischémie reperfusion, la membrane interne devient perméable à tous les éléments dont la taille est inférieure à 1.5 KDa. Cette modification de perméabilité de la membrane interne (appelée transition de perméabilité) est due à l'ouverture d'un canal non spécifique appelé le Pore de Transition de Perméabilité mPTP.(39) Suite à son ouverture, un gonflement mitochondrial est observé (dû à la force osmotique des protéines restantes dans la matrice). Celui ci aboutira à la rupture de la membrane externe et à la libération de molécules pro-apoptotiques. Une forte production de radicaux libres de l'oxygène et un découplage de l'oxydation phosphorylante entraînant un déficit énergétique cellulaire peut également être constatée.(116,117) L'hypothermie permet une amélioration de la stabilité de la membrane mitochondriale et ainsi un meilleur maintien de l'homéostasie ionique durant les phénomènes d'ischémie reperfusion grâce à l'inhibition de l'ouverture du Pore de Transition de Perméabilité mPTP .(15,118)

3.3.4.2. Risque d'infection

L'hypothermie inhibe la réponse pro-inflammatoire par inhibition de la migration des leucocytes et de la phagocytose et diminue la synthèse de cytokines pro-inflammatoires. La suppression de l'effet néfaste de la neuro-inflammation est un des mécanismes par lequel l'hypothermie peut exercer ses effets protecteurs. L'inconvénient de ce mécanisme de protection est un risque accru d'infections (119). La survenue d'une d'hypothermie accidentelle dans le cadre péri-opératoire a été liée à un risque accru d'infections des voies respiratoires et des plaies chirurgicales. En cas d'hypothermie thérapeutique, le risque d'infections nosocomiales semble être étroitement lié à la durée du traitement (risque plus élevé si le traitement est poursuivi pour plus de 24 h) et à la catégorie des patients (risque le plus faible chez les patients présentant un arrêt cardiaque).

Le risque d'infections locales est également augmenté par le développement d'une vasoconstriction cutanée induite par l'hypothermie. Chez des patients en réanimation, la mise en place d'une hypothermie peut provoquer des infections des cathéters et voies accès. Par le même mécanisme, il existe probablement également un risque accru d'infections locales du site de mise en place de l'ECMO. (89)

3.3.4.3. Effet de l'hypothermie sur la coagulation

Une hypothermie peut induire la survenue d'une coagulopathie. Une température inférieure à 35°C peut causer un dysfonctionnement de la fonction plaquettaire ainsi qu'une légère diminution de la numération plaquettaire. (88,120)(77-80) À des températures plus basses aux alentours de 33 °C, une atteinte de la cascade de la coagulation, telle que la synthèse et la cinétique des enzymes et des inhibiteurs de l'activateur du plasminogène peut également être observée. (121) (79) Ces effets ont été étudiés pour la plupart in vitro. {Wang:2015fe}

Schefold et al ont récemment évalué le risque et la gravité des saignements lors de l'utilisation simultanée d'hypothermie thérapeutique et de thrombolyse. Les résultats de cette étude ont amené les investigateurs à conclure que les risques hémorragiques ne devraient pas être considérés comme une raison ne pas utiliser l'hypothermie thérapeutique. (122)

Il est important de prendre en compte ces problèmes hémorragiques potentiels dans la réflexion et l'évaluation de l'hypothermie thérapeutique associée à l'ECMO, car il est connu que l'ECMO comporte un pourcentage important de difficultés hémorragiques et la potentialisation de ceux-ci pourrait être problématique.

Afin de répondre à cette question nous avons décidé d'évaluer par ROTEM (thromboelastogramme) les perturbations hémorragiques chez nos animaux.

3.4.

Deuxième partie : travaux de recherche

Dans un premier temps nous avons créé un modèle de choc cardiogénique qui devait rester stable et qui devait répondre aux critères hémodynamiques du choc. Le choc cardiogénique était atteint quand l'animal présentait une pression artérielle systolique inférieure à 90 mmHg ou une chute de 30 % par rapport à sa valeur de base et un index cardiaque abaissé (inférieur à 2,2 litres/minute/m²), associée à une pression artérielle pulmonaire occlusion supérieure à 18 mmHg.

3.5.2. Préparation de l'animal

Toutes les expériences ont été conformes aux règles institutionnelles françaises concernant les soins et l'utilisation des animaux de laboratoire.

Afin d'optimiser nos conditions expérimentales, une stabilisation physiologique et une limitation du stress des animaux étaient importantes. Les animaux étaient placés en quarantaine pour une période minimum de 8 jours avant le début des expériences.

3.5.3. Protocole d'anesthésie

L'animal était mis à jeun la veille de l'intervention. Il était prémédiqué à l'animalerie par une injection IM de kétamine 15 mg/kg et de midazolam 0.1 mg/kg. À son arrivée au bloc opératoire, une voie accès périphérique était posée sur une veine de son oreille pour induire l'anesthésie. L'induction de l'anesthésie était réalisée par un bolus en intraveineux direct de propofol (2 mg/kg de propofol à 1 %). Du sufentanil 0.3ug/kg et du cisatracurium (0.4mg/kg) ont également été injectés. L'animal était ensuite intubé par une intubation oro-trachéale et ventilé en mode volume assisté contrôlé. Les paramètres de ventilation utilisés étaient un volume courant à 10 ml/kg, une fréquence respiratoire à 22/min, un rapport volume inspiré/expiré (i/e) 1/2, une pression expiratoire positive (pep) 5 mmHg et une fraction inspirée en

oxygène (fiO₂ à 25 %). Après cette induction, nous avons entretenu l'anesthésie par du propofol (7ml/kg/min) associé à du sufentanil (0.2ug/kg/min) et du cisatracurium (0.9mg/kg/h). Une antibioprofylaxie a été réalisée par l'injection de cefamandole 1,5g à l'induction anesthésique, puis réinjection de 750 mg IV toutes les 4 heures jusqu'à la fin de l'intervention. Au vu du risque élevé de fibrillation ventriculaire lors des manipulations cardiaques, 6 mg/kg d amiodarone et 60 mg/kg de sulfate de magnésium ont été administrés en perfusion sur 30 minutes avant la stérnotomie.

3.5.4. Mise en place du monitoring hémodynamique

Un enregistrement continu de l'électrocardiogramme a été mis en place. Pour permettre l'introduction des cathéters de mesure un abord chirurgical des veines jugulaires et des carotides a été réalisé. Un cathéter de 8 Fr est mis au niveau jugulaire droit afin de permettre l'introduction de la Swan Ganz. Un cathéter a été mis au niveau de la carotide gauche pour permettre l'introduction de la sonde de Millar. Un cathéter artériel de 5 Fr (seldicath,plastimed prodimed) a été placé au niveau de l'artère fémorale gauche pour une mesure de la pression artérielle invasive. Une bague doppler a été placée au niveau de la carotide droite.

Pour la mise en place d'un cathéter vésical et d'une bague doppler au niveau de l'artère rénale une laparotomie médiane basse a été réalisée. Après une sternotomie médiane et l'ouverture du péricarde, une dissection localisée de l'IVA a été réalisée après le départ de la première diagonale pour permettre la mise en place d'une bague doppler. En cas de fibrillation ventriculaire durant les manipulations, l'animal est choqué en interne à 20 joules.

3.5.5. Circuit d'ECMO

Le circuit d'ECMO se composait d'une pompe centrifuge (Medtronic) et d'un circuit avec un revêtement Softline (MAQUET cardiopulmonaires AG, Allemagne). L'oxygénateur utilisé était un oxygénateur à membranes (MAQUET cardiopulmonaires AG, Allemagne). Un mélangeur de gaz mécanique a été utilisé.

Les canules d'ECMO employées étaient des canules Biomedicus (Medtronic, États-Unis) qui ont été introduites après préparation chirurgicale de l'artère et de la veine fémorale à l'aide de la technique de Seldinger, après des dilatations répétées de l'artère et de la veine fémorale. La canule veineuse de taille 21 Fr a été insérée via la veine fémorale et remontée jusqu'à l'oreillette droite. Sa position a été contrôlée de manière manuelle en palpant sa présence dans l'oreillette droite. Puis, la canule de réinjection artérielle de taille 15 Fr a été insérée dans l'artère fémorale. Le débit d'oxygène/air a été ajusté à plusieurs reprises pour maintenir la paO_2 et la $paCO_2$ dans des valeurs de 10 à 15 kPa et de 4,0 à 6,5 kPa, respectivement, dans le sang sortant de l'oxygénateur. Un bolus d'héparine non fractionnée (50 UI/kg IV) a été administré avant le placement de canules, suivi d'une perfusion IV continue de 50 U/kg/h pour maintenir un temps de coagulation activé (ACT) de 180 à 250 s. Les valeurs ont été mesurées toutes les heures en utilisant le Hemochron Junior + système de Microcoagulation (ITC, États Unis).

3.5.6. Protocole de choc cardiogénique

Toutes les interventions chirurgicales ont été réalisées sous anesthésie générale selon le protocole décrit précédemment. Après une sternotomie médiane et une péricardecctomie, l'artère inter-ventriculaire antérieure a été isolée. Les animaux étaient dans un premier temps

stabilisés pendant 30 minutes. Après cette période, l'infarctus du myocarde était créé par une ligature proximale de l'artère coronaire gauche au niveau du départ de la seconde diagonale à l'aide d'un tourniquet temporaire monté sur un fil de prolène. Après ligature de l'artère coronaire, une élévation du segment ST sur l'électrocardiogramme a été vérifiée au scope. Une akinésie dans le territoire de l'artère coronaire liée, ainsi qu'un changement de couleur du myocarde ventriculaire ont été visuellement vérifiés. Une absence de flux dans l'artère coronaire liée a été vérifiée grâce à la bague doppler mise sur l'IVA. L'ischémie par occlusion de l'artère coronaire était poursuivie pendant 60 min. Le choc a été défini par une baisse de la pression artérielle moyenne et de l'index cardiaque $> 30 \%$ associés à un niveau accru de lactate ($> 2.5 \text{ mmol/l}$).

Avant la ligature coronaire, les animaux ont reçu 300 mg Amiodarone (Cordarone, Sanofi Winthrop®, Suède) administrés avant la première mesure pour empêcher la possible survenue d'une fibrillation ventriculaire. Après une heure, les animaux ont été placés sous ECMO-AV. Les animaux ont été répartis après randomisation en deux groupes : soit normothermie (38°C , température physiologique chez les porcs), soit hypothermie modérée (34°C). La température à 34 ou 38°C était maintenue à l'aide d'un groupe chaud froid.

3.5.7. ECMO et gestion hémodynamique

Le remplissage vasculaire a été utilisé en cas de diminution du flux sanguin ou de secousses ou tremblements de la canule. Pour simuler des conditions cliniques, la norépinéphrine a été administrée si la pression artérielle moyenne chutait en dessous de 60 mmHg . Le débit de perfusion IV de norépinéphrine commençait à $0,2 \mu\text{g/kg/min}$ et était adapté afin de maintenir un objectif tensionnel de 65 mmHg .

3.5.8. Etude par cathéter de conductance Millar

Nous avons effectué une analyse des courbes de pression – volume avant l'induction du choc grâce à la mise en place d'un cathéter de conductance de pression-volume (modèle Ventri-Cath 515, Instruments Millar, Houston, TX) qui a été poussé dans le ventricule gauche après avoir été introduit dans l'artère carotide droite.

Les données du cathéter de conductance de pression-volume ont été récoltées en temps réel et les résultats ont été enregistrés avec une unité mpvs-300 (Millar Pressure Conductance Unit model 300, Millar Instruments INC, USA). La calibration de volume a été effectuée grâce à une cuvette de calibration de diamètres connus avec du sang hépariné du cochon (cuve 910-1048, Millar Instruments de calibrage) et chauffé à 37° C. Après une période de repos de 10 minutes, une deuxième calibration interne a été réalisée pour déterminer la conductance parallèle des tissus environnant le pool sanguin ventriculaire. La technique a consisté en l'injection en bolus par voie intraveineuse de sérum salé. Après une période de repos de 10 min supplémentaires, le volume et la pression télédiastolique ventriculaire gauche ont été mesurés à l'état stable. Plusieurs autres paramètres ont également été enregistrés : la fréquence cardiaque (FC), le volume systolique (SV), DP dt max. En enregistrant la pression et le volume ventriculaire au cours du cycle cardiaque, les variations de la pression au cours du temps (dp/dt , en mmhg/s) peuvent être calculées. Cet indice est appelé « dérivé premier d'expression ventriculaire par rapport au temps ».

C'est un paramètre d'étude de la fonction systolique. La variation la plus rapide de la pression ventriculaire gauche pendant la phase de contraction isovolumique (dp/dt_{max}) a été évaluée.

C'est un paramètre relativement peu dépendant des conditions de charges (très peu

dépendantes de la pré charge et pratiquement pas de la post charge). Il reflète donc en grande partie la contractilité myocardique et se révèle un excellent indice de la contractilité myocardique. Le débit cardiaque (DC), et la pression diastolique ventriculaire gauche ont également été évalués.

3.5.9. Réponse norépinéphrine pression artérielle moyenne

Nous avons réalisé une courbe de réponse de la pression artérielle moyenne à différentes doses de norépinéphrine. La norépinéphrine a été injectée de façon progressive à 0, 20, 40, 80, 160 µg/kg. Chaque dose a été injectée après un retour de la pression artérielle moyenne aux valeurs de base. À chaque dose, l'augmentation maximale de la pression artérielle systolique, diastolique, moyenne et de la fréquence cardiaque a été mesurée. Cette courbe permet d'évaluer de manière in vivo la réactivité vasculaire.

3.5.10. Cytokines

Nous avons mesuré les cytokines plasmatiques suivantes : IL-6, IL-10 et TNF- α . Les mesures ont été effectuées à 2 reprises par la réalisation d'un ÉLISA (enzyme-linked immunosorbent assay) avec de l'IL-6, l'IL-10 et du TNF- α de rat (ELISA Quantikine, R&D Systems) selon les instructions du fabricant. Les résultats ont été exprimés en picogrammes par ml de plasma (pg/ml). Les mesures ont été effectuées à l'état de base à T1 et à T8.

3.5.11. Analyse de Western Blot

Nous avons réalisé une analyse par Western Blot à partir de protéines extraites des artères carotides et mésentériques qui ont été prélevées à la fin de l'expérimentation avant le sacrifice de l'animal.

Ces artères ont été disséquées à l'aide d'un tampon d'homogénéisation de SDS 1 % avec désinhibiteurs de la protéase et de la phosphatase (Roche Diagnostics, Meylan, France). Des extraits ont été centrifugés à 13 200 tr/min pendant 20 min à 4°C et les surnageant congelés. 20 µg de protéines totales ont été chauffés à 95°C pendant 5 min dans une solution tampon de Laemmli (2 ×, Sigma-Aldrich, St Quentin Fallavier, France).

Les protéines ont été chargées sur des gels de polyacrylamide 10 ou 12 % TGXTM (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) et par la suite transférées sur des membranes de nitrocellulose incubées avec des anticorps spécifiques. Les protéines ont été détectées avec des anticorps secondaires spécifiques. La détection améliorée a été effectuée par chimioluminescence (*enhanced chemiluminescent*, ECL),(Bio-Rad, Marnes la Coquette, France) et les images analysées par le système de LAS4000 Fujifilm luminescents Image Analyzer. L'intensité des bandes a été analysée à l'aide de la jauge Multi (FUJIFILM, Science Lab 2005). Les résultats ont été exprimés par un rapport protéines/tubulines ou par le rapport protéines phosphorylées/ protéines totales.

Tableau 1 : Anticorps utilis pour western-blot

Antibody	Source	Dilution	Société
iNOS	Lapin	1/500	Abcam
eNOS	Lapin	1/1500	Cell Signaling Technology
phosphorylated-AKT	Lapin	1/1000	Cell Signaling Technology
AKT	Lapin	1/1000	Cell Signaling Technology
p-ERK/ERK	Lapin	1/1000	Cell Signaling Technology
P65-NFkb	Lapin	1/1000	Cell Signaling Technology

Ikb	Lapin	1/1000	Cell Signaling Technology
Phosphorylated p38	Lapin	1/1000	Cell Signaling Technology
p38	Lapin	1/1000	Cell Signaling Technology
Bax	Lapin	1/1000	Cell Signaling Technology
Bcl2	Lapin	1/1000	Cell Signaling Technology
Tubuline	Souris	1/2000	Sigma

3.5.12. Thromboélastométrie

Alors que les tests de coagulation standard permettent seulement de détecter le moment où la coagulation commence, la thromboélastométrie est un test de sang effectué pour estimer les propriétés viscoélastiques lors de la formation et de la lyse de caillots de sang. Elle permet à partir de sang total une approche globale de l'hémostase : de l'agrégation plaquettaire, de l'activation de la coagulation (voies extrinsèque et intrinsèque), de la fibrinof formation et la polymérisation ainsi que de la fibrinolyse.

Nous avons réalisé la thromboélastométrie en utilisant le dispositif ROTEM avant l'induction de choc et à la fin de l'expérience (TEM, Munich, Allemagne). Les paramètres mesurés avec le ROTEM ont été étudiés au niveau de la voie intrinsèque (intem) et au niveau de la voie extrinsèque (extem).

- ∞ **CT** (clotting time) : la durée à partir de l'ajout du réactif de départ au sang jusqu'à ce que le caillot commence à se former. Un prolongement de CT peut être le résultat d'anomalies de la coagulation, principalement des facteurs de coagulation ou de l'héparine (selon le test utilisé).
- ∞ **CFT** (temps de formation de caillots) est le temps à partir de la coagulation jusqu'à obtention de la fermeté d'un caillot de 20 mm. Ces paramètres indiquent la vitesse à laquelle un caillot solide se forme et sont principalement influencés par la fonction plaquettaire, mais dans une certaine mesure par le fibrinogène et les facteurs de coagulation. Un CFT prolongé est habituellement causé par une dysfonction plaquettaire, une numération plaquettaire basse, un trouble de polymérisation de la

fibrine ou un déficit en fibrinogène. Un raccourcissement du CFT indique un état d'hypercoagulabilité.

- ∞ **MCF** (fermeté de caillot maximum) : Elle reflète la force absolue du caillot de fibrine et des plaquettes. Un MCF faible est révélateur d'un nombre de plaquettes diminué ou d'une fonction altérée de celles-ci, d'une diminution de fibrinogène ou d'une faible activité du facteur XIII. Un caillot mécaniquement faible représente un risque d'hémorragie grave.

3.6. Résultats

3.6.1. Résultats du choc cardiogénique

Notre modèle d'ischémie reperfusion a été réalisé chez 12 animaux. L'infarctus du myocarde a été suivi d'un choc cardiogénique caractérisé par une augmentation significative de la fréquence cardiaque et une diminution significative de la $SV0_2$, de la FEVG, du dP/dt_{max} , de PRSW et de l'index cardiaque. Les taux de lactate ont significativement augmenté. Le débit sanguin carotidien, rénal et coronaire a considérablement diminué après la réalisation du choc (tableau 2).

Le $TNF-\alpha$, IL-6 et IL-10 augmentent de façon importante une heure après l'induction du choc (tableau 2).

Tableau 2 : Paramètres hémodynamiques et métaboliques à l'état de base et une heure après l'induction du choc

n=12	État de base	Choc	P
PAM (mmHg)	79 (72-114)	50 (31-60)	0.02
FC (battements /min)	80 (68-104)	95 (90-135)	0.01
SV0₂ (%)	66(62-77)	37(18-50)	0 002

Index cardiaque (l/min/m²)	3,8 (3.5-4)	1.7 (1.5-1.8)	0.002
Cardiac Power Index (W/m²)	0.69 (0.6-0.77)	0.19 (0.18-0.21)	0.004
PAPO (mmHg)	16 (15-18)	23 (21-25)	0.004
DP/ dt max(mmHg/s)	1794 (1542-2382)	1257(1112-1800)	0.002
PRSW (mmHg)	72 (54-89)	55 (52-65)	0.002
Débit carotidien (ml/min)	235(212- 265)	36(32-60)	0.002
Debit renal (ml/min)	235 (210-280)	28 (26-40)	0.001
PH artériel	7.42 (7.40-7.44)	7.23 (7.22-7.28)	0.002
Lactate (mmol/l)	0,7 (0.6-1.7)	3 (1.52-2.55)	0.01
IL 10 (pg/ml)	20(9-38)	83 (44-99)	0,02
IL 6 (pg/ml)	9 (7- 12)	290 (113-499)	0,03
TNF-! (pg/ml)	31 (18- 43)	456 (401-599)	0,02

3.6.2. Normothermie versus hypothermie modérée

La pression artérielle moyenne durant l'ECMO a été similaire dans les deux groupes. (figure 8). Entre les groupes hypothermie modéré et normothermie aucune différence n'est observée en ce qui concerne la SVO_2 , le débit sanguin carotidien, rénal et coronaire mesuré au cours de l'expérience (figure 8). La fréquence cardiaque a diminué dans le groupe hypothermie modérée et est significativement différente par rapport au groupe normothermie(figure 1).

Figure 8 : *Évolution de la pression artérielle moyenne, de la fréquence cardiaque, de la SVO_2 , du débit carotidien, rénal et coronaire*

Légende

Le débit urinaire au cours de l'expérimentation était significativement plus élevé dans le groupe hypothermie modérée (1000 ml [550-1950]) que dans le groupe normothermie (500 ml [400-1200]) ($p = 0,02$).

L'évolution du PH est similaire dans les deux groupes (tableau 3). Le taux de lactates a diminué de façon identique dans les deux groupes en comparaison aux valeurs obtenues lors du choc (tableau 4).

Tableau 3 : Évolution du PH

	Normothermie	Hypothermie	P
PH			
État de base	7,42 (7,40 - 7,44)	7,39 (7,39 - 7,41)	0.07
Choc	7,23 (7,22 - 7,28)	7,21 (7,20 - 7,28)	0.4
H2	7,41 (7,38- 7,44)	7,40 (7,38- 7,40)	0.44
H4	7,40 (7,40 - 7,41)	7,40 (7,38 - 7,41)	0.3
H6	7,41 (7,39 -7,44)	7,39 (7,38 - 7,40)	0.15
H8	7,39 (7,387,40)	7.39 (7,39 -7,41)	0.69

Tableau 4 : Évolution du taux de lactate

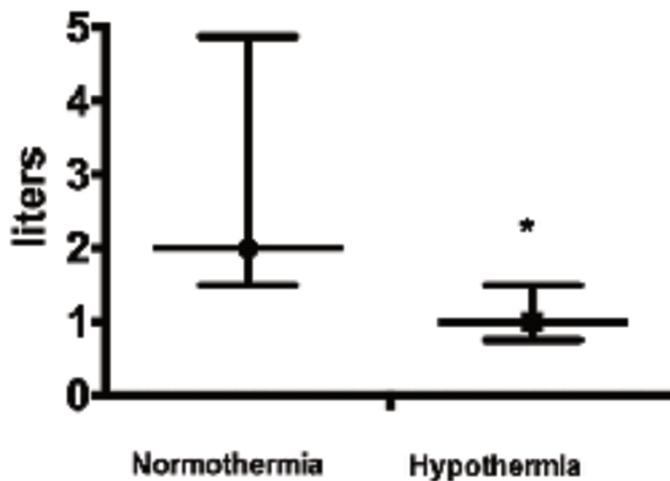
	Normothermie	Hypothermie	P
Lactate (mmol/l)			
État de base	0,70 (0,45-75)	0,70 (0,20-10)	0.31
Choc	2.9 (2,83,42)	3 (2,708,21)	0.9
H8	2,00 (1,32-12)	2.4 (1,52,55)	0.42

3.6.3. Perfusion de liquide

La perfusion de liquide durant l'expérimentation a été significativement inférieure dans le groupe hypothermie comparé à ce qui a été nécessaire dans le groupe hyperthermie ($p=0.02$) (figure 9).

2 L dans le groupe normothermie
1 L dans le groupe hypothermie

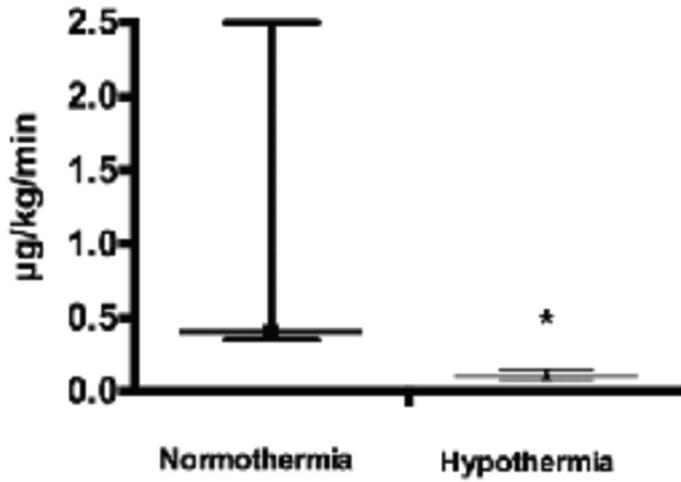
Figure 9 : Perfusion de liquide



3.6.4. Dose de norépinéphrine et réactivité vasculaire

La dose de norépinéphrine utilisée pour maintenir la pression artérielle moyenne était plus élevée dans le groupe en normothermie que chez les animaux du groupe hypothermie modérée.(figure 10)

Figure 10 Dose de norépinéphrine utilisée



3.6.5. Réactivité vasculaire

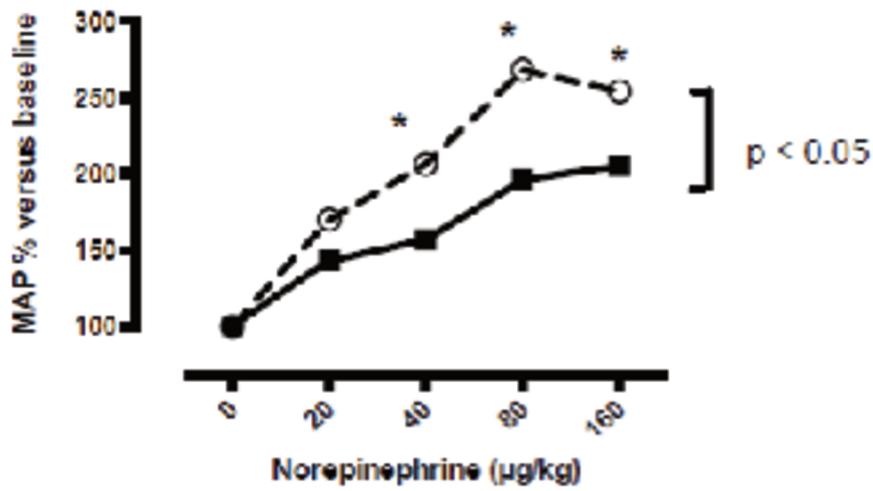
La réactivité vasculaire s'est révélée être meilleure en hypothermie modérée qu'en normothermie telle qu'exprimée à l'aide des courbes dose-réponse. (figure 11)

Figure 11 : Courbe dose réponses de la pression moyenne à la norépinephrine

Légende

■ Groupe normothermie

○ Groupe hypothermie



3.6.6. Fonction cardiaque

Le dp/dt_{max} a diminué dans le groupe normothermie tandis qu'il reste inchangé dans le groupe hypothermie ($p = 0,04$). (figure 12)

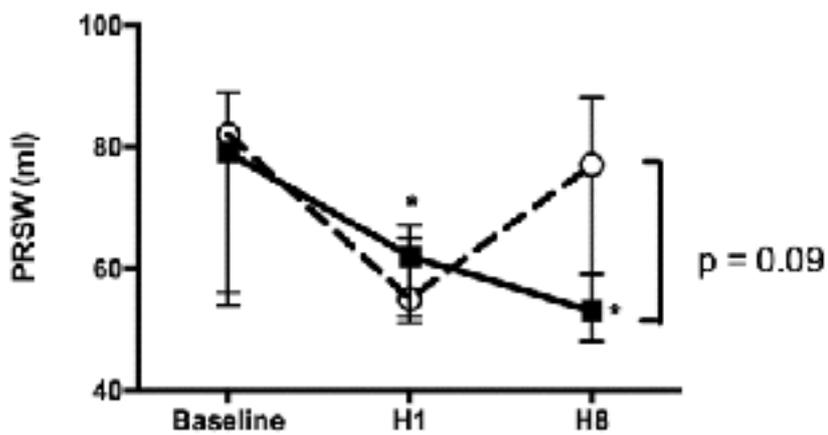
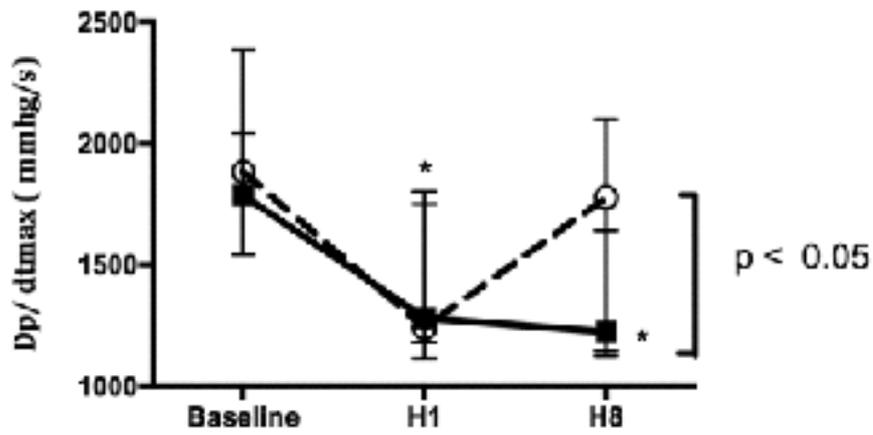
Le PRSW a tendance à être plus élevé dans le groupe hypothermie comparativement au groupe normothermie ($p = 0,09$). (figure 12)

Figure 12 : Représentation graphique de l'évolution de dp/dt_{max} et de PRSW

Légende

■ Groupe normothermie

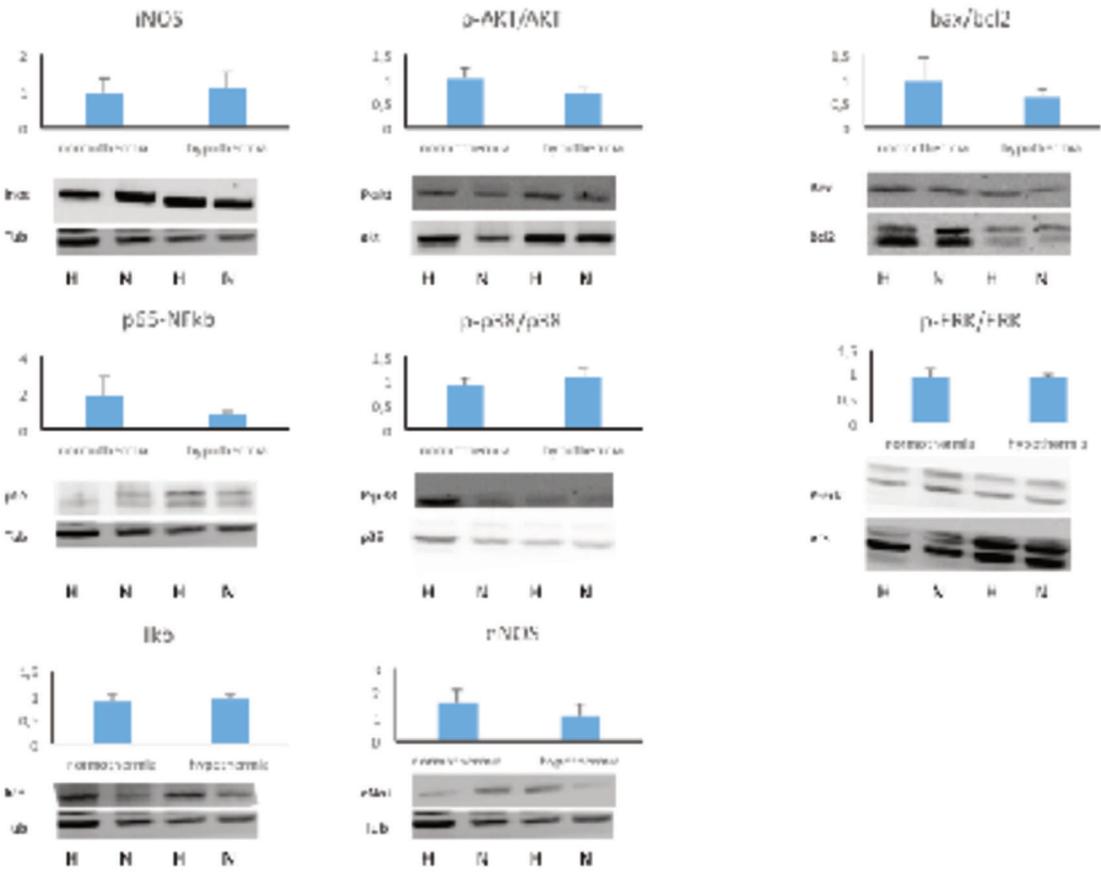
○ Groupe hypothermie

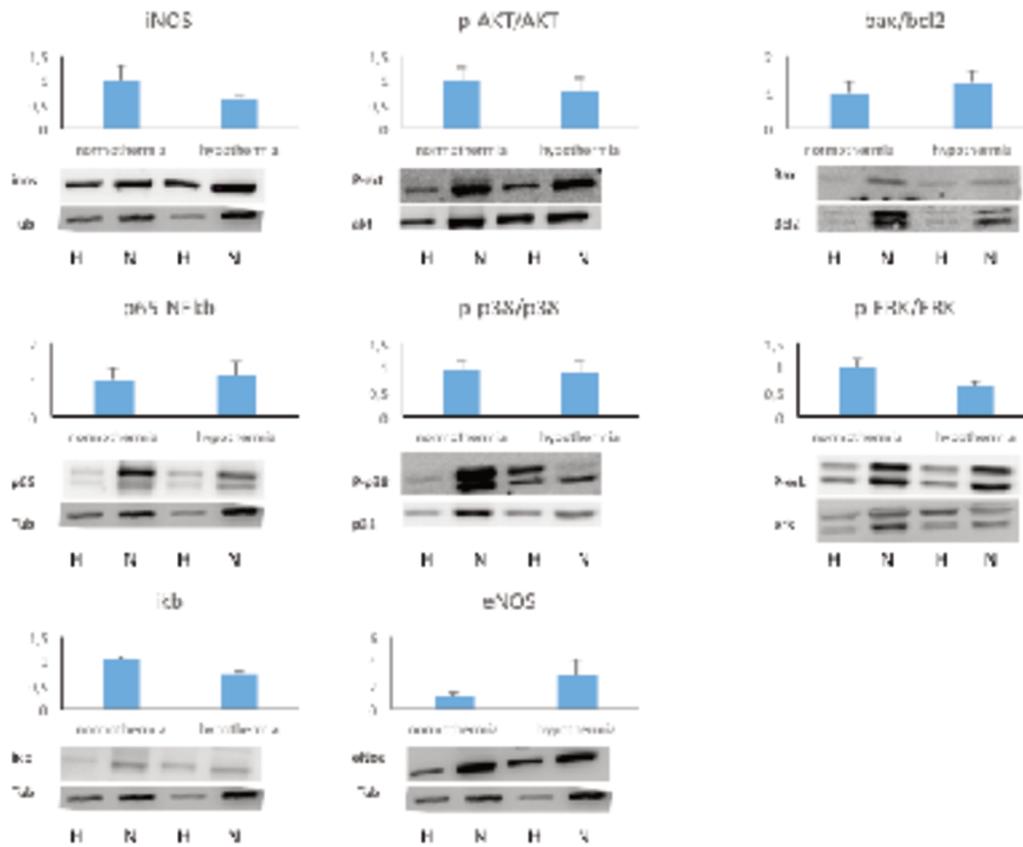


3.6.7. Western Blot de la carotide et artères mésentériques

Nous n'avons pas observé de différences entre les groupes normothermie et hypothermie modérée en ce qui concerne la carotide et les artères mésentériques pour iNOS, eNOS, pAKt/Akt ratio, bax/bcl2 ratio, p65-NFkb, Ikb, P-p38/p38 ratio et p-ERK/ERK ratio.(figure 13)

Figure 13: Représentations de l'analyse en Western Blot de la carotide et des artères méésentériques





3.6.8. Cytokines

L'évolution du taux des cytokines entre l'état de base et H8 n'a pas été différente entre les deux groupes (tableau 5).

Tableau 5 : Évolution des cytokines

	Normothermie	Hypothermie	Normothermie versus Hypothermie
IL 10 (pg/ml)			
État de base	23 (9-38)	17 (11 – 27)	NS
H8	56 (45 – 70)	52 (44- 71)	NS

IL 6 (pg/ml)			
État de base	9.5 (7- 12)	13 (12-16)	NS
H8	186 (113- 479)	157 (141 -268)	NS
TNF-! (pg/ml)			
État de base	29 (18- 43)	38 (34 - 39)	NS
H8	404 (203 - 599)	359 (271- 531)	NS

3.6.9. Saignement et paramètres ROTEM

Nous n'avons pas observé de différences en ce qui concerne le saignement chirurgical entre le groupe hypothermie et normothermie pendant les 8 heures d'expérimentation. Le nombre de plaquettes a nettement diminué au cours de l'ECMO dans les deux groupes, mais la diminution n'a pas été significativement différente entre les deux groupes étudiés (tableau 6).

La réalisation du choc et la mise sous ECMO ont induit des changements marqués dans les paramètres mesurés avec le ROTEM sans qu'aucune différence de variation entre les groupes normothermie et hypothermie modérée n'ait pu être mise en évidence.

Le CT a diminué sensiblement en EXTEM et significativement augmenté en INTEM.; le CFT a significativement augmenté en EXTEM et INTEM et le MCF a diminué significativement en EXTEM et en INTEM (figure 14).

L'ensemble de ces données reflète une altération marquée de la coagulation due aux choc et à l'ECMO, mais la même variation est présente dans les deux groupes. Nous n'avons donc pas mis en évidence d'influence de la température sur les paramètres de coagulation mesurés par le ROTEM.

Tableau 6 Numérotation plaquettaire moyenne au cours de l'ECMO

Plaquettes	Normothermie	Hypothermie	P
H0	416 (317-517)	328 (246-340)	0.62
H1	390(206-397)	238 (192-285)	0.45
H8	145 (110-238)	204(99-223)	0.85

4. Troisième partie : discussion, perspectives, conclusion

4.1. Discussion

Le traitement du choc cardiogénique reste un problème majeur en pratique clinique et malgré les progrès réalisés dans sa prise en charge, sa mortalité reste très élevée (50 %) (21). L'ECMO est une thérapeutique de plus en plus fréquemment utilisée dans la prise en charge de ces patients, mais la morbi-mortalité associée à cette technique reste importante. La survie de ces malades varie entre 20 à 40 % selon les études (8,10,52,81).

Nous avons envisagé une piste thérapeutique pour améliorer ces résultats. Notre étude expérimentale a comme objectif d'explorer les bénéfices et les inconvénients apportés par l'hypothermie modérée. Nous avons réalisé une analyse critique de nos résultats et de notre méthodologie en essayant de reprendre les différents éléments de notre recherche.

4.1.1. Choix du modèle animal et expérimental

Nous avons choisi de réaliser notre recherche sur un modèle animal : le cochon. Une question importante avant de pouvoir tirer des conclusions de notre recherche est la pertinence du choix du modèle. Une des raisons principales pour ce choix est que le gabarit de l'animal nous permet d'utiliser le même matériel d'ECMO que celui utilisé chez nos patients. Notre recherche requiert également un modèle présentant une similitude anatomique et fonctionnelle avec l'homme et le cochon remplit ces critères. Le cœur du porc a sensiblement la même taille et contient les mêmes structures que le cœur humain. La similitude est telle que certains envisagent de pouvoir un jour le greffer à des humains (82-84). Les porcs sont de plus en plus utilisés dans la recherche sur les maladies cardiologiques que ce soit pour des essais pharmacologiques ou toxicologiques. Ce succès comme modèle de recherche translationnelle est dû à leur similitude en matière de fonction cardiaque et d'anatomie avec le cœur humain.

Par exemple, le rapport poids du cœur aux poids corporel est identique entre les deux espèces, la taille et la distribution coronarienne est semblable à celles rencontrées chez l'homme. De plus, le métabolisme des cardiomyocytes et les propriétés électrophysiologiques sont proches entre le cochon et l'homme. Il en est de même pour la réponse à une lésion ischémique comme l'infarctus myocardique.(123-125) Ces éléments font que le cochon est un excellent modèle pour tester notre hypothèse et permet ainsi une extrapolation de nos résultats à l'homme.

Un autre élément important pour pouvoir effectuer cette recherche est la création d'un modèle de choc cardiogénique répondant à toutes les caractéristiques d'un choc cardiogénique : hypotension, hyperlactatémie, acidose lactique, chute du débit cardiaque, augmentation des pressions pulmonaires, SVO₂ basse et dépression de la fonction myocardique. Le modèle que nous avons créé nous a permis de pouvoir réellement tester les effets de l'hypothermie. Nous avons donc finalement pu développer un modèle translationnel efficace, nous permettant de tester notre hypothèse.

Néanmoins, une des critiques qui peut être faite à notre modèle est sa réalisation par sternotomie. Cet abord représente une différence notable par rapport à la situation clinique et expose notre animal à un risque hémorragique et à des variations de pression intrathoracique. Rubertsson et al ont démontré que lorsque le thorax est ouvert, une augmentation du débit cardiaque et une amélioration de la pression de perfusion systémique sont observées en comparaison à un thorax fermé.(126) Le choix de la sternotomie a été dicté par notre désir de quantification du flux coronaire au niveau de l'IVA.

Un autre point critiquable dans notre approche expérimentale est la réalisation d'un modèle de courte durée (8 h d'ECMO) et sans sevrage de l'assistance. Ce choix nous empêche de

conclure quant à l'évolution à plus long terme de ces animaux, notamment au niveau d'une éventuelle récupération myocardique. Nous n'avons pas pu répondre à une question importante : l'effet de l'hypothermie sur la récupération myocardique. L'hypothermie devrait diminuer l'étendue des zones ischémiques et les phénomènes d'ischémie reperfusion, favorisant ainsi une récupération potentielle et un éventuel bénéfice en matière de sevrage de l'ECMO.

4.1.2. Effet de l'hypothermie modérée sur la réactivité vasculaire en état de choc cardiogénique

Lorsqu'un patient est sous ECMO, la pression artérielle est fortement tributaire des résistances vasculaires. Une majorité des patients nécessite une thérapie à base de vasopresseurs pour maintenir la pression artérielle moyenne. (85)

Lors d'un état de choc, il existe une défaillance vasculaire caractérisée par une diminution du tonus vasoconstricteur et une hypo-réactivité vasculaire avec une diminution de la réponse aux catécholamines.(127) Il en résulte une vasodilatation inappropriée et une hypotension artérielle réfractaire responsable d'une aggravation clinique, pouvant conduire au décès du patient. Dans notre expérience, nous avons choisi de maintenir nos objectifs prédéfinis de pression artérielle moyenne à l'aide de norépinéphrines.

Nous avons pu montrer que l'hypothermie modérée permet une diminution de la dose requise de noradrénaline pour maintenir notre objectif de pression artérielle moyenne. Nous avons également évalué la réactivité vasculaire par la réalisation d'une courbe de réponse à des doses croissantes de norépinéphrine sur la pression artérielle moyenne qui révèle également une amélioration de la vasoréactivité en hypothermie.

Nos résultats confirment les résultats obtenus chez les patients en choc septique [19]. Ils confirment également les données préliminaires publiées par Zobel al chez des patients en choc cardiogénique non traités par une ECMO.(86) Dans son étude, Zobel a montré qu'une hypothermie thérapeutique modérée permet une augmentation de la résistance vasculaire systémique entraînant ainsi une réduction du besoin en vasopresseurs.(128) Il a également démontré qu'il existe une diminution de la consommation en oxygène grâce à l'hypothermie, apportant ainsi un bénéfice dans le traitement du choc cardiogénique.(86) Cette diminution de doses de vasopresseurs observée dans notre expérience représente un élément important. Il est connu que la diminution de dose requise de vasopresseurs représente un bénéfice important dans le traitement du choc cardiogénique. (129,130)(87,88)

Lors du traitement d'un choc cardiogénique, la nécessité d'accroître les doses de vasopresseurs est associée à des résultats défavorables [2]. Dans de nombreuses études, une corrélation entre la dose de noradrénaline administrée et la mortalité observée est constatée [3, 4].

Par la suite, nous avons essayé de comprendre quel phénomène physiopathologique pouvait expliquer nos résultats, en recherchant des anomalies au niveau des voies cellulaires classiques connues pour être impliquées dans la réactivité vasculaire et pouvant être perturbées en situation de choc. Nous n'avons pas pu trouver d'explication au niveau des voies cellulaires que nous avons choisi d'explorer. Dans notre expérience, aucune différence n'a été observée entre le groupe normothermie versus le groupe hypothermie modérée pour les taux de iNOS, eNOS ou l'expression de la protéine Akt/p-Akt et NF- κ B. Nous supposons donc qu'il puisse y avoir d'autres voies influencées par la température que nous n'avons pas explorées.

Il est reconnu que la vasoconstriction artérielle résulte de l'augmentation de calcium dans la cellule musculaire lisse vasculaire. (53) Il est possible que l'amélioration de la vasoréactivité observée dans le groupe hypothermie dans notre recherche soit liée à une amélioration de la fonction de la pompe ionique qui favorise la libération de calcium, mais cette hypothèse reste à prouver.

D'autres explications sont également à envisager. L'hypothermie provoque une baisse de l'acidose intracellulaire, une diminution de la production de radicaux libres et une amélioration de la fonction mitochondriale (67,71). Ces phénomènes devraient participer à l'amélioration de la vasoréactivité observée dans le groupe hypothermique.

Plusieurs études ont également montré que l'hypothermie affecte la sécrétion locale de substances vasoactives telles que l'endothéline, la thromboxane A2 et la prostaglandine I2 dans le cerveau et sur d'autres sites (100,131). L'endothéline et la thromboxane A2 sont connues pour être des agents vasoconstricteurs puissants pouvant ainsi expliquer une partie de nos résultats.(132-134)

Enfin, il est possible que notre durée d'expérimentation de 8 heures soit trop brève pour observer des différences au niveau de l'expression protéique des voies que nous avons explorées.

4.1.3. Effet de l'hypothermie modérée sur la fonction cardiaque

Notre étude a permis de montrer que l'hypothermie améliore la fonction cardiaque chez le cochon en état de choc cardiogénique, traité avec une ECMO.

Il est reconnu et admis dans la littérature que l'hypothermie, dans des circonstances d'euvolémie, est responsable d'une diminution de la fréquence cardiaque ainsi que d'une augmentation de la contractilité myocardique (86,91,92). L'hypothermie est également un puissant inotrope positif qui provoque une augmentation de la fonction systolique. (99,135,136)(91)

L'hypothermie améliore la fonction cardiaque par une augmentation du couplage excitation contraction dans les cardiomyocytes (73). L'excitation électrique des myocytes contractiles résulte de mouvements ioniques calciques et sodiques (dépolarisation), déclenchant le raccourcissement des protéines contractiles (troponine et myosine) à l'origine de la contraction myocardique qui se voit être améliorée lors d'une hypothermie.

Nous avons montré dans notre travail que l'hypothermie modérée était associée à un meilleur dP/dt_{max} et à une amélioration de la fraction d'éjection ventriculaire gauche, ce qui plaide en faveur d'une meilleure contractilité du myocarde dans ces conditions.

En ce qui concerne les valeurs de PRSW retrouvées dans notre étude, bien que la valeur de p soit de 0,09, il est important de garder à l'esprit que les cochons du groupe normothermie ont bénéficié de plus de noradrénaline, une molécule présentant des propriétés inotropes.

Il est souvent craint que l'hypothermie ne rende le traitement d'une arythmie plus délicat, en raison d'une diminution de la sensibilité du myocarde aux médicaments antiarythmiques et d'une difficulté plus importante à défibriller le cœur par un choc électrique (93,94). Il est important de noter que cette crainte ne s'avère exacte que pour une hypothermie profonde (28° C). En cas d'hypothermie modérée, les études expérimentales suggèrent une situation inverse, donc une diminution du risque d'arythmies, une amélioration de la stabilisation des membranes cellulaires et une augmentation de la probabilité de défibrillation réussie en cas d'

arythmie. Des études expérimentales ont comparé en condition d'hypothermie et de normothermie la probabilité de défibriller un coeur par un choc. Ces études ont montré une facilité accrue de défibrillation en cas d'hypothermie modérée.(137,138)

4.1.4. Les effets physiologiques de l'hypothermie et la tolérance en état de choc cardiogénique traité avec VA-ECMO

Dans notre expérience, nous avons induit une hypothermie de manière très rapide en utilisant un groupe thermique monté sur l'ECMO. Ce point est important puisqu'il a été démontré que les résultats lors des expérimentations animales sont nettement meilleurs si la chute de la température est obtenue de manière rapide permettant ainsi une limitation des zones ischémiques. Une hypothermie débutée à la 5^{ème} min d'ischémie chez des lapins soumis à 30 min d'occlusion coronaire aboutit à une quasi abolition de l'infarctus alors que tout bénéfice est perdu lorsque l'hypothermie n'est débutée qu'à la 25^{ème} min d'ischémie (96-99). Dans notre expérience, nous avons retrouvé comme attendu une chute de la fréquence cardiaque dans le groupe hypothermie, participant ainsi à une chute des besoins en oxygène du myocarde. (94) Nous avons retrouvé un débit au niveau de l'artère rénale similaire dans les deux groupes, mais avec une diurèse augmentée dans le groupe hypothermique. La diurèse induite par le froid, ou « cold diuresis », est un phénomène qui se produit chez l'homme après exposition à un environnement hypothermique (100-102). Les mécanismes de cette diurèse induite par le froid viennent d'une autorégulation du rein à une hypervolémie centrale relative induite par une vasoconstriction périphérique consécutive au froid. En raison d'une surcharge volémique, la libération de l'hormone antidiurétique est supprimée. Il existe également une activation du peptide natriurétique auriculaire (101,103).

4.1.5. Complications de l'hypothermie

Dans notre expérience, nos animaux ont présenté des troubles de coagulation marqués dus au choc et à l'ECMO, mais aucune différence n'a pu être mise en évidence entre les deux groupes.

En ce qui concerne les effets du choc sur la coagulation, les données de la littérature à ce sujet sont claires : plus le choc dure longtemps, plus la diminution du taux des plaquettes s'accroît, plus le TCA va s'allonger et plus l'activité des facteurs de la coagulation va diminuer. De plus, la mise sous ECMO induit des troubles de l'hémostase du fait d'une hémodilution liée au «priming» nécessaire au débullage du circuit d'ECMO par des cristalloïdes (700 ml environ). Par ailleurs, malgré l'amélioration de la biocompatibilité, il existe une activation plaquettaire et une consommation de facteurs de la coagulation liés au contact du sang avec le circuit et la membrane d'oxygénation.(72,84)(51,52) L'hypothermie induit également une séquestration des plaquettes et donc une thrombopénie, une altération du métabolisme de l'acide arachidonique, des atteintes quantitatives des glycoprotéines des membranes plaquettaires (GPIb — P-sélectine— GPIIb/IIIa).

Nous avons choisi de réaliser les tests d'hémostase avec un ROTEM, car au laboratoire, les tests d'hémostase sur les échantillons sanguins sont toujours réalisés à 37°C que le patient soit normotherme ou hypotherme. En pratique, il n'est pas possible de faire varier la température des automates de coagulation, et l'étude de l'hémostase d'un patient hypotherme serait réalisée dans de mêmes conditions que celle d'un patient normotherme. (139,140)Le ROTEM nous a permis de régler la température à laquelle s'effectue l'analyse et ainsi de rendre des résultats adaptés à la situation thermique de l'animal (104). Nous n'avons pas observé de différences au niveau de l'hémostase entre les deux groupes ce qui pourrait suggérer qu'une

hypothermie modérée ne devrait avoir que des répercussions faibles sur les paramètres hémostatiques. Nous ne pouvons malheureusement pas extrapoler nos résultats à plus long terme, car la durée de l'expérimentation était de 8 heures et nous ne pouvons pas exclure que des perturbations de l'hémostase puissent survenir plus tardivement.

Les complications infectieuses qui peuvent être favorisées par l'hypothermie n'ont pas pu être explorées dans ce modèle de recherche.

4.2. Perspectives à court terme

Ce travail nous a permis de prouver au niveau expérimental que l'hypothermie présente des avantages hémodynamiques, sur la fonction cardiaque et sur la vasoréactivité.

L'application clinique de l'hypothermie modérée constitue un objectif et la finalité de nos expériences. Basé sur les résultats de notre travail un P.H.R.C. a été mis en place permettant d'évaluer les répercussions de l'hypothermie pour les patients placés sous ECMO. Ce P.H.R.C (HYPO ECMO, NCT02754193) est en cours et les résultats en attente.

Nous continuons à tester d'autres pistes thérapeutiques au niveau expérimental. Les essais sur le gros animal nous ont déjà permis ou nous permettrons de tester un certain nombre d'hypothèses.

- ∞ Nous avons testé l'évaluation métabolique et microcirculatoire d'une pression artérielle moyenne haute versus une pression artérielle standard qui n'a pas mis en évidence de différence de réversion des conséquences métaboliques et microcirculatoires (article soumis).
- ∞ Nous avons également testé sur notre modèle les effets de la norépinéphrine seul sur l'hémodynamique et la fonction cardiaque intrinsèque chez le cochon. Nous avons montré que la norépinéphrine est capable d'améliorer la fonction cardiaque, l'hémodynamique et l'oxygénation tissulaire (article joint).(141)
- ∞ Nous sommes en train de tester l'hypothèse qu'une modulation du débit au moment de l'initiation de l'ECMO (1/2 débit versus débit complet) pourrait avoir des répercussions sur le phénomène d'ischémie reperfusion.

4.3. Conclusion

Cette recherche expérimentale a permis de mettre en évidence un effet bénéfique de l'hypothermie sur la fonction cardiaque et sur la réactivité vasculaire chez le porc en choc cardiogénique traité par une ECMO. Les résultats de notre recherche ont permis de débiter un P.H.R.C. L'hypothermie pourrait donc être dans l'avenir un traitement adjuvant de l'ECMO dans une situation de choc cardiogénique.

5. Références

1. Torgersen C, Schmittinger CA, Wagner S, Ulmer H, Takala J, Jakob SM, et al. Hemodynamic variables and mortality in cardiogenic shock: a retrospective cohort study. *Crit Care. BioMed Central*; 2009;13(5):R157.
2. Cooper HA, Panza JA. Cardiogenic shock. *Cardiol Clin*. 2013 Nov;31(4):567–80–viii.
3. Shah P, Cowger JA. Cardiogenic shock. *Crit Care Clin*. 2014 Jul;30(3):391–412.
4. Sarswat N, Hollenberg SM. Cardiogenic shock. *Hosp Pract (1995)*. 2010 Feb;38(1):74–83.
5. Werdan K, Ruß M, Buerke M, Delle-Karth G, Geppert A, Schöndube FA, et al. Cardiogenic shock due to myocardial infarction: diagnosis, monitoring and treatment: a German-Austrian S3 Guideline. Vol. 109, *Deutsches Ärzteblatt international*. 2012. pp. 343–51.
6. Buerke M, Lemm H, Dietz S, Werdan K. Pathophysiology, diagnosis, and treatment of infarction-related cardiogenic shock. *Herz*. 2011 Mar;36(2):73–83.
7. Moll V, Teo EYL, Grenda DS, Powell CD, Connor MJ, Gartland BT, et al. Rapid Development and Implementation of an ECMO Program. *ASAIO J*. 2016 May;62(3):354–8.
8. Szymanski FM, Filipiak KJ. Cardiogenic shock - diagnostic and therapeutic options in the light of new scientific data. *Anaesthesiol Intensive Ther*. 2014 Sep;46(4):301–6.
9. Ouweneel DM, Schotborgh JV, Limpens J, Sjauw KD, Engström AE, Lagrand WK, et al. Extracorporeal life support during cardiac arrest and cardiogenic shock: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*. Springer Berlin Heidelberg; 2016 Sep 19;:1–13.
10. Bonanno FG. Physiopathology of shock. *J Emerg Trauma Shock*. 2011 Apr;4(2):222–32.
11. Shpektor A. Cardiogenic shock: the role of inflammation. *Acute Card Care*. 2010 Dec;12(4):115–8.
12. Jung C, Lauten A, Ferrari M. Microcirculation in cardiogenic shock: from scientific bystander to therapy target. *Crit Care. BioMed Central*; 2010;14(5):193.

13. Ashruf JF, Bruining HA, Ince C. New insights into the pathophysiology of cardiogenic shock: the role of the microcirculation. *Curr Opin Crit Care*. 2013 Oct; 19(5):381–6.
14. Frank A, Bonney M, Bonney S, Weitzel L, Koeppen M, Eckle T. Myocardial ischemia reperfusion injury: from basic science to clinical bedside. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*. SAGE Publications; 2012 Sep;16(3):123–32.
15. Kang IS, Fumiaki I, Pyun WB. Therapeutic Hypothermia for Cardioprotection in Acute Myocardial Infarction. *Yonsei Med J*. 2016 Mar;57(2):291–7.
16. Sidhu SS, Schulman SP, McEvoy JW. Therapeutic Hypothermia After Cardiac Arrest. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2016 May;18(5):30.
17. Howes D, Gray SH, Brooks SC, Boyd JG, Djogovic D, Golan E, et al. Canadian Guidelines for the use of targeted temperature management (therapeutic hypothermia) after cardiac arrest: A joint statement from The Canadian Critical Care Society (CCCS), Canadian Neurocritical Care Society (CNCCS), and the Canadian Critical Care Trials Group (CCCTG). *Resuscitation*. 2016 Jan;98:48–63.
18. Topalian S, Ginsberg F, Parrillo JE. Cardiogenic shock. *Crit Care Med*. 2008 Jan;36(1 Suppl):S66–74.
19. Hochman JS, Buller CE, Sleeper LA, Boland J, Dzavik V, Sanborn TA, et al. Cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction--etiologies, management and outcome: a report from the SHOCK Trial Registry. SHould we emergently revascularize Occluded Coronaries for cardiogenic shock? *J Am Coll Cardiol*. 2000 Sep;36(3 Suppl A):1063–70.
20. Menon V, Fincke R. Cardiogenic shock: a summary of the randomized SHOCK trial. *Congest Heart Fail*. 2003 Jan;9(1):35–9.
21. Westaby S, Kharbanda R, Banning AP. Cardiogenic shock in ACS. Part 1: prediction, presentation and medical therapy. *Nat Rev Cardiol*. 2012 Mar;9(3):158–71.
22. Alonso DR, Scheidt S, Post M, Killip T. Pathophysiology of cardiogenic shock. Quantification of myocardial necrosis, clinical, pathologic and electrocardiographic correlations. *Circulation*. 1973 Sep;48(3):588–96.
23. Hollenberg SM, Bates ER. *Cardiogenic Shock*. Blackwell Publishing; 2002. 1 p.
24. Hochman JS, E Magnus Ohman MD. *Cardiogenic Shock*. Hochman JS, Ohman EM, editors. Oxford, UK: John Wiley & Sons; 2009. 1 p.
25. Ivanes F, Mewton N, Rioufol G, Piot C, Elbaz M, Revel D, et al. Cardioprotection in the clinical setting. *Cardiovasc Drugs Ther*. Springer US; 2010 Jun;24(3):281–7.
26. Kones RJ. *Cardiogenic shock; mechanism and management*. Wiley-Blackwell; 1974. 1 p.

27. Schaper W. *The Pathophysiology of Myocardial Perfusion*. Elsevier-North-Holland Biomedical Press; 1979. 1 p.
28. Pinsky MR, Artigas A, Dhainaut J-F. *Coronary Circulation and Myocardial Ischemia*. Pinsky MR, Artigas A, Dhainaut J-F, editors. Berlin, Heidelberg: Springer Science & Business Media; 2012. 1 p.
29. Lim N, Dubois M-J, De Backer D, Vincent J-L. Do all nonsurvivors of cardiogenic shock die with a low cardiac index? *Chest*. 2003 Nov;124(5):1885–91.
30. Théroux P, Armstrong PW, Mahaffey KW, Hochman JS, Malloy KJ, Rollins S, et al. Prognostic significance of blood markers of inflammation in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary angioplasty and effects of pexelizumab, a C5 inhibitor: a substudy of the COMMA trial. *Eur Heart J*. The Oxford University Press; 2005 Oct;26(19):1964–70.
31. Potapov EV, Hennig F, Wagner FD, Volk H-D, Sodian R, Hausmann H, et al. Natriuretic peptides and E-selectin as predictors of acute deterioration in patients with inotrope-dependent heart failure. *Eur J Cardiothorac Surg*. Oxford University Press; 2005 May;27(5):899–905.
32. Mayer B. *Nitric Oxide*. Mayer B, editor. Vol. 143. Berlin, Heidelberg: Springer Science & Business Media; 2012. 1 p.
33. Loscalzo J, Vita JA. *Nitric Oxide and the Cardiovascular System*. Loscalzo J, Vita JA, editors. Totowa, NJ: Springer Science & Business Media; 2000. 1 p.
34. Rubanyi GM. *Pathophysiology and Clinical Applications of Nitric Oxide*. CRC Press; 2003. 1 p.
35. Schlag G, Redl H. *Shock, Sepsis, and Organ Failure — Nitric Oxide*. Schlag G, Redl H, editors. Berlin, Heidelberg: Springer Science & Business Media; 2012. 1 p.
36. Glenn TM, Lefer AM, Martin JB, Lovett WL, Morris JN, Wangenstein SL. Production of a myocardial depressant factor in cardiogenic shock. *Am Heart J*. 1971 Jul;82(1):78–85.
37. Mathie RT, Griffith TM. *The Haemodynamic Effects of Nitric Oxide*. World Scientific; 1999. 1 p.
38. Cotter G, Kaluski E, Blatt A, Milovanov O, Moshkovitz Y, Zaidenstein R, et al. L-NMMA (a nitric oxide synthase inhibitor) is effective in the treatment of cardiogenic shock. *Circulation*. 2000 Mar 28;101(12):1358–61.
39. *Cardiogenic Shock: New Insights for the Healthcare Professional: 2013 Edition*. ScholarlyEditions; 2013. 1 p.
40. Pudil R, Krejssek J, Pidrman V, Gregor J, Tichý M, Bures J. Inflammatory response to acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Acta Medica (Hradec*

Kralove). 2001;44(4):149–51.

41. Kohsaka S, Menon V, Lowe AM, Lange M, Dzavik V, Sleeper LA, et al. Systemic inflammatory response syndrome after acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Arch Intern Med. American Medical Association*; 2005 Jul 25;165(14):1643–50.
42. Uil den CA, Lagrand WK, Valk SDA, Spronk PE, Simoons ML. Management of cardiogenic shock: focus on tissue perfusion. *Curr Probl Cardiol*. 2009 Aug;34(8): 330–49.
43. Reynolds HR, Hochman JS. Cardiogenic shock: current concepts and improving outcomes. *Circulation. American Heart Association, Inc*; 2008 Feb 5;117(5):686–97.
44. Lim S-T, Goldstein JA. Right Ventricular Infarction. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2001 Apr;3(2):95–101.
45. Naeije R, Manes A. The right ventricle in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir Rev. European Respiratory Society*; 2014 Dec;23(134):476–87.
46. Pinsky MR. The right ventricle: interaction with the pulmonary circulation. *Crit Care. BioMed Central*; 2016;20(1):266.
47. Harjola V-P, Mebazaa A, Čelutkienė J, Bettex D, Bueno H, Chioncel O, et al. Contemporary management of acute right ventricular failure: a statement from the Heart Failure Association and the Working Group on Pulmonary Circulation and Right Ventricular Function of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail. John Wiley & Sons, Ltd*; 2016 Mar;18(3):226–41.
48. Konstam MA, Isner JM. The Right Ventricle. Konstam MA, Isner JM, editors. Vol. 83. Boston, MA: Springer Science & Business Media; 2012. 1 p.
49. Goldstein JA, Rich JD. Faces of Right Ventricular Failure, an Issue of Cardiology Clinics. Elsevier Health Sciences; 2012. 1 p.
50. Piper HM, Preusse CJ. Ischemia-reperfusion in cardiac surgery. Piper HM, Preusse CJ, editors. Vol. 142. Dordrecht: Springer Science & Business Media; 2012. 1 p.
51. Waxman K. Shock: ischemia, reperfusion, and inflammation. *New Horiz*. 1996 May; 4(2):153–60.
52. *Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux*. John Libbey Eurotext; 2007. 1 p.
53. Sherwood L. *Physiologie humaine*. De Boeck Supérieur; 2006. 1 p.
54. Powers SK, Murlasits Z, Wu M, Kavazis AN. Ischemia-reperfusion-induced cardiac injury: a brief review. *Med Sci Sports Exerc*. 2007 Sep;39(9):1529–36.
55. Zaidise I. *Insulin, Energy Metabolism and the Krebs Cycle*. 1985. 1 p.

56. Yang Q, He G-W, Underwood MJ, Yu C-M. Cellular and molecular mechanisms of endothelial ischemia/reperfusion injury: perspectives and implications for postischemic myocardial protection. *Am J Transl Res.* e-Century Publishing Corporation; 2016;8(2):765–77.
57. Singhal AK, Symons JD, Boudina S, Jaishy B, Shiu Y-T. Role of Endothelial Cells in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *Vasc Dis Prev.* NIH Public Access; 2010;7:1–14.
58. Murphy E, Cross HR, Steenbergen C. Is Na/Ca exchange during ischemia and reperfusion beneficial or detrimental? *Ann N Y Acad Sci.* 2002 Nov;976:421–30.
59. Murphy E, Steenbergen C. Mechanisms underlying acute protection from cardiac ischemia-reperfusion injury. *Physiol Rev.* American Physiological Society; 2008 Apr; 88(2):581–609.
60. Murphy E, Steenbergen C. What makes the mitochondria a killer? Can we condition them to be less destructive? *Biochim Biophys Acta.* 2011 Jul;1813(7):1302–8.
61. Turer AT, Hill JA. Pathogenesis of myocardial ischemia-reperfusion injury and rationale for therapy. *Am J Cardiol.* 2010 Aug 1;106(3):360–8.
62. Moslen MT, Smith CV. *Free Radical Mechanisms of Tissue Injury.* CRC Press; 1992. 1 p.
63. CIBA Foundation Symposium. *Oxygen Free Radicals and Tissue Damage.* Fitzsimons DW, editor. Chichester, UK: John Wiley & Sons; 2009. 1 p.
64. Baskin S, Salem H. *Oxidants, Antioxidants And Free Radicals.* CRC Press; 1997. 1 p.
65. Novelli GP, Ursini F. *Oxygen free radicals in shock.* S Karger Pub; 1986. 1 p.
66. Winyard P, Blake DR, Evans CH. *Free Radicals and Inflammation.* Winyard PG, Blake DR, Evans CH, editors. Basel: Springer; 2013. 1 p.
67. *Free radical biology & medicine.*
68. Hearse DJ, Stewart DA, Braimbridge MV. Myocardial protection during ischemic cardiac arrest. Possible deleterious effects of glucose and mannitol in coronary infusates. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1978 Jul;76(1):16–23.
69. Hearse DJ, Humphrey SM, Bullock GR. The oxygen paradox and the calcium paradox: two facets of the same problem? *J Mol Cell Cardiol.* 1978 Jul;10(7):641–68.
70. Longo L, Sinigaglia-Fratta LX, Weber GR, Janz-Moreira A, Kretzmann NA, Grezzana-Filho T de JM, et al. Hypothermia is better than ischemic preconditioning for preventing early hepatic ischemia/reperfusion in rats. *Ann Hepatol.* 2016 Jan; 15(1):110–20.

71. Sangalli F, Patroniti N, Pesenti A. ECMO-Extracorporeal Life Support in Adults. Sangalli F, Patroniti N, Pesenti A, editors. Milano: Springer Science & Business; 2014. 1 p.
72. Kapoor PM. Manual of Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) in the ICU. JP Medical Ltd; 2013. 1 p.
73. Bradshaw R. Heparin. Bradshaw RA, Wessler S, editors. Vol. 52. Boston, MA: Springer Science & Business Media; 2013. 1 p.
74. Marder VJ, Aird WC, Bennett JS, Schulman S, Gilbert C White II. Hemostasis and Thrombosis. Lippincott Williams & Wilkins; 2012. 1 p.
75. Chopra HK, Nanda NC. Textbook of Cardiology. JAYPEE BROTHERS MEDICAL PUBLISHERS PVT. LTD; 2013. 1 p.
76. Schmidt GA. Extracorporeal Life Support for Adults. Schmidt GA, editor. Vol. 16. New York, NY: Humana Press; 2015. 1 p.
77. Hessel EA. History of cardiopulmonary bypass (CPB). *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2015 Jun;29(2):99–111.
78. Kay P, Munsch CM. Techniques in Extracorporeal Circulation 4E. CRC Press; 2004. 1 p.
79. Gravlee GP. Cardiopulmonary Bypass. Lippincott Williams & Wilkins; 2008. 1 p.
80. Kouchoukos NT, Blackstone EH, Hanley FL, Kirklin JK. Kirklin/Barratt-Boyes Cardiac Surgery. Elsevier Health Sciences; 2012. 1 p.
81. Miller GW. King of Hearts. Crown; 2010. 1 p.
82. Bynum WF, Porter R. Companion Encyclopedia of the History of Medicine. Routledge; 2013. 1 p.
83. Makdisi G, Wang I-W. Extra Corporeal Membrane Oxygenation (ECMO) review of a lifesaving technology. *J Thorac Dis.* 2015 Jul;7(7):E166–76.
84. Flecher E, Verhoye J-P, Seguin P. ECLS et ECMO. Paris: Springer Science & Business Media; 2011. 1 p.
85. Rupperecht L, Lunz D, Philipp A, Lubnow M, Schmid C. Pitfalls in percutaneous ECMO cannulation. *Heart Lung Vessel.* Edizioni Medico Scientifiche; 2015;7(4): 320–6.
86. Doll JA, Ohman EM, Patel MR, Milano CA, Rogers JG, Wohns DH, et al. A team-based approach to patients in cardiogenic shock. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2016 Sep;88(3):424–33.

87. Vanhuysse F, Frotscher B, Lecompte T, Maureira P, Villemot J-P, Folliguet T, et al. [Use of rFVIIa in intractable hemorrhage in patients on central veno-arterial ECMO]. *Ann Fr Anesth Reanim.* 2013 Oct;32(10):665–9.
88. Nielsen AKW, Jeppesen AN, Kirkegaard H, Hvas AM. Changes in coagulation during therapeutic hypothermia in cardiac arrest patients. *Resuscitation.* 2016 Jan;98:85–90.
89. Bizzarro MJ, Conrad SA, Kaufman DA, Rycus P, Extracorporeal Life Support Organization Task Force on Infections, Extracorporeal Membrane Oxygenation. Infections acquired during extracorporeal membrane oxygenation in neonates, children, and adults. *Pediatr Crit Care Med.* 2011 May;12(3):277–81.
90. Kim DW, Yeo HJ, Yoon SH, Lee SE, Lee SJ, Cho WH, et al. Impact of bloodstream infections on catheter colonization during extracorporeal membrane oxygenation. *J Artif Organs.* Springer Japan; 2016 Jun;19(2):128–33.
91. Aubron C, Cheng AC, Pilcher D, Leong T, Magrin G, Cooper DJ, et al. Infections acquired by adults who receive extracorporeal membrane oxygenation: risk factors and outcome. *Infect Control Hosp Epidemiol.* Cambridge University Press; 2013 Jan; 34(1):24–30.
92. O'Neill JM, Schutze GE, Heulitt MJ, Simpson PM, Taylor BJ. Nosocomial infections during extracorporeal membrane oxygenation. *Intensive Care Med.* 2001 Aug;27(8): 1247–53.
93. Otto KA. Therapeutic hypothermia applicable to cardiac surgery. *Vet Anaesth Analg.* 2015 Nov;42(6):559–69.
94. Allison SJ. Transplantation: Mild hypothermia improves transplantation outcomes. *Nat Rev Nephrol.* 2015 Oct;11(10):566–6.
95. Olthof PB, Reiniers MJ, Dirkes MC, Van Gulik TM, Heger M, Van Golen RF. Protective mechanisms of hypothermia in liver surgery and transplantation. *Mol Med.* 2015 Nov 3;21(1):1.
96. Tisherman MSA, Ornato PJP, Peberdy MA, Tisherman SA. Managing hypothermia during organ transplantation and cardiac arrest. *Ther Hypothermia Temp Manag.* Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA; 2013 Mar;3(1):7–10.
97. Vallabhajosyula S, Skiba JF, Hashmi F, Kashani KB. Cardiovascular Critical Care: Therapeutic Hypothermia, Atrial Fibrillation, and Cardiopulmonary Resuscitation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016 Sep 15;194(6):762–4.
98. Indridason A. Hypothermia. Random House; 2009. 1 p.
99. Schmidt-Schweda S, Ohler A, Post H, Pieske B. Moderate hypothermia for severe cardiogenic shock (COOL Shock Study I & II). *Resuscitation.* 2013 Mar;84(3):319–25.

100. Aibiki M, Maekawa S, Yokono S. Moderate hypothermia improves imbalances of thromboxane A2 and prostaglandin I2 production after traumatic brain injury in humans. *Crit Care Med*. 2000 Dec;28(12):3902–6.
101. Pogliani L, Battaglioli M, Marangione P, Porcelli F, Introvini P, Compagnoni G. [Hypothermia: clinical application]. *Pediatr Med Chir*. 2002 Nov;24(6):463–6.
102. Mayer SA. Hypothermia for neuroprotection after cardiac arrest. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2002 Nov;2(6):525–6.
103. Perciaccante JV, Domoki F, Puskar M, Busija DW. Effects of hypothermia on neuronal-vascular function after cerebral ischemia in piglets. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. American Physiological Society; 2002 Dec;283(6):R1362–7.
104. Kim Y-M, Lee SJ, Jo SJ, Park KN. Implementation of the guidelines for targeted temperature management after cardiac arrest: a longitudinal qualitative study of barriers and facilitators perceived by hospital resuscitation champions. *BMJ Open*. British Medical Journal Publishing Group; 2016;6(1):e009261.
105. Pozos RS, Born DO. Hypothermia, causes, effects, prevention. 1982. 1 p.
106. Dietrichs ES, Dietrichs E. Neuroprotective effects of hypothermia. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2015 Oct 6;135(18):1646–51.
107. Talma N, Kok WF, de Veij Mestdagh CF, Shanbhag NC, Bouma HR, Henning RH. Neuroprotective hypothermia - Why keep your head cool during ischemia and reperfusion. *Biochim Biophys Acta*. 2016 Nov;1860(11 Pt A):2521–8.
108. Liu L, Yenari MA. Therapeutic hypothermia: neuroprotective mechanisms. *Front Biosci*. 2007 Jan 1;12:816–25.
109. Darwazeh R, Yan Y. Mild hypothermia as a treatment for central nervous system injuries: Positive or negative effects. *Neural Regen Res*. 2013 Oct 5;8(28):2677–86.
110. Villablanca PA, Rao G, Briceno DF, Lombardo M, Ramakrishna H, Bortnick A, et al. Therapeutic hypothermia in ST elevation myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis of randomised control trials. *Heart*. 2016 May;102(9):712–9.
111. Tissier R, Ghaleh B, Cohen MV, Downey JM, Berdeaux A. Myocardial protection with mild hypothermia. *Cardiovasc Res*. The Oxford University Press; 2012 May 1;94(2):217–25.
112. Huynh K. Cardioprotection: Therapeutic hypothermia in STEMI. *Nat Rev Cardiol*. 2016 Apr;13(4):183–3.
113. Chavez LO, Leon M, Einav S, Varon J. Editor's Choice- Inside the cold heart: A review of therapeutic hypothermia cardioprotection. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2015 Dec 29.

114. Polderman KH, Noc M, Beishuizen A, Biermann H, Girbes ARJ, Tully GW, et al. Ultrarapid Induction of Hypothermia Using Continuous Automated Peritoneal Lavage With Ice-Cold Fluids: Final Results of the Cooling for Cardiac Arrest or Acute ST-Elevation Myocardial Infarction Trial. *Crit Care Med*. 2015 Oct;43(10):2191–201.
115. Uribarri A, Bueno H, Pérez-Castellanos A, Loughlin G, Sousa I, Viana-Tejedor A, et al. Impact of time to cooling initiation and time to target temperature in patients treated with hypothermia after cardiac arrest. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2015 Aug;4(4):365–72.
116. Baines CP. The mitochondrial permeability transition pore and ischemia-reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*. D. Steinkopff-Verlag; 2009 Mar;104(2):181–8.
117. Di Lisa F, Bernardi P. Modulation of Mitochondrial Permeability Transition in Ischemia-Reperfusion Injury of the Heart. Advantages and Limitations. *Curr Med Chem*. 2015;22(20):2480–7.
118. Xiong W, Xu S, Li H, Liang K. Moderate hypothermia ameliorates enterocyte mitochondrial dysfunction in severe shock and reperfusion. *J Surg Res*. 2016 Jan; 200(1):250–9.
119. Nakajima Y. Controversies in the temperature management of critically ill patients. *J Anesth*. 2016 Oct;30(5):873–83.
120. Spiel AO, Kliegel A, Janata A, Uray T, Mayr FB, Laggner AN, et al. Hemostasis in cardiac arrest patients treated with mild hypothermia initiated by cold fluids. *Resuscitation*. 2009 Jul;80(7):762–5.
121. Wang C-H, Chen N-C, Tsai M-S, Yu P-H, Wang A-Y, Chang W-T, et al. Therapeutic Hypothermia and the Risk of Hemorrhage: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Nov;94(47):e2152.
122. Schefold JC, Storm C, Joerres A, Hasper D. Mild therapeutic hypothermia after cardiac arrest and the risk of bleeding in patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol*. Elsevier; 2009 Mar 6;132(3):387–91.
123. McAnulty PA, Dayan AD, Ganderup N-C, Hastings KL. *The Minipig in Biomedical Research*. CRC Press; 2011. 1 p.
124. Power JM, Tonkin AM. Large animal models of heart failure. *Aust N Z J Med*. 1999 Jun;29(3):395–402.
125. Smerup M, Pedersen TF, Nyboe C, Funder JA, Christensen TD, Nielsen SL, et al. A long-term porcine model for evaluation of prosthetic heart valves. *Heart Surg Forum*. 2004 Jun 1;7(4):E259–64.
126. Rubertsson S, Karlsson T, Wiklund L. Systemic oxygen uptake during experimental closed-chest cardiopulmonary resuscitation using air or pure oxygen ventilation. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1998 Jan;42(1):32–8.

127. Hamlin SK, Parmley CL, Hanneman SK. Microcirculatory alterations in shock states. *Crit Care Nurs Clin North Am.* 2014 Sep;26(3):399–412.
128. Zobel C, Adler C, Kranz A, Seck C, Pfister R, Hellmich M, et al. Mild therapeutic hypothermia in cardiogenic shock syndrome. *Crit Care Med.* 2012 Jun;40(6):1715–23.
129. Riessen R, Tschritter O, Janssens U, Haap M. [Catecholamines: pro and contra]. *Med Klin Intensivmed Notfmed.* Springer Berlin Heidelberg; 2016 Feb;111(1):37–46.
130. Ferguson-Myrthil N. Vasopressor use in adult patients. *Cardiol Rev.* 2012 May;20(3):153–8.
131. Guo Q, Tan X, Cai H, Lei B, Xu Q. [Influence of moderate hypothermia on the contents of 6-KETO-PGF1 alpha and TXB2 in brain tissues after cardiac arrest and resuscitation in dogs]. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 1998;23(4):369–71.
132. Morel DR, Lowenstein E, Nguyenduy T, Robinson DR, Repine JE, Chenoweth DE, et al. Acute pulmonary vasoconstriction and thromboxane release during protamine reversal of heparin anticoagulation in awake sheep. Evidence for the role of reactive oxygen metabolites following nonimmunological complement activation. *Circ Res.* American Heart Association, Inc; 1988 May 1;62(5):905–15.
133. Smith EF, Lefer AM, Nicolaou KC. Mechanism of coronary vasoconstriction induced by carbocyclic thromboxane A2. *Am J Physiol.* American Physiological Society; 1981 Apr;240(4):H493–7.
134. Tate RM, Morris HG, Schroeder WR, Repine JE. Oxygen metabolites stimulate thromboxane production and vasoconstriction in isolated saline-perfused rabbit lungs. *Journal of Clinical Investigation.* American Society for Clinical Investigation; 1984 Aug 1;74(2):608–13.
135. Alogna A, Manninger M, Schwarzl M, Zirngast B, Steendijk P, Verderber J, et al. Inotropic Effects of Experimental Hyperthermia and Hypothermia on Left Ventricular Function in Pigs-Comparison With Dobutamine. *Crit Care Med.* 2016 Mar;44(3):e158–67.
136. Weisser J, Martin J, Bisping E, Maier LS, Beyersdorf F, Hasenfuss G, et al. Influence of mild hypothermia on myocardial contractility and circulatory function. *Basic Res Cardiol.* Steinkopff-Verlag; 2001;96(2):198–205.
137. Jiang L, Hu C-L, Wang Z-P, Li Y-P, Qin J. Prearrest hypothermia improved defibrillation and cardiac function in a rabbit ventricular fibrillation model. *Am J Emerg Med.* Elsevier; 2015 Oct;33(10):1385–90.
138. Rhee BJ, Zhang Y, Boddicker KA, Davies LR, Kerber RE. Effect of hypothermia on transthoracic defibrillation in a swine model. *Resuscitation.* 2005 Apr;65(1):79–85.
139. Kander T, Brokopp J, Friberg H, Schött U. Wide temperature range testing with

ROTEM coagulation analyses. *Ther Hypothermia Temp Manag.* Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA; 2014 Sep;4(3): 125–30.

140. Martini WZ, Cortez DS, Dubick MA, Park MS, Holcomb JB. Thrombelastography is Better Than PT, aPTT, and Activated Clotting Time in Detecting Clinically Relevant Clotting Abnormalities After Hypothermia, Hemorrhagic Shock and Resuscitation in Pigs. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery.* 2008 Sep 1;65(3):535–43.
141. Beurton A, Ducrocq N, Auchet T, Joineau-Groubatch F, Falanga A, Kimmoun A, et al. Beneficial Effects of Norepinephrine Alone on Cardiovascular Function and Tissue Oxygenation in a Pig Model of Cardiogenic Shock. *Shock.* 2016 Aug;46(2): 214–8.

6 Résumé

Le choc cardiogénique est une pathologie grave pouvant mettre rapidement le pronostic vital du patient en jeu. Malgré de nombreux progrès réalisés dans sa prise en charge, la mortalité liée à cette affection reste très élevée. Une des avancées importantes dans le traitement du choc cardiogénique développée ces dernières années est l'ECMO. Mais force est de constater, que malgré la restauration d'un flux circulatoire adéquat, nous restons confrontés à une mortalité élevée chez ces malades.

La première partie de cette thèse est un rappel des principaux concepts du choc cardiogénique et de l'ECMO ainsi qu'un rappel des effets de l'hypothermie.

Nous rapportons dans la deuxième partie notre recherche expérimentale chez le cochon qui a permis de mettre en évidence un effet bénéfique de l'hypothermie sur la fonction cardiaque et sur la réactivité vasculaire chez les animaux en choc cardiogénique traités par une ECMO.

Dans la troisième partie, nous discutons et analysons nos résultats en essayant d'apporter des explications physiologiques.

7 Summary

Cardiogenic shock is still considered as a severe medical condition. Despite much progress in the treatment of the cardiogenic shock, this disease is still associated with a high mortality. An important advance in the treatment of the cardiogenic shock is the use of ECMO. However, despite the restoration of a proper circulatory flow, we are still facing significant mortality in these patients.

The first part of this manuscript is a reminder of the main concepts of the cardiogenic shock and ECMO and the concept of hypothermia.

In the second part we report the results of our experimental research who highlighted a beneficial effect of hypothermia in cardiac function and vascular reactivity in animals in cardiogenic shock treated by ECMO.

In the third part we discuss our results and we try to rapport physiological explications of our results.