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 **LUO Yun**

Optimisation des thérapeutiques du choc cardiogénique :

conséquences métaboliques, microcirculatoires et inflammatoires d'une assistance circulatoire à objectif de débit d'ECMO bas *versus* standard dans un modèle porcin d'arrêt cardiaque réfractaire réanimé

le 12, octobre 2018

Membres du jury :

Rapporteurs :	**Monsieur Alain CARIOU**	**PU-PH, INSERM U970. Paris**
	Madame Mercé JOURDAIN	**PU-PH, Université de Lille. Lille**
Examinateurs :	**Madame Anne PIZARD**	**Chargée de recherche, INSERM 1024, IBENS. Paris**
	Monsieur Francis SCHNEIDER	**PU-PH, INSERM U1121. Strasbourg**
Directeur de thèse :	**Monsieur Bruno LEVY**	**PU-PH, INSERM U1116. Nancy**
Co-directeur:	**Monsieur Nguyen TRAN**	**MCU, École de chirurgie. Nancy**
Invité :	**Monsieur Juan-Pablo MAUREIRA**	**PU-PH, Université de Lorraine. Nancy**

Travaux effectués au sein du Groupe Choc, INSERM U1116 et l'École de chirurgie – Faculté de médecine de Nancy, 9 avenue de la Forêt de Haye, BP184, 54505, Vandœuvre- lès-Nancy Cedex.

Remerciements

Je tiens à remercier mon directeur de thèse Monsieur Bruno LEVY, professeur à l'Université de Lorraine, qui m'a confié ce travail et m'a encadré au long de cette thèse. Je suis ravie d'avoir travaillé sous son autorité scientifique, car outre son appui technique, il a toujours été là pour me soutenir et me conseiller chaque fois que j'ai eu besoin de son aide.

Je tiens aussi à remercier Monsieur Nguyen TRAN, mon co-directeur de thèse, pour m'avoir accueilli à l'école de chirurgie et m'avoir permis d'effectuer mes travaux dans une ambiance exceptionnelle. Je le remercie aussi pour son attention de tous les instants envers mes travaux.

J'adresse mes remerciements au Docteur Patrick LACOLLEY, pour m'avoir accueilli pendant quatre ans au sein de son laboratoire. Ses observations, son ouverture d'esprit et sa franchise sont autant d'éléments qui m'ont permis d'atteindre mes objectifs.

J'exprime ma gratitude à Professeur Alain CARIOU pour le grand honneur qu'il m'a fait d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse en qualité de rapporteur. Je tiens à lui exprimer ma profonde reconnaissance pour l'intérêt porté à ce travail.

J'exprime ma gratitude à Madame la Professeur Mercé JOURDAIN pour le grand honneur qu'elle m'a fait d'avoir acceptée de participer à mon jury de thèse en qualité de rapporteur. Je tiens à lui exprimer ma profonde reconnaissance pour l'intérêt porté à ce travail.

J'exprime ma gratitude au Professeur Francis SCHNEIDER, Professeur Juan-Pablo MAUREIRA, Professeur Anne PIZARD pour le grand honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'être membres de mon jury de thèse en qualité d'examinateur.

Je tiens à remercier particulièrement Caroline FRITZ, médecin au sein du service de réanimation, pour toute son aide désintéressée. Je suis ravie d'avoir travaillé en sa compagnie car, outre son soutien sans faille, elle a fait tout ce qu'elle pouvait faire pour m'aider tout au long de ma thèse. Cette thèse est le fruit d'une collaboration avec elle.

Il m'est impossible d'oublier le Docteur Daniel GRANDMOUGIN pour son aide précieuse concernant la partie chirurgicale de l'expérimentation animale. Il a toujours fait tout son possible pour m'aider. Je tiens à lui exprimer mon admiration pour son enthousiasme et son humanité.

Merci aussi à Frédérique, Aude, Antoine, Brice, Vanessa, et tous les membres de l'école de chirurgie, pour leurs implications dans le projet et le temps qu'ils ont consacré. Ils sont les personnes les plus gentilles et les plus aimables que j'ai vues.

Merci au Professeur Eliane ALBUISSON, pour le temps qu'elle a consacré à l'étude statistique. Elle m'a beaucoup appris. J'ai pris grand plaisir à travailler avec elle.

Je pense à ainsi tous les membres de l'unité INSERM U1116, Véronique, Huguette, Nathalie, Cécile, Antoine, Audrey, John, Simon, Mélusine, Morel, Camille, Zohor, que j'ai côtoyés et avec qui j'ai eu tant de plaisir à partager ces moments de travail pendant quatre ans. Merci à Manon particulièrement pour son aide sur les corrections dans mon manuscrit.

Merci à Nefissa pour son implication dans le projet. Son optimisme, ses capacites de travail et son sérieux m'ont laissé une profonde impression. Je suis ravie d'avoir travaillé avec elle pendant son stage de Master 2.

Merci à mes compatriotes, plus particulièrement à Mengmeng, Pan, Yu, Caifeng, Jie, Xing, ainsi que les autres qui sont déjà rentrés en Chine, pour leur amitié sincère, leur compagnie précieuse, leur soutien permanent et pour tous les bons moments partagés.

Je voudrais remercier mon cher mari, sans qui cette thèse n'aurait sans doute pas été possible. Je le remercie pour ses précieux soutiens, son écoute et son amour. Qu'il soit assuré de mon immense gratitude.

Mon fils, Yichuan, mon cœur et mon ange, je suis désolée d'avoir été absente dans ton enfance pendant 5 ans. Tes amours, ta compréhension et ta sagesse, m'ont permis d'aboutir à la réalisation de ce travail. Cette thèse est pour toi.

Merci à tous les autres que je ne peux citer tant la liste est longue, mais que je n'oublie pas……

Je remercie le FEDER pour m'avoir permis de réaliser des travaux de recherche sur un projet de thèse soutenue le 12 octobre 2018.

UNION EUROPÉENNE
Fonds Européen de Développement Régional

Liste des publications

Articles:

1. **Yun Luo**, Caroline Fritz, Nefissa Hammache, Daniel Grandmougin, Antoine Kimmoun, Sophie Orlowski, N'Guyen Tran, Eliane Albuisson, Bruno Levy. Low versus standard-blood-flow reperfusion strategy in a pig model of refractory cardiac arrest resuscitated with Extra Corporeal Membrane Oxygenation. **Resuscitation.** 2018 Sep 20;133:12-17. doi: 10.1016/j.resuscitation.2018.09.014. [Epub ahead of print]

2. D. Grandmougin, JM Casse, A. Chalon, **Y. Luo,** …N. Tran. Development of a porcine beating-heart model of self-myocardial retroperfusion: Evaluation of hemodynamic and cardiac responses to ischemia and clinical applications. **J Cardiovasc Surg.** 2018 Jun;59(3):438-452.

Communications orales :

1. **Paris, 11 au 13 janvier 2018**. Congrès de la Société de Réanimation de Langue Française (SRLF). Conséquences métaboliques, microcirculatoires et inflammatoires d'une assistance circulatoire à objectif de débit d'ECMO bas versus standard dans un modèle porcin d'arrêt cardiaque réfractaire réanimé.

2. **Strasbourg, 12 au 14 Avril 2018**. 67th International Congress Of The European Society For Cardiovascular Endovascular Surgery (ESCVS). Low versus standard-blood-flow reperfusion strategy in experimental ischemic refractory cardiac arrest resuscitated with Extracorporeal Life Support.

Table de matières

LISTE DES ABREVIATIONS **5**

LISTE DES TABLEAUX **8**

LISTE DES FIGURES **9**

INTRODUCTION **12**

1. ARRETE CARDIAQUE-RESPIRATOIRE **16**

1.1 Définition et épidémiologie 16

1.2 Étiologies 17

1.3 Prise en charge de l'ACR 18

1.3.1 Massage cardiaque *19*

1.3.2 Mode ventilatoire lors de la réanimation cardio-pulmonaire *19*

1.4 Physiopathologie simplifiée de l'ACR 22

1.5 ACR réfractaire 23

2. ECMO **25**

2.1 Principe de l'ECMO 25

2.2 Composition de l'ECMO 26

2.3. Prise en charge pendant ECMO 28

2.4 Les effets hémodynamiques de l'ECMO 30

2. 5 L'ECMO dans l'ACR réfractaire 31

3. SYNDROME POST-ACR **44**

3.1 Physiopathologie générale de l'ischémie-reperfusion 44

3.2 La réponse inflammatoire à l'ECMO 47

3.3 Altération microvasculaire en état de choc 49

3.4 Manifestation clinique du syndrome post arrêt cardiaque 51

3.4.1 Choc cardiogénique 51

3.4.2 Choc vasoplégique 53

3.4.3 Lésions neurologiques post arrêt cardiaque 54

3.5 Thérapeutiques en post-AC 54

ÉTUDE EXPERIMENTAL 58

1. HYPOTHESES ET OBJECTIF 59

2. MATERIEL ET METHODES 61

2.1 Éthique 61

2.2 Protocole expérimental 62

2.2.1 Induction d'anesthésie 62

2.2.2 Monitorage et phase chirurgicale 62

2.2.3 Phase de stabilisation de l'animal 65

2.2.4 Réalisation de l'arrêt cardiaque d'origine ischémique et RCP 65

2.2.5 Réanimation de l'arrêt cardiaque 65

2.2.6 Groupes d'expérimentation randomisé 66

2.2.7 Assistance cardiaque 67

2.2.8 Poursuite du protocole 67

2.2.9 Paramètres évalué 68

2.2.10 Critères d'exclusion 68

2.3 Techniques principales 70

2.3.1 Sidestream Dark Field (SDF) 70

2.3.2 Spectroscopie de proche infrarouge (NIRS) 74

2.3.3 La courbe noradrénaline dose-réponse 78

2.3.4 ELISA et le microarray de cytokine 78

2.4 Méthodes statistique 82

3. RESULTATS 83

3.1 Caractérisation de la population basale 83

3.2 Caractérisation de l'arrêt cardiaque dans les deux populations 85

3.3 Paramètres de la population du choc post-arrêt cardiaque 85

3.4 Évolution sur les six heures de suivi 86

3.4.1 Paramètre hémodynamique 86

3.4.2 Débit carotidien 87

3.4.3 Lactate de la clairance de lactate 88

3.4.4 Quantité de noradrénaline et de fluide perfusée durant le protocole 89

3.4.5 Gaz du sang 91

3.4.7 Oxygénation tissulaire 95

3.4.8 Fonction d'organe 97

3.4.9 Réponse inflammatoire 99

4. DISCUSSION 103

4.1 Synthèse des résultats 103

4.2 Discussion de la méthodologie et des résultats 104

4.2.1 Modèle animal 104

4.2.2L'état de choc après le E-CRP 105

4.2.3 Lactatémie et la clairance du lactate 106

4.2.4 Microcirculation 107

4.2.5 Réponse inflammatoire / lésion ischémie/reperfusion 108

4.3 Limite d'étude 110

5. CONCLUSION 113

ANNEXES 131

ANNEX I. 131

ANNEX II. 132

LISTE DES ABREVIATIONS

AC	**:**	arrêt cardiaque
ACHH	**:**	arrêt cardiaque hors de l'hôpital
ACR	**:**	arrêt cardiaque-respiratoire
AHA	**:**	American Heart association
ALAT	**:**	alanine Amin transférase
ASAT	**:**	aspartate Amin transférase
BAVU	**:**	ballon auto-remplisseur à valve unidirectionnelle
B-CARD	**:**	Boussignac cardiac arrest ressuscitation devide
CC	**:**	choc cardiogénique
CEC	**:**	circulation extracorporelle
CEE	**:**	choc électrique externe
CFI	**:**	insufflation à débit continu
CPV	**:**	cardiopulmonaire ventilation
Cr	**:**	créatinine
CT	**:**	compression thoracique
DB	**:**	groupe débit bas
DC	**:**	débit cardiaque
DS	**:**	groupe débit standard
DSC	**:**	débit sanguin carotidien
ECLS	**:**	Extracorporeal Life Support
ECMO	**:**	ExtraCorporeal Membrane Oxygenation
EGG	**:**	électrocardiographique
ELISA	**:**	enzyme-linked immunosorbent assay
ELSO	**:**	Extracorporeal life Support organisation
E-RCP	**:**	réanimation cardio-pulmonaire par ECMO
ERO	**:**	espèce réactive de l'oxygène
EtCO2	**:**	concentration télé-expiration de CO_2
FC	**:**	fréquence cardiaque

FCD	**:**	densité capillaire fonctionnel
FiO2	**:**	fraction inspire en oxygène
FR	**:**	fréquence respiratoire
FV	**:**	fibrillation ventriculaire
GDS	**:**	gaz du sang
GM-CSF	**:**	Facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages
HIF	**:**	facteur hypoxia-inducible
HITT	**:**	thrombocytopénie induite par l'héparine
I/E	**:**	rapport inspire/expire
I/R	**:**	ischémie/reperfusion
IFN-γ	**:**	interféron gamma
IHCA	**:**	arrêt cardiaque intra hospitalier
IL	**:**	interleukine
ILCOR	**:**	international liaison committe on resuscitation
IQR	**:**	interquartile range
IVA	**:**	artère interventriculaire antérieur
IVD	**:**	intraveineux direct
LED	**:**	dilde électroluminescente
LVDP	**:**	left ventricular developed pressure
MCE	**:**	massage cardiaque externe
MFI	**:**	index de flux microvasculaire
NADH	**:**	nicotinamide adenine dinucleotide
NF-κB	**:**	facteur nucléaire -κB
NIRS	**:**	Spectroscopie de proche infrarouge
NO	**:**	oxyde nitrique
OHCA	**:**	arrêt cardiaque extra hospitalier
PAD	**:**	pression artérielle diastolique
PAM	**:**	pression artérielle moyenne
PAM	**:**	pression artérielle moyenne

PARC : plateforme d'aide à la recherche clinique

PAS : pression artérielle systolique

PEP : pression expiration positive

PHD : prolylhydrolase

PIT : pression intra thoracique

PPV : proportion des vaisseaux perfusés

PVD : densité des vaisseaux perfusés

RACS : retour à une activité cardiaque spontanée

RCP : réanimation cardio-pulmonaire

SDF : Sidestream Dark Field Imaging

SSC : sepsis survive compaign

StO2 : saturation d'oxygène tissulaire

TCA : temps de céphaline activée

TLR4 : toll like receptor 4

TNF-α : facteur de nécrose tumorale

TnI : troponine I

TOV : test d'occlusion vasculaire

TP : torsade de pointes

TV : tachycardie ventriculaire

TVD : densité des vaisseaux totale

VA-ECMO : veino-artériel ECMO

VG : ventricule gauche

VT : volume courant

VV-ECMO : veino-veineuse ECMO

LISTE DES TABLEAUX

Table 1. Causes de l'arrêt cardiaque 17

Table 2. Revue de la littérature clinique concernant la place de l'ECMO-VA dans l'ACR réfractaire. 36

Table 3. Revue de la littérature expérimentale concernant l'utilisation de l'ECMO dans l'ACR réfractaire 39

Table 4. Approches thérapeutiques prometteuses ciblant l'ischémie et la reperfusion. (adapté de [67]) 57

Table 5. Les paramètres hémodynamiques, métaboliques, microcirculatoires and biologiques après l'ACR 84

Table 6. Caractéristiques du modèle de l'arrêt cardiaque ischémique. 85

Table 7. Concentration des cytokines pro et anti-inflammatoires au cours du protocole dans les deux groupes. 102

LISTE DES FIGURES

Figure 1. La chaine de la survie. 18

Figure 2. Ballon insufflateur à usage pour la réanimation 20

Figure 3. Le B-CARD dispositif. 21

Figure 4. Différentes phases de la prise en charge de l'ACR. 23

Figure 5. Registre international de l'utilisation de l'ECMO. 24

Figure 6. Schéma du circuit l'ECMO. 26

Figure 7. Le type d'ECMO (schéma de MAQUET ®) 27

Figure 8. L'effet hémodynamique de l'ECMO 31

Figure 9. Algorithme décisionnel d'indication d'une assistance circulatoire devant un ACR réfractaire. Issue de [3]. 32

Figure 10. La survie(a) et le résultat neurologique (b) des patients avec un arrêt cardiaque réfractaire à 30 jours. Issu de (41). 33

Figure 11. Schéma du mécanisme propose de lésion d'ischémie reperfusion dans un cardiomyocyte. 45

Figure 12. Conséquences de l'ischémie-reperfusion au cours du syndrome post-arrêt cardiaque(63). 46

Figure 13. Réponse inflammatoire à l'oxygénation membranaire extracorporelle (ECMO). Issue de (65). 48

Figure 14. Les différents types de l'altération microcirculatoire [74]. 50

Figure 15. Le paradigme physiopathologique du choc cardiogénique inclut la contribution potentielle des médiateurs inflammatoires (52). 52

Figure 16. Schéma des préparations chirurgicales 64

Figure 17. Schéma de la ligature de l'IVA 65

Figure 18. Schéma récapitulatif de prise en charge médicalisée de l'ACR selon le rythme initial. 66

Figure 19. Schéma récapitulatif du protocole expérimental 69

Figure 20. Schéma optique d'imagerie SDF. 71

Figure 21. Analyses d'image par AVA- l'évaluation du score de De Backer. 73

Figure 22. Analyse d'image par AVA - l'évaluation du score d'index de flux microvasculaire (MFI). 74

Figure 23. Schéma du principe de mesure de NIRS. 75

Figure 24. Évolution schématique de la StO_2 au cours d'un test d'occlusion vasculaire artérielle. 76

Figure 25. Le mesurèrent de la StO_2 par le dispositif de NIRS. 77

Figure 26. Les principaux du microarray de cytokine 80

Figure 27. La population de l'utilisation des animaux 83

Figure 28. (A) débit d'ECMO et (B) PAM pendant les 6 heures de protocole. 86

Figure 29. Évolution du débit carotidien par rapport à l'état basal 87

Figure 30. Evolution de la lactatémie au cours du protocole. 88

Figure 31. La clairance du lactate de H0 à H3 et de H0 à H6. 89

Figure 32. Dose totale de noradrénaline perfusée dans les deux groupes pendant la durée du protocole. 90

Figure 33.Courbe noradrénaline dose-réponse de la pression artérielle moyenne. 90

Figure 34. Évolution des paramètres du gaz du sang au cours de protocole. 92

Figure 35. Exemple d'image de microcirculation sublingual. 93

Figure 36. Évolution des paramètres de microcirculation mesurés par SDF au cours du protocole. 95

Figure 37. Évolution de variables du NIRS dans les deux groupes au cours du protocole. 96

Figure 38. Évolution des transaminases dans les deux groupes au cours du protocole. 97

Figure 39. Évolution de la créatinine et de l'urée au cours du protocole. 98

Figure 40. Évolution de la troponine au cours du protocole.....99

Figure 41. Évolutions des concentrations plasmatiques de cytokines inflammatoires 101

INTRODUCTION

L'arrêt cardio-respiratoire (ACR) est la principale cause de décès par maladie cardiovasculaire et demeure un problème majeur de santé publique. Près de 350 000 adultes subissent un arrêt cardiaque non traumatique en dehors des hôpitaux (OHCA) chaque année aux États-Unis, et le taux de survie à la sortie de l'hôpital reste désespérément pauvre, de 12%[1]. Les chiffres de l'ACR en France varient de 23 000 à 37 000 par an dans le contexte extrahospitalier[2].

La réanimation cardiopulmonaire (RCP) qui rassemble l'ensemble des méthodes thérapeutiques est proposée devant un ACR. La RCP permet souvent d'obtenir un retour à une activité cardiaque spontanée (RACS). De plus, la réanimation post-arrêt est également importante pour le pronostic et des progrès notables ont été obtenus ces dernières années.

L'ACR réfractaire peut être défini comme l'absence de RACS après au moins 30 minutes de RCP médicalisée en normothermie. Il aboutit à une impasse thérapeutique et à un décès inéluctable. Mais cette vision a changé ces dernières années, grâce à l'ECMO V-A (veino-artérielle extracorporeel membrane oxygenation) qui a été décrite comme une solution thérapeutique possible dans cette situation [3]. L'ECMO V-A appliquée en urgence lors d'un arrêt cardiaque réfractaire est appelée réanimation cardiopulmonaire extracorporelle (E-RCP). La E-RCP est un moyen de maintenir la perfusion systémique des organes terminal et de laisser du temps aux thérapies ciblées sur la pathologie déclenchante (telle une recanalisation coronairenne suite à un infarctus myocardique aigu par exemple). En outre, elle permet d'envidager une transition vers la récupération myocardique ou vers un dispositif d'assistance ventriculaire ou une greffe.

Selon les guidelines de l'American *Heart Association* (AHA) concernant la réanimation cardio-pulmonaire, l'E-RCP est recommandée chez les patients qui n'ont aucune réponse à la réanimation conventionnelle. Une étude internationale portant sur l'E-CPR lors d'un arrêt cardiaque refractaire en dehors de l'hôpital (OHCA), utilisant les données fournies par *Extracoporeal Life Support Organisation (ELSO*) révèle un taux de survie de 27.6%[4].

L'état hémodynamique post-E-RCP constitue une entité complexe qui résulte de plusieurs processus pathologiques associant le syndrome d'ischémie-reperfusion et l'insuffisance myocardique. La récupération du flux circulatoire par l'ECMO est associée à la production d'oxyde nitrique (NO) associé à un véritable orage de libération de cytokines [5]. La vasoplégie qui en résulte s'accompagne de la nécessité d'un remplissage vasculaire massif et de l'administration de vasopresseurs à hautes doses pour maintenir le débit sanguin de la pompe et la perfusion tissulaire [6][7].

La prise en charge dans les premières heures qui suivent l'initiation de l'ECMO est peu décrite dans la littérature. L'hypothermie prend une place de plus en plus importante dans le traitement du post-arrêt cardiaque. Vanhuyse et al [8] ont conformé qu'une hypothermie modéré et rapide peut améliorer la fonction cardiaque et vasculaire dans un modèle porcin de choc cardiogénique ischémique traité par ECMO. En revanche, Bergan et al [9] ont montré que l'hypothermie thérapeutique de deux heures au cours de l'E-RCP ne préserve ni la fonction cardiaque post-arrêt ni ne réduit la taille de la lésion myocardique, comparativement à l'E-RCP normothermique. La preservation de la fonction du ventricule gauche (VG) est essentielle chez les patients réanimés car la fonction cardiaque post-arrêt cardiaque est directement liée à la survie[10]. Ostadal et ses collègues [11] ont évalué l'effet de différents débits sanguins de l'ECMO sur la fonction VG. Ainsi, ses résultats démontrent qu'un haut

débit de perfusion (5 l/min) par l'ECMO V-A peut altérer la fonction du VG. Ainsi, pour atténuer l'effet négatif sur la fonction de VG, le débit du VA-ECMO devrait être théoriquement débuté au niveau le plus bas possible tout en restant compatible avec la restauration d'une perfusion tissulaire adéquate.

La pression artérielle moyenne (PAM) et le débit de la pompe extracorporelle sont deux paramètres essentiels sur les lesquels les médecins peuvent avoir une influence directe. Si une PAM cible de 65 mmHg est recommandé dans la prise en charge du sepsis en conformité avec les recommandation du groupe « *sepsis survive compaign,* SSC », il n'y a en revanche pas de consensus dans notre problématique. Nous avons en effet récemment démontré qu'une stratégie de PAM à 65 mmHg, comparé à une cible de PAM élevée dans les six premières heures de réanimation dans un modèle expérimental n'a pas entrainé d'amélioration hémodynamique ni de diminution de la quantité de liquide perfusé [12]. Concernant le débit sanguin de l'ECMO, le remplissage vasculaire et la norépinephrine pourraient améliorer la pression systémique moyenne et optimiser le fonctionnement de la pompe d'ECMO. Néanmoins, il n'y a aucune garantie que la restauration de ces variables hémodynamiques systémiques puisse également améliorer la perfusion microcirculatoire et tissulaire. Enfin, au niveau des organes, les effets du débit sanguin de la pompe et de la pression artérielle sont probablement différents. Par exemple, une perte de l'autorégulation du flux sanguin cérébral a été démontrée après un arrêt cardiaque. Dans la phase initiale de l'ECLS, le débit sanguin cérébral dépend fortement du débit sanguin de la pompe et peut nécessiter un flux sanguin plus élevé.

Par conséquent, l'utilisation d'un débit sanguin normal peut être associée à un syndrome d'ischémie/reperfusion (I/R) délétère, tout en améliorant la perfusion cérébrale. De l'autre côté, la réduction du débit sanguin de la pompe peut être

associée à une diminution du syndrome I/R mais aussi à une diminution de la perfusion cérébrale. Les effets sur la clairance du lactate et le débit sanguin microcirculatoire restant difficiles à anticiper.

1. ARRETE CARDIAQUE-RESPIRATOIRE

1.1 Définition et épidémiologie

L'arrêt cardiaque (AC), ou l'arrêt cardio-respiratoire (ACR), se caractérisent par une perte subite des fonctions cardiaques, de la respiration et de l'état de conscience, en rapport avec une interruption de l'activité électrique normale du cœur. Il résulte dans la majorité des cas d'un trouble du rythme cardiaque appelé fibrillation ventriculaire (FV). Ce trouble du rythme ventriculaire malin est le plus souvent lié à la constitution d'un infarctus du myocarde. En l'absence de prise en charge, les victimes décèdent souvent en quelques minutes.

L'incidence exacte de cette pathologie demeure difficile à préciser. Selon les statistiques concernant l'arrêt cardiaque aux États Unis, l'incidence de l'arrêt cardiaque en dehors de l'hôpital (OHCA) est de 350 000 cas en 2016 avec 12% de survie[1]. Si la population américaine compte, à ce jour, plus de 321 millions d'habitants contre 66 millions en France, l'incidence rapportée pour cette pathologie par les deux pays est similaire, respectivement entre 57~63/1000 000 et 66/100 000 cas, soit une incidence d'environ 50 000 cas par an en France [13]. En Chine, cependant, le taux de mort subite d'origine cardiaque n'était que de 40/100 000 à 50/100 000 cas. Cependant, malgré une population très importante en Chine, le nombre de décès est très élevé [14].

Malgré l'évolution des techniques de réanimation, le pronostic de l'ACR reste sombre. Les causes de décès restent toujours : 1) la défaillance multi-viscérale secondaire au syndrome post-arrêt cardiaque. 2) l'absence de récupération d'une activité cardio-circulatoire spontanée (RACS) durant la réanimation cardio-pulmonaire (RCP)

spécialisée. 3) un état de mort encéphalique ou un état pauci-relationnel par anoxie cérébrale prolongée.

1.2 Étiologies

Dans deux tiers des cas, l'origine de l'ACR est directement liée à une pathologie cardiaque, qu'elle soit coronarienne, purement myocardique, valvulaire ou inflammatoire. Plus rarement, l'étiologie est d'origine non cardiaque et alors liée à un toxique, un traumatisme sévère, une embolie pulmonaire ou une hémorragie massive (Table 1). En France, l'ACR touche majoritairement les hommes avec une moyenne d'âge de 65 ans. L'étiologie principale de l'ACR est la cardiopathie ischémique avec le syndrome coronarien aigu [15]. Le pronostic demeure sombre avec moins de 10% de survie avec ou sans séquelles[16].

De même, si la reconnaissance d'une étiologie spécifique à l'ACR ne change pas la prise en charge immédiate, en revanche la correction de la cause de cet ACR ou d'éléments pouvant favoriser une récidive, fait néanmoins partie de la prise en charge médicalisée et peut orienter la prise en charge après le RACS.

Table 1. Causes de l'arrêt cardiaque

Causes cardiaques: elle représentent 60~80% des étiologies -syndrome coronarien aigu -insuffisance cardiaque aigue ou chronique -tamponnade -embolie pulmonaire massive -troubles du rythme ou de la conduction
Causes métaboliques -hypo ou hyperkaliémie -hypercalcémies -acidose -hypoxie (détresses respiratoire d'origine thoracique ou neurologiques)

Causes médicamenteuses ou toxiques -Digitalique, Quinidinique... -inotropes négatifs (bétabloquants, inhibiteurs calciques...) -surdose de médicaments ou de drogues illicites
Autres -états de choc septiques, hypovolémiques, hémorragiques, hypothermiques, ou anaphylactiques.

1.3 Prise en charge de l'ACR

L'intervention devant l'ACR précoce constitue une véritable chaine de survie (figure 1), qui formalise et définit l'intervention à partir premier témoin d'un ACR. Elle est primordiale et permet d'améliorer le pronostic de la personne présentant un arrêt cardio-respiratoire.

Cette chaine de survie est destinée tant au grand publique, qu'aux secouriste professionnel. Le RCP médicalisée comprend le massage cardiaque externe, la ventilation, la défibrillation, l'utilisation de voie d'abord pour l 'injection de vasoconstricteurs et d'anti-arythmiques.

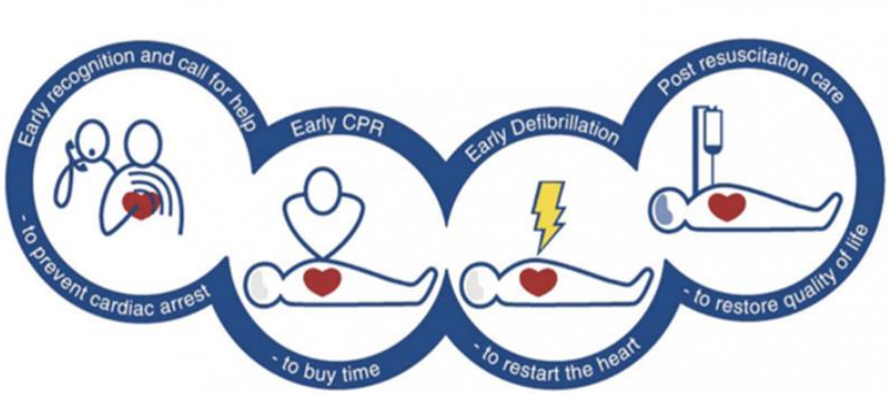


Figure 1. La chaine de la survie.

La chaine de la survie consiste en : 1er chainon : reconnaitre l'arrêt cardiaque et donner l'alerte ; 2ème chainon : débuter la réanimation cardio-pulmonaire de base ; 3ème chainon : défibrillation précoce ; 4ème chainon : réanimation cardio-pulmonaire spécialisée

Ces dernières années, de nouvelles techniques de réanimation cardio-pulmonaire sont apparues et utilisées régulièrement en clinique. Citons parmi ces techniques, les systèmes de compression mécaniques comme le système Autopulse ® et le système LUCAS, la sonde de B-CARD (Boussignac Cardiac Arrest Ressucitation Device) et le Mode CPV concernant la ventilation pendant le RCP. Mais l'apport le plus consequent reste l'utilisation de ECMO dans le traitement des arrêts cardiaques réfractaires.

1.3.1 Massage cardiaque

De nombreuses études ont montré l'importance de la profondeur des compressions thoraciques (CT) [17, 18] de la fréquence de ces compressions qui doit se situer entre 100 à 120/minute ainsi que de la relaxation thoracique [19]. De plus, les dernières recommandations insistent sur la limitation de la durée d'interruption du massage cardiaque externe (hands-off) [20].

L'arrêt cardiaque extrahospitalier est une pathologie nécessitant une prise en charge codifiée et efficace. Les patients éligibles à la mise en place d'une assistance circulatoire doivent être transportés sous massage cardiaque continu jusqu'à l'hôpital d'accueil [21]. La qualité du massage cardiaque externe manuel peut être mis en défaut par le facteur humain (fatigue, environnement notamment) et affecte la survie [22]. Les dispositifs mécaniques permettant d'assurer une RCP continue peuvent être une alternative très intéressante. Ces dispositifs semblent nécessaires dans les situations de transport longs et de ressources humaines limitées [23, 24].

1.3.2 Mode ventilatoire lors de la réanimation cardio-pulmonaire

Idéalement, les manœuvres de réanimation cardio-pulmonaire doivent combiner le massage cardiaque externe et l'insufflation d'oxygène. L'importance des insufflations

est fondamentale (une insufflation pour cinq compressions thoraciques). Berg et al. [25] ont également très bien montré que l'arrêt des compressions thoraciques pour effectuer deux insufflations réduisait à son minimum la pression de perfusion coronaire et que, pour revenir au niveau de pression de perfusion coronaire juste avant l'insufflation, il fallait entre neuf et dix compressions.

Lors de la RCP classique, la ventilation est administrée par un BAVU (ballon auto-remplisseur à valve unidirectionnelle) (Figure 2) à raison de 1 ou 2 cycles toutes les 30 CT (RCP 30:2) au masque et 8 à 10 fois par minute de façon asynchrone lorsque le patient est intubé [20].



Figure 2. Ballon insufflateur à usage pour la réanimation

Les deux stratégies présentent des effets adverses pour la circulation qui sont principalement liés à :

1. L'interruption des CT effectives lors d'une RCP 30:2 ou indirecte lorsque les insufflations sont délivrées de façon asynchrone 8 à 10.min^{-1}

2. L'augmentation de la pression intra thoracique liée aux insufflations vient s'opposer au retour veineux nécessaire pour que les CT génèrent du débit cardiaque [26].

Pour assurer une ventilation efficace pendant la RCP tout en évitant les effets adverses circulatoires de la ventilation, il a été proposé de synchroniser la ventilation aux CT de façon à ne pas les interrompre et d'éviter d'augmenter la pression intra-thoracique [27].

B-CARD (Boussignac Cardiac Arrest Resuscitation Device)

L'insufflation à débit continu (CFI) disponible sur une sonde d'intubation et depuis peu sous forme d'une valve à usage unique connectée sur la sonde d'intubation ou d'un masque (B- CARD, VYGON, Ecouen France) a fait l'objet de plusieurs études animales et cliniques [28, 29]. Cette technique permet d'assurer une oxygénation satisfaisante sans interrompre les CT. Cette valve a été développée pour l'oxygénation lors de la réanimation de l'arrêt cardiaque. La B-CARD (Boussignac Cardiac Arrest Resuscitation Device) (Figure 3) est un système ouvert non invasif permettant une insufflation continue d'oxygène pendant la réanimation cardio-pulmonaire (RCP). Ce dispositif fonctionne sur le principe d'une valve virtuelle générée par des jets convergents (accélération d'un débit d'oxygène via des micro-canalicules). La présence de cette dernière permet d'obtenir une pression intra-thoracique positive lors de la phase de compression du thorax et une pression intra-thoracique négative pendant la phase de décompression du thorax.



Figure 3. Le B-CARD dispositif.

Mode CPV (Cardio Pulmonary ventilation)

Plus récemment, un mode de ventilation (CPV) spécifiquement adapté à la situation de l'arrêt cardiaque a été développé sur un ventilateur à turbine (Monnal T60, ALMS, Antony France). Ce mode de ventilation régulé en pression permet de combiner CT en continues avec une ventilation régulée en pression pour éviter l'effet délétère d'une augmentation trop importante de la pression intra thoracique (PIT) à la fréquence de $10.min^{-1}$. Par la régulation des pressions pendant les CT, ce mode de ventilation permettrait d'amplifier les PIT pendant les CT tout en préservant une PIT nulle ou négative pendant la décompression thoracique pour préserver le retour veineux.

1.4 Physiopathologie simplifiée de l'ACR

L'ACR correspond à une absence d'activité mécanique du myocarde. Électriquement, cette inefficacité peut résulter de deux situations et relever d'une prise en charge médicale différente :

- Rythme choquable, telle que la fibrillation ventriculaire : cinq chocs électriques à 2 minutes d'intervalle et l'administration d'adrénaline et d'amiodarone lors du troisième et cinquième choc.
- Asystolie, administration d'adrénaline et massage cardiaque jusqu'à reprise d'un rythme choquable ou RACS. Ce type représente 70 à 75% des cas, pour lesquels la défibrillation est inefficace.

La durée d'ACR pré-réanimation est usuellement denommé par l'anglicisme « *no-flow* ». La durée du bas débit cardiaque qui résulte de la RCP est appelée le « *low-flow* ». Il est un préalable au retour à une activité circulatoire spontanée

(RACS). Toutefois, en l'absence de RACS, un arrêt cardiaque dit "réfractaire" était jusqu' à peu synonyme de décès inéluctable.

1.5 ACR réfractaire

L'ACR réfractaire est habituellement défini par l'absence de RACS après une période d'au moins 30 minutes de RCP médicalisée en normothermie [30]. Cette définition de l'ACR réfractaire est principalement utilisée pour envisager l'arrêt de la RCP devant une situation jugée sans aucun espoir de survie. L'assistance circulatoire extracorporelle, ou ECMO (extracorporeal membrane oxygenation) a été proposée au cours de la RCP des ACR réfractaires dès 1976 [31]. Le développement et la simplification de techniques d'ECMO ont permis une utilisation de celle-ci de plus en plus fréquente (Figure 4)[32].

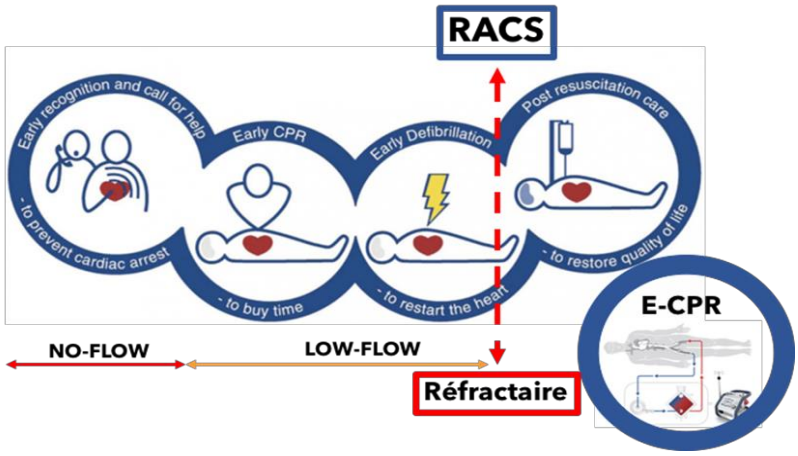


Figure 4. Différentes phases de la prise en charge de l'ACR.

RACS : retour à une activité circulation spontanée ; E-CPR, extracorporelle réanimation cardio-pulmonaire

Le rapport de l'ELSO démontre que l'utilisation globale de l'ECMO chez les adultes a augmenté rapidement depuis 2008. Plus récemment (janvier 2018), ce rapport indique 4745 cas de E-RCP chez les adultes, avec 30% de survie à la sortie ou au transfert de l'hôpital [33] (Figure 5).

Overall Outcomes

	Total Runs	Survived ECLS		Survived to DC or Transfer	
Neonatal					
Pulmonary	30,844	25,922	84%	22,599	73%
Cardiac	7,718	5,011	64%	3,231	41%
ECPR	1,694	1,125	66%	694	40%
Pediatric					
Pulmonary	8,739	5,890	67%	5,079	58%
Cardiac	10,332	7,088	68%	5,375	52%
ECPR	3,881	2,223	57%	1,643	42%
Adult					
Pulmonary	15,686	10,463	66%	9,264	59%
Cardiac	15,201	8,489	55%	6,379	41%
ECPR	4,745	1,830	38%	1,381	29%
Total	98,840	68,041	68%	55,645	56%

Centers

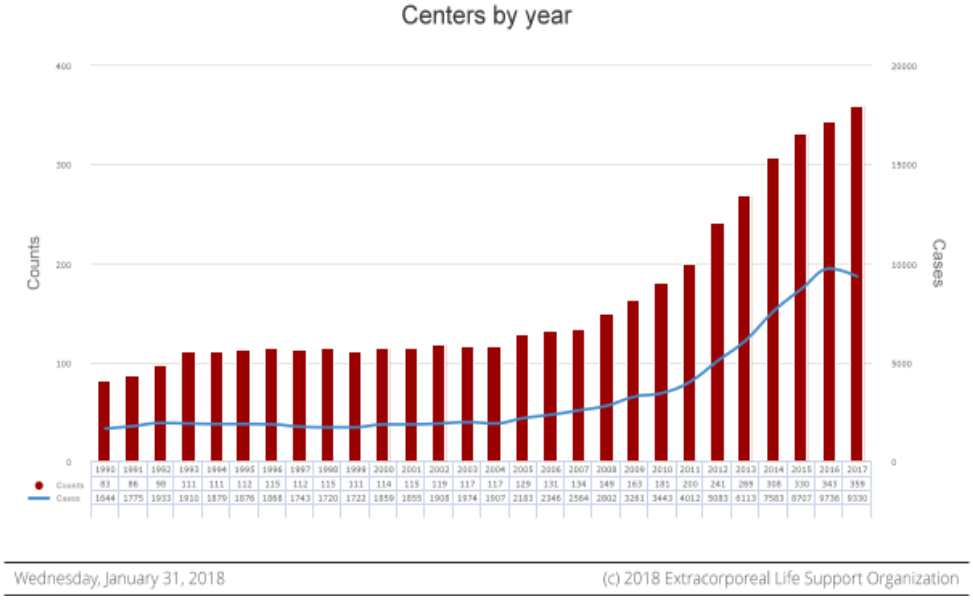


Figure 5. Registre international de l'utilisation de l'ECMO.

2. ECMO

2.1 Principe de l'ECMO

L'ECMO, ou oxygénation par membrane extracorporelle, est une technique d'assistance cardiaque et/ou respiratoire s'appuyant sur le principe de la circulatoire extracorporelle (CEC). La notion d'assistance circulatoire correspond aux différentes techniques d'assistance extracorporelle qui ont pour objectif de corriger la situation de défaillance circulatoire aigüe en maintenant un transport de l'oxygène tissulaire suffisant pour le métabolisme cellulaire anaérobie plutôt aérobie.

Dès les années 1930 à Philadelphie, Dr John Heysham Gibbon a commencé à travailler sur les techniques de circulation extracorporelle, ses recherches menant finalement au développement d'une machine cœur-poumon utilisée avec sucés en 1953. Depuis, chaque intervention à cœur ouvert a été réalisé sous circulatoire extracorporelle (CEC), bénéficiant au fil des années, de la modernisation des techniques d'assistance circulatoire.

Il fautdra attendre 1971 pour voir l'utilisation réussie d'un bypass cardiopulmonaire au chevet d'un patient. En 1975 le Dr Robert Bartlett et son équipe parviennent à sauver un nouveau-né, ayant inhalé du méconium, grâce à cette technique, marquant le début de l'ECMO. Au début, l'utilisation de l'ECMO chez les adultes ne montrait pas de résultat favorable. L'amélioration technologique et les progrès dans d'autres aspects de la réanimation ont amélioré la survie d'ECMO chez l'adulte. L'essai CESAR (*Conventional Ventilatory Support versus Extracorporeal Membrane Oxygenation for Severe Adult Respiratory Failure*) a montré l'amélioration de la survie chez les patients adultes atteints de syndrome de détresse respiratoire aiguë traité par ECMO pendant la pandémie H1N1[34][35]. La pandémie de grippe HIN1 a conduit

également de nombreux centres à s'équiper et à étendre les indications d'ECMO. Ces pratiques se sont élargies enfin vers de nouveaux champs d'application : l'ACR réfractaire.

2.2 Composition de l'ECMO

Le circuit d'ECMO se compose (Figure 6) :

- d'une canule d'aspiration (canule veineuse),
- d'une pompe centrifuge électrique,
- d'un oxygénateur à membrane
- d'une canule de réinjection du sang oxygéné (canule artérielle)
- de tubuleuse.

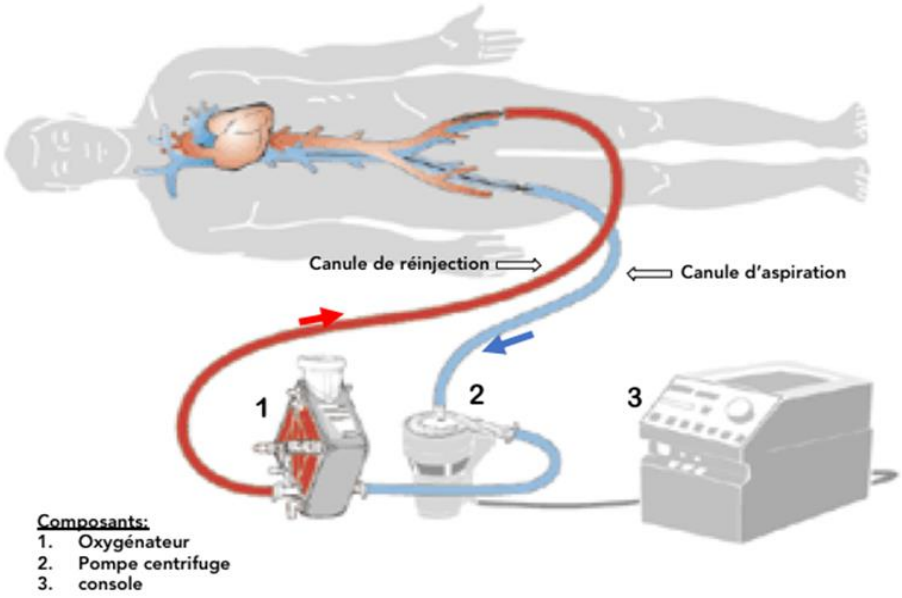


Figure 6. Schéma du circuit l'ECMO.

Le sang est draine à partir du système veineuse, et puis oxygéné et dicarbonylé à travers la membrane, et puis réinjecté dans la circulation systémique par une pompe centrifuge dont la rotation génère un débit continu.

La pompe centrifuge fonctionne avec une hélice magnétique qui génère un débit continu. L'oxygénateur à membrane permet à la fois d'éliminer le CO_2 et d'enrichir le sang en oxygène. L'extrémité distale de la canule veineuse (canule de drainage) est positionnée au niveau de l'oreillette droite. L'extrémité distale de la canule artérielle (réinjection) est positionnée dans l'artère iliaque commune ou dans l'aorte abdominale distale. A travers l'oxygénateur, l'hémoglobine est saturée en oxygène et le dioxyde de carbone est épuré en fonction du débit de gaz. Le débit d'ECMO est continu contrairement au débit cardiaque qui est pulsatile. Il est réglé grâce à la console et correspond à un nombre de tours par minutes qui diffère selon la volémie (pression de remplissage) et la post-charge (résistance à l'injection de la pompe).

Il existe deux types d'ECMO : veino-artérielle ECMO (VA-ECMO) pour la défaillance circulatoire avec ou sans défaillance respiratoire, et veino-veineuse ECMO (VV-ECMO) pour la défaillance respiratoire (Figure 7). On parle également d'ECLS (*extracorporeal life support*) pour les VA-ECMO mises en place pour un choc cardiogénique ou un arrêt cardiaque réfractaire.

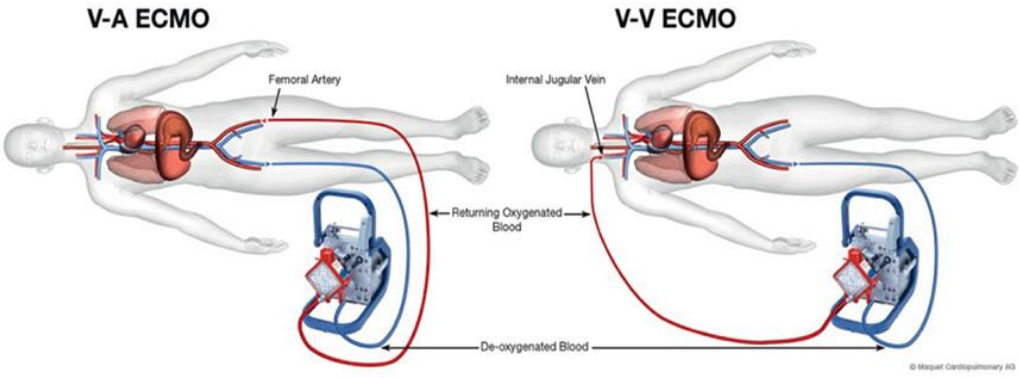


Figure 7. Le type d'ECMO (schéma de MAQUET ®)

V-A ECMO : ECMO veino- artérielle; V-V ECMO : ECMO veino-veineuse

Selon le site d'implantation de la canule d'ECMO, on parle d'ECMO centrale et d'ECMO périphérique. L'ECMO périphérique est l'un des modes VA-ECMO qui comprend généralement une canule artérielle placée dans l'artère fémorale droite pour la réinjection et une canule veineuse placée dans la veine fémorale commune pour l'extraction du sang. L'ECMO centrale se caractérise par une canulation centrale dans l'aorte ascendante, et est habituellement établie seulement pendant la chirurgie à cœur ouvert. L'ECMO périphérique est habituellement utilisé dans le choc cardiogénique et l'arrêt cardiaque.

2.3. Prise en charge pendant ECMO

Débit d'ECMO

Le débit sanguin théorique est réglé à $3L.m^{-2}.min^{-1}$ ($100\ ml.kg^{-1}.min^{-1}$ pour les nouveau-nés, $80\ ml.kg^{-1}.min^{-1}$ pour les enfants et $60\ ml.kg^{-1}.min^{-1}$ pour les adultes) pour l'assistance cardiaque [36]. Au démarrage de l'ECMO, le débit sanguin extracorporel est progressivement augmenté jusqu'à ce que le débit maximale soit atteint. Puis, le débit sanguin est réduit au niveau le plus bas afin de fournir une assistance optimale. Idéalement, pour la canulation veino-artérielle, le débit de la pompe diminue jusqu'à ce que la pression artérielle soit d'au moins 10 mmHg (pour assurer un débit continu dans le cœur et les poumons). En pratique cela est souvent impossible lorsque la fonction cardiaque est très dégradée. Pour l'ECMO veino-veineuse, une assistance efficace se caractérise par une saturation artérielle supérieure à 80%.

Oxygénation et la clairance du CO2

L'apport d'oxygène à partir du circuit d'ECMO doit être suffisant pour une assistance complète. La saturation veineuse devrait être de 20 à 30% inférieure à la saturation

artérielle. Le maintien d'un hématocrite à plus de 40% optimisera l'apport d'oxygène tout en permettant le débit sanguin le plus bas possible.

Le taux de transfert du CO_2 à travers la membrane est supérieur au taux de transfert d'oxygène et la clairance du CO_2 est contrôlee par le débit du gaz de balayage. Initialement, le rapport gaz/débit sanguin est réglé à 1 :1 et titré pour maintenir la PCO_2 au niveau souhaité.

Anticoagulation

L'anticoagulation pendant une ECMO est réalisée par de l'héparine non fractionnée pour obtenir un TCA entre deux et 2.5 fois le témoin ou une héparinémie entre 0.3 et 0.5 $UI.ml^{-1}$. L'héparine est administrée en bolus (50-100 $UI.kg^{-1}$) au moment de la canulation et par perfusion continue pendant l'ECMO. Il est essentiel de surveiller régulièrement le taux de plaquettes en raison du risque de thrombopénie induite par l'héparine (TIH) qui se caractérise par une chute brutale du nombre de plaquettes avec un test d'agrégation plaquettaire positif. Cette complication est certes rare mais redoutable car elle provoque la formation de thrombi plaquettaires avec ischémie multiples. La mise en évidence d'une TIH impose l'arrêt immédiat de l'héparine avec un relais par inhibiteur direct de la thromine (argatroban ou bivalirudin).

En cas de saignement majeur non contrôlable par un traitement spécifique, l'héparine est suspendue. Le seuil transfusionnel est fixé à 7 $g.dl^{-1}$ en l'absence de complications et la transfusion de plaquettes est déconseillée sauf en cas de thrombopénie majeure avec présence de saignements.

2.4 Les effets hémodynamiques de l'ECMO

Les réponses hémodynamiques à l'ECMO sont complexes et variables chez les patients et dépendent de nombreux facteurs. On s'intéresse plutôt aux effets hémodynamiques de VA-ECMO.

En générale, la VA-ECMO restaure rapidement le flux circulatoire et augmente la pression artérielle moyenne et la perfusion des organes. Au niveau du cœur, une étude expérimentale a montré que la pression systolique ventriculaire gauche augmentait progressivement malgré la diminution constante de la pression systolique artérielle lorsque le débit d'ECMO dépassait 60 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ [37]. Junji *et al.* [38] ont exploré la perfusion coronaire pendant l'ECMO et ont trouvé que la perfusion coronaire diminue à mesure que le débit VA-ECMO augmente. De plus, le sang oxygéné provenant du circuit d'ECMO ne passe pas de manière rétrograde depuis l'aorte ascendante jusqu'aux artères coronaires. La perfusion coronarienne ne provient donc que du sang éjecté par le ventricule gauche. Le VA-ECMO à haut débit exerce donc des effets hémodynamiques indésirables sur le ventricule gauche (Figure 8). La perfusion carotidienne pendant l'ECMO est influencée par le site de canulation artérielle. La canulation centrale a le meilleur bénéfice global au niveau de la perfusion carotidienne. Pour la canulation fémorale, la limite avec un débit cardiaque inférieure à 2 l/min était préjudiciable à la perfusion carotidienne. Indépendamment du site de canulation, le flux pulsatile est bénéfique pour la pression carotidienne avec un VG au repos et peut donc contribuer à réduire les complications neurologiques.

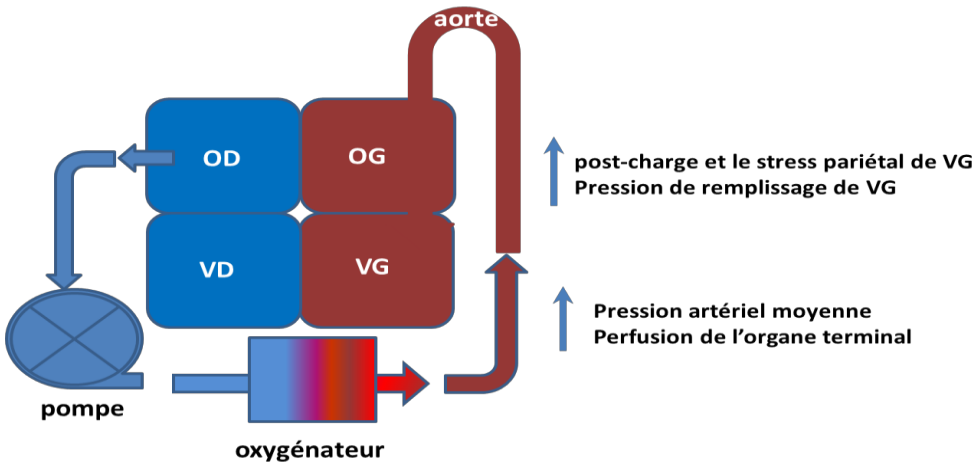


Figure 8. L'effet hémodynamique de l'ECMO

Au niveau de l'hémodynamique, l'ECMO V-A périphérique modifie les schémas de flux sanguin pulsatile et altère l'autorégulations cérébrale dans des modèles animaux avec des effets sur la réactivité endothéliale[39]. Cela signifie que, selon la configuration d'ECMO, la perfusion cérébrale varie avec le débit cardiaque et le débit d'ECMO pour une même pression artérielle.

2. 5 L'ECMO dans l'ACR réfractaire

Selon la conférence de consensus de 2009 [3], les patients éligibles à la mise sous ECMO doivent avoir un no-flow inférieur à 5 minutes et un *low-flow* inférieur à 100 minutes (temps prédit jusqu'à la mise en place de l'assistance cardiaque et la restauration d'un débit circulatoire). La mesure du CO_2 expiré ($EtCO_2$) qui reflète l'activité métabolique cellulaire ne doit pas être inférieur à 10 mmHg (Figure 9).

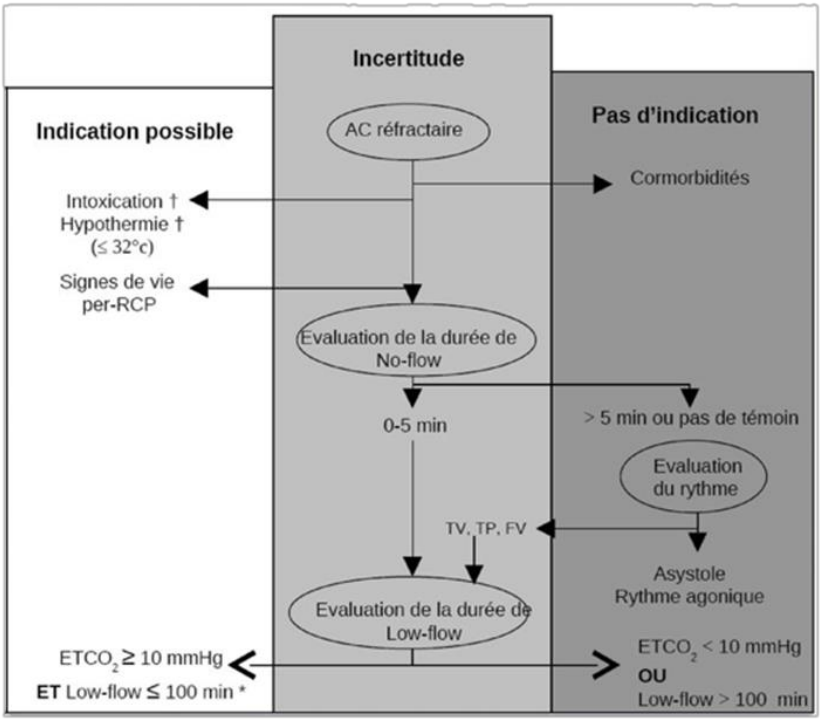


Figure 9. Algorithme décisionnel d'indication d'une assistance circulatoire devant un ACR réfractaire. Issue de [3].

RCP : réanimation cardio-pulmonaire ; TV : tachycardie ventriculaire ; FV : fibrillation ventriculaire ; TP : torsade de pointes. ETCO2 : concentration télé-expiratoire de CO2 (évaluée 20 min après le début de RCP médicalisée.).

Outres ces critères déjà anciens, de nombreuses équipes considèrent que le temps de no-flow doit être nul ou le plus court possible et que la réduction du temps de *low-flow* jusqu'à la mise en place effective de l'ECMO est un objectif prioritaire.

Selon les dernières recommandation de l'American *Heart Accociation* (AHA) concernant la réanimation cardio-pulmonaire, le E-RCP est recommandé chez les patients en arrêt cardiaque qui n'ont pas répondu à la RCP conventionnelle initiale dans des contextes où elle peut être rapidement mise en œuvre. Il ne devrait être envisagé que lorsque le patient a une probabilité raisonnablement élevée de survie,

dans les cas où le patient a une maladie potentiellement réversible ou pour permettre au patient d'attente d'une greffe cardiaque [40].

Bien qu'aucune étude majeure n'ait comparé l'E-RCP à la RCP conventionnelle, un certain nombre d'études de mineures suggèrent une survie améliorée avec des bons résultats neurologiques pour certaines populations de patients [41] (Figure 10).

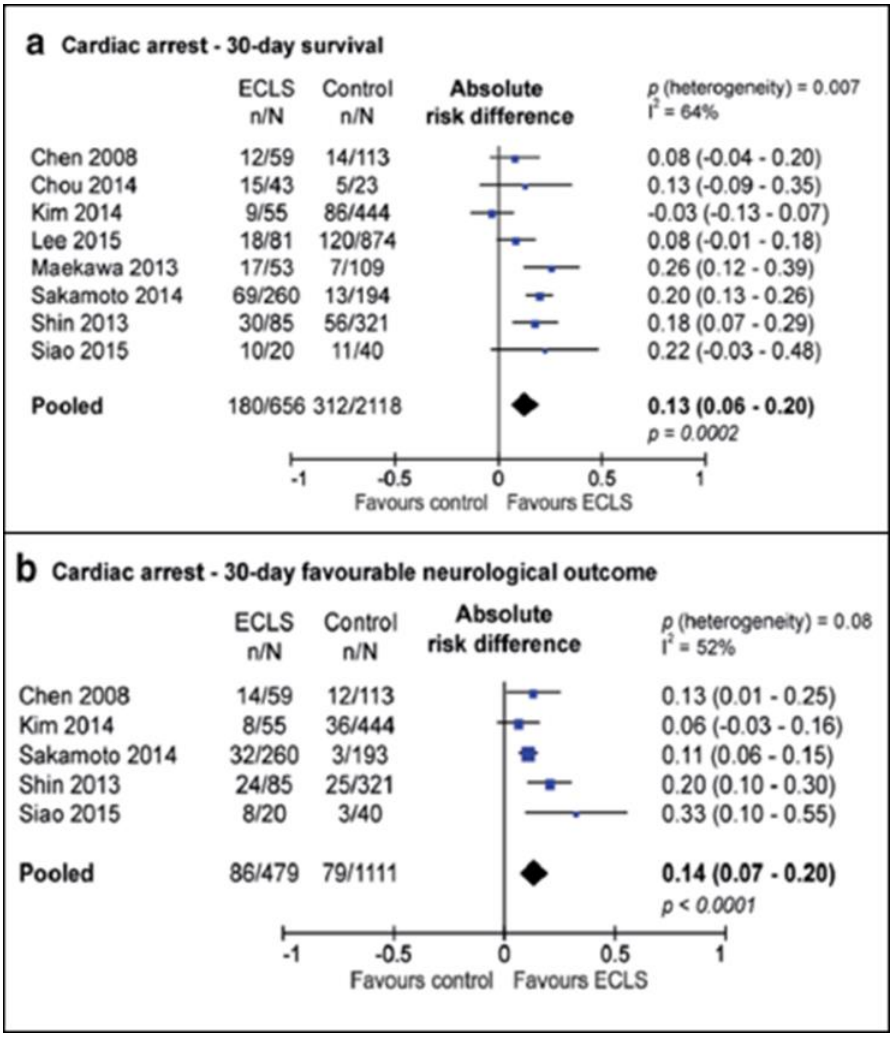


Figure 10. La survie(a) et le résultat neurologique (b) des patients avec un arrêt cardiaque réfractaire à 30 jours. Issu de (41).

Il y a une hétérogénéité marquée dans les études monocentrique observationnelles et descriptives en ce qui concerne l'étiologie de l'arrêt cardiaque, les caractéristiques de la population, la technique, la durée de suivi et le consequences neurologique (Table 2).

Concernant la définition de l'ACR réfractaire, des études françaises et une étude Autrichienne appliquent un délai de 30 minutes. Les délais, dans le reste des études, se situent entre 10~20 minutes.

Dans une étude publiée récemment en France, les auteurs ont comparé deux stratégies de gestion chronologique d'E-RCP : Au cours de la première période, l'ERCP a été indiquée chez des patients sélectionnés après 30 min de traitement de réanimation avancée; Au cours de la deuxième période, les soins aux patients reposaient sur l'instauration d'un ERCP précoce après 20 minutes de réanimation. Les résultats montrent que la survie dans la deuxième période est supérieure à la survie observée dans la première période. Cette étude suggère ainsi qu'une stratégie radicale d'ERCP est recommandée.

Concernant l'ACR extra hospitalier, les études illustrent également l'importance des délais de prise en charge sur la survie. Les résultats des deux études françaises montrent un taux de survie plus faible lorsque le *low-flow* est supérieur à deux heures, et reflètent la complexité de la mise en œuvre d'un protocole d'assistance circulatoire de l'ACR réfractaire.

Concernant la survie, les résultats de la littérature dans cette situation sont plus mitigés, avec des taux de survies variant de 50% à 4% [42, 43]. L'hétérogénéité des populations sélectionnées, en particulier sur le terrain des comorbidités et les variations de la durée du *no-flow* ou la moindre qualité de la RCP initiale par les

témoins non ou mal formés en extra hospitalier et les délais prolongés de la dégradation hémodynamique jusqu'au rétablissement d'un débit circulatoire efficace lors de la prise en charge extra hospitalière expliquent cette différence.

Des études expérimentales (Table 3), montre que le VA-ECMO semble améliorer les paramètres de réanimation des ACR réfractaire. Ainsi, on peut observer :

- un pourcentage de RACS qui augmente,
- une meilleure perfusion cérébrale et coronaire et,
- une restauration rapide de paramètres clinico-biologiques.

Concernant la prise en charge et l'optimisation thérapeutique après l'initiation de l'ECMO, il n'y a en revanche pas beaucoup d'études probantes.

Table 2. Revue de la littérature clinique concernant la place de l'ECMO-VA dans l'ACR réfractaire.

NR : non renseigne. CEE, choc électrique. RCP, réanimation cardio-pulmonaire ; RACS, rétablissement activité cardiaque stable. EMCO, extracorporeal membrane oxygenation. NF*, no-flow*. LF*, low-flow*. ACR, arrêt cardiaque respiratoire. IHCA, arrêt cardiaque intra hospitalier; OHCA, arrêt cardiaque extra hospitalier. CPC, catégorie de performance cérébrale.

auteur	Type d'étude	population	Définition ACR réfractaire	No flow / low flow	survie	remarque
Schober 2017 Autriche[44]	observationnel Rétrospective Monocentrique 10ans	7 ACR extra hospitaliers	30min de RCP sans RACS	NF : 0 min LF : 38 min	1/7 (14%) CPC 1.2 à 6 mois	-70/232(30%) RACS RCP conventionnel -3/7(43%) RACS pour ECPR. -13/232(14%) survie avec CPC 1.2 pour RCP conventionnel
Lionel 2017 France[45]	observationnel Rétrospective Monocentrique 4 ans	156 ACR extra hospitaliers (114 pour période 1 et 42 pour période 2)	Période1 : 30min de RCP sans RACS Période 2 : 20min de RCP sans RACS	NF :3.7 min 2.5 min LF :93min 70.9min	29% vs 8%	-séjour en réanimation plus long durant période 2. -Sepsis plus fréquent Durant le période 2
Nathan 2017 USA[4]	International analyses Rétrospective ELSO renseignements système 6ans	217 ACR extra hospitaliers	NR	NR	27.6%	11.4% survie pour OHCA en États-Unis.
Fjolner 2017 Danemark[46]	Rétrospective monocentrique, 4.5 ans	21 ACR extra hospitaliers	NR	NF : 5 LF : 121min	-7 /21(33%) CPC 1.2 à la sortie hôpital	

Mark denis 2016 Australie[47]	observationnel Rétrospective multi-centre médical 7 ans	37 ACR au total -25 (76%) intra hospitaliers -12(24%) extra hospitaliers	NR	NF : 0 (témoins, 81%) ~5min LF : 45min	-13/27 (35%) au total CPC1.2 à la sortie hôpital -33% pour IHCA -37% pour OHCA	Le lactate pré-ECMO s'est avéré prédictif de la mortalité (OR1.35 [1.06-1.73, P=0.01]).
Yanopoulos 2016 USA[42]	Analyse intermédiaire à 3 mois, étude observationnelle, prospective, monocentrique.	18 ACR extra hospitaliers	3 CEE + 300mg amiodarone sans RACS	NF : NR LF : 66min	9/18 (50%) CPC 1 .2 à 1 mois	-uniquement rythme choquable -Zone géographique prédéfinie (<30 min de transfert) -100% de coronarographie post ECMO-VA.
Choi 2016 Corée Sud[48]	Rétrospective monocentrique, 4 ans	10 ACR extra hospitaliers	≥10 min. de RCP sans RACS	NF :<5 min. LF : 50min	3/10 (30%) CPC 1 .2 à 1 mois	Sélection population ACR devant témoins NF court Temps transfert cours 90% de RACS après ECMOVA
Blumenstein 2015 Allemagne [49]	Rétrospective, monocentrique, 4 ans	52 ACR intra hospitaliers	≥10 min. de RCP sans RACS	NF : 0min LF : 33min	12/52 (23%) survie à 1 an	20/52 (40%) ACR au bloc opératoire
Kim 2014 Corée du Sud [50]	Rétrospective, monocentrique, 3 ans	55 ACR extra hospitaliers	≥10 min. de RCP sans RACS	NF : 7 min 23 RCP par témoins (42%) LF : 60 min	8 (15%) CPC 1.2 à 3 mois.	80% de RACS post ECMO
Chou 2014 Taïwan[51]	Rétrospective, monocentrique, 4 ans	43 ACR intra hospitaliers	NR	NF : NR LF : 36	15/43 survie sortie hôpital (35%)	-Population ACR secondaire à SCA 100% coronarographie post

						ECMO -100% RACS post ECMO
Maekawa 2013 Japon[52]	Observationnelle, prospective, monocentrique, 4 ans	53 ACR extra hospitalier	≥20 min RCP sans RACS	NF : 2 min. LF : 49 min	-15/53 (28%) à3 mois -8 (15,1%) CPC 1 .2	-54% rythme choquable
Megarbane 2011 France[53]	Observationnelle, prospective, monocentrique, 4 ans	66 ACR extra hospitalier	≥30 min RCP sans RACS	NF : 2 min. LF : 155 min	1/66 (1,5%)	-50% asystolie -Long délai initiation ECMOVA
Le Guen 2011 France[43]	Observationnelle, prospective, monocentrique, 2 ans	51 ACR extra hospitalier	≥30 min RCP sans RACS	NF : 3 min LF : 120min	2/51 (4%) à 28 jours	-63% rythme choquable -Long délai initiation de l'ECMO-VA
Shin 2011 Corée du Sud[54]	Observationnelle, rétrospective, monocentrique, 6 ans	85 ACR Intra hospitaliers	≥10min RCP sans RACS	NF : 0 (témoins) LF : 42 min	24 (28%) CPC 1 .2 à 6 mois	-75% RACS post ECMO-VA -90% rythme choquable
Tanno 2008 JAPON[55]	Observationnelle, prospective, monocentrique	66 ACR Extra hospitaliers	≥20 min. RCP sans RACS	NF : NR LF : NR	15/66 (22%) survie globale à 3 mois -7 (10%) CPC 1.2 à la sortie hôpital	Aucun survivant dans groupe ACR sans témoins
Chen 2008 Taiwan [56]	Observationnelle prospective, monocentrique, 3 ans	59 ACR intra hospitaliers	>=10 min RCP sans RACS	NF : 0 (témoin) LF : 40 min	14/59 CPC 1-2 sortie hôpital (23%)	93% ont un RACS post ECMO

Table 3. Revue de la littérature expérimentale concernant l'utilisation de l'ECMO dans l'ACR réfractaire

PAM, pression artérielle moyenne ; ACR, arrêt cardiaque-respiratoire ; CPR, C-réactive protéine ; ECMO, extracorporeal membrane oxygenation ; ECLS, extracorporeal life support ; E-RCP, réanimation cardio-pulmonaire par ECMO ; FV, fibrillation ventriculaire ; NF, no-flow ; LF, low-flow ; RACS, reprise d'une activité circulatoire spontanée ; RCP, réanimation cardio-pulmonaire.

auteur	Objectif principal	Plan expérimentation	Résultat principal
Fritz C 2017[57]	Comparaison de deux niveaux de PAM et leur impact sur la macrocirculation, la microcirculation et la fonction métabolique	Type : expérimentale, observationnelle, monocentrique, randomisée. Animal : 14 cochons ACR : origine ischémique par ligature proximale de l'artère coronaire gauche NF : 1 min / LF : 20 min Groupe : -1° groupe : ECMO-VA avec objectif PAM 65/70 mmHg. -2° groupe : ECMO-VA avec objectif PAM 80/85 mmHg. durée ECMO-VA : 6 Critère d'évaluation: -Macrocirculation -Microcirculation-Biomarqueurs	Pas de différence significative entre les deux groups sur le critère primaire Pas de différence significative de microcirculation entre les deux groupes Pas de différence significative pertinente des bio-marquer.
Chang 2017[58]	déterminer si l'ECLS peut être réalisée sans transfusion sanguine ou administration de médicaments tels que des inotropes ou des vasopresseurs mesurer les taux plasmatiques de la cytokine inflammatoire	Type : expérimental, observationnelle, Animale : 33 rats ACR : anomie induit par asphyxia NF : NR / LF : 5 minutes Durée : 30 ECLS +120 surveillance Groupe : - control -normal sous ECLS - AC asphyxia réanimé sous ECLS Critère d'évaluation : -RACS -réponse inflammatoire	La clairance de lactate dans le groupe de AC asphyxia réanimé avec ECLS était lent comparé les autres groupe Le niveau plasmatique de CPR, IL-6, IL-10 et TNF-a augmente après l'initiation de l'ECLS.

Hutin A 2016[59]	déterminer si la reperfusion coronarienne doit être instaurée le plus rapidement possible dans les situations d'ECPR dans un modèle de porc.	Type : expérimental, observationnelle, Animale : 14 cochons ACR : origine ischémique par l'occlusion de L'artère coronaire gauche NF : 5 minutes / LF : 50 minutes Durée : 240minutes Groupe : -1° groupe : une reperfusion coronarienne précoce à 20 minutes d'E-RCP -2° groupe : une reperfusion coronarienne tardive à 120 minutes d'E-RCP Le retour de la circulation spontanée a été déterminé par un rythme ECG organisé avec une pression artérielle systolique supérieure à 80 mm Hg.	Le flux sanguin carotidien a ensuite augmenté de 70% après l'apparition de l'ECPR dans les deux groupes. Aucun animal (0 sur 7) n'a provoqué le retour de la circulation spontanée après une reperfusion tardive contre 4 sur 7 après une reperfusion précoce (P = 0,025). Les paramètres hémodynamiques, tels que le flux sanguin carotidien, ont également été améliorés dans les groupes de reperfusion précoce et tardive, avec diminution de la taille de l'infarctus.
Debaty G 2016[60]	Évaluer la réponse pathophysiologie cardiaque et pulmonaire pendant le refroidissement et l'échauffement par ECLS Évaluer si le débit d'ECLS plus faible pendant la phase de réchauffement pourrait atténuer les lésions cardio-pulmonaires.	Type : expérimentale, observationnelle, monocentrique, randomisée. Animal : 20 cochons ACR : hypothermie NF : 30 min / LF : 0 min Groupe : -1° groupe : débit bas à 1.5 l/min -2° groupe : débit standard à 3 l/min durée ECMO-VA : Critère d'évaluation: débit cardiaque, hémodynamique, paramètres de la fonction pulmonaire	Le groupe débit standard avait une PAM et débit cardiaque plus élevée au cours de l'échauffement. Le débit d'ECMO n'avait pas de influence sur les paramètres pulmonaire
Trummer G 2014[61]	Vérifier ECMO peut améliorer la récupération neurologique après 15 minutes arrêts cardiaque normothermie	Type : expérimentale, observationnelle, monocentrique, randomisée. Animal : 12 cochons ACR : fibrillation ventriculaire induit par stimulation externe NF : 15 min / LF : 0 min Groupe :	5/6 cochons morts dans le groupe 1; 1/6 cochons ne peut pas sépare de l'ECMO ; 4 cochons dans le groupe E-RCP présentent une récupération neurologique complète et pas de changement sur l'image de MRI

		-1° groupe : RCP conventionnelle -2° groupe : E-RCP durée ECMO-VA : évaluation : la récupération neurologique et MRI à 7 jours	
Reynolds JC 2013[62]	Évaluer l'impact des durées d'ischémie sur la réanimation des ACR réfractaire sous ECMO	Type : expérimentale, observationnelle, monocentrique, randomisée. Animal : 8 cochons ACR : fibrillation ventriculaire induit par stimulation externe NF : 15 min 1° groupe : 8 minutes 2° groupe : 15 minutes LF : -1° groupe : 38/48/58/68 minutes -2° groupe : 45/55/65/75 minutes Groupe : Non randomisés 1° groupe : 4 cochons en FV pendant 8 min, puis RCP classique de durée différente pour chaque cochon : 30/40/50/60 min. puis ECMO-VA pendant 15 min. puis tentative de défibrillation 2° groupe : 4 cochons en FV pendant 15 min, puis RCP classique de durée différentes pour chaque cochon : 30/40/50/60 min puis ECMO-VA pendant 15 min puis tentative de défibrillation Critère primaire composite : - PAM - Perfusion cérébrale Critère secondaire : - Biomarqueurs	Diminution PAM et perfusion cérébrale avec l'allongement des durées de RCP PAM et perfusion cérébrale plus élevées chez cochons avec RACS Pas de différence des biomarqueurs chez cochons avec RACS ou non.
Stub D 2013[63]	Comparer de manière expérimentale RCP classique avec PCP sous VA-ECMO	Type : expérimentale, observationnelle, monocentrique, randomisée. Animal : 12 chèvres	50% de RACS en plus dans le groupe E-RCP équivalence des biomarqueurs (lactate,

		ACR : fibrillation ventriculaire induit par stimulation externe NF : 3 min / LF : 10 minutes Groupe : randomisés -1° groupe : RCP classique -2° groupe : RCP sous ECMO Critère : - pourcentage de RACS - perfusion coronarienne - dosage des biomarqueurs	kaliémie...) augmentation perfusion coronaire dans groupe E-RCP
Mlček M 2012[64]	Évaluer les effets précoces de l'ECMO après ACR prolonge.	Type: expérimentale, observationnelle, monocentrique Animal : 18 cochons ACR : fibrillation ventriculaire induit par stimulation externe NF : 20 min / LF : 80 minutes Groupe : non groupe -18 cochons, 20 min initiaux d'ACR en FV non traite, puis 60 min sous ECMO, puis tentative de défibrillation. Critère : - PAM - Indice Bispectral -biomarqueurs	Restauration PAM des 3 minutes ECMO. Effondrement très rapide (5 min) du BIS et de l'oxymétrie tissulaire Effondrement secondaire des biomarqueur. Restauration rapide (5 min)du BIS et l'oxymétrie tissulaire et de paramètres biologiques après ECMO
Bělohlávek J 2012(10)	Comparer l'effet de différents mode d'ECMO et IABP sur le débit sanguine carotide, pression de perfusion coronarienne dans un modèle d'arrêt cardiaque prolonge chez le cochon	Type : expérimentale, observationnelle, monocentrique, Animal : 12 cochons ACR : fibrillation ventriculaire induit par stimulation externe NF : 0 min / LF : 15 minutes Groupe : randomisés -1° groupe : réanimé avec femoro-femoral ECMO+/-IABP puis FS-ECMO+/-IABP -2° groupe : réanimé avec femoro-subclavian ECMO+/-IABP puis FF-ECMO+/-IABP	8/12 (73%) de RACS débit coronaire était restauré (>80% Baseline) sous FF-ECMO débit carotide était restauré sous les deux stratégies L'addition d'IABP à FF-ECMO réduit le débit coronaire SbrO2 était restaure sous les deux stratégies d'ECMO pression de perfusion coronarienne était

		Critère : - débit carotide, débit coronaire - pression de perfusion coronarienne - oxygène métabolisme myocardie -RACS	restaurée mieux sous FF-ECMO

3. SYNDROME POST-ACR

Le syndrome post arrêt cardiaque-respiratoire (post-ACR) a été décrit pour la première fois par Negovsky en 1972 [66]. Ce syndrome post-arrêt cardiaque regroupe l'ensemble des phénomènes survenant après la RACS efficace par la CPR. Il se compose d'une défaillance d'organes précoce et d'un dommage neurologique anoxique. Les défaillances d'organes peuvent être multiples, mais la défaillance hémodynamique (vasoplégique et/ou cardiogénique) est la plus fréquente. La physiopathologie de ce syndrome reste à ce jour pas incomplètement élucidée, mais elle est probablement attribuée au phénomène l'ischémie-reperfusion apparaissant après la récupération de la RACS [67].

3.1 Physiopathologie générale de l'ischémie-reperfusion

L'arrêt cardiaque est un modèle extrême d'ischémie-reperfusion. La phase d'ischémie, correspondant au *no-flow*, est caractérisée par l'arrêt des apports cellulaires en oxygène. Il en résulte une diminution de la synthèse d'ATP qui expose la cellule à une dépolarisation de sa membrane plasmatique, à une ouverture des canaux calciques voltage dépendants du sarcolemme et à une chute du potentiel de membrane mitochondrial. Ce phénomène aboutissant à une augmentation de la concentration de calcium intra cytoplasmique responsable de lésions cellulaires. Ainsi, c'est au cours de la phase de *no flow* que vont se constituer les premières lésions cellulaires et tissulaires.

La reperfusion (phase de *low flow* et d'E-CPR), contemporaine de la restauration d'un flux sanguin, est à l'origine de la formation d'espèces radicalaires de l'oxygène (stress oxydant) cytotoxiques et responsables de la plupart des lésions fonctionnelles et structurelles. L'augmentation de ce stress oxydant et de la concentration en calcium

intra mitochondriale induit l'ouverture de pores de perméabilité qui permettent la libération de médiateurs pro-apoptotiques.

Toutes ces étapes conduisent à la mort cellulaire.

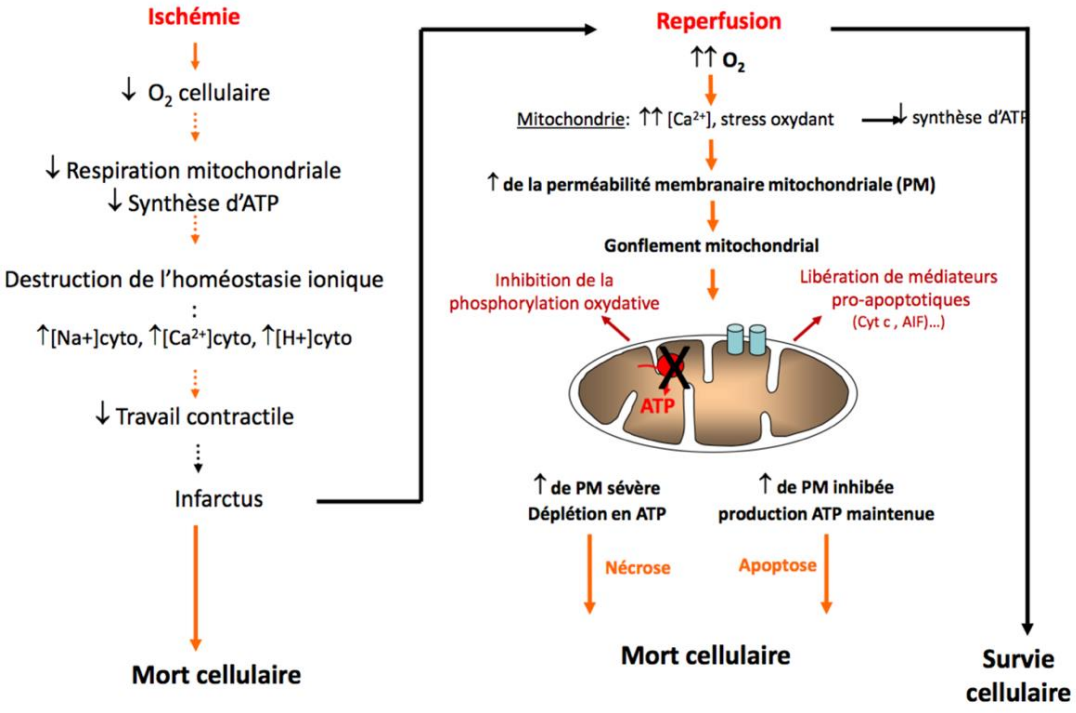


Figure 11. Schéma du mécanisme propose de lésion d'ischémie reperfusion dans un cardiomyocyte.

Un grand nombre de processus pathologiques contribuent aux lésion tissulaire associees à l'ischémie et reperfusion (Figure 12). L'ischémie-reperfusion est associée en outre à une dysfonction microvasculaire. Pendant le période d'ischémie, l'hypoxie vasculaire entraine une augmentation importante de la perméabilité vasculaire. De plus, l'activation du système du complément, l'adhésion leucocyte-endothélium et l'agréation plaquettaire-leucocytaire survenant après la perfusion aggravent encore le dysfonctionnement microvasculaire. En outre, l'ischémie et la reperfusion entrainent l'activation de programmes de mort cellulaire, incluant l'apoptose et la nécrose. La

période d'ischémie est en particulier associée à une altération significative du contrôle transcription et de l'expression des gènes. Ainsi, l'ischémie est associée à une inhibition des enzymes de la prolylhydrolase (PHD). L'inhibition des enzymes de PHD entraîne l'activation post-traductionnelle de facteurs hypoxiques et de la cascade de signalisation inflammatoire, qui contrôle respectivement la stabilité des facteurs de transcription du facteur hypoxia-inducible (HIF) et du facteur nucléaire-kB (NF-KB)[68]. Les conséquences de l'ischémie et de la reperfusion partagent de nombreux parallèles phénotypiques avec l'activation d'une réponse immunitaire de l'hôte et provoquent une inflammation stérile. Cette réponse inflammatoire implique une réponse auto-immune et une activation immunitaire adaptative et innée [67].

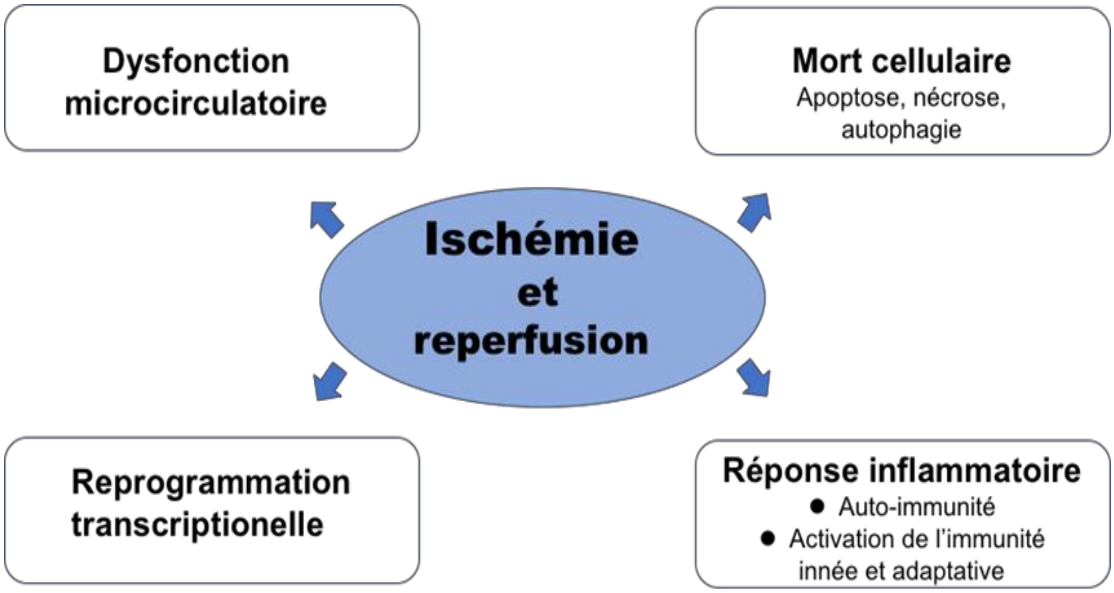


Figure 12. Conséquences de l'ischémie-reperfusion au cours du syndrome post-arrêt cardiaque(63).

3.2 La réponse inflammatoire à l'ECMO

Dans le contexte d'E-CPR, il existe un second mécanisme à l'origine du syndrome inflammatoire observé lors de la reperfusion par ECMO qui est la conséquence du contact du sang avec le circuit d'ECMO. La réponse inflammatoire provoquée par l'ECMO implique plusieurs systèmes humoraux et cellulaires : la coagulation intrinsèque et extrinsèque, le système du complément, les cellules endothéliales, les leucocytes, les plaquettes et les cytokines (Figure 13). Cet autre mécanisme à l'origine du syndrome inflammatoire partage de nombreux éléments physiologiques avec le syndrome d'ischémie reperfusion, mais il reste à savoir si cette inflammation excessive n'est que délétère ou si, au contraire, elle présente des avantages potentiels pour les patients.

L'initiation de l'ECMO entraîne la production d'une variété de cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. Ces petites protéines ont de multiples rôles dans la signalisation cellulaire et sont des médiateurs importants des réponses immunitaires innées. Les cytokines les plus étudiés, en ce qui concerne l'ECMO, sont le TNF- α , interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) et interleukin-10 (IL-10).

TNF-α est produit par une série de cellules en réponse à un stimulus inflammatoire. Il a des effets pléiotropiques sur une variété de tissus. Des études montrent que des taux plus élevés de TNF-α ont été associés à une non-survie chez les enfants sous ECMO [69]. IL-6 est une cytokine complexe, avec des actions pro-et anti-inflammatoires. Des études ont rapporté des augmentations constantes des niveaux d'IL-6 au cours de l'ECMO. Dans une étude impliquant des enfants et des adultes sous ECMO, les niveaux d'IL-6 étaient inversement associés à la survie après deux jours de support hémodynamique par ECMO : les survivants ont normalisé leurs taux d'IL-6, tandis

que ceux qui sont décédés présentaient une élévation persistante [70]. Des études récentes suggèrent que l'IL-6 post RACS, qui est un médiateur majeur de la réponse inflammatoire systémique, est associée à la sévérité di PCAS évaluée par le score d'évaluation séquentielle des défaillance d'organes, et à la mortalité hospitalière [71][72].

Il est à noter que de faibles taux de cytokine anti-inflammatoire IL-10 (au début de l'ECMO) ont été associés à une mauvais pronostique [73].

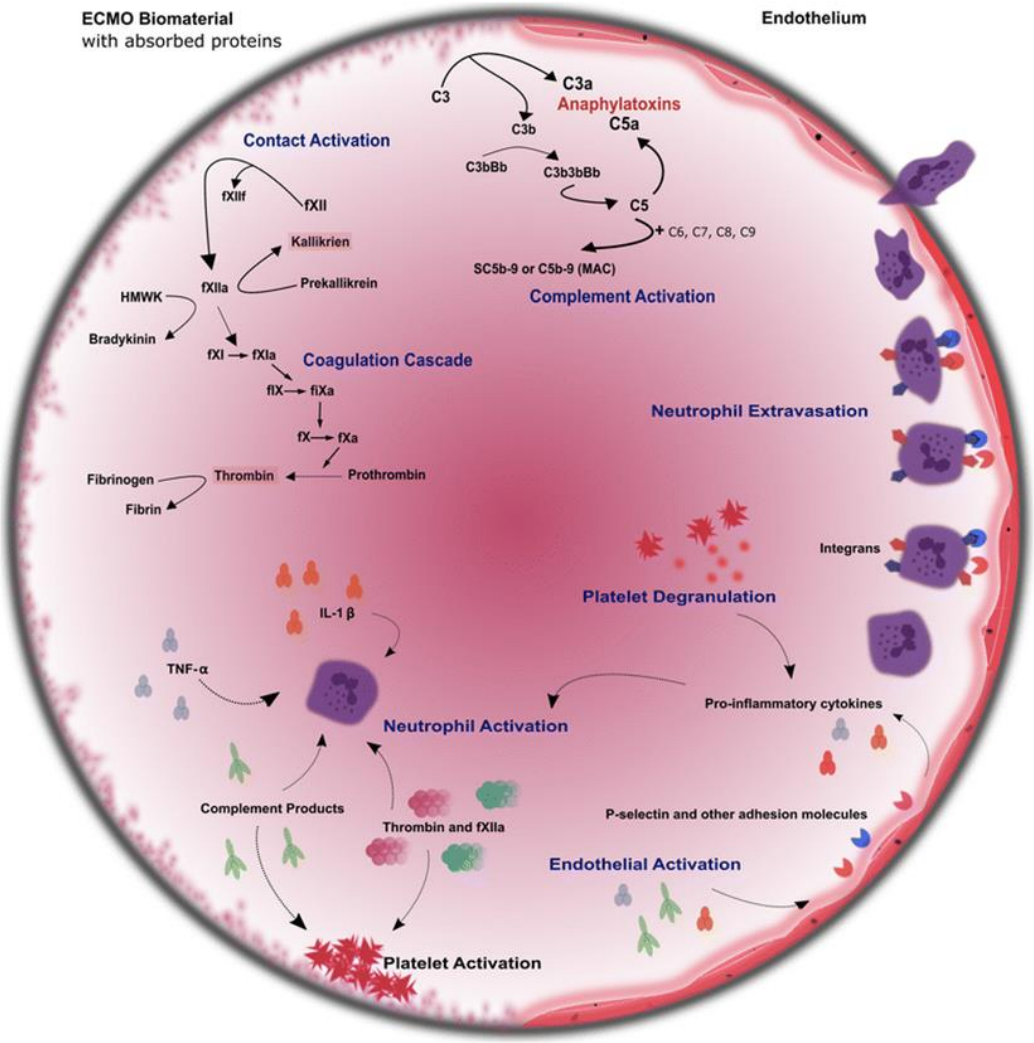


Figure 13. Réponse inflammatoire à l'oxygénation membranaire extracorporelle (ECMO). Issue de (65).

3.3 Altération microvasculaire en état de choc

La microcirculation est dégradée chez les patients en état de choc. Quatre types d'altération de la microcirculation pendant le choc ont été identifiés : type 1, hétérogénéité du flux microvasculaire ; type 2, hémodilution ; type 3, vasoconstriction ; type 4, œdème tissulaire. Ces altérations microvasculaires peuvent être observées en utilisant la visualisation directe de la microcirculation sublinguale avec des microscopes spécifiques [74]. Chacun de ces types d'altération microcirculatoire est associé à une densité capillaire fonctionnelle (FCD) réduite et donc à une perte de la capacité de la microcirculation à transporter l'oxygène vers les tissus.

Dans les cas cliniques, on n'observe pas de type simple d'altération microcirculatoire. L'altération microcirculatoire résulte le plus souvent de l'association de plusieurs types. Par exemple, chez les patients en choc cardiogénique après chirurgie cardiaque traité avec divers agents inotropes et vasopresseurs, les altérations microcirculatoires peuvent être influencées par l'hémodilution et de la vasoconstriction. S'il coexiste en même temps une réponse inflammatoire, il y aura aussi une altération microcirculatoire de la perfusion hétérogène.

L'altération microvasculaire joue un rôle important dans le développement de la dysfonction d'organes. Elle ne est pas un simple reflet de la sévérité de la maladie, mais constitue également un élément prédictif d'une dysfonction d'organe [75] ou de décès du patient [76][77]. Les altérations microvasculaire provoquent des lésions tissulaires, et leur réversibilité est associée à une diminution des taux de lactate et de nicotinamide-adénine-dinucléotide (NADH)[78], suggérant que ces altérations microcirculatoires altèrent directement l'oxygénation tissulaire.

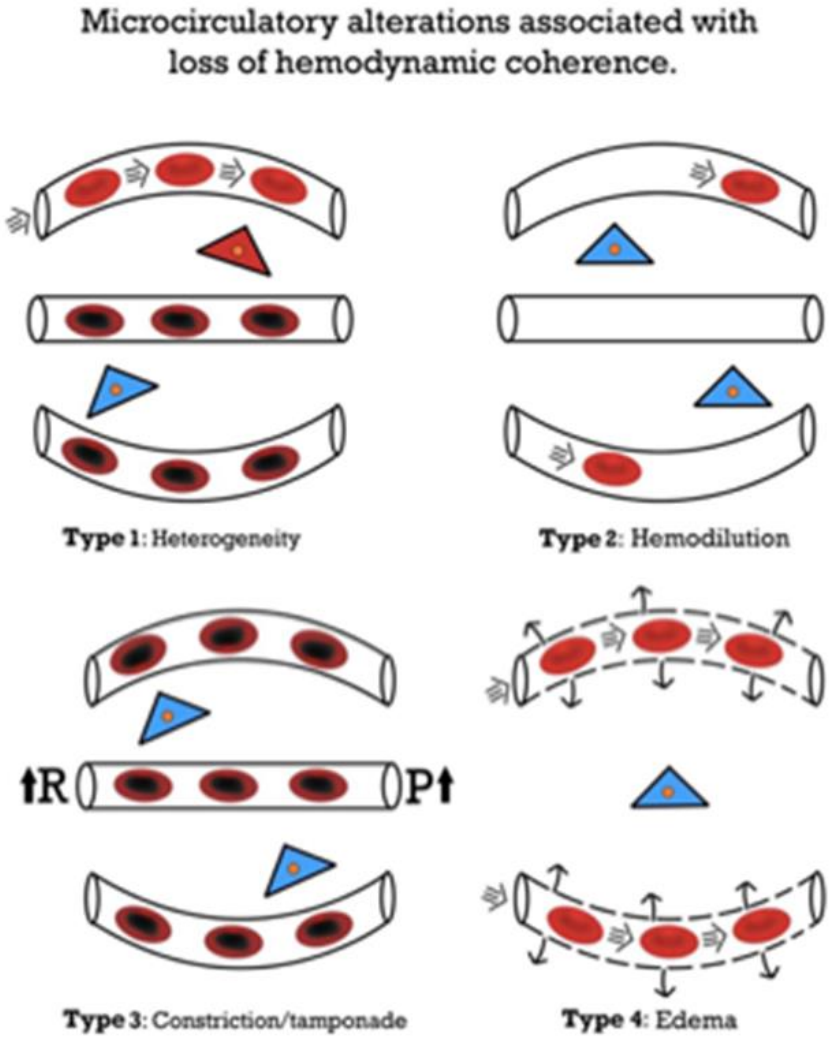


Figure 14. Les différents types de l'altération microcirculatoire [74].

Type 1, perfusion hétérogène de la microcirculation observée chez des patients septiques présentant des capillaires obstrués à proximité de capillaires perfusés entraînant une oxygénation hétérogène des cellules. Type 2, hémodilution avec dilution du sang microcirculatoire entrainant la perte des capillaires remplis de globules rouges et augmentant la distance de diffusion entre les globules rouges dans les capillaires et les cellules tissulaires. Type 3, stase du flux de RBC microcirculatoire induite par des variables systémiques altérées (par exemple une résistance vasculaire artérielle accrue (R)) et/ou des pressions veineuses augmentées provoquant une tamponnade. Type 4, cette altération implique un œdème causé par un syndrome de fuite capillaire et qui entraîne une augmentation de la distance de diffusion et une réduction de la capacité de l'oxygène à atteindre les cellules tissulaire au sein des tissue. Rouge, RBC bien oxygénés et cellules tissulaires ; violet, RBC avec une oxygénation réduite ; bleu, réduction de l'oxygénation des cellules tissulaires.

3.4 Manifestation clinique du syndrome post arrêt cardiaque

Lorsque la RACS est obtenue par les soins de réanimation, le pronostic reste sombre et moins de 30% des patients réanimés peuvent finalement sortir de l'hôpital sans séquelles. Le pronostic des patients dépend des complications constituant le syndrome post-arrêt cardiaque. Celui-ci rassemble la réponse systémique inflammatoire considéré comme un syndrome « sepsis like », la défaillance hémodynamique post-AC et les lésions cérébrales post-AC.

L'état d'hémodynamique post ACR traité par ECMO est une entité complexe. Il regroupe les conséquences de l'ACR et du choc cardiogénique, une composante vasoplégieque, ainsi que le syndrome d'ischémie-reperfusion et la réponse inflammatoire résultant du rétablissement du débit par l'ECMO.

3.4.1 Choc cardiogénique

Le choc cardiogénique (CC) est défini par la défaillance aigue et sévère de la pompe cardiaque, concernant la fonction systolique et/ou diastolique, entraînant une altération profonde de la perfusion tissulaire et une anoxie tissulaire progressive. Dans sa définition hémodynamique, le choc cardiogénique est associé à une hypotension artérielle (pression artérielle systolique inférieure à 90 mmHg) et un index cardiaque abaissé (inférieur à 2.2 $l.minute^{-1}.m^{-2}$), avec une pression artérielle pulmonaire d'occlusion supérieure à 18 mmHg [79].

La pathophysiologie du CC résulte d'une dépression profonde de la contractilité myocardique, entrainant un cercle vicieux caractérisé par une réduction du débit cardiaque (DC), une pression artérielle basse, une insuffisance coronarienne et une réduction de la contractilité et du débit cardiaque. Le paradigme classique prédit une vasoconstriction systémique compensatoire avec une forte résistance vasculaire

systémique qui devrait se produire en réponse à la dépression du DC (Figure 15). Il s'agit également d'un syndrome de dysfonctionnement multiviscéral résultant d'une hypoperfusion périphérique avec dysfonction microcirculatoire, souvent compliquée par un syndrome de réponse inflammatoire systémique et un sepsis.

Un syndrome de réponse inflammatoire systémique intervient souvent dans le cadre de grand infarctus du myocarde étendus.

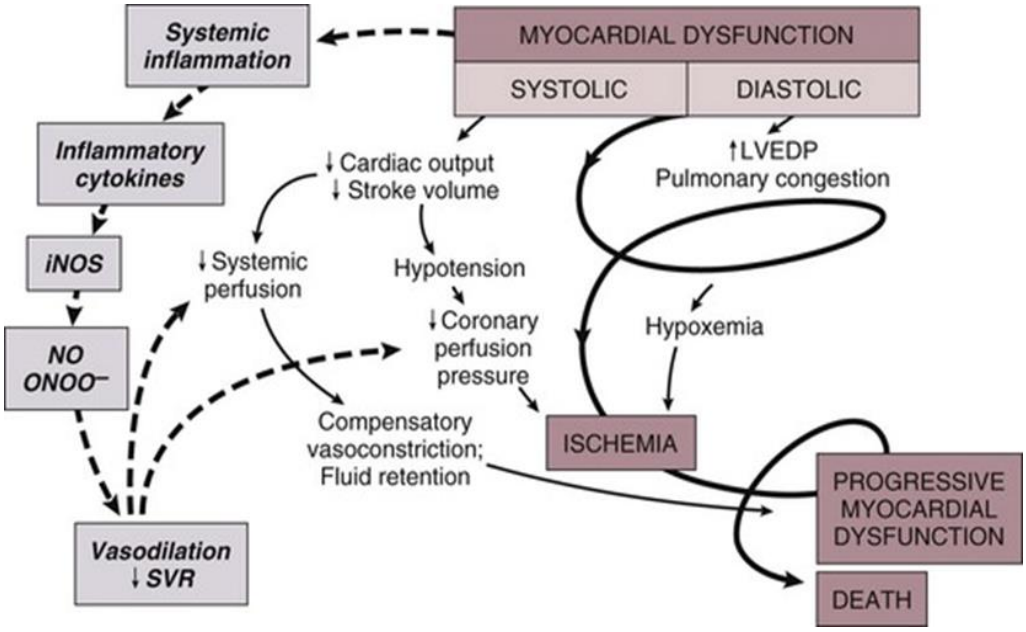


Figure 15. Le paradigme physiopathologique du choc cardiogénique inclut la contribution potentielle des médiateurs inflammatoires (52).

Dans l'E-CPR, la défaillance hémodynamique n'est pas uniquement liée à la dysfonction myocardique. Il existe également une forte composante vasoplégique, conséquence du syndrome d'inflammation généralisé lié au syndrome d'ischémie reperfusion. La vasoplégie s'installe le plus souvent rapidement après la restauration d'une activité circulatoire et présente de nombreuses similitudes avec l'état de choc septique, notamment par l'orage cytokines pro-inflammatoires observé chez les

patients réanimés avec succès d'un AC [80]. En plus de la durée de réanimation longue, la dose élevée d'adrénaline injectée au moment de la prise en charge, semble être le facteur de risque de survenue en post-AC[10].

3.4.2 Choc vasoplégique

Le syndrome de vasoplégie est une complication bien connue après une chirurgie cardiaque sous circulation extracorporelle (CEC) et présente une morbidité et une mortalité significatives. Elle est caractérisée par une vasodilatation profonde et une perte de résistance vasculaire systémique conduisant à une hypotension. La pathogenèse de la vasoplégie implique l'activation des systèmes de contact, de coagulation et du complément et l'activation des leucocytes, des plaquettes et des cellules endothéliales entraînant un déséquilibre dans la régulation du tonus vasculaire menant à la vasoplégie post-cardiaque.

La vasoplégie a été démontrée également au cours de l'état de choc observé en post-ACR. Dans un contexte d'E-CRP, cet état s'installe le plus souvent rapidement après la RACS et présente de nombreuses similitudes avec l'état de choc septique, notamment par « l'orage cytokine pro-inflammatoire » observé chez les patients réanimés avec succès d'un ACR. Les patients avec une vasoplégie présentent une vasodilatation profonde et une perte de résistance vasculaire systémique, entraînant une hypotension sévère malgré des débits cardiaques élevés et une réanimation liquidienne adéquate. Le traitement nécessite souvent de fortes doses de vasopresseurs pour maintenir une pression artérielle adéquate, et malgré cela, cette vasoplégie devient réfractaire aux vasopresseurs, entrainant une morbidité et une mortalité élevées.

3.4.3 Lésions neurologiques post arrêt cardiaque

Lorsque la défaillance multiviscéral initiale a pu être prise en charge, le pronostic des patients dépend essentiellement de l'évolution neurologique, liée aux conséquence des lésions d'ischémique-reperfusion survenues au niveau cérébral pendant l'ACR. Le cerveau est l'un des organes les plus sensibles à l'ischémie, qui entraîne de nombreux changement biochimiques à l'origine du dommage neuronal et une perte d'intégrité de la barrière hémato-encéphalique pendant la phase de no-flow. Ce phénomène est aggravé par la réponse inflammatoire et le stress oxydant, d'autant plus qu'il peut exister une phase d'hyperhémie dans les premières minutes suivant la reperfusion avec une perte de l'autorégulation cérébrale [81].

Les conséquences cliniques du dommage neurologique sont extrêmement variables. Les troubles observés chez les patients survivants sont principalement des troubles de la conscience et du comportement, dont l'intensité varie du syndrome confusionnel modéré au coma. Dans le cas le plus sévères, le coma est irréversible et évolue vers un état de conscience minimal, un état végétatif ou parfois vers l'état de mort encéphalique. Il s'agit de la principale cause de mortalité chez les patients qui sont encore vivants 48 heures après l'admission.

3.5 Thérapeutiques en post-AC

Une fois la circulation restaurée, les patients sont conduits dans un service de réanimation pour la poursuite des soins. Au-delà du traitement symptomatique de la défaillance d'organes (support hémodynamique, assistance respiratoire, dialyse en cas d'insuffisance rénale aigüe, etc.), le traitement étiologique de l'AC et les thérapeutiques visant à limiter les conséquences du syndrome post-ACR sont mises en place.

Le contrôle strict de la température corporelle est le seul traitement spécifique proposé dans la prévention du syndrome post-ACR. Suite aux études randomisées qui ont montré un bénéfice de l'hypothermie thérapeutique (32-34 °C) sur la survie et la récupération neurologique des patients en 2002, l'ILCOR (*International Liaison Committee On Resuscitation*) recommande l'hypothermie thérapeutique avec une cible 32 à 34 ℃ pendant 24 à 48 heures lors d'AC par fibrillation.

L'hypothermie modérée entre 32 à 36 ℃ est beaucoup mieux tolérée sur le plan hémodynamique. Elle permet de diminuer les besoins métaboliques de l'organisme, y compris au niveau cérébral et cardiaque. Elle aurait par ailleurs pour effet de limiter les lésions d'ischémie-reperfusion en amélioration le rendement de la phosphorylation oxydative mitochondriale et en diminuant la production d'espèces radicalaires de l'oxygène (ERO). L'hypothermie thérapeutique légère agirait aussi sur les voies de l'apoptose en limitant la réaction inflammatoire post -RACS et la production d'ERO.

Les progrès dans la compréhension des mécanismes de la lésion d'ischémie-reperfusion aident les cliniciens à développer des stratégies pour rendre le tissu plus résistant à l'ischémie et amortir l'intensité de la lésion de reperfusion (Table 4). Des interventions thérapeutiques spécifiques sont à l'étude à travers des essais cliniques d'innocuité et d'efficacité. Certains agents ont déjà donné des résultats optimistes dans de petits essais cliniques, et d'autre études cliniques ont échoué à fournir des preuves d'un effet protecteur d'approches thérapeutiques spécifiques.

Dans le contexte de l'AC, le post-conditionnement est une stratégie thérapeutique qui vise à limiter les conséquences du syndrome post-AC en réalisant des cycles d'ischémie-reperfusion après le début de la reperfusion. Elle a été initialement mise au point dans l'infarctus du myocarde avec la mise en évidence d'un effet

cardioprotecteur. Un étude expérimentale chez un modèle porcin de fibrillation ventriculaire prolongé montre qu'une stratégie de post-conditionnement, caracterisée par des pauses intentionnelles lors de l'initiation de la RCP, améliorerait la survie à 48 heures par rapport au groupe témoin [82]. Cependant la philosophie actuelle est d'interrompre le moins possible le MCE sous peine de diminuer les chances de survie, dans la mesure où l'interruption du MCE se traduit généralement par une perte d'efficacité. Il n'est pas certain que les avantages de cette stratégie, dans cette étude, soient transposable à l'homme.

D'autres méthodes pharmacologiques ont été proposées pour tenter d'augmenter la tolérance d'ischémie ou de cibler la stratégie métabolique. La cyclosporine A, qui cible le fonctionnement mitochondrial, a également fait la preuve de son efficacité expérimentalement chez les lapins soumis à un AC d'origine asphyxique[83][84]. Toutefois, le bénéfice clinique de la cyclosporine A dans la limitation du syndrome de défaillance multiviscéral en post-AC n'a pas été confirmé chez l'homme[85].

Reste la nécessité d'acquérir plus de connaissances sur les mécanismes au niveau moléculaires qui sont déclenchés par l'ischémie-reperfusion, et sur de nouvelles stratégies thérapeutiques à imaginer et à mettre en œuvre.

Table 4. Approches thérapeutiques prometteuses ciblant l'ischémie et la reperfusion. (adapté de [67])

interventions		cible	Inconvénient potentiel	étape
Conditionnement ischémique	preconditionnement	multiple	Incertain	Essai clinique de phase 2
	postconditionnement	multiple	Incertain	Essai clinique de phase 2
	Conditionnement à distance	multiple	Incertain	Essai clinique de phase 2
Stratégies métaboliques	PHD inhibiteurs	Inhibition des enzymes PHD entraînant une stabilisation HIF	Incertain	Préclinique
	TAK-242	Inhibition de TLR4	L'immunosuppression, l'aggravation de l'infection bactérienne	préclinique
	Approches à base de cellules T		Incertain	préclinique
	cyclosporine	Inhibition de l’apoptose	L'immunosuppression, l'aggravation de l'infection bactérienne	Essai clinique de phase 2
	chloramphenicol	Activation de l’autophagie	La toxicité du d'os marron	préclinique
Gaz thérapeutique	NO	multiple	L'élévation de la méthémoglobine	Essai clinique de phase 2
Signalisation des nucléotides et des nucléosides	apyrase	Décomposition d’ATP	Incertain	préclinique
	nucleosidase	Conversion d'AMP en adénosine; améliorer la génération d'adénosine et la signalisation	Incertain	préclinique
	Regadenoson, ATL146e	Specific adenosine receptor agonists targeting Adora2a	Incertain	Essai clinique de Phase 1
	Bay 60-6583	Specific adenosine receptor agonists targeting Adora2b	Hématies falciformes chez un individu atteint de drépanocytose	préclinique
microARNs comme cible thérapeutique	Inhibiteurs of miR-92a	Promotion de l'angiogenèse	Incertain	préclinique
	Activations of miR-499 or miR-24	Inhibition de l’apoptose	Incertain	préclinique

ÉTUDE EXPERIMENTAL

1. HYPOTHESES ET OBJECTIF

La gestion de la prise en charge dans les premières heures suivant l'implantation de l'ECMO n'est pas bien définie.

La pression artérielle moyenne (PAM) et le débit sanguin de la pompe d'ECMO sont deux paramètres essentiels sur lesquelles les médecines peuvent avoir une influence directe. Nous avons récemment démontré que, comparé à une PAM standard de 65 mmHg, cibler une PAM élevée dans les premières heures d'un modèle porcin expérimentale n'a pas entrainé d'amélioration hémodynamique ni de diminution de la quantité de liquide perfuse.

Concernant le débit sanguin d'ECMO, le test de perfusion de liquide et la noradrénaline pourraient améliorer la pression systémique moyenne et assurer le fonctionnement de la pompe d'ECMO. Cependant, il n'y a aucune garantie que la restauration de ces variables hémodynamiques systémiques améliorera également la perfusion microcirculatoire et tissulaire. Au niveau des organes, les effets du débit sanguin à la pompe et de la pression artérielle sont probablement différents. Par exemple, une perte de l'autorégulation du flux sanguin cérébral a été démontrée après un arrêt cardiaque. Dans la phase initiale de l'ECMO, le débit sanguin cérébral dépend fortement du débit sanguin de la pompe et peut nécessiter un débit sanguin plus élevé.

D'après les données de ci-dessus, nous proposons d'étudier les conséquences hémodynamiques, métaboliques et microcirculatoires d'une assistance circulatoire à objectif de débit bas versus standard dans un modèle porcin d'arrêt cardiaque réfractaire réanimé.

Hypothèse principale

Notre hypothèse principale est qu'un débit d'ECMO bas durant la phase précoce de réanimation de l'E-RCP pourrait réduire les conséquences de l'état de choc en termes de syndrome d'ischémie reperfusion.

Objectif principal

L'objectif principal est d'évaluer l'efficacité de la réanimation de l'E-RCP à deux niveaux de débit d'ECMO différents.

Objectif secondaire

Les objectifs secondaires sont d'évaluer l'efficacité de la réanimation de ces deux stratégies de prise en charge sur les conséquences microcirculation à l'étage microvasculaire et d'organe et la réponse inflammatoire.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1 Éthique

Ce projet de recherche a fait l'objet d'une demande d'autorisation d'expérimentation sur les animaux auprès du ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche et de l'Innovation, sous le numéro APAFIS #3205-201512151828355v3. Les animaux ont été traite en accord avec la réglementation française et européenne concernant l'expérimentation animale.

Les expérimentations sont réalisées sur des cochons mâles Landrance d'environ 50 kg. Ils sont hébergés dans des conditions contrôlés au sein d'une animalerie agréée et certifiée. Une période de quarantaine d'au moins huit jours est respectée avant l'entrée des animaux dans le protocole, permettant leur stabilisation physiologique et comportementale en réduisant le stress et favorisant ainsi nos conditions expérimentales.

2.2 Protocole expérimental

2.2.1 Induction d'anesthésie

L'animal est mis à jeun la veille de l'intervention. Le jour de l'intervention, l'animal est prémédiaué par une injection intramusculaire (kétamine 15 $mg.kg^{-1}$ et Midazolam 0.1 $mg.kg^{-1}$). Au bloc opératoire, après pose d'une voie veineuse périphérique sur l'oreille, l'anesthésie est induite par un bolus de Propofol (2 $mg.kg^{-1}$ de Propofol 1%) intraveineux direct (IVD). L'animal est ensuite intubé par une intubation orotrachéale et puis ventilé en mode volume assisté contrôlé (Monnal T60, Air Liquide Medical Systeme, France) selon les paramètres suivants : volume courant (VT) = 8-10 $mg.kg^{-1}$, fréquence respiratoire (FR) =18 min^{-1}, rapport inspiré/expiré (I/E) = ½, pression expiratoire positive (PEP) = 5 mmHg et fraction inspirée en oxygène (FiO_2) = 30%, et ajusté par le résultat de PCO2 des gaz du sang artériel. L'anesthésie est entretenue par propofol (6-7 $mg.kg^{-1}.h^{-1}$), sufentanil (0.2 $\mu g.kg^{-1}.min^{-1}$) intraveineux continu. Du cisatracurium (0.9 $mg.kg^{-1}.h^{-1}$) a été injecté si besoin. Le volume circulatoire est maintenu par perfusion de sérum salé isotonique à 10 $ml.kg^{-1}.h^{-1}$.

2.2.2 Monitorage et phase chirurgicale

L'animal est monitoré par un enregistrement électrocardiographique (ECG) continu. Les voies d'abord vasculaires sont réalisées chirurgicalement pour permettre l'introduction des cathéters et des mesures suivantes :

- La carotide gauche est disséquée et une bague doppler est placée pour mesurer le débit carotidien.

- Un cathéter artériel (Seldicath, Plastimed Prodimed, France) est inséré dans l'artère carotide droite pour la pression artérielle systémique continue.

- une voie veineuse centrale (Arrow, Reading, USA) est placée dans la jugulaire externe droite.

- l'artère axillaire est disséquée et un cordon de soie est placée en-dessous pour réaliser le test occlusion vasculaire pendant le protocole.

- Après laparotomie médiane basse, un cathéter vésical est placé pour estimer la diurèse horaire.

Après mise en place du matériel de monitorage, on réalise une sternotomie et une ouverture du péricarde, un fil de suture est mis en place autour de l'artère interventriculaire antérieure (IVA). Une dose charge d'héparine (100 $UI.kg^{-1}$, IVD) est injecté avant la phase de canulation. Après dissection chirurgicale du Scarpa droit la canule artérielle (15Fr, biomedicus cannulae, medtronic, USA) est insérée dans l'artère fémorale commune droite. La canule veineuse (29Fr, atrio-cave cannulae, edwards lifesciences, USA) est centralisée au niveau de l'auricule droit.

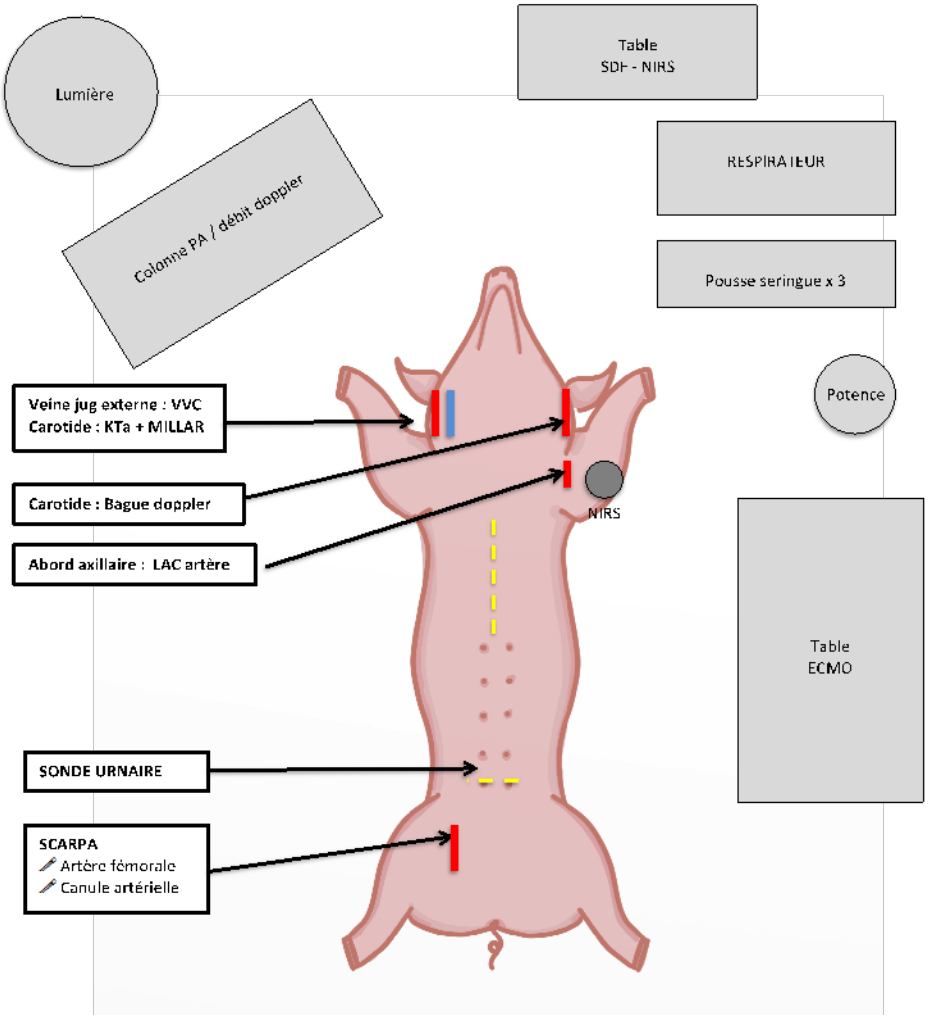


Figure 16. Schéma des préparations chirurgicales

2.2.3 Phase de stabilisation de l'animal

Une phase de stabilisation de 30 minutes est respectée sans intervention.

2.2.4 Réalisation de l'arrêt cardiaque d'origine ischémique et RCP

L'IVA est clampée chirurgicalement au niveau proximal (Figure 17). L'évolution physiologique se fait vers l'arrêt cardiaque soit :

- En fibrillation ventriculaire
- En asystolie.

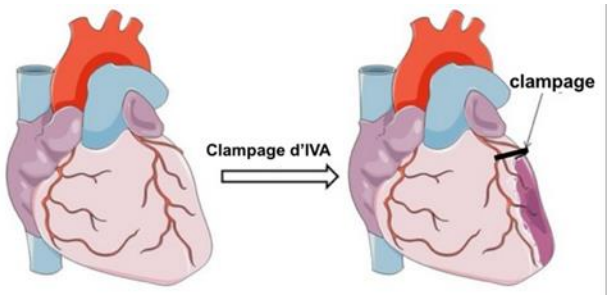


Figure 17. Schéma de la ligature de l'IVA

2.2.5 Réanimation de l'arrêt cardiaque

Après une phase de *no-flow* de 90 seconds, l'animal est réanimé pendant une période de 40 minutes (*low-flow*) par massage cardiaque interne. La séquence de réanimation spécialisée est conforme aux recommandations actuelles (Figure 18) avec en cas de :

- Rythme choquable, comme la fibrillation ventriculaire, cinq chocs électriques à 2 minutes d'intervalle et l'administration d'adrénaline et d'amiodarone lors des troisièmes et cinquièmes chocs,
- Asystolie administration d'adrénaline et massage cardiaque jusqu' à reprise d'un rythme choquable ou RACS.

L'IVA sera déclampée après une heure de démarrage de l'ECMO comme équivalent de reperfusion.

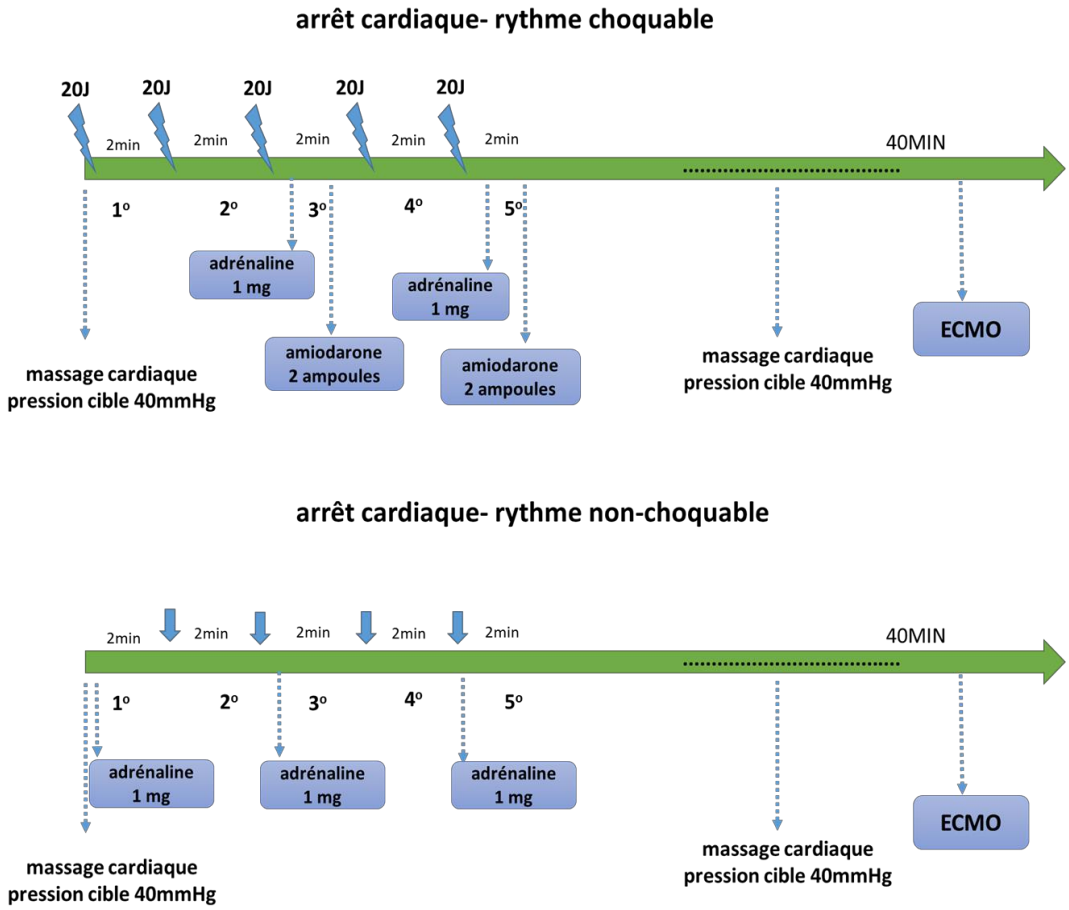


Figure 18. Schéma récapitulatif de prise en charge médicalisée de l'ACR selon le rythme initial.

J : joules ; ECMO : extracorporel membrane oxygénation

2.2.6 Groupes d'expérimentation randomisé

Chaque groupe de randomisation comporte 9 animaux. La randomisation 1 pour 1 est réalisée avant le début de l'expérimentation.

- Groupe débit bas (DB) : débit sanguin de l'ECMO à 30-35 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$
- Groupe débit standard (DS) : débit sanguin de l'ECMO à 60-70 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$

2.2.7 Assistance cardiaque

Le circuit d'ECMO est purgé et rempli avec le sérum salé isotonique. Quarante minutes après le début de l'arrêt cardiaque (H0), l'ECMO (Rotafow Centrifugal Pump System, Maquet, Rastatt, Allemagne et Affinity Fusion Oxygenator, Medtronic Perfusion System, Minneapolis, USA) est démarrée en normothermie (38.5°C pour le modèle porcin). Le flux non pulsatile est contrôlé par l'aspect de la courbe de l'onde pouls sur le scope. Les paramètres de la machine sont les suivants : débit selon le groupe de randomisation groupe Débit-Bas (30-35 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$) ou Débit-Standard (60-70 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$), FiO_2 = 60%, balayage = 3 $L.min^{-1}$. La température est réglée grâce à un groupe thermique relié à l'ECMO.

2.2.8 Poursuite du protocole

Durant les six heures de protocole, le remplissage vasculaire rapide est administré en cas de la chute inopinée de débit d'ECMO et du tremblement des canules. La pression artérielle moyenne est maintenue par l'adjonction de noradrénaline pour un objectif de PAM à 65 mmHg. La mise à mort de l'animal se fait après les mesures de la sixième heure (H6) après bolus de sédation, par l'arrêt de l'assistance cardiaque.

Définition des temps de mesure:

- H Baseline (HB) : correspond aux données à la fin de la phase de stabilisation avant l'induction de l'arrêt cardiaque.
- H0 : correspond à la fin de 40 minutes RCP avant l'initiation d'ECMO
- H3 : 3 heures de l'assistance de l'ECMO
- H6 : 3 heures de l'assistance de l'ECMO et fin de la période de protocole

2.2.9 Paramètres évalué

- Hémodynamique : la fréquence cardiaque (FC), les pressions artérielles systolique (PAS), diastolique (PAD) et moyenne (PAM) sont mesurées en continue. Le débit sanguin carotidien (DSC) est enregistré en continue par la mise en place d'une bague doppler.

- Biologique : les mesures biologiques comprennent la créatinine (Cr), l'urée, l'alanine aminotransférase (ALAT), l'aspartame aminotransférase (ASAT), la troponine, les gaz du sang (GDS) et le lactate. Ces mesures sont répétées à H basal, H0, H3 et H6.

- Microcirculation : le microvasculaire sublingual a été évaluée par la technique de d'imagerie SDF et l'oxygénation tissulaire régionale a été évaluée par le dispositif NIRS. Les mesures sont répétées à H basal, H0, H3 et H6.

- Réactivité vasculaire : une courbe dose-repose de l'effet de la noradrénaline sur la pression artérielle moyenne a été obtenue en fin de procédure pour évaluer la vasoréactivité in vivo.

- Inflammation : les niveaux plasmatiques de cytokine anti-inflammatoire et pro-inflammatoire ont été mesurés grâce à des kits de Quantibody® cytokine array conformément aux instructions du fabricant. Les mesures sont répétées à H basal, H0 et H6.

2.2.10 Critères d'exclusion

Les points limites à la poursuite de l'expérimentation sont :

- La perte sanguine >800ml
- L'arrêt cardio-circulatoire réfractaire avant réalisation des mesures basales

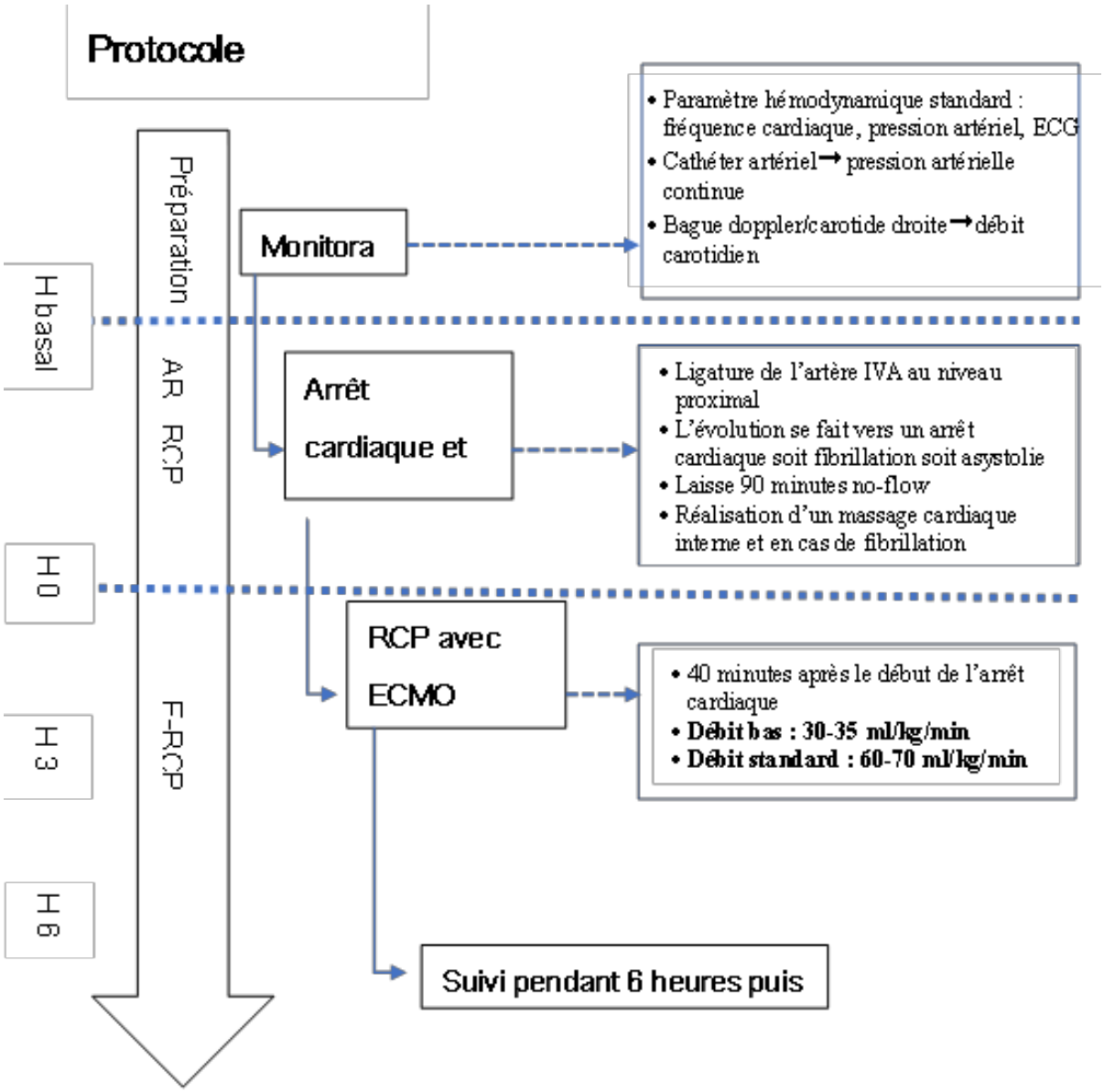


Figure 19. Schéma récapitulatif du protocole expérimental

AR : arrêt cardiaque ; RCP : réanimation cardiopulmonaire ; E-RCP : réanimation cardiopulmonaire extracorporel ; IVA : artère interventriculaire antérieur.

2.3 Techniques principales

2.3.1 Sidestream Dark Field (SDF)

La perfusion tissulaire dépend du nombre, de la distribution et des diamètres des capillaires en combinaison avec la viscosité du sang et la pression de conduire à travers le capillaire. L'exploration de la microcirculation au niveau des organes profonds est extrêmement difficile. La technique de *Sidestream Dark Field (SDF)* permet de visualiser le flux microvasculaire à la surface de la muqueuse, au moyen d'une caméra.

Principe

Le dispositif SDF est basé sur le principe de la lumière polarisée verte (548 nm). Cette lumière illumine le tissue entourant les capillaires et est absorbée par l'hémoglobine à l'intérieur des érythrocytes. La lumière rétrodiffusée passe à travers l'analyseur qui filtre le capillaire (Figure 20).

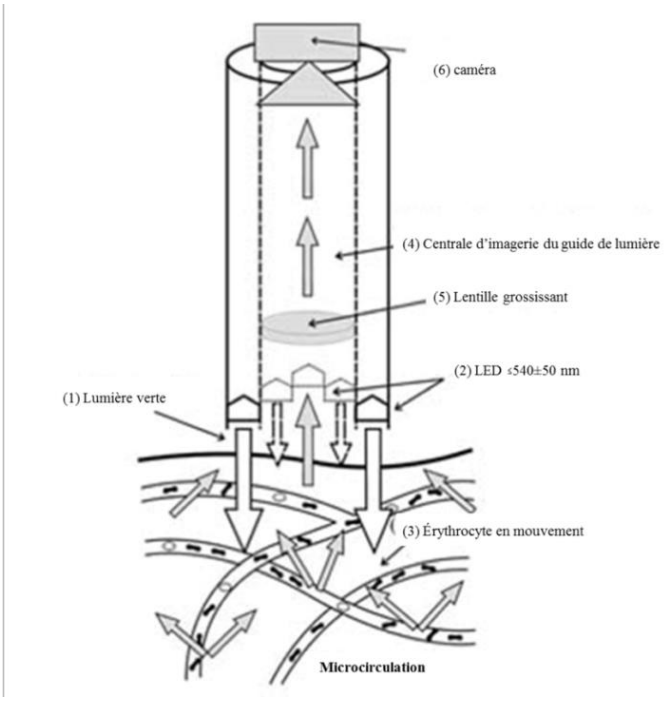


Figure 20. Schéma optique d'imagerie SDF.

(1) une lumière est émise par (2) des diodes électroluminescentes (LED) périphérique de 540+-50nm vers le tissu dispose en cercle à la fin du guide de lumière. La microcirculation est directement pénétrée et éclairée latéralement par la lumière verte absorbée par l'hémoglobine des érythrocytes qui sont observé comme (3) cellules en mouvement sombre. (4) la partie centrale d'imagerie du guide de lumière est optiquement isolée des LED. (5)Une lentille grossissant projette l'image sur (6) une caméra.

La zone sublinguale est l'une des zones les plus faciles d'accès dans les muqueuses humaines. La principale raison pour laquelle la microcirculation sublinguale a été choisie comme une mesure de substitution du flux sanguin splanchnique est que la langue et le splanchnique partage une origine embryogénique commune avec l'intestin de plus il existe la corrélation entre la capnométrie sublingual et la tonométrie gastrique.

La procédure de mesure de la microcirculation sublinguale

Le dispositif a été délicatement appliqué sur le cote latéral de la langue, dans une zone environ 2 ou 3 cm des extrémités. La salive et d'autres sécrétions ont été délicatement enlevées avec de la gaze. Après mise en point la focale, quatre séquences d'images de 10 secondes minimum sont réalisées en sublingual dans des zones distinctes et sont analysé a posteriori. Les images de microcirculation sont recueillies sous formes de vidéos numériques, directement visualisées et enregistrées sur un ordinateur au format AVI.

L'interprétation de l'image de microcirculation

Les images sont interprétées a posteriori grâce au logiciel AVA3 (MicroVisionMedical, Amsterdam, Pays Bas). Tous les vaisseaux visibles sur les séquences sont démarqués demi-automatiquement et caractérisés selon leur flux par l'opérateur. Les principaux flux des petits vaisseaux sont cotés de 0 à 3 : 0=absent, 1=intermittent (absent de flux <50% du temps), 2= lent, et 3=normal. Les vaisseaux avec un diamètre inférieur à 20 μm sont définis comme des petits vaisseaux.

Une première méthode consiste à calculer le score de De Backer. L'image vidéo est divisée par trois lignes horizontales et trois lignes verticales équidistantes permettant ainsi de calculer trois paramètres (Figure 21).

La densité totale des vaisseaux (*Total Vessel Density*, **TVD**, $mm.mm^{-2}$) est calculée comme la longueur totale des vaisseaux divisés par la surface de la zone d'intérêt.

La densité des vaisseaux perfusés (*Perfused Vessel Density*, **PVD**, $mm.mm^{-2}$) est une estimation de la densité capillaire fonctionnelle (densité de petits vaisseaux multipliée par la proportion des petits vaisseaux perfusés).

La proportion des petits vaisseaux perfusés (*Proportion of Perfused Vessels,* PPV, %) comme le nombre de petits vaisseaux perfusés (flux continu >20 secondes) croisant les lignes, divisé par le nombre total de petits vaisseaux croisant les lignes.

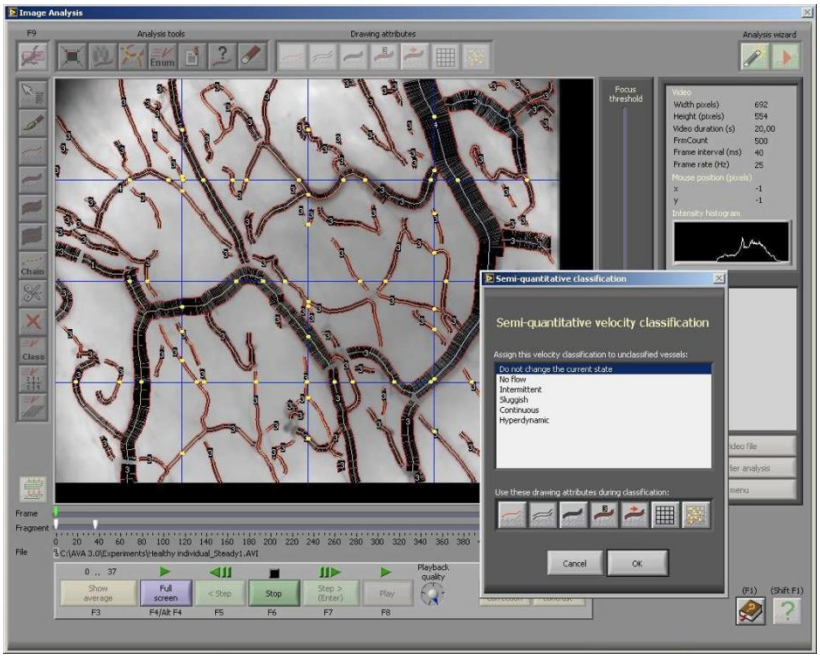


Figure 21. Analyses d'image par AVA- l'évaluation du score de De Backer.
La densité de vaisseaux est calculée comme le nombre de vaisseaux traversant les lignes divisé par les longueurs totales des lignes. Perfusion est catégorisée par l'œil : continu, lent, intermittent, no flow. La proportion des vaisseaux perfuse (PPV) et la densité de vaisseaux perfuse (PVD) sont ensuite calculé.

Une deuxième méthode consiste à déterminer le type dominant de flux des petits vaisseaux (Figure 22). Il est défini dans chacun des quatre quadrants de l'image permettant de calculer **l'index de flux microvasculaire** (Microvascular Flow Index, **MFI**, unité astérie)



Figure 22. Analyse d'image par AVA - l'évaluation du score d'index de flux

L'image est divisée en quadrants et le type de flux prédominant est évalué dans chaque quadrant : 0=absent, 1=intermittent, 2=lentement et 3= normale. Le score MFI représente les valeurs moyennes des quadrants.

2.3.2 Spectroscopie de proche infrarouge (NIRS)

La technologie du NIRS est une technique non-invasive qui exploite en continue des changements dans l'oxygénation tissulaire et musculaire locale représentant l'équilibre dynamique entre l'apport d'oxygène et la consommation. NIRS est aussi un outil utile pour monitorer la réactivité vasculaire par le test d'occlusion vasculaire (TOV).

Principe de mesure

La lumière de proche infrarouge (680-800nm) pénètre facilement les tissus, qui ont une capacité d'absorption très faible. Dans cet intervalle de longueur d'onde, la lumière n'est absorbée que par l'hémoglobine, la myoglobine et le cytochrome oxydé, mais la contribution de ces deux derniers composants à l'atténuation de la lumière est très faible. Des lors, le signal enregistré par NIRS est principalement dérivé de l'hémoglobine présente dans le volume de tissue étudié. De plus, selon la loi de Beer, le signal NIRS est limité aux vaisseaux de diamètre inférieur à 1 mm (artérioles, capillaires et veinules). La technique du NIRS évalue donc le degré d'oxygénation de l'hémoglobine intravasculaire essentiellement au niveau microcirculation (Figure 23).

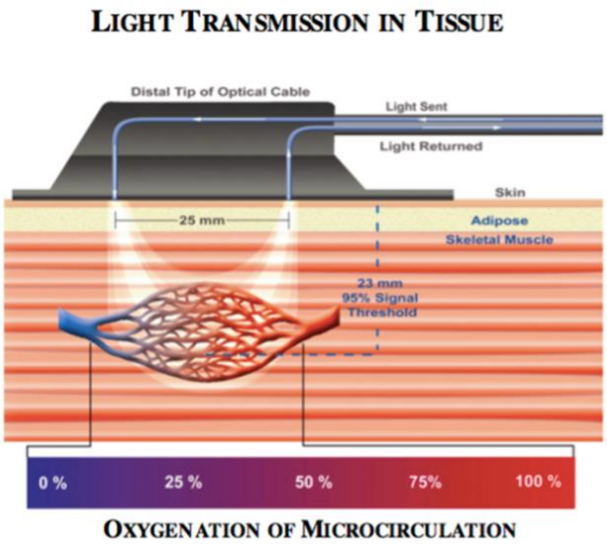


Figure 23. Schéma du principe de mesure de NIRS.

La lumière se diffuse dans les tissus et est absorbée différemment selon que l'hémoglobine est oxygénée ou désoxygénée, en particulier dans la microcirculation. La lumière renvoyée au moniteur est affichée.

Test d'occlusion vasculaire (TOV) : variables dynamiques

Certaines études ont rapporté une corrélation entre une saturation basse en StO_2 et des effets indésirables, en particulier lors d'un sepsis. Combiné avec le test d'occlusion des vaisseaux (TOV), NIRS peut analyser les changements de StO_2 au cours des stimuli ischémiques transitoires et fournir des paramètres dynamique pour l'extraction d'oxygène tissulaire et la réactivité microvasculaire[86]. La récupération lente de StO_2 pendant la reperfusion est un prédicteur indépendant de la mortalité chez les patients atteints de sepsis[87].

Plusieurs variables peuvent être monitorée au cours de TOV (Figure 24):

1. la StO_2 de base
2. la pente de désaturation de la StO_2 ($RdesatStO_2$) durant la période ischémique
3. le StO_2 minimum
4. le StO_2 maximum
5. le ΔStO_2
6. la pente de resaturation de la StO_2 ($RrestStO_2$) durant la phase initiale de reperfusion

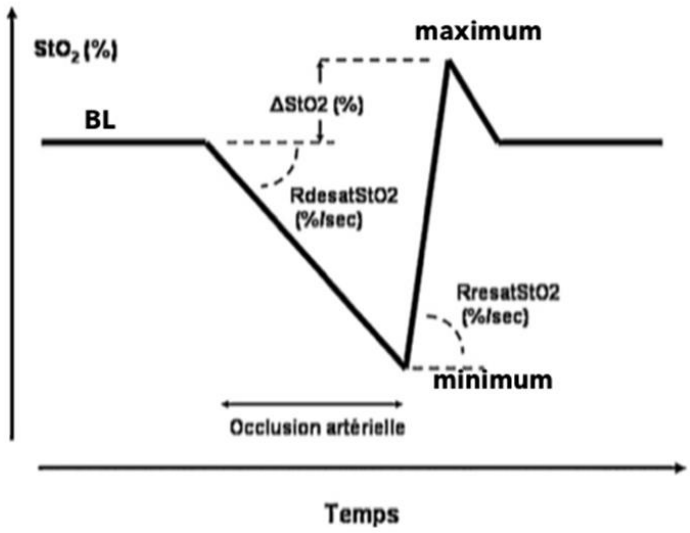


Figure 24. Évolution schématique de la StO_2 au cours d'un test d'occlusion vasculaire artérielle.

ΔStO2 : différence entre la StO_2 maximale au cours de la phase de reperfusion et la StO_2 de base ; $RdesatStO_2$: pente de désaturation de StO_2 durant la période ischémique ; $RresatStO_2$: pente de résaturation de la StO_2 durant la phase initiale de reperfusion.

La mesure de StO_2 et TOV

Le StO_2 était mésusé en continue avec la technique de NIRS (Inspectra TM tissue spectometer Model 650; Hutchinson Technology Inc., Hutchinson, MN, USA.). Un capteur (InSpectra® Tissue Spectrometer, Model 325, Hutchinson Technology Inc., Hutchinson, MN, USA) est placé sur une zone musculaire rasée au niveau de la face postérieure de la cuisse droite en regard des muscles graciles, semi-membraneux et adducteurs.

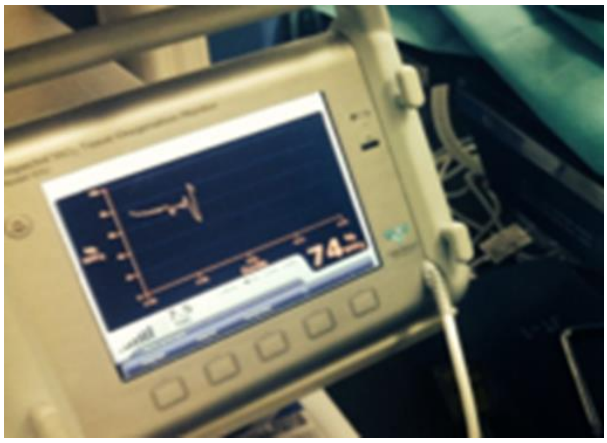


Figure 25. Le mesurèrent de la StO_2 par le dispositif de NIRS.

Des TOV artériel ont été réalisés après une phase de stabilisation du signal pendant 3 minutes au temps H basal, H0, H3, H6. Le test d'occlusion des vaisseaux (TOV) est réalisé par compression manuelle de l'artère iliaque interne droite durant trois minutes. La levée de l'occlusion produit la reperfusion ainsi qu'une phase d'hyperhémie.

La StO_2 est enregistrée en continu pendant le TOV à l'aide d'un logiciel InSpectra (InSpectra® Analysis Program, Version 2.0, Hutchinson Technology Inc., Hutchinson, MN, USA).

Cet enregistrement a été analysé secondairement par un logiciel d'analyse de courbe (Version 3.03 Inspectra Analysis Program ; Hutchinson Technology Inc.)

On évalue alors la valeur de StO_2 basale (%), la pente de décroissance de la StO_2 (%.min^{-1}), la pente de remontée de la StO_2 (%.min^{-1}), la valeur maximale de la StO_2 lors de la phase d'hyperhémie pour calculer le ΔStO_2(%) (StO_2 maximum-StO_2 basal).

2.3.3 La courbe noradrénaline dose-réponse

Pour obtenir la courbe dose-réponse de l'effet de la noradrénaline sur la pression artérielle moyenne, la noradrénaline est injectée de manière progressive à la dose de 0, 20, 40, 80, 160 µg.kg^{-1}. À chaque étape, l'augmentation maximale de la pression systolique, diastolique, la pression artérielle moyenne et la fréquence cardiaque sont mesurées. Chaque dose sera injectée après le retour à la valeur de base. Cette courbe permet d'évaluer de manière in vivo la réactivité vasculaire.

2.3.4 ELISA et le microarray de cytokine

Principe

La méthode conventionnelle de détection et de quantification des cytokines est par un test ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*). Dans cette méthode, la protéine cible est immobilisée sur un support solide. La protéine immobilisée est ensuite complexée avec un anticorps lié à une enzyme. La détection du complexe enzymatique peut ensuite être visualisée par l'utilisation d'un substrat qui produit un signal détectable.

Le microarray de protéine, une plateforme de microarray quantitative multiplexée basée sur ELISA, permet aux chercheurs de déterminer simultanément la concentration de plusieurs cytokines. Comme le test ELISA traditionnel, des anticorps de capture sont d'abord lié à la surface du verre en format matriciel, après incubation avec l'échantillon,

les cytokines cibles sont piégées sur la surface de verre. Puis les seconds anticorps de détections marqués à la biotine sont ensuite ajouté, ils peuvent reconnaître un épitope diffèrent de la cytokine cible. Puis les complexes cytokine-anticorps-biotine peuvent ensuite être visualisé par l'addition du colorant équivalent Cy3 conjugué à la streptavidine, en utilisant un scanner laser (Figure 26).

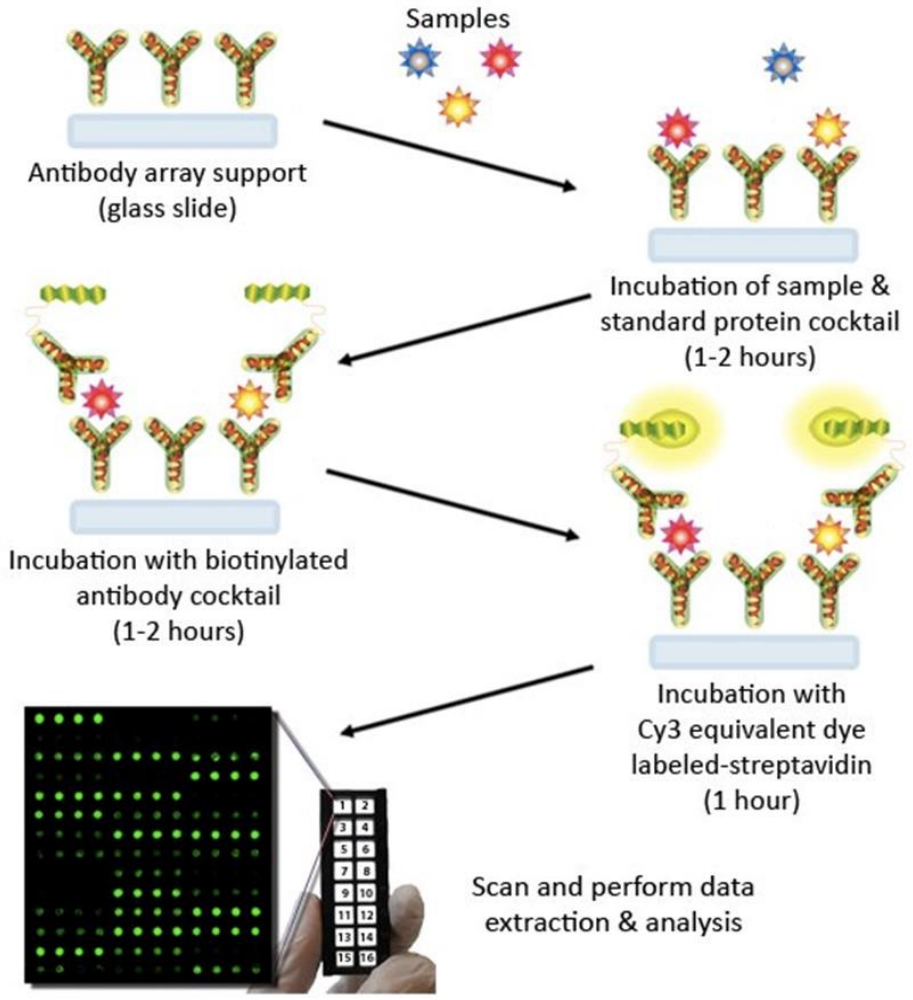


Figure 26. Les principaux du microarray de cytokine

Procédure de réalisation

En utilisant ce système, des cytokines sont dosées dans chaque matrice simultanément par une procédure ELISA en sandwich selon les instructions du fabricant. Sommairement, la cassette de Quantibody® est laissée s'équilibrer et sécher à température ambiante pendant 1-2 heures avant d'ajouter 100ml de diluant d'échantillon dans chaque puits pendant 30 minutes. Le tampon est décanté et 100 µl d'échantillon ou de cytokines pour réaliser une courbe standard, sont ajoutés dans chaque puits et incubés à la température ambiante pendant 2 heures. Les échantillons sont décantés et

la plaque est lavée 5 fois avec un premier tampon de lavage et 2 fois avec un deuxième tampon de lavage. Le cocktail d'anticorps de détection conjugué à la biotine est reconstitué avec 1.4 ml tampon d'échantillon, 80 µl sont ajoutés à chaque puits. La plaque est incubé pendant 2 heures à température ambiance puis lavée comme précédemment. Le colorant Cys conjugué à la streptavidine est reconstituée et 80 µl de colorant Cy3 est ajoutés à chaque puits, la plaque est recouverte par une feuille d'aluminium pour exclure la lumière et incubé à température ambiante pendant 1 heure. La plaque est lavé comme précédemment. La lame de verre est retirée attentivement et lavée doucement dans le tube de la laveuse/sécheuse fourni. La lame est séchée en décantant tout le tampon et en centrifugeant à 1000g pendant 3 minutes. Les images sont détectées par un laser scanneur.

Pour la quantification des cytokines, les courbes standards sont générées par les densités de signaux et les concentrations prédéterminées des étalons de cytokines spécifiques. En comparant les signaux d’échantillons inconnus à la courbe standard, la concentration de cytokine dans les échantillons sera déterminée.

2.4 Méthodes statistique

Selon le petit échantillon, tous les résultats sont exprimés en médiane et Interquartile range (IQR). Les comparaisons entre deux groupes ont été analysées en utilisant le test de Mann-Whitney non paramétrique et entre plus de deux groupes par le test de Friedman avec une comparaison post-hoc effectuée si la valeur P globale était <0,05. Toutes les analyses statistiques étaient de deux côtés, avec un niveau de signification de 0,05 et réalisées en utilisant SPSS 22,0(SPSS Inc., Chicago, USA). Toutes les figures ont été faites par le logiciel Graph Pad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA).

3. RESULTATS

3.1 Caractérisation de la population basale

Vingt-quatre cochons Landrace mâles ont été utilisé pour cette étude. Au total cinq cochons ont été exclus due à un choc hémorragique avec perte sanguin supérieur à 800cc pour quatre d'entre eux et impossibilité de canulation causé par des anomalies anatomique pour le dernier.

Dix-huit cochons ont été inclus et randomisés en deux groupes : groupe débit bas (n=9) et groupe débit standard (n=9).

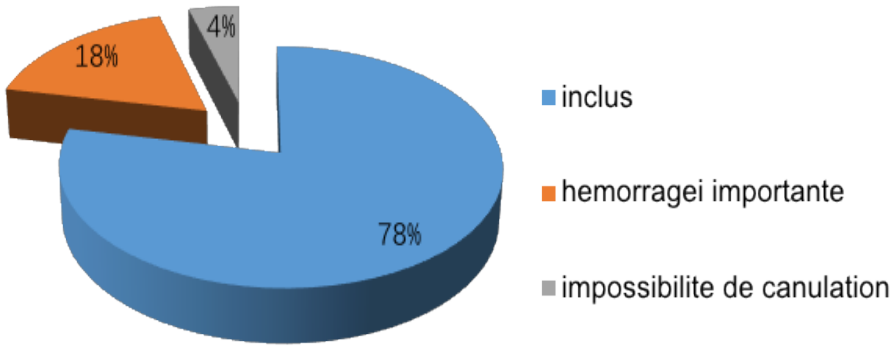


Figure 27. La population de l'utilisation des animaux

Les paramètres hémodynamiques, biologiques, métaboliques et microcirculatoires à l'état basal étaient comparables (Table 5).

.

Table 5. Les paramètres hémodynamiques, métaboliques, microcirculatoires and biologiques après l'ACR

Paramètres	H basale		*p*	H 0		*p*	*p* for DB H Basal *vs* H0	*p* for DS H basal vs H0
	DB	DS		DB	DS			
poids	54.6 [49.0-59.9]	55.0 [49.5-61.4]	*0.72*					
Hémodynamique								
fréquence cardiaque (bpm)	128[91.0-141.5]	93[88-125]	*0.22*	0	0			
MAP (mmHg)	98[88-114.5]	106[94.5-112]	*0.86*	38.0 [28.5-42.0]	39.0 [26.5-49.0]	*0.61*	*0.0039*	*0.0039*
débit carotide ($mL.min^{-1}$)	342[264.5-395.0]	370[237-430]	*0.66*	40.0 [18.5-48.5]	54.0 [44.5-62.5]	*0.05*	*0.0039*	*0.0039*
perte sanguine (mL)	100[50-200]	100[50-400]	*0.61*					
Métabolique								
lactate ($mmol.L^{-1}$)	2[1.5-3.0]	1.9 [1.6-2.2]	*0.53*	11.0 [8.4-12.3]	10.6 [9.8-12.2]	*0.86*	*0.0004*	*0.0004*
pH	7.35 [7.28-7.41]	7.36-7.31-7.40]	*1*	7.24 [7.107.37]	7.12 [7.09-7.27]	*0.39*	*0.1091*	*0.0078*
pCO2 (mmHg)	50[43.5-69.5]	46[43.5-64]	*0.66*	24[15.5-37]	31[21.5-37.5]	*0.39*	*0.0039*	*0.0128*
pO2 (mmHg)	206[158-264]	202[143-213]	*0.44*	115[78.5-151.5]	88[66.5-114.5]	*0.19*	*0.0078*	*0.0039*
HCO3- (mmHg)	27.8 [25.6-29.7]	27.5 [25.6-30.2]	*0.86*	10.2 [8.1-12.1]	9.4 [8.6-11.6]	*1.0*	*0.0091*	*0.039*
SpO2 (%)	99[98-100]	99[98-100]	*0.96*	95[88.5-96.5]	90[82-96.0]	*0.30*	*0.009*	*0.014*
Hb ($g.dL^{-1}$)	9.1 [8.6-9.6]	9.2 [8.5-10.2]	*0.72*	8.5 [7.4-10.2]	9.8 [8.9-10.7]	*0.22*	*0.3309*	*0.7235*
Microcirculation								
StO2 (%) Baseline	72[55-73.5]	75[54-77.5]	*0.43*	13.5 [0-35.5]	7.0 [0-16.6]	*0.86*	*0.0089*	*0.0039*
$RdesatStiO_2$ (%. s^{-1})	12.1 [6.3-15.8]	11.3 [4.5-17.4]	*0.79*	0.58 [0-5.5]	0.27 [0-0.55]	*0.48*	*0.0156*	*0.0078*
$RresatStiO_2$ (%. s^{-1})	2.15 [0.57-3.97]	3.27 [1.48-4.81]	*0.28*	0.09 [0-0.5]	0.06 [0-0.5]	*0.89*	*0.0078*	*0.0078*
Δ $StiO_2$ (%)	12.5 [4-14]	9[5-11]	*0.37*	0.75 [0-6.25]	0[-1.0-0]	*0.15*		
TVD ($mm.mm^{-2}$)	14.8 [13.3-16.1]	16.3 [13.9-16.8]	*0.32*	9.37 [7.83-12.55]	8.9 [8.1-11.1]	*0.61*	*0.0078*	*0.0078*
PVD ($mm.mm^{-2}$)	14.4 [12.8-15.6]	16.0 [13.9-16.8]	*0.32*	1.19 [0.123.95]	0.68 [0.19-2.99]	*0.49*	*0.0039*	*0.0078*
PPV (%)	95.3 [91.3-98.4]	97.8 [95.1-99.3]	*0.48*	12.2 [1.64-26.9]	7.1 [2.0-23.4]	*0.55*	*0.0039*	*0.0078*
MFI	2. 88[2.78-2.94]	3.0 [2.82-3.0]	*0.18*	0.44 [0.16-0.72]	0.31 [0.03-0.88]	*0.60*	*0.009*	*0.0142*
Biologie								
ALT ($UI.L^{-1}$)	34.2 [26.6-44.9]	42.4 [36.6-46.6]	*0.13*	23.8 [18.1-34.5]	31.6 [24.6-39.2]	*0.46*	*0.0313*	*0.0156*
AST ($UI.L^{-1}$)	26.2 [18.5-27.1]	22.8 [19.3-38.0]	*1*	70.9 [49.6-104.3]	100.4 [77.1-108.1]	*0.26*	*0.0156*	*0.0156*
Créatinine ($mmol.L^{-1}$)	12[9.9-12.8]	10.6 [9.2-11.4]	*0.18*	13.1 [11.2-14.8]	11.4 [10.8-13.4]	*0.26*	*0.0156*	*0.0156*
BUN ($mmol.L^{-1}$)	0.15 [0.12-0.27]	0.15 [0.12-0.17]	*0.56*	0.14 [0.14-0.29]	0.15 [0.15-0.17]	*0.90*	*0.9163*	*0.136*
TnI ($pg.ml^{-1}$)	0.12 [0.69-0.19]	0.1 [0.05-0.20]	*1*	5.64 [3.62-11.89]	5.6 [3.9-6.9]	*0.90*	*0.0156*	*0.0156*

Il n'y a pas de différence entre les deux groupes après l'ACR et la phase de réanimation concernant les paramètres étudie. ACR, arrêt cardiopulmonaire ; DB, groupe débit bas ; DS, groupe débit standard. TVD, densité total des vaisseaux ; PVD, densité des vaisseaux perfusés ; PPV, proportion de vaisseaux perfusés ; MFI, index de flux microvasculaire.

3.2 Caractérisation de l'arrêt cardiaque dans les deux populations

La totalité des ACR étaient des fibrillations ventriculaire (n=18/18). Le délai médian en minutes entre l'occlusion de l'IVA et le début de l'arrêt cardiaque est comparable entre le groupe débit bas et le groupe débit standard avec respectivement 14.1 [6.05-15.1] et 14.6 [5.45-17.75], p=0.8633. La durée médiane (en minutes) est comparable pour le *no-flow* (1.5 [1.5-1.51] *vs* 1.5 [1.5-1.57], p=0.3998) et *low-flow* (40.1 [39.05-41.25] *vs* 40.5 [40.1-41.15], p=0.3299). La gravité de l'état de choc obtenu est comparable sur la lactatémie (en mmol/l) à H0 (11[8.4-12.3] *vs* 10.6 [9.8-12.2], *p*=0.8579) (Table 6).

Table 6. Caractéristiques du modèle de l'arrêt cardiaque ischémique.

	Groupe débit-bas (n=9)	Groupe débit-standard (n=9)	***p***
Arrêt cardiaque (VF/asystolie)	9/0	9/0	
Délai occlusion-choc (minutes)	14.1 [6.05-15.10]	14.6 [5.45-17.75]	0.86
Durée no-flow (minutes)	1.5 [1.5-1.51]	1.5 [1.5-1.57]	0.40
Durée low-flow (minutes)	40.1 [39.05-41.25]	40.5 [40.1-41.2]	0.33
RACS avant ECMO (oui/non)	0/9	0/9	
Lactate à H0 ($mmmol.l^{-1}$)	11[8.4-12.3]	10.6 [9.8-12.2]	0.86

Il n'y a pas de différence entre les deux populations lors de la réalisation de l'état de choc sur le délai entre l'occlusion de l'IVA et l'arrêt cardiaque, la durée de *no-flow*, la durée de *low-flow*. VF, ventriculaire fibrillation ; RACS, retour à la circulation spontanée ; ECMO, extracorporel membrane oxygénation. Résultats présentés en médiane [IQR].

3.3 Paramètres de la population du choc post-arrêt cardiaque

Quarante minutes après l'arrêt cardiaque l'ECMO est démarrée. A H0, il y a un changement significatif sur tous les paramètres hémodynamiques, métaboliques,

microcirculatoires et biologiques. Tous les paramètres sont comparables entre les deux groupes. Les résultats sont détaillés dans la Table 5.

3.4 Évolution sur les six heures de suivi

3.4.1 Paramètre hémodynamique

Le débit d'ECMO est déterminé selon le groupe débit bas ou débit standard, et est maintenu au même niveau tout au long de la procédure avec une différence significative entre les deux groupes (p=0.001) (Figure 28.A).

L'objectif de PAM est maintenu à 65 mmHg, il n'y a pas de différence significative entre les deux groupe (p=1.00) (Figure 28.B).

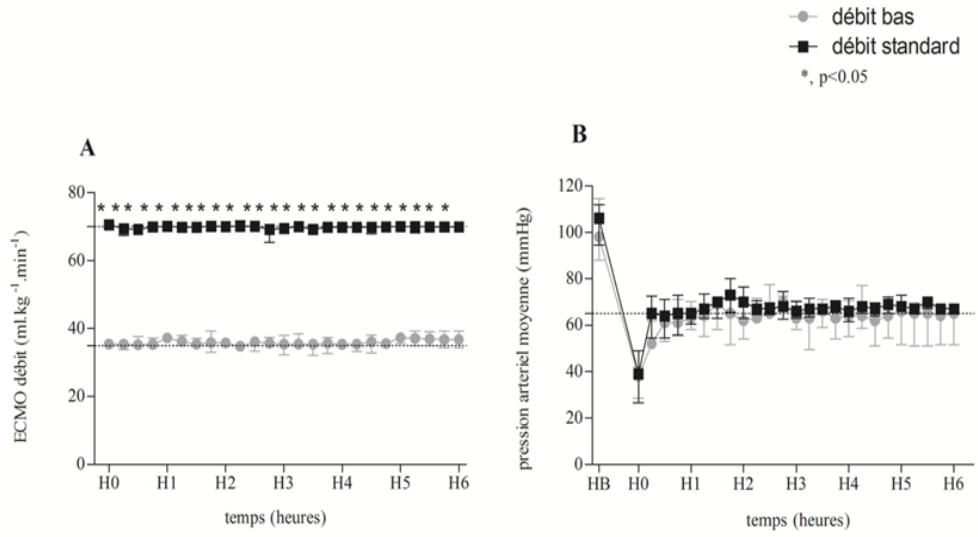


Figure 28. (A) débit d'ECMO et (B) PAM pendant les 6 heures de protocole.

HB pour l'état basal, puis évolution au cours du temps (en heure) du débit d'ECMO et la pression artérielle moyenne. Stabilité du débit d'ECMO exprimés en $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ durant les six heures du protocole dans les deux groupes. Chute de la PAM attendue lors de la phase de *low-flow* entre HB et H0. Puis la PAM est maintenue au niveau de 65 mmHg, pas de différence significative entre les groupes. *, p<0.05, différence significative.

3.4.2 Débit carotidien

Concernant l'évolution du débit carotidien au cours du temps, il y a une chute du débit attendu (<20% de valeur basale) lors de l'ACR entre HB et H0. Il n'y avait pas de différence significative entre les deux groupes à H0.

Après la réanimation avec ECMO, le débit carotidien est restauré à certain niveau dans les deux groupes. Le débit carotidien dans le groupe débit bas est significativement moindre que dans le groupe débit standard malgré avec le même niveau de PAM à 65mmHg dans le deux groupes (Figure 29).

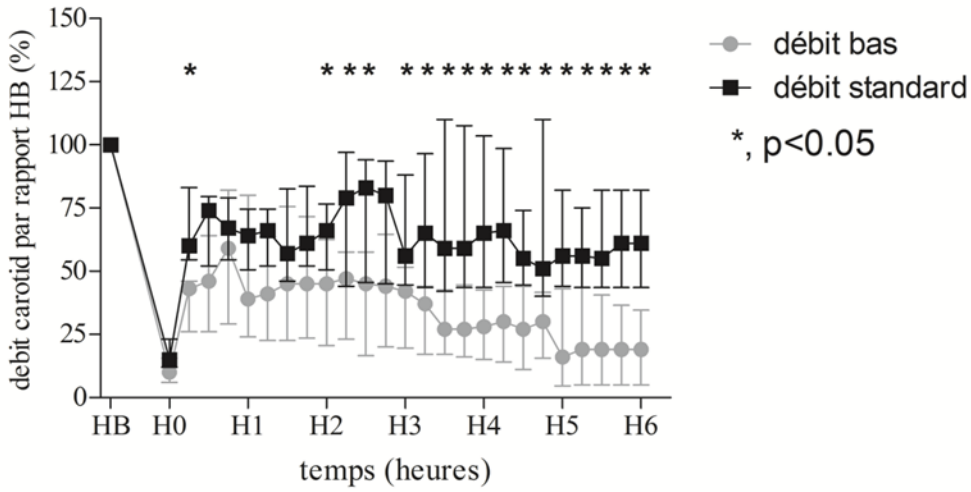


Figure 29. Évolution du débit carotidien par rapport à l'état basal

Évolution au cours du temps (en heure) du débit carotidien par rapport à l'état basal (%). Chute du débit attendu lors de l'ACR entre HB et H0. Sur la totalité du suivi, différence significative entre les deux groupes. *, p<0.05, différence significative.

3.4.3 Lactate de la clairance de lactate

La lactatémie (en mmol .l^{-1}) à H0 est comparable dans le groupe débit bas et le groupe débit standard avec respectivement une médiane à 11[8.4-12.3] et 10.6 [9.8-12.2], *p*=0.883.

Le lactatémie ne réduit pas à H3 (p=0.48) et à H6 (p=0.48) après la réanimation ECMO dans le groupe débit bas, cependant il y a une diminution significative de lactatémie à H3 (p=0.30) et à H6 (p=0.30) dans le groupe débit standard (Figure 30).

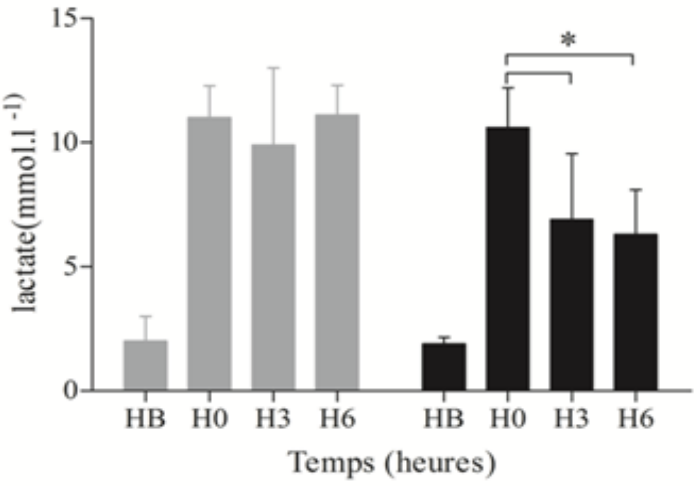


Figure 30. Evolution de la lactatémie au cours du protocole.
Une augmentation de lactatémie dans deux groups à H0. Il y avait une diminution significative de lactatémie dans le groupe débit standard après réanimation avec ECMO à H3 et H6. *, p<0.05, différence significative.

La clairance du lactate (en %) de H0 à H3 et de H0 à H6 est significativement diminué dans le groupe débit bas (H3: -2.56 [-17.55 – 11.59] vs 28[10.86-63.12], p=0.014 ; H6 : 6.67 [-10.43 – 18.78] vs 47.41 [19.54-70.69], p=0.040) (Figure 31).

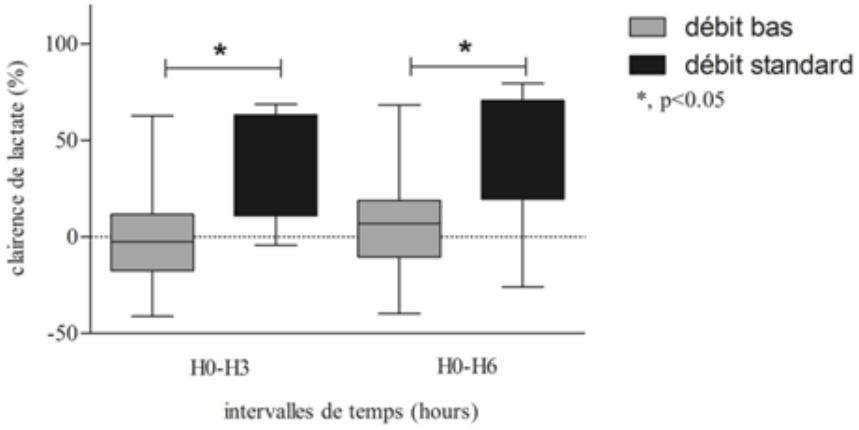


Figure 31. La clairance du lactate de H0 à H3 et de H0 à H6.

H0-H3 pour la clairance du lactate entre H0 et H3; H0-H6 pour la clairance du lactate entre H0 et H6. Le groupe débit bas a une clairance du lactate significativement plus basse que le groupe débit standard. *, p<0.05, différence significative.

3.4.4 Quantité de noradrénaline et de fluide perfusée durant le protocole

La quantité totale de noradrénaline (en ug.kg-1) administrée dans le groupe débit bas et débit standard est respectivement de 1421.8 [908.5, 2253.9] et de 710.6 [93.4, 1324.6] sans différence significative (p = 0.063) (Figure 32). En regardant les besoins en noradrénaline par heure dans les deux groupe, on trouve que le groupe débit bas nécessite plus de noradrénaline dans le 1er, 4ème ,5ème et 6ème heures.

Il n'y a pas de différence entre les groupes sur la quantité totale de fluide perfusé (en ml) pour maintenir un débit d'ECMO cible (7600[4150, 19000] vs 9000[3100, 20750], *p=1.000*).

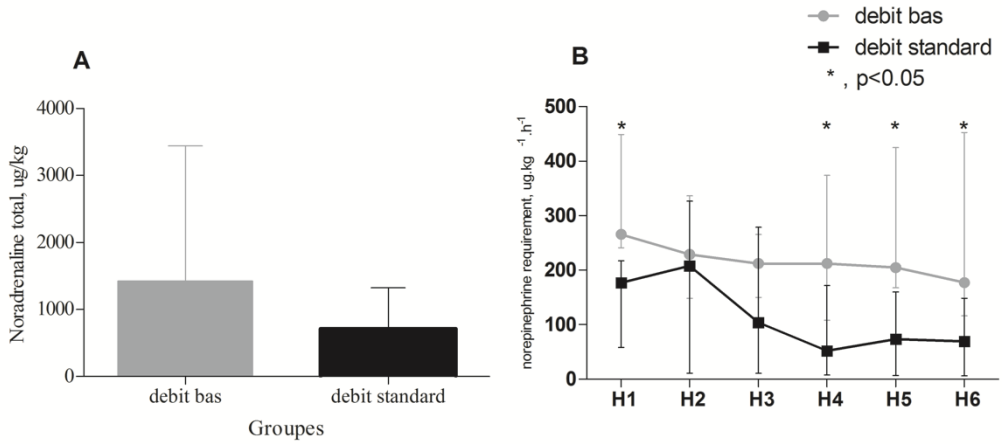


Figure 32. Dose totale de noradrénaline perfusée dans les deux groupes pendant la durée du protocole

(A) Pas de différence significative entre les deux groupes sur la quantité totale de noradrénaline perfusée. (B) Sur les besoins de noradrénaline par heures, à la fin de trois heures, le groupe débit bas nécessite plus de noradrénaline que le groupe débit standard. *, p<0.05, différence significative.

Concernant la réactivité vasculaire à la fin de la procédure, il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes sur la dose-réponse après injection de noradrénaline à doses croissantes (Figure 33).

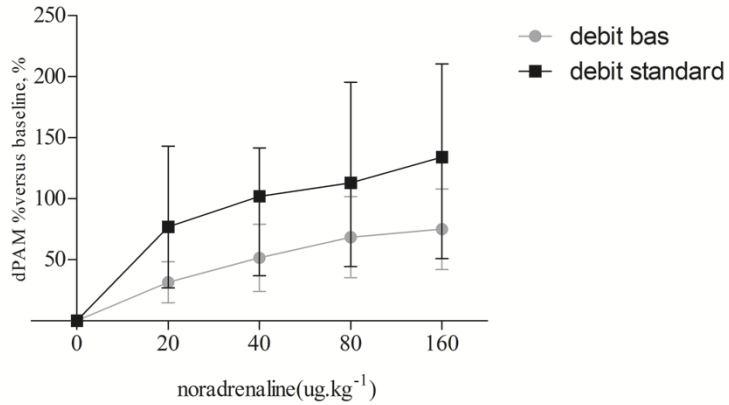


Figure 33.Courbe noradrénaline dose-réponse de la pression artérielle moyenne.

La noradrénaline est injectée de manière progressive à des doses de 0, 20 40, 80, 160 ug.kg-1 en fin de protocole.

3.4.5 Gaz du sang

Tous les paramètres de gaz du sang tels que le PH, le HCO_3, le pCO_2, le pO_2, le SO_2 et l'hémoglobine sont comparables à H basal et H0.

La pO_2 (en mmHg) est comparable dans les deux groupes à HB et H0. Et à H3 la pO_2 est significativement supérieure dans le groupe débit bas avec une médiane à 233[140-297] contre 105[80-146] dans le groupe débit standard (p = 0.008). Mais à H6 cette différence a disparu avec une valeur médiane 258[190-306] dans le groupe débit bas contre 118[77-295] dans le groupe débit standard (p = 0.190).

La pCO_2 (en mmHg) est comparable dans les deux groupes à HB et à H0. À H3 la pCO_2 est significativement inférieure dans le groupe débit bas avec une médiane à 29[24-34] contre 37[31-46] dans le groupe débit standard (p = 0.021). Mais à H6 cette différence a disparu avec une valeur médiane 27[19, 31] dans le groupe débit bas contre 31[26, 39] dans le groupe débit standard (p = 0.136).

Concernant l'hémoglobine (Hb, en $g.dl^{-1}$), le groupe débit bas reste au même niveau à H3 avec une valeur de 8.9[5-9.75] et à H6 avec une valeur de 7.3[5-9.4] comparé avec H0 (8.5[7.4-10.2]) (p = 0.326), par contre, le groupe débit standard a un plus bas niveau de Hb à H6 (6.4[5.5-8.7] versus 9.8[8.9-10.7] à H0, p = 0.001).

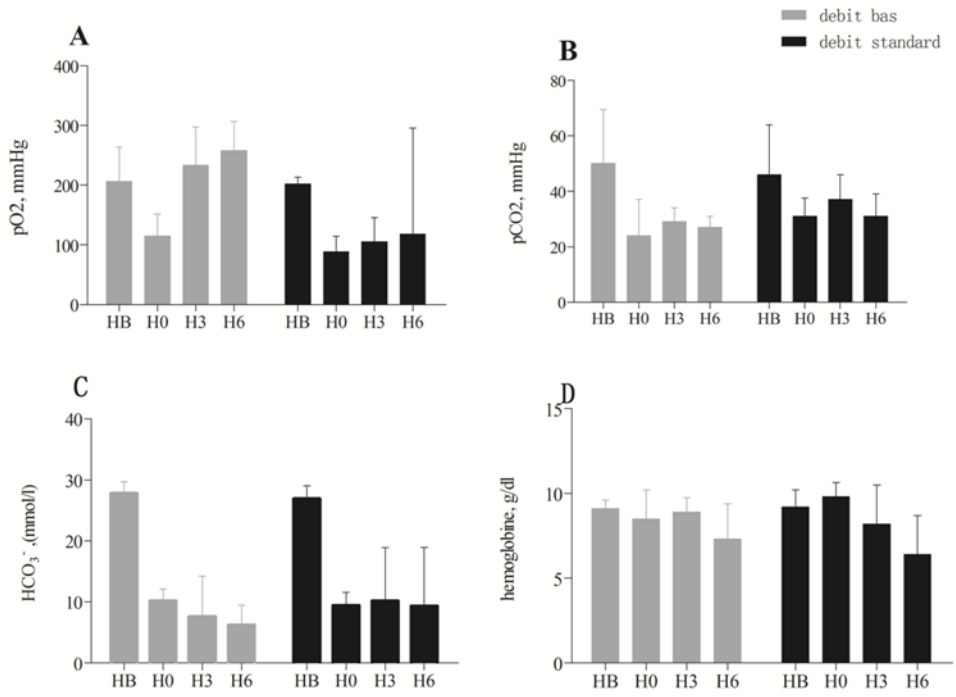


Figure 34. Évolution des paramètres du gaz du sang au cours de protocole.
(A) pas de différence sur le pO_2 (B) pas de différence sur le pCO_2 (C) pas de différence sur le HCO_3 (D) Pas de différence sur l'hémoglobine entre les deux groupes aux différents temps (H0, H3, H6,).

3.4.6 Microcirculation sublingual

Nous avons observé des variations significatives sur la microcirculation sublinguale dans différentes situations hémodynamiques au cours du protocole. La Figure 35 **A.** représente la microcirculation à l'état basal, une détérioration sévère sur la densité de vaisseau et le flux microvasculaire a été observé à H0 (après l'arrêt cardiaque et 40 min de RCP) (Figure 35.B). La E-RCP est associée à une certaine d'amélioration de la microcirculation sublingual (Figure 35. C).

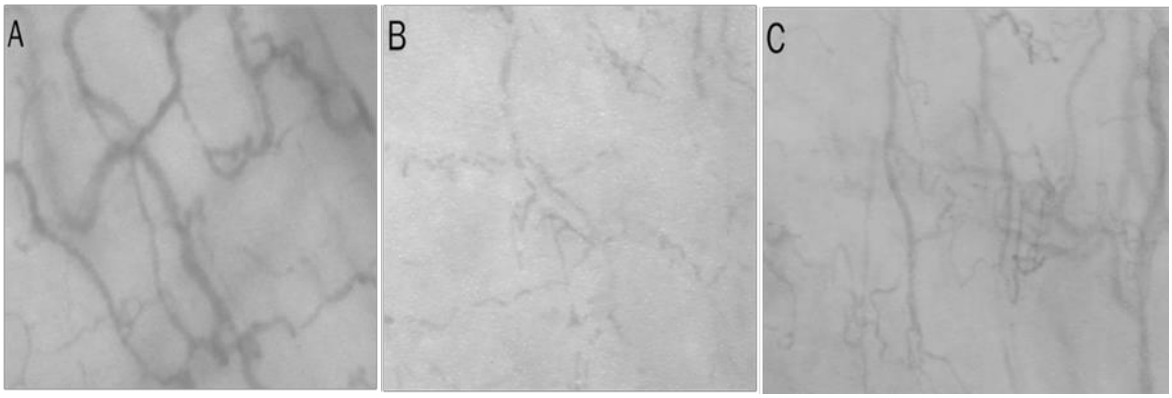


Figure 35. Exemple d'image de microcirculation sublingual.

A. H basal, la densité riche en gros et petit vaisseaux; B. H0, la diminution de la densité des vaisseaux ; C. H6 (à la fin de 6 heures de l'assistance d'ECMO), l'amélioration de la densité des vaisseaux.

L'analyse quantitative des vidéo-images à posteriori montre que :

La densité totale des vaisseaux (TVD) (en $mm.mm^{-2}$) est comparable dans les deux groupes à HB et H0, à H3 avec une médiane à 12.65 [10.44-13.74] dans le groupe débit bas et 14.81 [12.78-15.68] dans le groupe débit standard (p = 0.094), à H6 avec une médiane à 12.68 [7.95-13.94] dans le groupe débit bas et 13.12 [11.93-13.55] dans le groupe débit standard (p = 0.863)

La densité des vaisseaux perfusés (PVD) (en $mm.mm^{-2}$) est comparable dans les deux groupes à HB, H0. A H3, la PVD était significativement inférieure dans le groupe débit bas avec une médiane à 9.72 [4.35, 11.03] contre 12.05 [10.94-14.51] dans le groupe débit standard (p = 0.006). Mais à H6 cette différence a disparu avec une valeur médiane 9.34 [1.32-11.23] dans le groupe débit bas contre 11.7 [8.17-13.93] dans le groupe débit standard (p = 0.077).

La proportion de vaisseaux perfusés (PPV) (en %) est comparable dans les deux groupes à HB, H0. A H3, la PPV est significativement inférieure dans le groupe débit bas avec une médiane à 70.55 [36.07, 78.92] contre 86.12 [78.91-88.51] dans le groupe

débit standard (p = 0.008). Mais à H6 cette différence a disparu avec une valeur médiane 64.3 [11.53-81.74] dans le groupe débit bas contre 83.9 [55.38-89.54] dans le groupe débit standard (p = 0.190).

L'index de flux microvasculaire (MFI) (en unité arbitraire, UA) est comparable dans les deux groupes à HB, H0 À H3, la MFI est significativement inférieure dans le groupe débit bas avec une médiane à 1.63 [0.97-2.35] contre 2.44 [2.22-2.69] dans le groupe débit standard (p = 0.031). Mais à H6 cette différence a disparu avec une valeur médiane de 1.75 [0.31-2.25] dans le groupe débit bas contre 2.38 [1.53-2.69] dans le groupe débit standard (p = 0.094).

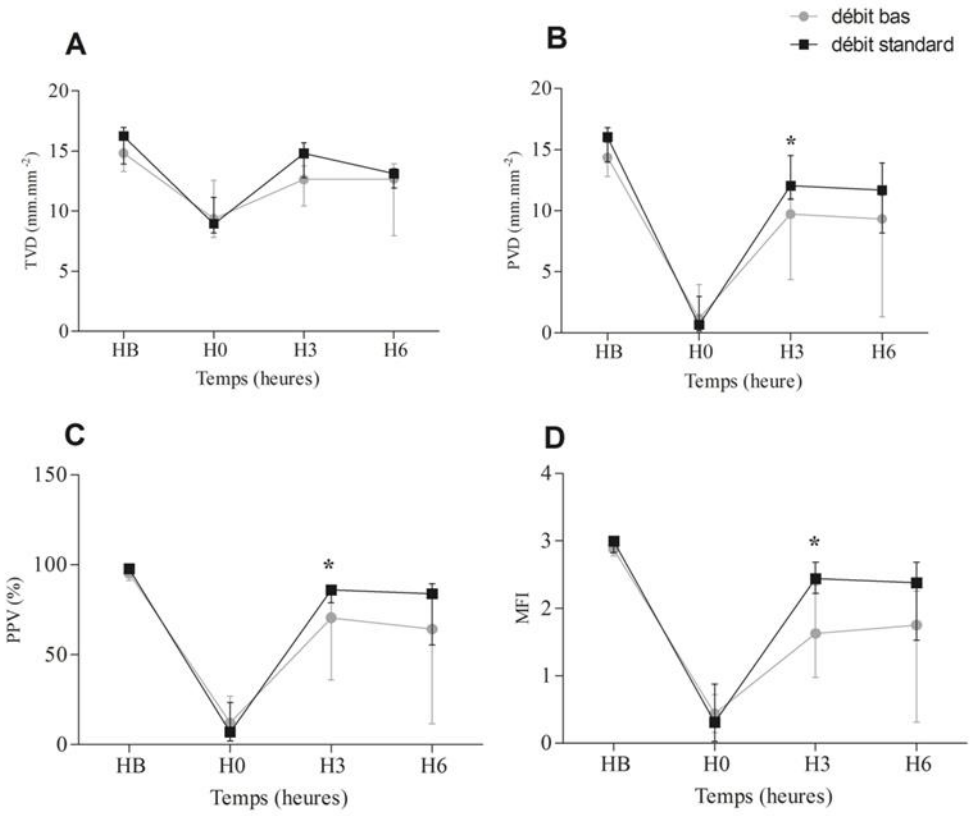


Figure 36. Évolution des paramètres de microcirculation mesurés par SDF au cours du protocole.

(A) :TVD (densité totale de vaisseaux) pas de différence entre les groupes au cours du temps ;(B) PVD (densité de vaisseaux perfusés) est plus élevé dans le groupe débit standard à H3. Il n'y a pas de différence entre les deux groupes à H6.; (C) PPV (proportion de vaisseaux perfusés) est plus élevé dans le groupe débit standard à H3, Il n'y a pas de différence entre les deux groupes à H6. (D) MFI (l'index de flux microvasculaire) est plus élevé dans le groupe débit standard à H3, Il n'y a pas de différence à H6. *, $p < 0.05$, différence significative.

3.4.7 Oxygénation tissulaire

Les paramètres d'oxygénation tissulaire sont mesures par NIRS.

La StO_2 basale (en %) est comparable entre les deux groupes à HB et H0. La valeur est significativement inférieure dans le groupe débit bas à H3 (42.5 [27-48.25] vs

62[53.5-66.5*], p = 0.027*) et à H6 (9.5 [0- 40] vs 51[29.0-69.0], $p = 0.036$) (Figure 37. A).

Après trois minutes d'ischémie correspondant à la manœuvre d'occlusion vasculaire (TOV), pas de différence entre les deux groupes aux différents temps (H0, H3, H6,) sur la pente de décroissance, la pente de récupération et le delta StO_2.

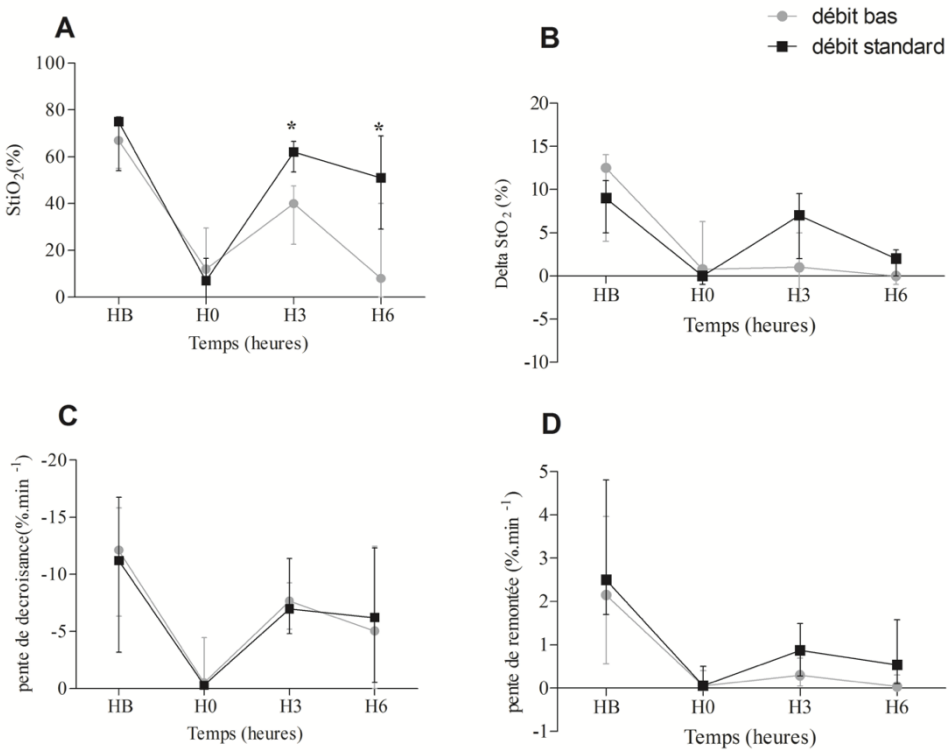


Figure 37. Évolution de variables du NIRS dans les deux groupes au cours du protocole.

(A) StO2 est plus bas significative dans le groupes bas au cours du temps. (B) le ΔStO2 (StO2 max – min pendant la phase d'hyperhémie) n'est pas différente entre les deux groupes au cours du temps. (C) la pente de décroissance de la StO2 pendant la manœuvre d'occlusion n'est pas différente entre les groupes au cours du temps. (D) la pente de remontée de la StO2 n'est pas différent entre les deux groupes au cours du temps. *, $p < 0.05$, différence significative.

3.4.8 Fonction d'organe

Évaluation de la fonction hépatique

Le taux d'alanine aminotransférase (ALAT) (en $UI.L^{-1}$) augmente entre HB et H6 dans les deux groupes avec respectivement 23.8 [18.1-34.5] vs 65.0 [39.8-114.0] ($p = 0.023$) et 31.6 [24.6-39.2] vs 70.9 [37.6-92.3] ($p = 0.004$), sans différence entre les deux groupes à H6 (p =1,000) (Figure 38.A).

Le taux d'aspartate aminotransférase (ASAT) ($UI.L^{-1}$) augmente entre HB et H6 dans les deux groupes avec respectivement 70.9 [49.6-104.3] versus 1010.4 [492.7-1795.1] ($p = 0.001$) et 100.4 [77.1-108.1] versus 1118.0 [774.6-1810.6] ($p = 0.001$), sans différence entre les deux groupes à H6 ($p = 0.620$) (Figure 38.B).

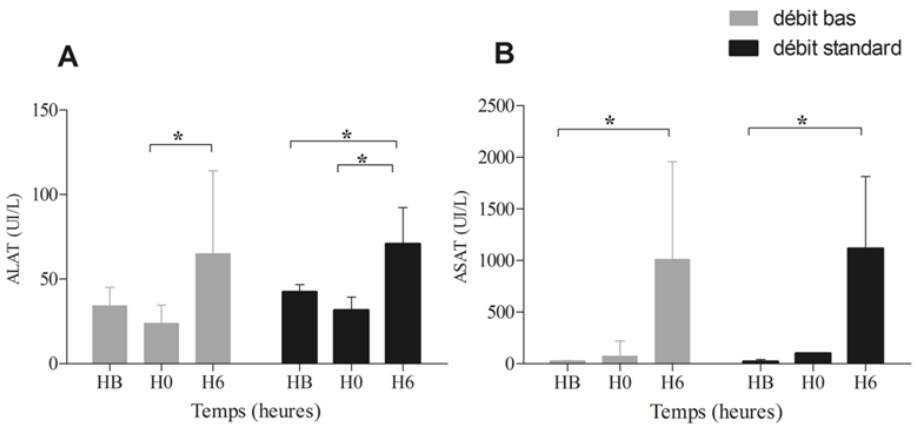


Figure 38. Évolution des transaminases dans les deux groupes au cours du protocole.

HB pour mesure basal. H0 pour mesures à l'état de choc. H6 pour mesures de la fin du protocole. (A), Augmentation significative des ALAT au cours du temps. Pas de différences entre les deux groupes à H6. (B), Augmentation significative des ALAT au cours du temps. Pas de différences entre les deux groupes à H6. *, $p<0.05$, différence significative.

Évaluation de la fonction rénale

La diurèse (en ml) sur les six heures de suivi ne varie pas significativement entre les deux groupes (50[5-545] vs 300[165-575], *p = 0.161*).

Le taux de créatinine sanguine (en mmol.l^{-1}) augmente significativement de HB au H6 dans les deux groupes avec respectivement 10.6 [9.2-11.4] versus 14.4 [12.0-17.6] (p=0.010) dans le groupe débit bas et 12.0 [9.9-12.8] versus 14.9 [11.9-20.3] (p=0.002) dans le groupe débit standard correspondant au développement de la défaillance rénale, sans différence entre les deux groupes à H6 *(p = 0.710*) (Figure 39.A).

Le taux d'urée (en mmol.l^{-1}) augmente significativement de HB au H6 dans le groupe débit standard avec 0.15 [0.12-0.27] versus 0.25 [0.19-0.32] (*p* = 0.010), mais pas de variation significative dans le groupe débit bas avec 0.15 [0.15-0.17] versus 0.24 [0.18-0.25] (*p* = 0.368). Pas de différence entre les deux groupes à H6 (*p* = 0.805) (Figure 39.B).

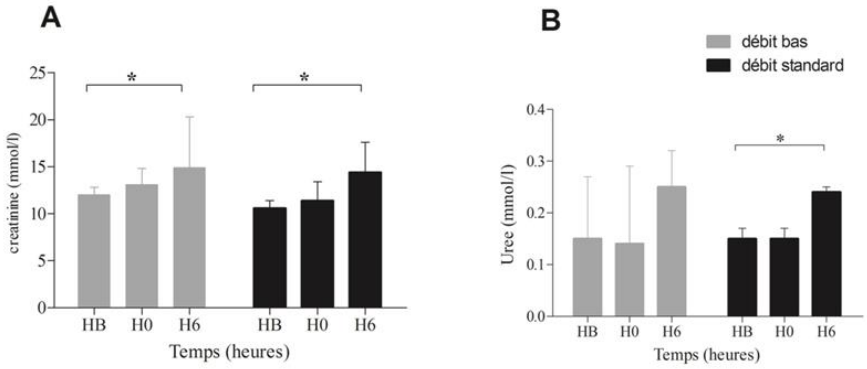


Figure 39. Évolution de la créatinine et de l'urée au cours du protocole.

HB pour mesure basal. H0 pour mesures à l'état de choc. H6 pour mesures de la fin du protocole. (A)Augmentation significative du taux de créatinine à H6 dans les deux groupes. Pas de différence significative entre les deux groupes à H6. (B) Augmentation significative du taux de créatinine à H6 dans le groupe débit standard. Pas de différence significative entre les deux groupes à H6 *, *p*<0.05, différence significative.

Évaluation de la nécrose myocardique

Le taux de troponine (TnI) (en $pg.ml^{-1}$) augmente significativement après l'ACR respectivement 0.1 [0.05-0.2] versus 81.0 [81.0-81.0] (p=0.001) dans le groupe débit bas et 0.12 [0.07-0.2] versus 81.0 [81.0-81.0] (p = 0.001) dans le groupe débit standard, sans différence entre les groupes à H6 (p =1.000) (Figure 40).

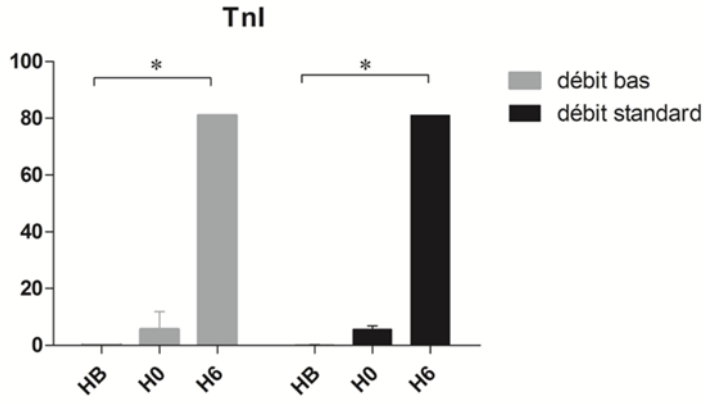


Figure 40. Évolution de la troponine au cours du protocole

HB pour mesure basal. H0 pour mesures à l'état de choc. H6 pour mesures de la fin du protocole. Augmentation significative du taux de troponine dans les deux groupes à H6. Pas de différence entre les deux groups débit bas et débit standard à H6.

3.4.9 Réponse inflammatoire

Nous avons mesuré une série de cytokine pro-inflammatoire et anti-inflammatoire tels que l'IL-10, IL-12, IL-4, IL-6, IL-8, IL-1b, TNF-α, TGFb1, GM-CSF et IFN-γ par une plateforme d'array quantitative multiplexée basée sur ELISA.

Une variété de cytokines ont été détecté à H basal, H0 et H6 dans les deux groupes, détaillées dans la Table 7. Il n'y a pas de différence significative entre le groupe débit bas et le groupe débit standard au cours du protocole.

La cytokine plasmatique pro-inflammatoire IL-6 (en $pg.ml^{-1}$) augmente significativement dans le groupe débit bas à H6 comparé à H basal (71.61 [28.4-155.3] à H basal et 830.5 [81.5-1317.8] à H6, $p = 0.04$) cependant il n'y a pas de différences significative entre H basal et H6 dans le groupe débit standard (56.06 [12.2-140.9] à H basal et 175.6 [49.86-491.4] à H6, $p=0.013$) (Figure 41).

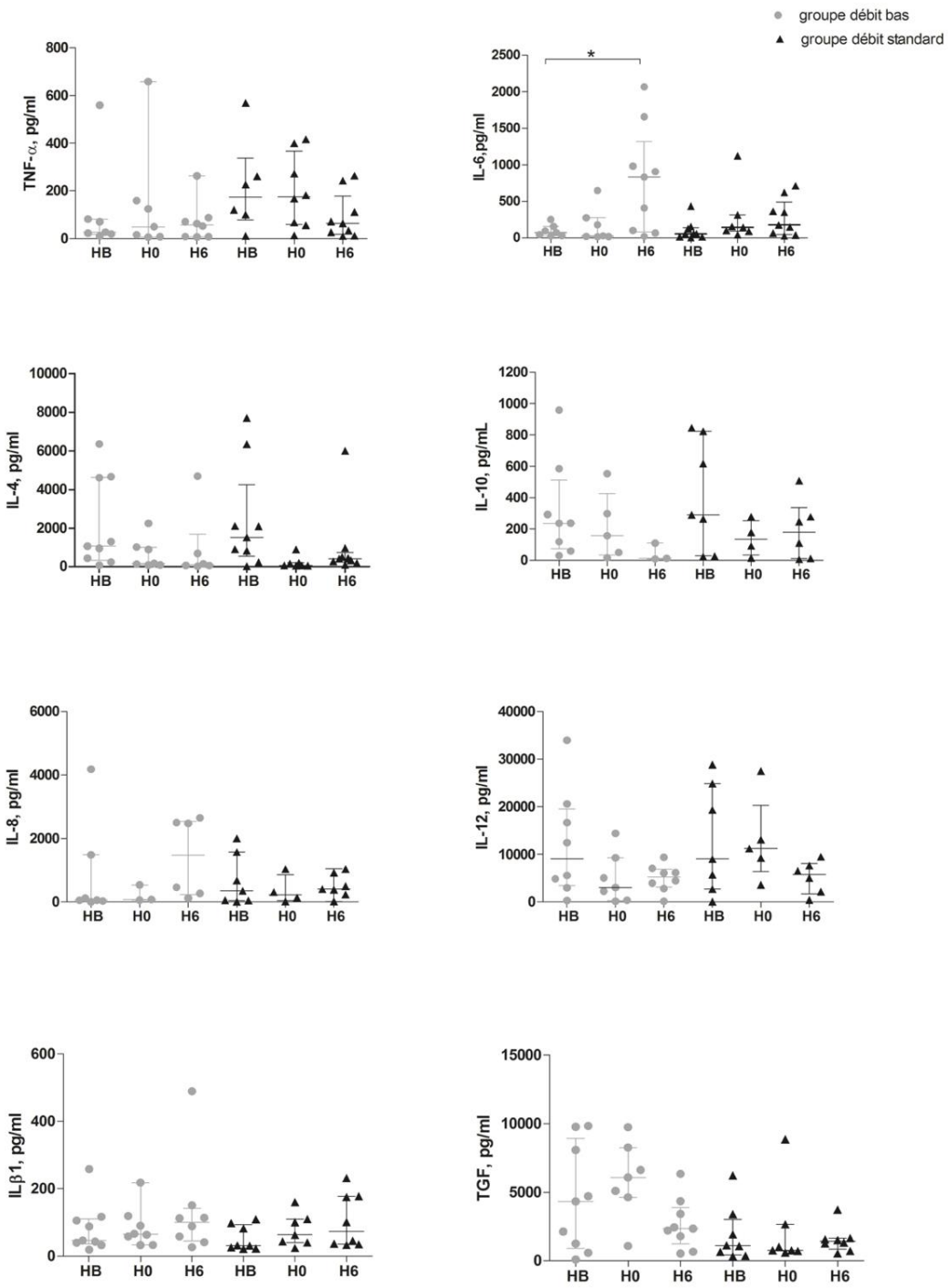


Figure 41. Évolutions des concentrations plasmatiques de cytokines inflammatoires

HB pour mesure basal. H0 pour mesures à l'état de choc. H6 pour mesures de la fin du protocole. IL-6 augmente significativement dans le groupe débit bas à H6 comparé à H basal. *, $p<0.05$, différence significative.

Table 7. Concentration des cytokines pro et anti-inflammatoires au cours du protocole dans les deux groupes.

	H basal			H6				
	DB	**DS**	***P***	**DB**	**DS**	***P***	***P* pour DB H basal *vs* H6**	***P* pour DS H basal *vs* H6**
IL-10 (pg/ml)	236.6 [74.98-511.7]	291.21 [28.50-823.16]	*0.78*	13.98[9.84-]	179.6[11.49-336.2]	*0.38*	*0.10*	*0.25*
TNF-α (pg/ml)	26.8 [18.77-81.34]	226.2 [101.2-568.9]	*0.07*	57.41[7.71-83.50]	64.37[19.27-177.50]	*0.42*	*0.92*	*0.16*
IL-6 (pg/ml)	71.61 [28.4-155.3]	56.06 [12.2-140.9]	*0.68*	830.5[81.5-1317.8]	175.6[49.86-491.4]	*0.14*	***0.04***	*0.13*
IL-4 (ng/ml)	1.06 [0.34-4.63]	1.52 [0.53-4.23]	*0.86*	0.10[0.05-1.69]	0.41[0.24-0.74]	*0.22*	*0.15*	*0.08*
IL-8 (ng/ml)	0.06 [0.03-1.48]	0.35[0.04-1.57]	*0.62*	1.46[0.23-2.53]	0.41[0.24-0.74]	*0.37*	*0.14*	*0.79*
IL-12 (ng/ml)	9.00 [3.44-19.56]	9.02 [2.73-24.83]	*1.0*	6.05[3.38-8.20]	7.04[2.88-9.98]	*0.54*	*0.34*	*0.54*
IL-1β (pg/ml)	46.35 [36.13-111.1]	30.96 [23.0-93.61]	*0.24*	100.54[45.27-141.60]	101.43[35.74-204.48]	*0.89*	*0.61*	*0.71*
TGF-β1 (ng/ml)	4.31 [0.91-8.92]	1.13 [0.51-4.08]	*0.39*	2.34[1.23-3.89]	1.51[0.99-2.70]	*0.34*	*0.07*	*0.89*

DB, groupe débit bas; DS, groupe débit standard. IL, interleukine. TNF, facteur de nécrose tumorale ; TGF, facteur de croissance transformant. *, $p<0.05$, H6 vs H basal

4. DISCUSSION

4.1 Synthèse des résultats

Dans notre modèle porcin d'arrêt cardiaque réfractaire ischémie réanimé par ECMO, nous avons examiné l'effet de deux stratégies de réanimation hémodynamique avec un objectif de débit bas à 35 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ et un de débit standard à 70 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$. La stratégie de débit bas est associée à une clairance du lactate inférieure dans les premières six heures de réanimation. Le remplissage vasculaire et la dose totale de noradrénaline ne diffère pas entres les deux groupes.

Concernant la perfusion cérébrale, le débit carotidien est significativement inférieure à partir de 1 heures dans le groupe débit bas malgré une PAM cible à 65 mmHg avec le groupe de débit standard.

Concernant la microcirculation, à l'étage de la circulation microvasculaire sublinguale, la densité de microcirculation fonctionnelle et l'hétérogénéité de microcirculation étaient moindre dans le groupe débit bas ; à l'étage d'oxygénation tissulaire régionale, le groupe débit bas ainsi avait un moindre StO_2, les paramètres issue de TOV qui reflète la réactivité vasculaire sont comparables dans les deux groupes.

Les paramètres de fonction hépatique, rénale et de nécrose myocardique, sont comparables chez les deux groupes.

Concernant la réponse inflammatoire au cours de l'assistance de l'ECMO, les résultats montrent que le groupe débit bas est associé une augmentation significative du niveau d'IL-6. Mais la comparaison entre les deux groupes ne montrent pas de différence significative.

4.2 Discussion de la méthodologie et des résultats

4.2.1 Modèle animal

Dans notre étude, nous avons choisi un modèle porcin d'arrêt cardiaque ischémique induit par la ligature de l'artère IVA. Ce modèle est adapté aux expérimentations avec évaluation hémodynamique et mise sous ECMO par les travaux précèdent effectués dans notre équipe[12][8].

Le cochon est le meilleur modèle et plus utilisé pour étudier l'ACR et la maladie cardiovasculaire, car ce modèle animal est bien connu et similaire au choc cardiogénique observé en clinique. Le poids et l'anatomie de ces animaux permettent l'utilisation des même matériaux qu'en clinique humaine avec des posologies comparables[88]. Le modèle porcin est utilisé dans la littérature pour les études évaluant les stratégies optimales de prise en charge l'arrêt cardiaque.

L'arrêt cardiaque induit par l'ischémie reproduit la cause la plus fréquente d'arrêt cardiaque, permettant une traduction rapide des résultats en clinique. Dans notre étude nous avons utilisé un modèle avec ouverture thoracique pour réaliser la ligature de l'artère intraventriculaire antérieure (IVA). L'ouverture thoracique permet de faciliter la mise en place de la canule veineuse centrale, donnant cependant des difficultés de manipulation chirurgicale. Dans notre étude, la mortalité avant le début du protocole est de 22%, liée à des complications hémorragiques lors de la phase de canulation pour 75% d'entre eux et anomalies anatomiques empêchant la canulation pour 25%. Malgré l'aide de chirurgiens cardiaques expérimentés, l'anatomie des vaisseaux fémoraux rend difficile cet acte technique.

4.2.2L'état de choc après le E-CRP

L'état d'hémodynamique après l'arrêt cardiaque est compliqué, il est associé à un choc cardiogénique et à un choc vasoplégique. Dans notre étude, la défaillance cardiaque a été supporté, ou en d'autres termes, remplacé par l'assistance VA-ECMO. Les animaux respectent strictement leurs groupes de débit sanguin randomisé avec un niveau de PAM fixé à 65 mmHg par l'administration de vasopresseur. La récupération brutale du flux systémique due au dispositif ECMO est associée à un syndrome post-réanimation sévère nécessitant un traitement de remplissage vasculaire important et l'administration d'un vasopresseur à forte dose. La dose totale de noradrénaline est plus élevé dans le groupe débit bas pour atteindre la PAM cible avec la valeur médiane (1421[909, 2253] vs 710[93, 1324] µg/kg, *p=0.063*) mais sans différence statistique. Le vasoréactivité évalué par la courbe dose-réponse de l'effet de la noradrénaline sur la pression artérielle moyenne montre qu'il n'y pas de différences entre les deux groupes à la fin de protocole. En parallèle, il n'y avait pas de différence sur la volume de la remplissage vasculaire(7600[4150-19000] vs 9000[3100-20750]), ce volume était beaucoup plus important que les résultats trouvé dans le littérature [12].

Le syndrome post-réanimation est souvent associé à un choc vasoplégique qui est résistant aux vasopresseurs et nécessité alors l'administration d'une forte dose. Nos résultats sont concordants avec ce phénomène. Dans notre modèle, les changements de la résistance vasculaire peuvent être influencés par de nombreux facteur impliqués dans l'état de choc post-réanimation (inflammation, oxyde nitrique, canaux potassiques et calciques, adrenomedulline et radicaux libre)[89].

La fonction cérébrale n'a pas été étudiée dans cette étude, mais une lésion cérébrovasculaires directe après reperfusion pourrait exister[90]. Il est décrit que le flux microcirculatoire cortical cérébral cesse quelques minutes après un arrêt cardiaque

court avec un flux rétabli pendant la RCP et un flux restaurer après RACS[91]. Cette observation peut être appliquée dans notre modèle E-RCP prolongé réaliste avec un grave syndrome post-réanimation. A H0, le moment où à la fin de 40 minutes *low-flow* et juste avant l'initiation d'ECMO, le débit sanguin carotidien était inférieur à 20% de la valeur basale.

Tandis que le débit sanguin d'ECMO et le PAM sont stable dans chaque groupe randomisé, nous avons observé une différence significative dans l'évolution des six heures de réanimation concernant le débit carotidien. De H2 jusqu'au fin du protocole, le débit carotidien est plus bas dans le groupe débit bas. Le flux artériel régional a été décrit dans le modèle porcin de l'insuffisance cardiaque chronique sous ECLS[92]. Avec une augmentation progressive du débit d'ECMO (de 1 $L.min^{-1}$ à 5 $L.min^{-1}$), le flux sanguin carotidien augmente dans la même proportion. Inversement, la diminution du débit d'ECMO conduit finalement à une diminution concomitante de la PAM et du flux sanguin carotidien[93]. Ces résultats sont considérés comme disponibles dans des conditions standard mais pas après un arrêt cardiaque avec une déficience élevée de l'équilibre acido-basique.

4.2.3 Lactatémie et la clairance du lactate

Tous les animaux à H0 présentent la manifestation typique de l'arrêt cardiaque réfractaire avec un taux élevé de lactatémie, avec une valeur moyenne à 10.9 $mmol.l^{-1}$. Ce niveau de lactate souligne la sévérité de l'arrêt cardiaque.

La clairance du lactate est un marqueur fiable de la qualité de la réanimation et pronostic dans l'arrêt cardiaque réfractaire réanimé par ECMO[94]. Une récente méta-analyse contenant 17 articles avec 903 cas d'arrêts cardiaques, montre une association significative des taux élevé de lactate avec une faible survie et un mauvais

résultat neurologique chez les patients en arrêt cardiaque traité par ECMO[95]. Dans notre étude, le modèle est sévère avec un niveau élevé de lactate à H0, sans diminution dans le groupe débit bas par rapport au groupe débit standard dans lequel le lactate diminue significativement à H6. Le groupe débit bas à un niveau plus haut de lactatémie et une clairance du lactate plus basse après 3 et 6 heures de réanimation avec ECMO. Le groupe débit standard semble assurer une meilleure perfusion tissulaire à court terme. Ce résultat suggère probablement qu'une stratégie de réanimation à objectif de débit bas d'ECMO ne permettait pas d'achever le même effet de réanimation que la stratégie de débit standard d'ECMO. Même il existe des études qui ont montré que le débit d'ECMO attenue la fonction de ventricule gauche et recommandent une stratégie de débit d'ECMO plus bas possible[11], le stratégie de $35ml.kg^{-1}.min^{-1}$ n' assure pas la perfusion tissulaire, il n'est pas applicable en clinique.

4.2.4 Microcirculation

La dysfonction microcirculatoire participe concurremment à la physiopathologie de la défaillance d'organes. L'évolution de la microcirculation sublinguale est utilisée non seulement chez les patients septiques mais aussi sur les sujets de choc cardiogénique. Les altération du flux sanguin microvasculaire sont fréquemment observées chez les patients atteints d'insuffisance cardiaque sévère et sont plus sévères chez les patients non-survivant[96]. Les investigations de microcirculation dans le choc cardiogénique traité avec ECMO montrent des différences significatives dans les paramètres microcirculatoires sublinguaux (PVD) de vaisseaux petits et grands entre les survivants et non-survivants.

Dans notre étude, les paramètres microcirculatoires (PVD, PPV, MFI) ont été altérés dans le groupe débit bas avec une différence significative à H3, mais cette différence a disparu à la fin des 6 heures. La disparition de cette différence à H6 probablement à

cause de nombreux paramètres hybrides influençant la mesure de la SDF comme l'acidose, l'hémodilution et l'anémie. Une autre hypothèse est une adaptions vasculaire et/ou métabolique dépendant du temps[74, 97].

Le principal facteur qui influence l'apport d'oxygène microcirculatoire est l'hématocrite capillaire [98]. La distribution des globules rouges et l'interaction avec la paroi des vaisseaux est un phénomène complexe décrit à l'origine comme «plasma skinning »[99]. L'homéostasie de la perfusion tissulaire est influencée par plusieurs paramètres comme les médicaments vasopresseurs exogènes, la modification de la pression veineuse, l'hypoxie et l'hyperoxie, le syndrome pseudo-septique, la perte pulsatile vasculaire. Différentes types d'altérations de la microcirculation sous-tendent la perte de la cohérence hémodynamique[74]. Dans le modèle de réanimation AC, trois phénomènes sont mélangés : l'hétérogénéité (syndrome de sepsis), l'hémodilution et l'œdème. Tous ces paramètres contribuent à la perte de la cohérence hémodynamique. Agir sur un seul d'entre eux semble être futile. Cependant, une prise en charge hémodynamique microcirculatoire cohérente chez les patients sous ECLS est nécessaire pour étudier plus précisément la microcirculation et développer potentiellement une stratégie de récupération de la microcirculation ciblée.

4.2.5 Réponse inflammatoire / lésion ischémie/reperfusion

La physiopathologie du choc post arrêt cardiaque est dominée par un syndrome d'ischémie-reperfusion globale et par une activation non spécifique de la réponse inflammatoire systémique. Une réaction inflammatoire due à l'exposition du sang du patient à la surface non endothélialisée du circuit d'ECMO existe aussi.

Le TNF-a, IL-6, IL-8 et IL-10 sont les cytokines les plus souvent étudiées. Chez les nouveau-nés atteints de SDRA sous ECMO, les chercheurs ont découvert que un taux

plus élevées de TNF-a étaient associé à une non-survie. Risnes et al ont trouvé que le niveau d'IL-6 était négativement corrélé à la survie : après deux jours de soutien avec l'ECMO, les taux d'IL-6 se sont normalisés chez les survivants mais augmentent de façon persistante chez les non-survivants. Chez les patients de réanimation non sélectionnées (mélangé de choc septique, cardiogénique etc.), une analyse de régression logistique multiple dans toute le cohorte de patients gravement malade a révélé que SOFA et IL-6 constituaient des prédicteurs de résultats indépendants[100]. D'autres côtés, de faibles niveaux de cytokines anti-inflammatoire IL-10 ont été associé à une faible survie. Dans notre travail, une série de cytokines inflammatoire, y compris des cytokines anti-inflammatoires et pro-inflammatoires, ont été détecté pendant toute la durée de l'expérience. Seul le niveau d'IL-6 augmente significativement à la fin de 6 heures de réanimation avec une stratégie de débit sanguin bas, cependant pas de changement n'a été observé dans le groupe débit standard, les autres cytokines ne montrent ni de différences significative au cours du temps ni de différence significative entre groupes. La raison probable peut être due au fait qu'à H basal, il y a eu une réponse inflammatoire forte après les lourdes préparations chirurgicales (ouverture thoracique, canulation…), de plus à la fin les animaux étaient en choc sévère et pas bien réanimé même avec l'assistance de l'ECMO.

Le but du groupe débit bas était d'explorer s'il existe une diminution du syndrome d'ischémie/reperfusion à traverse la diminution de la réponse inflammatoire. La réponse inflammatoire en post arrêt cardiaque réanimé avec l'ECMO est un processus compliqué. Il intègre des processus pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. Le ratio de cytokines pro versus anti inflammatoire parfois considéré comme un marqueur pour le pronostic et les options thérapeutique futures[101]. Dans cette étude, pas de différence significative a été observé sur le ratio de cytokine pro versus anti

inflammatoire. Ceci peut être expliqué dans une condition comme notre étude car, l'ECMO joue peu d'influence sur l'efficacité de la réanimation.

4.3 Limite d'étude

Il y a quelques limites dans cette étude.

La première limitation est la petite taille de l'échantillon dans chaque groupe. Cependant, la majorité des études publiées utilisant un modèle d'arrêt cardiaque réfractaire porcin impliquent également un petit nombre d'animaux[102] [65]et répondent à des préoccupations éthiques afin de maintenir le nombre d'animaux nécessaire au minimum pour atteindre les objectifs de la recherche. En effet, nous avons augmenté le taille de l'échantillon de 7 par groupes à 9 par groupe par rapport l'étude précédente réalisée dans notre équipe [12]. Néanmoins, ce point pourrait avoir influence sur certains résultats importants, tel que la quantité de noradrénaline nécessaire pour maintenir la pression artérielle et l'évolution des paramètres de la microcirculation.

Deuxièmement, notre modèle ne concernait que des jeunes porcs en bonne santé sans pathologie coronarienne préexistante. En clinique, les patients qui subissent un arrêt cardiaque sont généralement des personnes âgées et souffrantes de troubles chroniques tels que l'hypertension, l'athérosclérose, l'insuffisance cardiaque congestive, le diabète, l'emphysème ou l'insuffisance rénale terminale. A première vue, l'utilisation de jeunes porcs en bonne santé pourrait sembler contre-intuitive dans une étude expérimentale sur les maladies coronariennes. Cependant, dans le cadre particulier de l'E-RCP, au chevet du patient, l'implantation d'ECMO est le plus souvent envisagée chez les jeunes patients hautement sélectionnés sans comorbidité apparente préalable.

En plus, contrairement à la plupart de préparations porcines, les victimes humaines d'un arrêt cardiaque hors de l'hôpital ne sont pas anesthésiées lorsqu'elles sont frappées. L'arrêt cardiaque est un évènement imprévu, et lorsqu'il survient à l'extérieur de l'hôpital, les retards de traitement efficaces sont variables, mal définis et, et bien souvent, létaux.

Concernant le modèle d'ACR, la ligature de l'artère interventriculaire antérieure s'est faite après une sternotomie qui expose l'animal à un stress supplémentaire avec la mise en place de réponses inflammatoires liées à cette chirurgie. La réalisation d'une occlusion endovasculaire pourrait être une autre solution pour reproduire au mieux le phénomène physiologique. Cependant, l'abord endovasculaire est techniquement non maitrisé par notre équipe. De plus, la rotation de l'axe du cœur chez le cochon rend la cathétérisation de l'artère coronaire gauche plus délicate.

Les volumes de remplissage vasculaire étaient très importants et constitué exclusivement en sérum salé isotonique. Aucune compensation hydro électrolytique ou par produit sanguin n'a été réalisée. Un grand nombre de cochons avaient une hémoglobine inférieure à 5 $g.dl^{-1}$ à la fin de la manipulation principalement par dilution, avec des risques de sous-évaluation des paramètres microcirculation de SDF.

En pratique clinique, le pronostic de l'arrêt cardiaque réfractaire hors de l'hôpital dépend principalement de la lésion d'ischémie-reperfusion et de la fonction cérébrale. Dans la présente expérimentation, nous avons mesuré la perfusion cérébrale mais la fonction cérébrale n'a pas évaluée. Par conséquent, il n'est pas possible de s'appuyer définitivement sur le meilleur pronostic neurologique potentiel.

En fin, la période expérimentale de six heures est probablement trop courte pour permettre de tirer des conclusions définitives pour la pratique clinique mais donne des

indications précieuses pour la phase de réanimation précoce. On ne peut pas exclure le fait qu'une période d'observation prolongée ou un niveau de débit d'ECMO plus haut que celui utilisé dans notre étude puisse être associé à des effets positifs secondaires. Cependant, en raison de la sévérité de notre modèle, une période expérimentale plus longue ne serait pas possible avec une mortalité élevée.

5. CONCLUSION

Dans notre modèle porcin d'arrêt cardiaque réfractaire réanimé et mis sous ECMO, une stratégie de réanimation hémodynamique avec un objectif de débit bas à 35 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ versus un débit standard à 70 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ n'est pas associé à un meilleur état hémodynamique ou à une diminution de la réaction inflammatoire dans les six premières heures de réanimation avec un objectif de PAM à 65 mmHg. Fait important, la stratégie de débit sanguin bas d'ECMO est associée à une plus faible clairance du lactate et une diminution de la perfusion cérébrale par rapport à une stratégie de flux sanguin normal. Ce résultat suggère un intérêt pour une réanimation hémodynamique à débit d'ECMO théorique dans cette indication.

References

1. Cardiac Arrest Statistics. (n.d.). Retrieved April 3, 2018, from http://cpr.heart.org/AHAECC/CPRAndECC/General/UCM_477263_Cardiac-Arrest-Statistics.jsp

2. Jouven, X., Bougouin, W., Karam, N., & Marijon, E. (2015). epidemiology of sudden cardiac death: data from the paris sudden death expertise center registry. *La Revue Du Praticien*, *65*(7), 916–918.

3. Recommandations sur les indications de l'assistance circulatoire dans le traitement des arrets cardiaques refractaires. (2009). *Réanimation*, *18*(5), 371–375. doi:10.1016/j.reaurg.2009.05.013

4. Haas, N. L., Coute, R. A., Hsu, C. H., Cranford, J. A., & Neumar, R. W. (2017). Descriptive analysis of extracorporeal cardiopulmonary resuscitation following out-of-hospital cardiac arrest-An ELSO registry study. *Resuscitation*, *119*, 56–62. doi:10.1016/j.resuscitation.2017.08.003

5. Levy, B., Bastien, O., Bendjelid, K., Cariou, A., Chouihed, T., Combes, A., … Kuteifan, K. (2015). Experts' recommendations for the management of adult patients with cardiogenic shock. *Annals of Intensive Care*, *5*. doi:10.1186/s13613-015-0052-1

6. Negovsky, V. A. (1988). Postresuscitation disease. *Critical Care Medicine*, *16*(10), 942–946.

7. Okuda, M. (2006). A multidisciplinary overview of cardiogenic shock. *Shock (Augusta, Ga.)*, *25*(6), 557–570. doi:10.1097/01.shk.0000209546.06801.d7

8. Vanhuyse, F., Ducrocq, N., Louis, H., Kattani, N. A., Laurent, N., Joineau-Groubatch, F., … Levy, B. (2017). Moderate Hypothermia Improves Cardiac

and Vascular Function in a Pig Model of Ischemic Cardiogenic Shock Treated With Veno-Arterial ECMO. *Shock (Augusta, Ga.)*, *47*(2), 236–241. doi:10.1097/SHK.0000000000000712

9. Bergan, H. A., Halvorsen, P. S., Skulstad, H., Fosse, E., & Bugge, J. F. (2016). Does therapeutic hypothermia during extracorporeal cardiopulmonary resuscitation preserve cardiac function? *Journal of Translational Medicine*, *14*(1). doi:10.1186/s12967-016-1099-y

10. Laurent, I., Monchi, M., Chiche, J.-D., Joly, L.-M., Spaulding, C., Bourgeois, B. énédicte, … Dhainaut, J.-F. (2002). Reversible myocardial dysfunction in survivors of out-of-hospital cardiac arrest. *Journal of the American College of Cardiology*, *40*(12), 2110–2116. doi:10.1016/S0735-1097(02)02594-9

11. Ostadal, P., Mlcek, M., Kruger, A., Hala, P., Lacko, S., Mates, M., … Neuzil, P. (2015). Increasing venoarterial extracorporeal membrane oxygenation flow negatively affects left ventricular performance in a porcine model of cardiogenic shock. *Journal of Translational Medicine*, *13*. doi:10.1186/s12967-015-0634-6

12. Fritz, C., Kimmoun, A., Vanhuyse, F., Trifan, B. F., Orlowski, S., Falanga, A., … Levy, B. (2017). High Versus Low Blood-Pressure Target in Experimental Ischemic Prolonged Cardiac Arrest Treated with Extra Corporeal Life Support. *Shock (Augusta, Ga.)*, *47*(6), 759–764. doi:10.1097/SHK.0000000000000793

13. Dumas, F., Bougouin, W., Geri, G., & Cariou, A. (2016). [Epidemiology: Data from France and USA]. *Presse medicale (Paris, France : 1983)*, *45*(10), 832–838. doi:10.1016/j.lpm.2016.07.003

14. Hua, W., Zhang, L.-F., Wu, Y.-F., Liu, X.-Q., Guo, D.-S., Zhou, H.-L., … Zhang, S. (2009). Incidence of sudden cardiac death in China: analysis of 4 regional

populations. *Journal of the American College of Cardiology*, *54*(12), 1110–1118. doi:10.1016/j.jacc.2009.06.016

15. Soar, J., Nolan, J. P., Böttiger, B. W., Perkins, G. D., Lott, C., Carli, P., … Nikolaou, N. I. (2015). European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015: Section 3. Adult advanced life support. *Resuscitation*, *95*, 100–147. doi:10.1016/j.resuscitation.2015.07.016

16. Bougouin, W., Lamhaut, L., Marijon, E., Jost, D., Dumas, F., Deye, N., … SDEC Co-Investigators. (2014). Characteristics and prognosis of sudden cardiac death in Greater Paris: population-based approach from the Paris Sudden Death Expertise Center (Paris-SDEC). *Intensive Care Medicine*, *40*(6), 846–854. doi:10.1007/s00134-014-3252-5

17. Edelson, D. P., Abella, B. S., Kramer-Johansen, J., Wik, L., Myklebust, H., Barry, A. M., … Becker, L. B. (2006). Effects of compression depth and pre-shock pauses predict defibrillation failure during cardiac arrest. *Resuscitation*, *71*(2), 137–145. doi:10.1016/j.resuscitation.2006.04.008

18. Kramer-Johansen, J., Myklebust, H., Wik, L., Fellows, B., Svensson, L., Sørebø, H., & Steen, P. A. (2006). Quality of out-of-hospital cardiopulmonary resuscitation with real time automated feedback: a prospective interventional study. *Resuscitation*, *71*(3), 283–292. doi:10.1016/j.resuscitation.2006.05.011

19. Zuercher, M., Hilwig, R. W., Ranger-Moore, J., Nysaether, J., Nadkarni, V. M., Berg, M. D., … Berg, R. A. (2010). Leaning during chest compressions impairs cardiac output and left ventricular myocardial blood flow in piglet cardiac arrest. *Critical Care Medicine*, *38*(4), 1141–1146. doi:10.1097/CCM.0b013e3181ce1fe2

20. Soar, J., Nolan, J. P., Böttiger, B. W., Perkins, G. D., Lott, C., Carli, P., … Adult advanced life support section Collaborators. (2015). European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015: Section 3. Adult advanced life support. *Resuscitation*, *95*, 100–147. doi:10.1016/j.resuscitation.2015.07.016

21. Truhlář, A., Deakin, C. D., Soar, J., Khalifa, G. E. A., Alfonzo, A., Bierens, J. J. L. M., … Cardiac arrest in special circumstances section Collaborators. (2015). European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015: Section 4. Cardiac arrest in special circumstances. *Resuscitation*, *95*, 148–201. doi:10.1016/j.resuscitation.2015.07.017

22. Wik, L., Kramer-Johansen, J., Myklebust, H., Sørebø, H., Svensson, L., Fellows, B., & Steen, P. A. (2005). Quality of cardiopulmonary resuscitation during out-of-hospital cardiac arrest. *JAMA*, *293*(3), 299–304. doi:10.1001/jama.293.3.299

23. Ong, M. E. H., & Anantharaman, V. (2015). Out-of-hospital cardiac arrest: manual or mechanical CPR? *Lancet (London, England)*, *385*(9972), 920–922. doi:10.1016/S0140-6736(14)61941-3

24. Thomassen, O., Skaiaa, S. C., Assmuss, J., Østerås, Ø., Heltne, J. K., Wik, L., & Brattebo, G. (2017). Mountain rescue cardiopulmonary resuscitation: a comparison between manual and mechanical chest compressions during manikin cardio resuscitation. *Emergency medicine journal: EMJ*, *34*(9), 573–577. doi:10.1136/emermed-2016-206323

25. Berger, D. S., Fellner, S. K., Robinson, K. A., Vlasica, K., Godoy, I. E., & Shroff, S. G. (1999). Disparate effects of three types of extracellular acidosis on left ventricular function. *The American Journal of Physiology*, *276*(2 Pt 2), H582-594.

26. Yannopoulos, D., Aufderheide, T. P., Abella, B. S., Duval, S., Frascone, R. J., Goodloe, J. M., … Pepe, P. E. (2015). Quality of CPR: An important effect modifier in cardiac arrest clinical outcomes and intervention effectiveness trials. *Resuscitation*, *94*, 106–113. doi:10.1016/j.resuscitation.2015.06.004

27. Brochard, L., Boussignac, G., Dubois Randé, J. L., Harf, A., Bertrand, C., & Geschwind, H. (1990). Cardiopulmonary resuscitation without a ventilator using a novel endotracheal tube in a human. *Anesthesiology*, *72*(2), 389.

28. Saïssy, J. M., Boussignac, G., Cheptel, E., Rouvin, B., Fontaine, D., Bargues, L., … Brochard, L. (2000). Efficacy of continuous insufflation of oxygen combined with active cardiac compression-decompression during out-of-hospital cardiorespiratory arrest. *Anesthesiology*, *92*(6), 1523–1530.

29. Brochard, L., Boussignac, G., Adnot, S., Bertrand, C., Isabey, D., & Harf, A. (1996). Efficacy of cardiopulmonary resuscitation using intratracheal insufflation. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *154*(5), 1323–1329. doi:10.1164/ajrccm.154.5.8912743

30. International Liaison Committee on Resuscitation. (2005). 2005 International Consensus on Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care Science with Treatment Recommendations. Part 2: Adult basic life support. *Resuscitation*, *67*(2–3), 187–201. doi:10.1016/j.resuscitation.2005.09.016

31. Mattox, K. L., & Beall, A. C. (1976). Resuscitation of the moribund patient using portable cardiopulmonary bypass. *The Annals of Thoracic Surgery*, *22*(5), 436–442.

32. Conrad, S. A., & Rycus, P. T. (2017). Extracorporeal Membrane Oxygenation for Refractory Cardiac Arrest. *Annals of Cardiac Anaesthesia*, *20*(Suppl 1), S4–S10. doi:10.4103/0971-9784.197790

33. Extracorporeal Life Support Organization - ECMO and ECLS > Registry > Statistics > International Summary. (n.d.). Retrieved April 26, 2018, from https://www.elso.org/Registry/Statistics/InternationalSummary.aspx

34. Zangrillo, A., Biondi-Zoccai, G., Landoni, G., Frati, G., Patroniti, N., Pesenti, A., & Pappalardo, F. (2013). Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) in patients with H1N1 influenza infection: a systematic review and meta-analysis including 8 studies and 266 patients receiving ECMO. *Critical Care*, *17*(1), R30. doi:10.1186/cc12512

35. Extracorporeal Membrane Oxygenation for 2009 Influenza A(H1N1) Acute Respiratory Distress Syndrome. (2009). *JAMA*, *302*(17), 1888–1895. doi:10.1001/jama.2009.1535

36. Extracorporeal Life Support Organization - ECMO and ECLS > Resources > Guidelines. (n.d.). Retrieved September 19, 2017, from https://www.elso.org/resources/guidelines.aspx

37. Seo, T., Ito, T., Iio, K., Kato, J., & Takagi, H. (1991). Experimental study on the hemodynamic effects of veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation with an automatically driven blood pump on puppies. *Artificial organs*, *15*(5), 402–407.

38. Kato, J., Seo, T., Ando, H., Takagi, H., & Ito, T. (1996). Coronary arterial perfusion during venoarterial extracorporeal membrane oxygenation. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, *111*(3), 630–636. doi:10.1016/S0022-5223(96)70315-X

39. Short, B. L., Walker, L. K., Bender, K. S., & Traystman, R. J. (1993). Impairment of cerebral autoregulation during extracorporeal membrane oxygenation in newborn lambs. *Pediatric Research*, *33*(3), 289–294. doi:10.1203/00006450-199303000-00018

40. Neumar, R. W., Shuster, M., Callaway, C. W., Gent, L. M., Atkins, D. L., Bhanji, F., … Hazinski, M. F. (2015). Part 1: Executive Summary: 2015 American Heart Association Guidelines Update for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Circulation*, *132*(18 suppl 2), S315–S367. doi:10.1161/CIR.0000000000000252

41. Ouweneel, D. M., Schotborgh, J. V., Limpens, J., Sjauw, K. D., Engström, A. E., Lagrand, W. K., … Henriques, J. P. S. (2016). Extracorporeal life support during cardiac arrest and cardiogenic shock: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Medicine*, *42*(12), 1922–1934. doi:10.1007/s00134-016-4536-8

42. Yannopoulos, D., Bartos, J. A., Martin, C., Raveendran, G., Missov, E., Conterato, M., … Aufderheide, T. P. (2016). Minnesota Resuscitation Consortium's Advanced Perfusion and Reperfusion Cardiac Life Support Strategy for Out-of-Hospital Refractory Ventricular Fibrillation. *Journal of the American Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease*, *5*(6). doi:10.1161/JAHA.116.003732

43. Le Guen, M., Nicolas-Robin, A., Carreira, S., Raux, M., Leprince, P., Riou, B., & Langeron, O. (2011). Extracorporeal life support following out-of-hospital refractory cardiac arrest. *Critical Care (London, England)*, *15*(1), R29. doi:10.1186/cc9976

44. Schober, A., Sterz, F., Herkner, H., Wallmueller, C., Weiser, C., Hubner, P., & Testori, C. (2017). Emergency extracorporeal life support and ongoing resuscitation: a retrospective comparison for refractory out-of-hospital cardiac arrest. *Emerg Med J*, *34*(5), 277–281. doi:10.1136/emermed-2015-205232

45. Lamhaut, L., Hutin, A., Puymirat, E., Jouan, J., Raphalen, J.-H., Jouffroy, R., … Carli, P. (2017). A Pre-Hospital Extracorporeal Cardio Pulmonary Resuscitation (ECPR) strategy for treatment of refractory out hospital cardiac arrest: An

observational study and propensity analysis. *Resuscitation*, *117*, 109–117. doi:10.1016/j.resuscitation.2017.04.014

46. Fjølner, J., Greisen, J., Jørgensen, M. R. S., Terkelsen, C. J., Ilkjær, L. B., Hansen, T. M., … Gjedsted, J. (n.d.). Extracorporeal cardiopulmonary resuscitation after out-of-hospital cardiac arrest in a Danish health region. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, *61*(2), 176–185. doi:10.1111/aas.12843

47. Dennis, M., McCanny, P., D'Souza, M., Forrest, P., Burns, B., Lowe, D. A., … Sydney ECMO Research Interest Group. (2017). Extracorporeal cardiopulmonary resuscitation for refractory cardiac arrest: A multicentre experience. *International Journal of Cardiology*, *231*, 131–136. doi:10.1016/j.ijcard.2016.12.003

48. Choi, D. S., Kim, T., Ro, Y. S., Ahn, K. O., Lee, E. J., Hwang, S. S., … Shin, S. D. (2016). Extracorporeal life support and survival after out-of-hospital cardiac arrest in a nationwide registry: A propensity score-matched analysis. *Resuscitation*, *99*, 26–32. doi:10.1016/j.resuscitation.2015.11.013

49. Blumenstein, J., Leick, J., Liebetrau, C., Kempfert, J., Gaede, L., Groß, S., … Möllmann, H. (2016). Extracorporeal life support in cardiovascular patients with observed refractory in-hospital cardiac arrest is associated with favourable short and long-term outcomes: A propensity-matched analysis. *European Heart Journal. Acute Cardiovascular Care*, *5*(7), 13–22. doi:10.1177/2048872615612454

50. Kim, S. J., Jung, J. S., Park, J. H., Park, J. S., Hong, Y. S., & Lee, S. W. (2014). An optimal transition time to extracorporeal cardiopulmonary resuscitation for predicting good neurological outcome in patients with out-of-hospital cardiac arrest: a propensity-matched study. *Critical Care (London, England)*, *18*(5), 535. doi:10.1186/s13054-014-0535-8

51. Chou, T.-H., Fang, C.-C., Yen, Z.-S., Lee, C.-C., Chen, Y.-S., Ko, W.-J., … Chen, S.-C. (2014). An observational study of extracorporeal CPR for in-hospital cardiac arrest secondary to myocardial infarction. *Emergency medicine journal: EMJ*, *31*(6), 441–447. doi:10.1136/emermed-2012-202173

52. Maekawa, K., Tanno, K., Hase, M., Mori, K., & Asai, Y. (2013). Extracorporeal cardiopulmonary resuscitation for patients with out-of-hospital cardiac arrest of cardiac origin: a propensity-matched study and predictor analysis. *Critical Care Medicine*, *41*(5), 1186–1196. doi:10.1097/CCM.0b013e31827ca4c8

53. Mégarbane, B., Deye, N., Aout, M., Malissin, I., Résière, D., Haouache, H., … Baud, F. J. (2011). Usefulness of routine laboratory parameters in the decision to treat refractory cardiac arrest with extracorporeal life support. *Resuscitation*, *82*(9), 1154–1161. doi:10.1016/j.resuscitation.2011.05.007

54. Shin, T. G., Choi, J.-H., Jo, I. J., Sim, M. S., Song, H. G., Jeong, Y. K., … Lee, Y. T. (2011). Extracorporeal cardiopulmonary resuscitation in patients with inhospital cardiac arrest: A comparison with conventional cardiopulmonary resuscitation. *Critical Care Medicine*, *39*(1), 1–7. doi:10.1097/CCM.0b013e3181feb339

55. Tanno, K., Itoh, Y., Takeyama, Y., Nara, S., Mori, K., & Asai, Y. (2008). Utstein style study of cardiopulmonary bypass after cardiac arrest. *The American Journal of Emergency Medicine*, *26*(6), 649–654. doi:10.1016/j.ajem.2007.09.019

56. Chen, Y.-S., Lin, J.-W., Yu, H.-Y., Ko, W.-J., Jerng, J.-S., Chang, W.-T., … Lin, F.-Y. (2008). Cardiopulmonary resuscitation with assisted extracorporeal life-support versus conventional cardiopulmonary resuscitation in adults with in-hospital cardiac arrest: an observational study and propensity analysis. *Lancet (London, England)*, *372*(9638), 554–561. doi:10.1016/S0140-6736(08)60958-7

57. Fritz, C., Kimmoun, A., Vanhuyse, F., Trifan, B. F., Orlowski, S., Falanga, A., … Levy, B. (2017). High Versus Low Blood-Pressure Target in Experimental Ischemic Prolonged Cardiac Arrest Treated with Extra Corporeal Life Support. *Shock (Augusta, Ga.)*, *47*(6), 759–764. doi:10.1097/SHK.0000000000000793

58. Chang, R.-W., Luo, C.-M., Yu, H.-Y., Chen, Y.-S., & Wang, C.-H. (2017). Investigation of the pathophysiology of cardiopulmonary bypass using rodent extracorporeal life support model. *BMC Cardiovascular Disorders*, *17*. doi:10.1186/s12872-017-0558-6

59. Hutin, A., Lamhaut, L., Lidouren, F., Kohlhauer, M., Mongardon, N., Carli, P., … Tissier, R. (2016). Early Coronary Reperfusion Facilitates Return of Spontaneous Circulation and Improves Cardiovascular Outcomes After Ischemic Cardiac Arrest and Extracorporeal Resuscitation in Pigs. *Journal of the American Heart Association*, *5*(12). doi:10.1161/JAHA.116.004588

60. Debaty, G., Maignan, M., Perrin, B., Brouta, A., Guergour, D., Trocme, C., … Briot, R. (2016). Cardiopulmonary responses during the cooling and the extracorporeal life support rewarming phases in a porcine model of accidental deep hypothermic cardiac arrest. *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine*, *24*, 91. doi:10.1186/s13049-016-0283-7

61. Trummer, G., Foerster, K., Buckberg, G. D., Benk, C., Mader, I., Heilmann, C., … Beyersdorf, F. (2014). Superior neurologic recovery after 15 minutes of normothermic cardiac arrest using an extracorporeal life support system for optimized blood pressure and flow. *Perfusion*, *29*(2), 130–138. doi:10.1177/0267659113497776

62. Reynolds, J. C., Salcido, D. D., Sundermann, M. L., Koller, A. C., & Menegazzi, J. J. (2013). Extracorporeal life support during cardiac arrest resuscitation in a porcine

model of ventricular fibrillation. *The Journal of Extra-Corporeal Technology*, *45*(1), 33–39.

63. Stub, D., Byrne, M., Pellegrino, V., & Kaye, D. M. (2013). Extracorporeal membrane oxygenation to support cardiopulmonary resuscitation in a sheep model of refractory ischaemic cardiac arrest. *Heart, Lung & Circulation*, *22*(6), 421–427. doi:10.1016/j.hlc.2012.11.020

64. Mlček, M., Ošťádal, P., Bělohlávek, J., Havránek, Š., Hrachovina, M., Huptych, M., … Kittnar, O. (2012). Hemodynamic and metabolic parameters during prolonged cardiac arrest and reperfusion by extracorporeal circulation. *Physiological Research*, *61 Suppl 2*, S57-65.

65. Bělohlávek, J., Mlček, M., Huptych, M., Svoboda, T., Havránek, S., Ošt'ádal, P., … Kittnar, O. (2012). Coronary versus carotid blood flow and coronary perfusion pressure in a pig model of prolonged cardiac arrest treated by different modes of venoarterial ECMO and intraaortic balloon counterpulsation. *Critical Care (London, England)*, *16*(2), R50. doi:10.1186/cc11254

66. Negovsky, V. A. (2012). Reprint of: The second step in resuscitation—the treatment of the post-resuscitation disease. *Resuscitation*, *83*(10), 1187–1190. doi:10.1016/j.resuscitation.2012.07.023

67. Eltzschig, H. K., & Eckle, T. (2011). Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nature medicine*, *17*(11). doi:10.1038/nm.2507

68. Eltzschig, H. K., & Carmeliet, P. (2011). Hypoxia and Inflammation. *The New England journal of medicine*, *364*(7), 656–665. doi:10.1056/NEJMra0910283

69. Mildner, R. J., Taub, N., Vyas, J. R., Killer, H. M., Firmin, R. K., Field, D. J., & Kotecha, S. (2005). Cytokine imbalance in infants receiving extracorporeal membrane oxygenation for respiratory failure. *Biology of the Neonate*, *88*(4), 321–327. doi:10.1159/000087630

70. I Risnes, K Wagner, T Ueland, TE Mollnes, P Aukrust, & JL Svennevig. (2008). Interleukin-6 may predict survival in extracorporeal membrane oxygenation treatment. *Perfusion*, *23*(3), 173–178. doi:10.1177/0267659108097882

71. Peberdy, M. A., Andersen, L. W., Abbate, A., Thacker, L. R., Gaieski, D., Abella, B. S., … Donnino, M. (2016). Inflammatory markers following resuscitation from out-of-hospital cardiac arrest—A prospective multicenter observational study. *Resuscitation*, *103*, 117–124. doi:10.1016/j.resuscitation.2016.01.006

72. Bro-Jeppesen, J., Kjaergaard, J., Stammet, P., Wise, M. P., Hovdenes, J., Åneman, A., … Hassager, C. (2016). Predictive value of interleukin-6 in post-cardiac arrest patients treated with targeted temperature management at 33 °C or 36 °C. *Resuscitation*, *98*, 1–8. doi:10.1016/j.resuscitation.2015.10.009

73. Hong, T.-H., Kuo, S.-W., Hu, F.-C., Ko, W.-J., Hsu, L.-M., Huang, S.-C., … Chen, Y.-S. (2013). Do Interleukin-10 and Superoxide Ions Predict Outcomes of Cardiac Extracorporeal Membrane Oxygenation Patients? *Antioxidants & Redox Signaling*, *20*(1), 60–68. doi:10.1089/ars.2013.5427

74. Ince, C. (2015). Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation, 13.

75. Doerschug, K. C., Delsing, A. S., Schmidt, G. A., & Haynes, W. G. (2007). Impairments in microvascular reactivity are related to organ failure in human sepsis.

American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology, *293*(2), H1065-1071. doi:10.1152/ajpheart.01237.2006

76. Sakr, Y., Dubois, M.-J., De Backer, D., Creteur, J., & Vincent, J.-L. (2004). Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. *Critical Care Medicine*, *32*(9), 1825–1831.

77. van Genderen, M. E., Lima, A., Akkerhuis, M., Bakker, J., & van Bommel, J. (2012). Persistent peripheral and microcirculatory perfusion alterations after out-of-hospital cardiac arrest are associated with poor survival. *Critical Care Medicine*, *40*(8), 2287–2294. doi:10.1097/CCM.0b013e31825333b2

78. Kao, R., Xenocostas, A., Rui, T., Yu, P., Huang, W., Rose, J., & Martin, C. M. (2007). Erythropoietin improves skeletal muscle microcirculation and tissue bioenergetics in a mouse sepsis model. *Critical Care (London, England)*, *11*(3), R58. doi:10.1186/cc5920

79. Werdan, K., Gielen, S., Ebelt, H., & Hochman, J. S. (2014). Mechanical circulatory support in cardiogenic shock. *European Heart Journal*, *35*(3), 156–167. doi:10.1093/eurheartj/eht248

80. Adrie, C., Laurent, I., Monchi, M., Cariou, A., Dhainaou, J.-F., & Spaulding, C. (2004). Postresuscitation disease after cardiac arrest: a sepsis-like syndrome? *Current Opinion in Critical Care*, *10*(3), 208–212.

81. Sundgreen, C., Larsen, F. S., Herzog, T. M., Knudsen, G. M., Boesgaard, S., & Aldershvile, J. (2001). Autoregulation of cerebral blood flow in patients resuscitated from cardiac arrest. *Stroke*, *32*(1), 128–132.

82. Segal, N., Matsuura, T., Caldwell, E., Sarraf, M., McKnite, S., Zviman, M., … Yannopoulos, D. (2012). Ischemic postconditioning at the initiation of cardiopulmonary resuscitation facilitates functional cardiac and cerebral recovery after prolonged untreated ventricular fibrillation. *Resuscitation*, *83*(11), 1397–1403. doi:10.1016/j.resuscitation.2012.04.005

83. Protective effects of cyclosporine A and hypothermia on neuronal mitochondria in a rat asphyxial cardiac arrest model - The American Journal of Emergency Medicine. (n.d.). Retrieved May 29, 2018, from https://www.ajemjournal.com/article/S0735-6757(16)00173-X/fulltext

84. Cour, M., Abrial, M., Jahandiez, V., Loufouat, J., Belaïdi, E., Gharib, A., … Argaud, L. (2014). Ubiquitous protective effects of cyclosporine A in preventing cardiac arrest-induced multiple organ failure. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *117*(8), 930–936. doi:10.1152/japplphysiol.00495.2014

85. Argaud, L., Cour, M., Dubien, P.-Y., Giraud, F., Jossan, C., Riche, B., … Ovize, M. (2016). Effect of Cyclosporine in Nonshockable Out-of-Hospital Cardiac Arrest: The CYRUS Randomized Clinical Trial. *JAMA Cardiology*, *1*(5), 557–565. doi:10.1001/jamacardio.2016.1701

86. Neto, A. S., Pereira, V. G. M., Manetta, J. A., Espósito, D. C., & Schultz, M. J. (2014). Association between static and dynamic thenar near-infrared spectroscopy and mortality in patients with sepsis: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, *76*(1), 226–233. doi:10.1097/TA.0b013e3182a9221f

87. Shapiro, N. I., Arnold, R., Sherwin, R., O'Connor, J., Najarro, G., Singh, S., … Jones, A. E. (2011). The association of near-infrared spectroscopy-derived tissue oxygenation measurements with sepsis syndromes, organ dysfunction and mortality in

emergency department patients with sepsis. *Critical Care*, *15*(5), R223. doi:10.1186/cc10463

88. Cherry, B. H. (2015). Modeling cardiac arrest and resuscitation in the domestic pig. *World Journal of Critical Care Medicine*, *4*(1), 1. doi:10.5492/wjccm.v4.i1.1

89. Kimmoun, A., Ducrocq, N., & Levy, B. (2013). Mechanisms of vascular hyporesponsiveness in septic shock. *Current Vascular Pharmacology*, *11*(2), 139–149.

90. Batts, S. G., Mu, T. S., Uyehara-Lock, J. H., Murata, L.-A., & Uyehara, C. F. T. (2016). ECMO Maintains Cerebral Blood Flow During Endotoxic Shock in Piglets. *ASAIO journal (American Society for Artificial Internal Organs: 1992)*, *62*(6), 732–736. doi:10.1097/MAT.0000000000000413

91. Ristagno, G., Tang, W., Sun, S., & Weil, M. H. (2008). Cerebral cortical microvascular flow during and following cardiopulmonary resuscitation after short duration of cardiac arrest. *Resuscitation*, *77*(2), 229–234. doi:10.1016/j.resuscitation.2007.12.013

92. Hála, P., Mlček, M., Ošťádal, P., Janák, D., Popková, M., Bouček, T., … Kittnar, O. (2016). Regional tissue oximetry reflects changes in arterial flow in porcine chronic heart failure treated with venoarterial extracorporeal membrane oxygenation. *Physiological Research*, *65*(Supplementum 5), S621–S631.

93. Gerrits, L. C., van Heijst, A. F. J., Hopman, J. C. W., de Haan, A. F. J., & Liem, K. D. (2015). The Effect of Decreasing Flow Rate on Cerebral Hemodynamics During Veno-Arterial Extracorporeal Membrane Oxygenation in Piglets. *ASAIO journal (American Society for Artificial Internal Organs: 1992)*, *61*(4), 448–452. doi:10.1097/MAT.0000000000000232

94. Vincent, J. (2015). Serial Blood Lactate Levels Reflect Both Lactate Production and Clearance. *Critical Care Medicine*, *43*(6). doi:10.1097/CCM.0000000000000906

95. Zhang, Y., Li, C.-S., Yuan, X.-L., Ling, J.-Y., Zhang, Q., Liang, Y., … Zhao, L.-X. (2018). Association of serum biomarkers with outcomes of cardiac arrest patients undergoing ECMO. *The American Journal of Emergency Medicine*, *0*(0). doi:10.1016/j.ajem.2018.03.015

96. Donadello, K., Favory, R., Salgado-Ribeiro, D., Vincent, J.-L., Gottin, L., Scolletta, S., … Taccone, F. S. (2011). Sublingual and muscular microcirculatory alterations after cardiac arrest: A pilot study. *Resuscitation*, *82*(6), 690–695. doi:10.1016/j.resuscitation.2011.02.018

97. Petroni, T., Harrois, A., Amour, J., Lebreton, G., Brechot, N., Tanaka, S., … Combes, A. (2014). Intra-Aortic Balloon Pump Effects on Macrocirculation and Microcirculation in Cardiogenic Shock Patients Supported by Venoarterial Extracorporeal Membrane Oxygenation*: *Critical Care Medicine*, *42*(9), 2075–2082. doi:10.1097/CCM.0000000000000410

98. Boerma, E. C., & Ince, C. (2010). The role of vasoactive agents in the resuscitation of microvascular perfusion and tissue oxygenation in critically ill patients. *Intensive Care Medicine*, *36*(12), 2004–2018. doi:10.1007/s00134-010-1970-x

99. Krogh, A. (1921). Studies on the physiology of capillaries: II. The reactions to local stimuli of the blood-vessels in the skin and web of the frog. *The Journal of physiology*, *55*(5–6), 412–422. doi:10.1113/jphysiol.1921.sp001985

100. Dimopoulou, I., Orfanos, S., Kotanidou, A., Livaditi, O., Giamarellos-Bourboulis, E., Athanasiou, C., … Armaganidis, A. (2008). Plasma pro-

and anti-inflammatory cytokine levels and outcome prediction in unselected critically ill patients. *Cytokine*, *3*(41), 263–267. doi:10.1016/j.cyto.2007.11.019

101. Gogos, C. A., Drosou, E., Bassaris, H. P., & Skoutelis, A. (2000). Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. *The Journal of infectious diseases*, *181*(1), 176–180. doi:10.1086/315214

102. Debaty, G., Maignan, M., Perrin, B., Brouta, A., Guergour, D., Trocme, C., … Briot, R. (2016). Deep Hypothermic Cardiac Arrest Treated by Extracorporeal Life Support in a Porcine Model: Does the Rewarming Method Matter? *Academic Emergency Medicine: Official Journal of the Society for Academic Emergency Medicine*, *23*(6), 665–673. doi:10.1111/acem.12893

ANNEXES

Annex I.

Article 1:

Low versus standard-blood-flow reperfusion strategy in a pig model of refractory cardiac arrest resuscitated with Extra Corporeal Membrane Oxygenation.

Yun Luo; Caroline Fritz; Nefissa Hammache; Daniel Grandmougin; Antoine Kimmoun; Sophie Orlowski; N'Guyen Tran; Eliane Albuisson; Bruno Levy. Resuscitation. 2018 Sep 20;133:12-17. doi: 10.1016/j.resuscitation.2018.09.014. [Epub ahead of print]

Resuscitation 133 (2018) 12–17

Contents lists available at ScienceDirect

Resuscitation

journal homepage: www.elsevier.com/locate/resuscitation

Experimental paper

Low *versus* standard-blood-flow reperfusion strategy in a pig model of refractory cardiac arrest resuscitated with Extra Corporeal Membrane Oxygenation☆

Yun Luo[a,b,1], Caroline Fritz[a,b,c,1], Nefissa Hammache[a,b,c], Daniel Grandmougin[b,d,e], Antoine Kimmoun[a,b,c], Sophie Orlowski[b,f], N'Guyen Tran[b,e], Eliane Albuisson[b,g], Bruno Levy[a,b,c,*]

[a] *INSERM U 1116, Groupe Choc, Equipe 2, Faculté de Médecine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France*
[b] *Université de Lorraine, Faculté de Médecine, InSciDense, Vandoeuvre-lès-Nancy, France*
[c] *CHRU Nancy, Service de Médecine Intensive Réanimation Brabois, Pôle Cardiovasculaire et Réanimation, Hôpital Brabois, Vandoeuvre-lès-Nancy, France*
[d] *CHRU Nancy, Service de Chirurgie Cardiaque, Pôle Cardiovasculaire et Réanimation Médicale, Hôpital Brabois, Vandoeuvre-lès-Nancy, France*
[e] *Ecole de Chirurgie, Faculté de médecine, Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France*
[f] *CHRU de Nancy, Service de Biochimie, Pôle Laboratoires Hôpital Central, Nancy, France*
[g] *CHRU de Nancy, Plateforme d'aide à la recherche clinique (PARC-UMDS), Hôpital de Brabois, Vandoeuvre-lès-Nancy, France*

ARTICLE INFO

Key words:
Extracorporeal cardio pulmonary resuscitation
Extracorporeal Membrane Oxygenation blood flow
Refractory cardiac arrest
Microcirculation
Inflammatory response

ABSTRACT

Objective: This study was designed to assess the effect of two veno-arterial ExtraCorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) blood-flow strategies in an experimental model of Extracorporeal Cardio-Pulmonary Resuscitation (ECPR) on macrocirculatory, metabolic and microcirculatory parameters in the first six hours of ECMO initiation.

Methods: Cardiac arrest was induced in 18 pigs by surgical ligature of the left descending coronary artery followed by a low-flow time of 40 min using internal cardiac massage. ECPR was initiated in normothermia with an ECMO blood flow of 30–35 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ (low-blood-flow group, LBF) or 65–70 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ (standard-blood-flow group, SBF), with the same mean arterial pressure target of 65 mmHg adjusted with norepinephrine. Macrocirculatory and metabolic parameters were assessed by lactate clearance and carotid blood flow. Microcirculatory parameters were assessed by sublingual microcirculation with Sidestream Dark Field (SDF) imaging and peripheral Near-InfraRed Spectrometry (NIRS). Inflammatory cytokine levels were measured with a multicomplexed ELISA-based array platform.

Results: There were no between-group differences at baseline and at ECMO initiation (H0). Lactate clearance at H6 was lower in LBF compared to SBF (6.67[-10.43-18.78] *vs.* 47.41[19.54–70.69] %, $p = 0.04$). Carotid blood flow was significantly lower ($p < 0.005$) during the last four hours despite similar mean arterial pressure levels. For microvascular parameters, SDF and NIRS parameters were transitorily impaired at H3 in LBF. IL-6 cytokine level was significantly higher in LBF at the end of the experiment.

Conclusion: In an experimental porcine model of refractory cardiac arrest treated by ECMO, a low-blood-flow strategy during the first six hours of resuscitation was associated with lower lactate clearance and lower cerebral blood flow with no benefits on ischemia-reperfusion parameters.

Introduction

Refractory cardiac arrest is defined by the absence of return of spontaneous circulation (ROSC) within a period of 30 min of cardio-pulmonary resuscitation (CPR) under medical supervision [1]. In this patient population, ExtraCorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) represents an emerging alternative therapy which restores circulatory flow while awaiting myocardial recovery. The haemodynamic state during post extracorporeal cardiopulmonary resuscitation (ECPR) is a complex entity. It combines both systemic ischemia-reperfusion (I/R) syndrome and myocardial failure leading to a mixed shock [2]. Circulatory flow recovery with ECMO is associated with inducible nitric

☆ A Spanish translated version of the abstract of this article appears as Appendix in the final online version at https://doi.org/10.1016/j.resuscitation.2018.09.014.

* Corresponding author at: INSERM U 1116, Groupe Choc, Equipe 2, Faculté de Médecine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France.
E-mail address: blevy@sfr.fr (B. Levy).

[1] Yun Luo and Caroline Fritz equally participated to the work.

https://doi.org/10.1016/j.resuscitation.2018.09.014
Received 8 June 2018; Received in revised form 12 August 2018; Accepted 17 September 2018
0300-9572/ © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

oxide production and a cytokine release storm. The resulting vasoplegia is associated with the need for massive vascular fluid loading and high vasopressor requirement in order to maintain both pump blood flow and tissue perfusion [3,4].

Critical care management in the first hours following ECMO implantation is not well defined. Mean arterial pressure (MAP) and pump blood flow output are two essential components for which physicians can have a direct influence. We have recently demonstrated that, compared to a standard mean arterial pressure regimen of 65 mmHg, targeting a high mean arterial pressure in the first hours of an experimental ECPR model did not result in any haemodynamic improvement or decrease in the amount of infused fluid [5]. With regard to ECMO blood-flow, fluid challenge and norepinephrine treatment can both improve mean systemic pressure and ensure proper ECMO pump flow. Nevertheless, there is no guarantee that restoring these systemic haemodynamic variables will also improve microcirculatory and/or tissue perfusion [6]. Finally, at the organ level, the effects of pump blood flow and arterial pressure are likely different. For example, a loss of cerebral blood flow autoregulation has been reported after cardiac arrest [7]. In the initial phase of ECMO, brain blood flow is highly dependent on pump blood flow and may thus necessitate higher blood flow. Hence, using a normal pump blood flow may be negatively associated with exaggerated I/R syndrome although positively associated with better brain perfusion. On the other hand, while lowering the pump blood flow may be associated with decreased I/R syndrome, it may also be associated with decreased brain perfusion. The effects on lactate clearance and microcirculatory blood flow are moreover difficult to anticipate.

In light of the above, using an experimental model of ischemic refractory cardiac arrest, the present study aimed to assess the effects of two ECMO blood-flow targets ($30–35\ ml.kg^{-1}.min^{-1}$ *versus* $65–70\ ml.kg^{-1}.min^{-1}$) in the first six hours after ECMO initiation on lactate evolution, the amount of infused fluid and norepinephrine, cerebral blood flow, kidney and liver functions as well as on microcirculation and cytokine storm.

Materials and methods

Animal model

All experiments were reviewed and approved by the Nancy University Ethics Committee for Animal Experimentation (APAFIS number 3205). The procedure for the care and sacrifice of study animals was in accordance with the European Community Standards on the Care and Use of Laboratory Animals.

Animal preparation

Twenty-four domestic male pigs (*Landrace*) weighing between 45–65 kg were used in this study. After a 1-day fast, animals were placed under general anaesthesia and ventilation as previously published [5]. The animals were monitored by continuous electrocardiographic (ECG) recording. A conductance catheter (Millar pressure conductance Unit Model 200; Millar Instruments Inc., Houston, Tx, USA) was inserted into the right carotid artery for systemic blood pressure, while the left carotid artery was dissected and a Transit Time Flow probe (Transonic Systems Inc., Ithaca, USA) secured around the latter. A tape was placed around the right axillary artery after dissection in order to perform the vessel occlusion test (VOT). The left anterior descending (LAD) coronary artery was isolated and a Prolene (5/0, Ethicon, USA) snare was placed for temporary ligation. After low median laparotomy, a vesical catheter was placed to estimate hourly urine. Core body temperature was measured *via* a rectal probe and maintained at 38.5 °C. The right Scarpa was dissected and a femoral arterial outflow cannula (15Fr/16Fr, Biomedicus cannulae, Medtronic, USA) was inserted into the femoral artery. A venous inflow cannula (29Fr, atriocaval cannula, Edwards Lifesciences, USA) was surgically inserted in the right atrium. A $100\ UI.kg^{-1}$ dose of heparin (Heparine Sodique Choay, Sanofi-Aventis, Paris, France) was administered prior to the cannulation phase. The ECMO circuit consisted of a console (Rotaflow Console, Maquet, Germany), a centrifugal pump (Rotaflow centrifugal Pump System, Maquet, Germany) and circuit tubing together with a membrane oxygenator (PLS-i oxygenator, Maquet, Germany) linked to a mechanical gas blender system (Sechrist Model 20090, Sechrist, USA). The fully assembled ECMO circuit was primed with saline solution (NaCl 0.9%, B. Braun Medical, France).

Measured parameters

Haemodynamic measurements

The haemodynamic profile included systemic arterial pressure (mean arterial pressure, MAP) and carotid blood flow (CBF) measurements.

Microcirculation

The sublingual microvascular circulation was evaluated by a Sidestream Dark Field (SDF) imaging device (Microscan, MicroVision Medical, Netherlands). The obtained video clips were analysed semi-automatically using the Automated Vascular Analysis software (AVA 3.0 software, MicroVision Medical, Netherlands) from which the following microcirculation parameters were collected: total and perfused vessel density (TVD, PVD), proportion of perfused vessels (PPV) and microvascular flow index (MFI). Regional tissue oxygenation ($StiO_2$) was monitored by a Near-Infrared Spectrometer (NIRS) device (Inspectra tissue spectrometer Model 650, Hutchinson, MN, USA) along with the performing of a vascular occlusion test. The NIRS probe was placed on an area of exposed skin at the right upper extremity overlying a muscle zone.

Norepinephrine-arterial pressure dose-response assessment

To establish the norepinephrine-arterial pressure dose-response curve, norepinephrine was injected in a stepwise manner at 0, 20, 40, 80, $160\ \mu g.kg^{-1}$. At each dose, the maximal increase in systolic, diastolic and mean arterial pressure was measured. Each dose was injected after return to baseline values.

Laboratory measurements

Arterial blood gas was assessed in an acid-base and co-oxymeter analyser at central temperature (VetStat, IDEXX Laboratories, France). Lactate concentration was measured using a StatStrip Lactate Xpress Meter (Nova Biomedical, Flintshire, UK). Plasma creatinine (Cr), aspartate aminotransferase (AST) and alanine transaminase (ALT), blood urea nitrogen (BUN) and troponin levels (TnI) were measured using a chemistry analyser (AU 680, Beckman Coulter, CA, USA).

Inflammatory response

A number of cytokines, including IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, GM-CSF, IFNγ, TGFβ,1 and TNF-α, were determined at H baseline, H0 and H6 using the Quantibody porcine cytokine array (RayBiotech Inc, Norcross, GA, USA) according to the manufacturer's instructions. The cytokine array is an array-based multiplex ELISA system for the simultaneous quantitative measurement of multiple cytokines.

Experimental protocol

Shock model

After surgical preparation including sternotomy followed by a 30-min stabilisation period, myocardial infarction was induced by the proximal ligation of the LAD using a temporary tourniquet with a vessel loop. Physiological evolution toward cardiac arrest was achieved either in ventricular fibrillation or in asystole.

After a cardiac arrest (no-flow) period of 90 s, the animals were

Table 1
Haemodynamic, metabolic, microcirculatory and biological parameters at baseline and at H0 (before E-CPR) in LBF *versus* SBF.

Parameters	H baseline		*p*	H 0		*p*	*p* for LBF H baseline *vs.* H0	*p* for SBF H baseline *vs.* H0
	LBF	SBF		LBF	SBF			
weight	54.6[49.0–59.9]	55.0[49.5–61.4]	*0.72*					
Haemodynamic								
heart rate (bpm)	128[91.0–141.5]	93[88–125]	*0.22*	0	0			
MAP (mmHg)	98[88–114.5]	106[94.5–112]	*0.86*	38.0[28.5–42.0]	39.0[26.5–49.0]	*0.61*	*0.0039*	*0.0039*
carotid flow (mL. min^{-1})	342[264.5–395.0]	370[237–430]	*0.66*	40.0[18.5–48.5]	54.0[44.5–62.5]	*0.05*	*0.0039*	*0.0039*
blood loss (mL)	100[50–200]	100[50–400]	*0.61*					
Metabolic								
lactate (mmol.L^{-1})	2[1.5–3.0]	1.9[1.6–2.2]	*0.53*	11.0[8.4–12.3]	10.6[9.8–12.2]	*0.86*	*0.0004*	*0.0004*
pH	7.35[7.28–7.41]	7.36[7.31–7.40]	*1*	7.24[7.107.37]	7.12[7.09–7.27]	*0.39*	*0.1091*	*0.0078*
pCO2 (mmHg)	50[43.5–69.5]	46[43.5–64]	*0.66*	24[15.5–37]	31[21.5–37.5]	*0.39*	*0.0039*	*0.0128*
pO2 (mmHg)	206[158–264]	202[143–213]	*0.44*	115[78.5–151.5]	88[66.5–114.5]	*0.19*	*0.0078*	*0.0039*
HCO3- (mmHg)	27.8[25.6–29.7]	27.5[25.6–30.2]	*0.86*	10.2[8.1–12.1]	9.4[8.6–11.6]	*1.0*	*0.0091*	*0.039*
SpO2 (%)	99[98–100]	99[98–100]	*0.96*	95[88.5–96.5]	90[82–96.0]	*0.30*	*0.009*	*0.014*
Hb (g.dL^{-1})	9.1[8.6–9.6]	9.2[8.5–10.2]	*0.72*	8.5[7.4–10.2]	9.8[8.9–10.7]	*0.22*	*0.3309*	*0.7235*
Microcirculation								
StO2 (%) baseline	72[55–73.5]	75[54–77.5]	*0.43*	13.5[0–35.5]	7.0[0–16.6]	*0.86*	*0.0089*	*0.0039*
RdesatStiO$_2$ (%. s^{-1})	12.1[6.3–15.8]	11.3[4.5–17.4]	*0.79*	0.58[0–5.5]	0.27[0–0.55]	*0.48*	*0.0156*	*0.0078*
RresatStiO$_2$ (%. s^{-1})	2.15[0.57–3.97]	3.27[1.48–4.81]	*0.28*	0.09[0-0.5]	0.06[0–0.5]	*0.89*	*0.0078*	*0.0078*
Δ StiO$_2$ (%)	12.5[4–14]	9[5–11]	*0.37*	0.75[0–6.25]	0[−1.0–0]	*0.15*		
TVD (mm. mm^{-2})	14.8[13.3–16.1]	16.3[13.9–16.8]	*0.32*	9.37[7.83–12.55]	8.9[8.1–11.1]	*0.61*	*0.0078*	*0.0078*
PVD (mm. mm^{-2})	14.4[12.8–15.6]	16.0[13.9–16.8]	*0.32*	1.19[0.123.95]	0.68[0.19–2.99]	*0.49*	*0.0039*	*0.0078*
PPV (%)	95.3[91.3–98.4]	97.8[95.1–99.3]	*0.48*	12.2[1.64–26.9]	7.1[2.0–23.4]	*0.55*	*0.0039*	*0.0078*
MFI	2. 88[2.78–2.94]	3.0 [2.82–3.0]	*0.18*	0.44 [0.16–0.72]	0.31 [0.03-0.88]	*0.60*	*0.009*	*0.0142*
Biology								
ALT (UI.L^{-1})	34.2[26.6–44.9]	42.4 [36.6–46.6]	*0.13*	23.8 [18.1–34.5]	31.6[24.6–39.2]	*0.46*	*0.0313*	*0.0156*
AST (UI.L^{-1})	26.2[18.5–27.1]	22.8 [19.3–38.0]	*1*	70.9[49.6–104.3]	100.4[77.1–108.1]	*0.26*	*0.0156*	*0.0156*
Creatinine (mmol.L^{-1})	12[9.9–12.8]	10.6[9.2–11.4]	*0.18*	13.1[11.2–14.8]	11.4[10.8–13.4]	*0.26*	*0.0156*	*0.0156*
BUN (mmol.L^{-1})	0.15[0.12–0.27]	0.15[0.12–0.17]	*0.56*	0.14[0.14-0.29]	0.15[0.15–0.17]	*0.90*	*0.9163*	*0.136*
TnI (pg. ml^{-1})	0.12[0.69–0.19]	0.1[0.05–0.20]	*1*	5.64[3.62–11.89]	5.6[3.9–6.9]	*0.90*	*0.0156*	*0.0156*

LBF: low-blood-flow group; SBF: standard-blood-flow group; MAP : mean arterial pressure; pCO2: carbon dioxide partial pressure; pO2 : oxygen partial pressure; SpO2: peripheral oxygen saturation; StO2: tissue oxygen saturation; TVD, total vessel density; PVD, perfused vessel density; PPV, proportion of perfused vessels; MFI, microvascular flow index. ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; BUN, blood urea nitrogen; TnI, troponin I.

resuscitated (low-flow) according to the same resuscitation protocol: i) in the case of ventricular fibrillation, five internal defibrillations were first attempted at 20 joules. Each defibrillation cycle was followed by two minutes of internal massage at 100.minutes^{-1}. Epinephrine (1 mg) and Amiodarone (5 mg.kg^{-1}) were used intravenously after the third shock and repeated if necessary after the 5th shock; ii) in the case of asystole cardiac arrest, internal massage was performed and 1 mg epinephrine was used every 2 min until the 5th administration. In all instances, ventilation parameters were: tidal volume: 10 ml.kg^{-1}; respiratory rate: 10 per minute; inspiratory fraction of oxygen 100%; with no PEP.

After 40 min of pulmonary-cardiac resuscitation (CPR), ECMO was initiated. Ischemia by LAD occlusion was continued for 60 min after the ECMO run and reperfusion was allowed from H1 to H6 in all animals.

Haemodynamic management after ECMO initiation

Continuous intravenous norepinephrine (Mylan, USA) infusion was used to reach a MAP at 65 mmHg. Volume expansion (NaCl 0.9%, B. Braun Medical, France) was used in case of decreased blood flow or in case of jerking or shaking movements of the cannulae. Core body temperature was measured *via* a rectal probe and maintained at 38°.5C (normal temperature in *Landrace* pigs).

Groups

Animals were randomly assigned into two groups at time of ECMO initiation : i) low-blood-flow group at 30–35 ml.kg^{-1}. min^{-1}; ii) standard-blood-flow group at 65–70 ml.kg^{-1}. min^{-1} based on a theoretical cardiac output and ELSO recommendations [8]. In both groups, ECMO initiation parameters were identical with regard to FiO_2 (0.6) and sweep gas (3 l.min^{-1}), and subsequently adjusted according to targeted pCO_2 blood gas results (35–45 mmHg).

Timing of measurements

Haemodynamic measurements and biological assays were collected after surgery at baseline, after 40 min of refractory cardiac arrest (at ECMO initiation) (H0) and after three (H3) and six (H6) hours under ECMO. Arterial pressure and carotid flow were continuously recorded. SDF and NIRS parameters were measured at baseline, at H0, at H3 and at H6 under ECMO. Blood samples for Cr, BUN, ALT, AST, TnI and inflammatory mediators were collected at baseline, H0 and H6. A norepinephrine-mean arterial pressure dose-response assessment was performed at the end of the experiment. All data were recorded with IOX 2. 2.9.5.73 software (EMKA, Technologies, USA).

Exclusion criteria

Animals were excluded if a major haemorrhagic event occurred before randomisation.

Data analysis

Given the small sample size, all results are expressed as median and interquartile range (IQR). Comparisons between two groups were analysed using the nonparametric Mann-Whitney test and between more than two groups by the Friedman test followed by a post-hoc comparison if the global p value was < 0.05. All statistical analyses were two sided, with a significance level of 0.05 and performed using SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago, USA). All figures were generated with Graph Pad Prism 6.0 software (GraphPad Software Inc, San Diego, CA).

Results

A total of 24 animals were studied. Six animals were excluded prior to randomisation due to major haemorrhagic shock during surgery. The analysis was finally comprised of 18 pigs: nine in the low-blood-flow group (LBF) and nine in the standard-blood-flow group (SBF). The two groups were similar at baseline for all haemodynamic and metabolic parameters as well as biology and microcirculation (SDF and NIRS) without significant differences between groups (Table 1).

Model characterisation

Time from LAD ligation to cardiac arrest was similar in both LBF and SBF (14.1 [6.05–15.10] minutes *vs.* 14.6 [5.45–17.75] minutes, $p = 0.86$). CPR-diastolic pressure was similar between LBF and SBF (25 [22–31]mmHg *vs.* 29 [23–30]mmHg, $p = 0.52$). The initial rhythm was VF for all animals. In all instances, there was no observed arterial pressure fluctuation during the no-flow period. There were no differences between LBF and SBF according the experimental protocol with regard to no-flow duration (1.5 [1.5–1.51] minutes *vs.* 1.5 [1.5–1.57] minutes, $p = 0.49$) and low-flow duration before ECPR (40.1 [39.05–41.25] minutes *vs.* 40.5 [40.10–41.15] minutes, $p = 0.34$). Haemodynamic, metabolic, microcirculatory as well as biological parameters after cardiac arrest between baseline and H0 are presented in Table 1 with no between-group differences prior to ECPR strategy randomisation.

Low versus standard-blood-flow

Haemodynamic parameters

ECMO blood-flow was stable according to the randomised group throughout the protocol (Fig. 1A). The blood pressure target of 65 mmHg was reached in both groups (Fig. 1B). Carotid blood flow during the first six hours was significantly lower in the low-blood-flow group ($p = 0.004$) (Fig. 2). The amount of infused fluid did not significantly differ between LBF and SBF (7600 [4150–19000] ml *vs.* 9000 [3100–20750] ml, $p = 0.98$). The total amount of administered norepinephrine to maintain MAP was not different between LBF and SBF (1421.8 [908.5–2253.9] $\mu g.kg^{-1}$ *vs.* 710.6 [93.4–1324.6] $\mu g.kg^{-1}$, $p = 0.06$). Hourly norepinephrine infusion was significantly higher in LBF *vs.* SBF at H1 ($p = 0.006$), H5 ($p = 0.001$) and H6 ($p = 0.024$) as presented in ESM1, Fig. 1A. No statistical difference was observed regarding vascular reactivity as expressed using dose-response curves ($p = 0.07$) (ESM1, Fig. 1B). Urinary output at H6 was similar between LBF and SBF (50[5–545] ml *vs.* 300[165–575] ml, $p = 0.15$).

Metabolic parameters

Lactate clearance was slower in LBF *vs.* SBF at H3 compared to H0 (-2.56 [-17.56-11.59] % *vs.* 28 [10.86–63.12] %, $p = 0.014$) and at H6 compared to H0 (6.67 [-10.43-18.78] %, *vs.* 47.41 [19.54–70.69] %, $p = 0.04$) (Fig. 3).

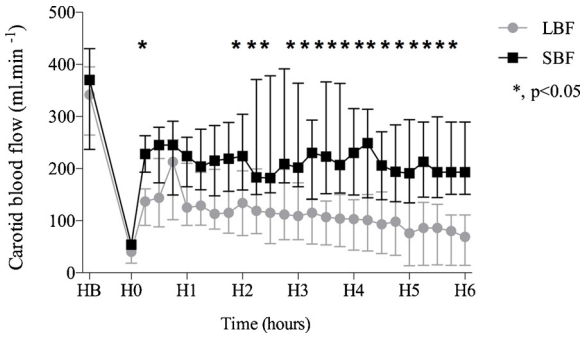


Fig. 2. Evolution of carotid blood flow over the 6 h of ECMO.
Symbols (circles, squares) represent the median, with the upper edges of the error bars respectively representing the 75th percentile and the lower edges representing the 25th percentile in each group. Gray filled circles: low-blood-flow group (LBF); black filled squares: standard-blood-flow group (SBF). *, LBS *vs.* SBF, $p < 0.05$

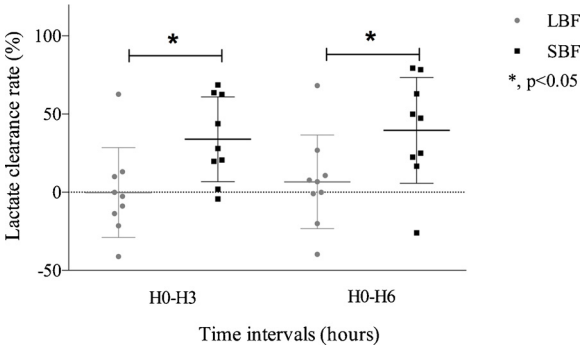


Fig. 3. Lactate clearance between H0 to H3 and H0 to H6 in the two study groups.
The horizontal line within the box indicates the median, with the boundaries of the box indicating the 25th-75th percentile. Gray box: low-blood-flow group (LBF); black box: standard-blood-flow (SBF). *, LBF *vs.* SBF group, $p < 0.05$.

Microcirculatory parameters

The variations in sublingual microcirculation are detailed in ESM2, Table 1. After ECPR implementation, PVD and MFI at H3 were significantly lower in LBF. At the end of the experimental period (H6), no difference was observed between LBF and SBF relative to SDF parameters. The absolute value of front limb $StiO_2$ was significantly lower in LBF compared to the SBF group during the protocol. No statistical differences were observed on $\Delta StiO_2$, desaturation rate and resaturation rate during the vessel occlusion test.

Biological data

Biological parameters (Cr, BUN, AST, ALT) increased from H0 to H6 in both groups with no between-group differences as presented in ESM3, Table 2.

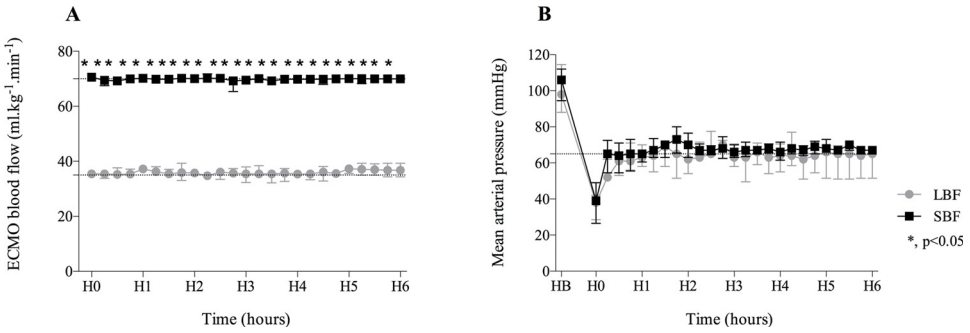


Fig. 1. A. Pump blood flow over the six hours of the ECMO protocol; **B.** Mean arterial pressure over the six hours of ECMO. MAP, mean arterial pressure. Symbols (circles, squares) represent the median while upper edges of the error bars respectively represent the 75th percentile in each group. Gray filled circles: low-blood-flow group (LBF); black filled squares: standard-blood-flow group (SBF). *, LBF group *vs.* SBF group, $p < 0.05$.

Circulatory inflammatory mediators

All cytokine results are presented in ESM4, Table 3. In LBF, IL-6 increased significantly from baseline to H6 (71.61 [28.4–155.3] pg. ml^{-1} to 830.45 [81.5–1317.8] pg. ml^{-1}, $p = 0.04$) but not in SBF (56.1 [12.2–140.9] pg.ml^{-1} to 175.6 [49.9–491.4] pg. ml^{-1}, $p = 0.14$), with no significant between-group difference at H6 ($p = 0.14$).

Discussion

In an experimental porcine ECPR model, a low-blood-flow strategy compared to a standard-blood-flow strategy during the first six hours of ECMO does not appear to be superior in terms of ischemia-reperfusion syndrome. Importantly, the use of a standard-blood-flow strategy was associated with a higher carotid blood flow, a faster lactate clearance and a transitory improvement in microcirculation.

Shock model

All animals at H0 presented the typical pattern of ischemic refractory cardiac arrest with high lactate level [9]. Highlighting the severity of the cardiac arrest and similarly to bedside observations, the brutal recovery in systemic flow due to the ECMO device was associated with severe post-resuscitation syndrome requiring fluid treatment and high-dose vasopressor administration [10].

Low ECMO blood-flow is associated with slower lactate clearance and decreased brain perfusion

We observed a non-significant trend towards a higher dose of norepinephrine needed to maintain arterial pressure in the LBF group. The amount of fluid needed to maintain MAP and pump blood flow at the target value was nevertheless similar between the two groups [11]. While arterial pressure was equivalent in the two groups, blood flow had a true impact on tissue perfusion and lactate metabolism as assessed by a slower lactate clearance in the LBF group. In parallel, we observed a significant difference in the six-hour evolution with regard to carotid blood flow. Carotid blood flow clearly represents a good surrogate for brain macrocirculation during ECMO. Two experimental ECMO studies demonstrated a linear relationship between ECMO blood blow and carotid blood flow. Importantly, in these latter experiments, the increase in carotid blood flow was associated with an increase in brain oximetry [12,13]. During the initial phase of refractory cardiac arrest resuscitated with ECMO, the heart does not eject, therefore there is no resistance to pumped blood flow and thus carotid blood flow becomes directly and linearly dependent on pump blood flow [14,15].

Low versus standard-blood-flow is transiently associated with microcirculatory anomalies

In the present model, microcirculatory parameters (PVD, PPV and MFI) were transiently more altered in the low-blood-flow group with a significant difference at H3 which was no longer observed at H6. The clinical significance of this transient phenomenon remains unknown since many confounding parameters may influence SDF evolution such as acidosis, anaemia and haemodilution. Another plausible hypothesis is a time-dependent vascular and/or metabolic adaptation [16–18].

Study limitations

A first limitation is the relatively small sample size in each group. However, the majority of published studies using a porcine model of refractory cardiac arrest also involved a small number of animals and is in keeping with ethical concerns of maintaining the number of animals to the minimum necessary to achieve the aims of the research. This aspect might have nonetheless influenced certain key results such as the amount of infused norepinephrine needed to maintain arterial pressure and the evolution of microcirculatory parameters.

Our model only involved healthy young pigs without preexisting coronary disease. At first glance, the use of healthy young pigs could appear counterintuitive in an experimental study on coronary disease. However, in the particular setting of ECPR, ECMO implantation at bedside is most often considered in highly selected young patients without prior apparent comorbidity. In clinical practice, the prognosis of out-of-hospital refractory cardiac arrest is mainly driven by the intensity of ischemia-reperfusion injury and brain function. In the present experiments, brain perfusion was measured although brain function was not evaluated. Therefore, it is not possible to definitively link the better brain perfusion observed in SBF to a potential better neurologic prognosis. Finally, the experimental period of six hours is likely too short to allow drawing definitive conclusions for clinical practice although it does provide precious insights for the early resuscitation phase.

Conclusion

In conclusion, in an experimental porcine model of refractory cardiac arrest treated by ECMO, application of a low-blood-flow target (30–35 $ml.kg^{-1}$.min- during the first six hours of ECPR is not associated with a better haemodynamic status nor with a decrease in inflammatory burst. Importantly, the low-blood flow strategy is associated with a slower lactate clearance and a decreased cerebral perfusion when compared to a normal blood flow strategy. These results strongly suggest that during the first six hours of ECPR, a normal pump blood flow should be used in order to improve end-organ perfusion as well as preserve brain perfusion.

Conflicts of interest

The authors disclosed that they received support from Maquet SAS France, which provides ECMO circuits for laboratory investigations.

Acknowledgment

We thank Pierre Pothier (pmsys@videotron.ca) for the editing of the manuscript.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:https://doi.org/10.1016/j.resuscitation.2018.09.014.

References

[1] Monsieurs KG, Nolan JP, Bossaert LL, Greif R, Maconochie IK, Nikolaou NI, et al. European resuscitation council guidelines for resuscitation 2015: section 1. Executive summary. Resuscitation 2015;95(October):1–80.
[2] Levy B, Bastien O, Karim B, Benjelid K, Cariou A, Chouihed T, et al. Experts' recommendations for the management of adult patients with cardiogenic shock. Ann Intensive Care 2015;5(December (1)):52.
[3] Negovsky VA. Postresuscitation disease. Crit Care Med 1988;16(October (10)):942–6.
[4] Okuda M. A multidisciplinary overview of cardiogenic shock. Shock 2006;25(June (6)):557–70.
[5] Fritz C, Kimmoun A, Vanhuyse F, Trifan BF, Orlowski S, Falanga A, et al. High versus low blood-pressure target in experimental ischemic prolonged cardiac arrest treated with extra corporeal life support. Shock 2017;47(6):759–64.
[6] Kara A, Akin S, Dos Reis Miranda D, Struijs A, Caliskan K, van Thiel RJ, et al. Microcirculatory assessment of patients under VA-ECMO. Crit Care Lond Engl 2016;20(October (1)):344.
[7] Sundgreen C, Larsen FS, Herzog TM, Knudsen GM, Boesgaard S, Aldershvile J. Autoregulation of cerebral blood flow in patients resuscitated from cardiac arrest. Stroke 2001;32(January (1)):128–32.
[8] ELSO guidelines for cardiopulmonary extracorporeal life support extracorporeal life support organization. 2017. Ann Arbor, MI, USA.
[9] Brunner A, Dubois N, Rimensberger PC, Karam O. Identifying prognostic criteria for survival after resuscitation assisted by extracorporeal membrane oxygenation. Crit

Care Res Pract 2016;2016:9521091.
[10] Nolan JP, Neumar RW, Adrie C, Aibiki M, Berg RA, Böttiger BW, et al. Post-cardiac arrest syndrome: epidemiology, pathophysiology, treatment, and prognostication. A Scientific Statement from the International Liaison Committee on Resuscitation; the American Heart Association Emergency Cardiovascular Care Committee; the Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; the Council on Cardiopulmonary, Perioperative, and Critical Care; the Council on Clinical Cardiology; the Council on Stroke. Resuscitation 2008;79(December (3)):350–79.
[11] Persichini R, Silva S, Teboul J-L, Jozwiak M, Chemla D, Richard C, et al. Effects of norepinephrine on mean systemic pressure and venous return in human septic shock. Crit Care Med 2012;40(December (12)):3146–53.
[12] Hála P, Mlček M, Oštádal P, Janák D, Popková M, Bouček T, et al. Regional tissue oximetry reflects changes in arterial flow in porcine chronic heart failure treated with venoarterial extracorporeal membrane oxygenation. Physiol Res 2016;65(December (Supplementum 5)):S621–31.
[13] Gerrits LC, van Heijst AFJ, Hopman JCW, de Haan AFJ, Liem KD. The effect of decreasing flow rate on cerebral hemodynamics during veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation in piglets. ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs 1992 2015;61(August (4)):448–52.
[14] van de Bor M, Walther FJ, Gangitano ES, Snyder JR. Extracorporeal membrane oxygenation and cerebral blood flow velocity in newborn infants. Crit Care Med 1990;18(January (1)):10–3.
[15] Yang F, Jia Z, Xing J, Wang Z, Liu Y, Hao X, et al. Effects of intra-aortic balloon pump on cerebral blood flow during peripheral venoarterial extracorporeal membrane oxygenation support. J Transl Med 2014;27(April (12)):106.
[16] Petroni T, Harrois A, Amour J, Lebreton G, Brechot N, Tanaka S, et al. Intra-aortic balloon pump effects on macrocirculation and microcirculation in cardiogenic shock patients supported by venoarterial extracorporeal membrane oxygenation. Crit Care Med 2014;42(September (9)):2075–82.
[17] Krupičková P, Huptych M, Mormanová Z, Bouček T, Belza T, Šmíd O, et al. Effect of Pulsatility on microcirculation in patients treated with extracorporeal cardiopulmonary resuscitation: a pilot study. ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs 1992 2017;63(August (4)):386–91.
[18] Ince C. Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation. Crit Care Lond Engl 2015;19(Suppl 3):S8.

Annex II.

Article 2:

Development of a porcine beating-heart model of self-myocardial retroperfusion: evaluation of hemodynamic and cardiac responses to ischemia and clinical applications.

Grandmougin D, Casse JM, Chalon A, **Luo Y**, Falanga A, Marie V, Groubatch-Joineau F, Mourer B, Grandmougin M, Grandmougin D, Gauchotte G, Maureira JP, Tran N.J Cardiovasc Surg (Torino). 2018 Jun; 59(3):438-452. doi: 10.23736/S0021-9509.18.10087-5. Epub 2018 Jan 9

THE JOURNAL OF

CARDIOVASCULAR

SURGERY

VOLUME 59 - 2018

DEVELOPMENT OF A PORCINE BEATING-HEART MODEL OF SELF-MYOCARDIAL RETROPERFUSION: EVALUATION OF HEMODYNAMIC AND CARDIAC RESPONSES TO ISCHEMIA AND CLINICAL APPLICATIONS

Daniel GRANDMOUGIN, Jean-Mathieu CASSE, Antoine CHALON, Yun LUO, Aude FALANGA, Vanessa MARIE, Fréderique GROUBATCH-JOINEAU, Brice MOURER, Marie GRANDMOUGIN, David GRANDMOUGIN, Guillaume GAUCHOTTE, Juan-Pablo MAUREIRA, Nguyen TRAN

PUBLISHED BY

MINERVA MEDICA

PUBBLICAZIONE PERIODICA BIMESTRALE - POSTE ITALIANE S.P.A. - SPED. IN A. P. D.L. 353/2003 (CONV. IN L. 27/02/2004 N° 46) ART. 1, COMMA 1, DCB/CN - ISSN 0021-9509 TAXE PERÇUE

© 2018 EDIZIONI MINERVA MEDICA
Online version at http://www.minervamedica.it

The Journal of Cardiovascular Surgery 2018;59
DOI: 10.23736/S0021-9509.18.10087-5

ORIGINAL ARTICLE

CARDIAC SECTION

Development of a porcine beating-heart model of self-myocardial retroperfusion: evaluation of hemodynamic and cardiac responses to ischemia and clinical applications

Daniel GRANDMOUGIN [1, 2] *, Jean-Mathieu CASSE [3], Antoine CHALON [1], Yun LUO [1, 4], Aude FALANGA [1], Vanessa MARIE [1], Fréderique GROUBATCH-JOINEAU [1], Brice MOURER [1], Marie GRANDMOUGIN [5], David GRANDMOUGIN [6], Guillaume GAUCHOTTE [3], Juan-Pablo MAUREIRA [1, 2], Nguyen TRAN [1]

[1]School of Surgery, University of Lorraine, Nancy, France; [2]Department of Cardiovascular Surgery, CHRU Nancy, Nancy, France; [3]Department of Cytology and Pathology, CHRU Nancy, Nancy, France; [4]INSERM Unit, Nancy, France; [5]Faculty of Pharmacy, University of Lorraine, Nancy, France; [6]Faculty of Letters and Human Sciences, University of Lorraine, Nancy, France

*Corresponding author: Daniel Grandmougin, Department of Cardiovascular Surgery, ILCV Louis Mathieu, CHRU Nancy, Rue du Morvan, 54500 Vandoeuvre les Nancy, France. E-mail: d.grandmougin@chu-nancy.fr

ABSTRACT

BACKGROUND: Retrograde perfusion into the coronary sinus is used to deliver cardioplegia. We developed an *in-vivo* porcine beating-heart model of self-myocardial retroperfusion (SMR) using the venous route to supply myocardial oxygenation and sought to assess hemodynamic and cardiac responses triggered by SMR before and after a prolonged occlusion of the LAD.

METHODS: A bypass-line between the ascending aorta and the coronary sinus was made to perform a selective retrograde perfusion of the great cardiac vein with oxygenated blood (SMR). A Control group (N.=6) was assigned to collect baseline data, and an SMR group (N.=6) was dedicated to undergo SMR with occlusion of LAD for 240 minutes. Cardiac output (CO), maximal pressure in the LV (Pmax in-LV), stroke volume (SV), left ventricular ejection fraction (LVEF), diastolic durations, heart rate, and arterial systemic pressure were evaluated with conductance catheters for the following periods: basal (before SMR), SMR with patent LAD, and SMR with occluded LAD. In order to assess peripheral perfusion, patterns of sublingual microcirculation were analyzed. At the end of the procedures, the hearts were harvested for histology.

RESULTS: Echographic LVEF evaluation was affected by sternotomy, but conductance catheter evaluation was not. Following pericardiotomy, CO decreased by 7.51% ($P<0.05$). SMR with patent LAD showed inotropic properties with improvements in CO, SV, Pmax in-LV and LVEF ($P<0.0001$). Following LAD occlusion, SMR supplied myocardial oxygenation with hemodynamic compensation and preserved the peripheral perfusion. Histology confirmed no signs of infarct.

CONCLUSIONS: SMR showed capacities to produce inotropic effects and protect against ischemia, opening interesting perspectives.

(*Cite this article as:* Grandmougin D, Casse JM, Chalon A, Luo Y, Falanga A, Marie V, *et al.* Development of a porcine beating-heart model of self-myocardial retroperfusion: evaluation of hemodynamic and cardiac responses to ischemia and clinical applications. J Cardiovasc Surg 2018;59:_____. DOI: 10.23736/S0021-9509.18.10087-5)

Key words: Coronary circulation - Hemodynamics - Ischemia.

Retrograde delivery of cardioplegia via the coronary sinus (CS) is a method used in cardiac surgery to arrest and protect the heart. The retrograde route is a technique particularly interesting in the setting of critical coronary stenosis, severe aortic insufficiency, or other conditions that may hamper the antegrade delivery of cardioplegia. However, controversies concerning the retrograde route have been reported without any definitive evidence of superiority of antegrade administration.[1-3]

The major concern with retrograde cardioplegia is that it may not adequately protect the right ventricle. In fact, most of these hypotheses result from studies on

dogs [4] that documented inhomogeneous distribution of the cardioplegic solution in the right ventricle. In dogs, the lesser perfusion of, both, the septum and the free wall of the right ventricle was due to the presence of well-developed Thebesian veins in the septum; in pigs, it was due to the presence of a dominant left azygos vein (LAV) connected to the coronary sinus and small cardiac veins. In pigs, a large LAV draining into the CS can dramatically impair the retrograde perfusion, resulting in malperfusion of the left ventricle (LV).[5, 6] In humans, concerns of myocardial protection due to the exclusive use of retrograde cardioplegia [7] remains theoretical since the venous anatomy is quite different from that of pigs and, therefore, such route of delivery has been widely proven in terms of safety and reliability. Finally, the mode of delivering cardioplegia depends on the preference of the surgeons, and retrograde cardioplegia is often combined with antegrade delivery to enhance the myocardial protection.[8]

Additionally, many studies have reported [9-11] interesting results with a continuous retrograde perfusion of oxygenated blood via the coronary sinus, which allows to perform beating-heart valve surgery with cardiopulmonary bypass (CPB) and decreases the risk of ischemia-reperfusion injury.

Therefore, we hypothesized that the heart can take care of its own oxygenation after acute occlusion of the left descending artery (LAD) via a selective retrograde perfusion through the great cardiac vein, with oxygenated blood arising from the ascending aorta. Following preliminary anatomic studies of the porcine heart,[6, 12] we developed an innovative porcine beating-heart model of self-myocardial retroperfusion (SMR) with oxygenated blood and sought to assess the hemodynamic and cardiac responses triggered by SMR before and after a prolonged period of occlusion of LAD.

Materials and methods

All procedures for animal care and experimentation followed the NIH guidelines for Animal Research (Guide for the Care and Use of Laboratory Animal. Eighth Edition. 2011), were in accordance with the French legislation, and approved by an institutional committee.

A total of 12 pigs (male, weighing 40-45 kg) were allocated to two groups, a Control group (N.=6) and an SMR group (N.=6). The Control group was dedicated to the acquisition of anatomic, hemodynamic, and histologic data necessary to develop the model of SMR. The SMR group was assigned to test the model of SMR, and study hemodynamic patterns and histological changes in the heart.

Anesthetic protocol

In order to facilitate intubation, animals were fasted six hours prior to the experimentation. On the day of the experiment, the pigs were premedicated with an intramuscular injection of ketamine (20 mg/kg, Virbac, Carros, France) and midazolam (0.1 mg/kg, Mylan, Saint Priest, France). Anesthesia was induced by administration of propofol (2.5 mg/kg, B Braun, Melsungen, Germany) and sufentanil (0.01 mg/kg bolus, Pharm-Link, Sweden). Ventilation anesthesia with isoflurane 3% (Isovet, Axience, Pantin, France) and continuous intravenous infusion of sufentanil (0.0045 mg/kg/h) were used to maintain anesthesia. After orotracheal intubation, the pigs were ventilated by assisted volume-controlled mode with a tidal volume of 8 mL/kg and FiO_2 of 0.3. At the end of each procedure, the pigs were euthanized by administering 0.2 mL/Kg pentobarbital (Exagon® 400 mg/mL Richter Pharma AG) and their hearts were excised and conserved in 4% formaldehyde solution for histological examination. Rectal and esophageal temperatures, using specific probes, were continuously monitored throughout the experimentation and preservation of a normothermic range close to 38°C was achieved both with a Bair Hugger warming system and perfusion with warm fluids.

Methodology for the control group

Following anesthesia, transthoracic echographic (TTE) evaluation of LVEF was performed. After heparinization (10,000 UI), the left carotid artery was dissected to introduce a conductance catheter (Millar®) into the LV and monitor the cardiac output (CO), left ventricular ejection fraction (LVEF), stroke volume (SV), maximal pressure in the LV (Pmax in-LV), diastolic durations (DD), and heart rate (HR). Acquisition of data with the conductance catheter was performed according to specific guidelines.[13-16] Arterial blood pressure was monitored with a second conductance catheter placed in the left femoral artery. Median sternotomy and pericardiotomy were performed to expose

the heart. As we preliminarily validated the importance of occluding the LAV for achieving selective perfusion in the great cardiac vein (Figure 1A),[6] in order to avoid pressure-induced injuries to the CS during the retroperfusion, we evaluated the baseline pressures in the CS before (LAV+) and after (LAV-) the ligation of the LAV, as well as hypothetical influence of this ligation on CO. These evaluations were made with a conductance catheter introduced into the CS and synchronized with systolic and diastolic phases for respective evaluation of maximal and minimal pressures. An Octopus® 4.3 stabilizer device (Medtronic Inc., Minneapolis, MN, USA) was used to separate LAD from the great cardiac vein (Figure 1B) and a 4-0 polypropylene suture passed through a tourniquet tube was placed around the LAD (Figure 1B). Blood flow into the LAD was measured

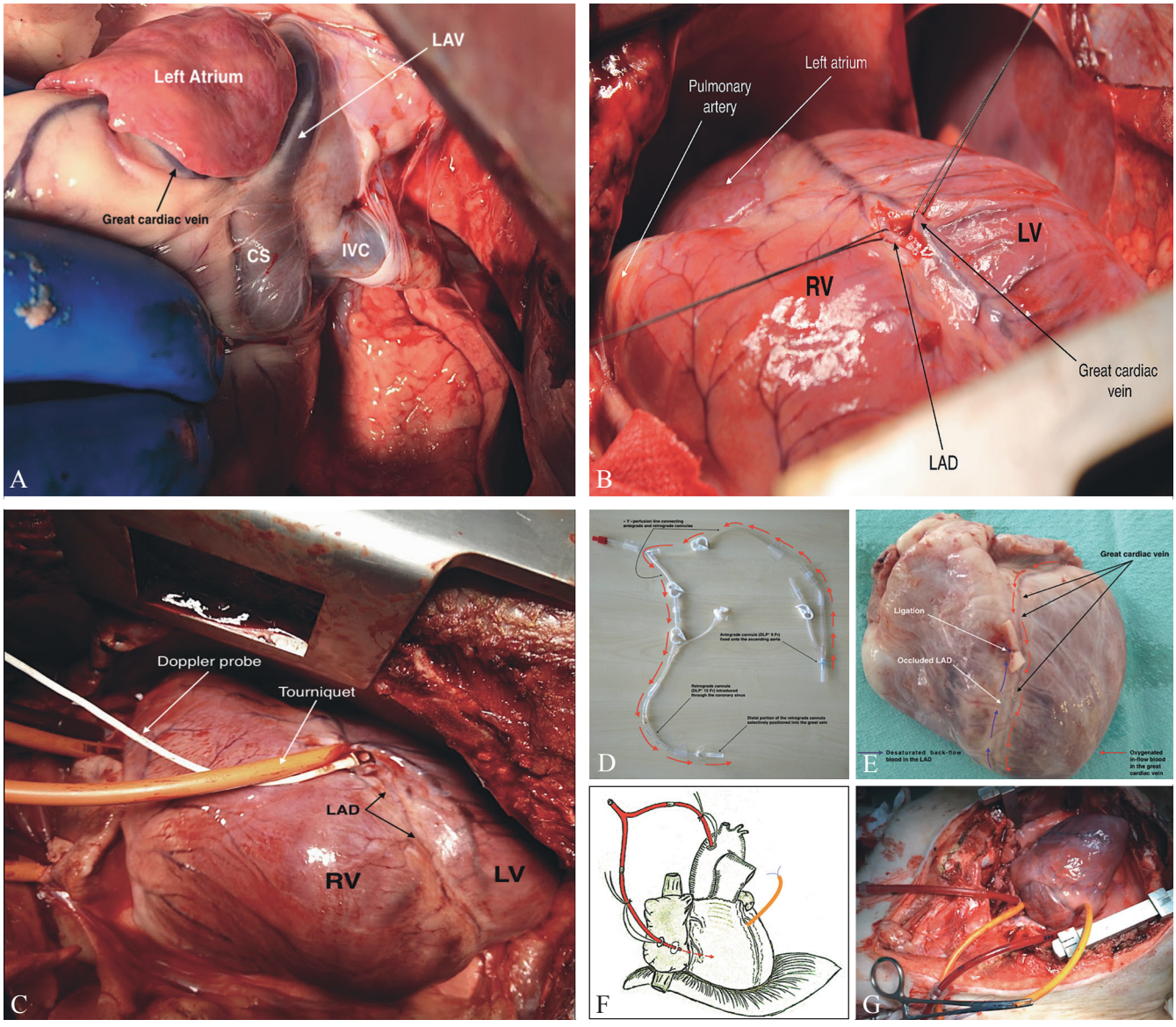


Figure 1.—A) Anatomic relationship of coronary sinus (CS) with inferior vena cava (IVC), LAV, great cardiac vein and left atrium (LA); B) the LAD is separated from the great cardiac vein; C) Doppler probe and tourniquet slipped around the LAD; D-G) illustration of the principles of SMR.

with Doppler vascular flowprobes (Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) slipped around the vessel, and LAD occlusion was confirmed after tightening the tourniquet (Figure 1C). Incidence and delay of ventricular arrhythmia as well as hemodynamic consequences were evaluated after coronary occlusion. Heparin (5000 UI) was administered hourly. Preload was maintained with crystalloid fluids to compensate for minor blood loss and urinary output. Gasometry and electrolytes were regularly monitored and optimized.

Methodology for the SMR group

The methodology was similar to that for the Control group. However, the details particular to this group are as follows. Following heparinization (10,000 UI), ligation of the LAV, and dissection of the LAD, the great vessels were exposed and an antegrade catheter DLP® 9 Fr (Medtronic, Inc., Minneapolis, MN, USA) was fixed to the ascending aorta, followed by the placement of a DLP® 15 Fr retrograde cannula (Medtronic, Inc., Minneapolis, MN, USA) into the CS, and selectively positioned in the great cardiac vein. Both catheters were connected together with a Y-shaped adapter perfusion line ready to start the SMR (Figure 1D-G). To minimize hemodynamic bias, it was decided to not use inotropic and vasopressor agents. Therefore, the pressure into the in-flow line of the retrograde perfusion was solely dependent on the arterial systemic pressure, which is known to decrease after occlusion of the LAD. As previously observed and reported,[17] we postulated that, prior to LAD occlusion, the preliminary association of a simultaneous antegrade perfusion with SMR might increase tissue oxygenation and produce inotropic effects that will reduce the adverse hemodynamic consequences of LAD occlusion, and, thus, preserve the pressure of SMR. Therefore, prior to occluding the LAD, SMR was systematically started with a simultaneous physiological antegrade coronary perfusion. This particular step was considered as a preconditioning hemodynamic phase. Following this preconditioning phase, the LAD was occluded and the occlusion was documented by Doppler debimetry.

Acquisition of data with conductance catheters was performed chronologically as follows:

— period 1 (P1): baseline period before sternotomy and pericardiotomy;

— period 2 (P2): baseline period after sternotomy and pericardiotomy;

— period 3 (P3): SMR with patent LAD (SMR + LAD+) = preconditioning phase;

— period 4 (P4): SMR with occluded LAD (SMR + LAD-).

P4 was divided in two phases:

— early phase: <30 minutes;

— delayed phase: >30 minutes.

Evaluation of peripheral perfusion

The sublingual microcirculation, reflecting the consistency of peripheral perfusion, was evaluated by MicroScan® hardware. Perfused Vessel Density (PVD), Proportion of Perfused Vessels (PPV), Microvascular Flow Index (MFI), and Total Vessel density (TVD) were analyzed with the AVA® software version 3.0 (Automated Vascular Analysis, MicroVisionMedical, Amsterdam, The Netherlands).

Evaluation of capillary density

Multiple approaches for evaluating myocardial capillary density in pigs are available.[18-23] For our study, three representative blocks of the formalin-fixed paraffin embedded tissue from each case were selected, including the left ventricle (one sample of anterior LV and one of lateral left ventricle) and the right ventricle. Paraffin sections of 4 µm were immersed in a 10 mM sodium citrate buffer (pH 6) for 20 min at 97 °C for dewaxing and antigen retrieval. The primary antibody used was Factor VIII (1/300; rabbit polyclonal, Dako Denmark A/S, Glostrup, Denmark). Immunohistochemistry was performed with Dako Autostainer Plus (Dako) using Flex+Envision revelation system (Dako). The cytoplasmic endothelial cell staining for factor VIII was evaluated in the epicardial, myocardial, and endocardial areas in a surface area of 1 mm^2.

Assessment of cardiac troponin I positivity

Whole heparinized blood samples were collected before sternotomy and at the end of the procedures and refrigerated at -4 °C. Release of Troponin I was analyzed with the troponin assay OneStep Troponin I Serum/Whole Blood/Plasma RapiCard™ InstaTest (Diagnostic

Automation/Cortez Diagnostics, Inc., Calabasas, CA, USA). This is a qualitative test designed to yield a positive result for cardiac troponin I (cTnI) concentration >1.5 ng/mL with a specificity of 100%.

Statistical analysis

GraphPad Prism version 6.00 for Windows, GraphPad Software (La Jolla, CA, USA) was used for statistical analysis. Multiple group comparisons were performed by one-way analysis of variance (ANOVA). Comparisons between two independent groups were analyzed using unpaired *t*-test with Welch's correction. P<0.05 was considered statistically significant.

Results

Control group

Variability of LVEF evaluation

In pigs, the heart is entirely surrounded by pleural cavities.[6, 12] Therefore, the inferior wall of the heart is separated from the diaphragm by the left pleural cavity, while in humans, it lies directly on the diaphragm. We hypothesized that this difference might influence the intrathoracic pressure on the heart and increase the paradoxical septal motion after pericardiotomy, thus affecting the LVEF echographic evaluation.

This was also a major issue while validating the reliability of the Millar catheter. LVEF was simultaneously evaluated by TTE and conductance catheter before and after sternotomy (Figure 2A). The differences observed validated our initial hypothesis, since LVEF evaluation with conductance catheter was not influenced by sternotomy and pericardiotomy, and matched the presternotomy echographic values.

Patterns of CO and individual variability of cardiac parameters

Changes in cardiac shape following pericardiotomy resulted in spheroidal ventricular morphology due to the loss of the lateral and diaphragmatic pleural com-

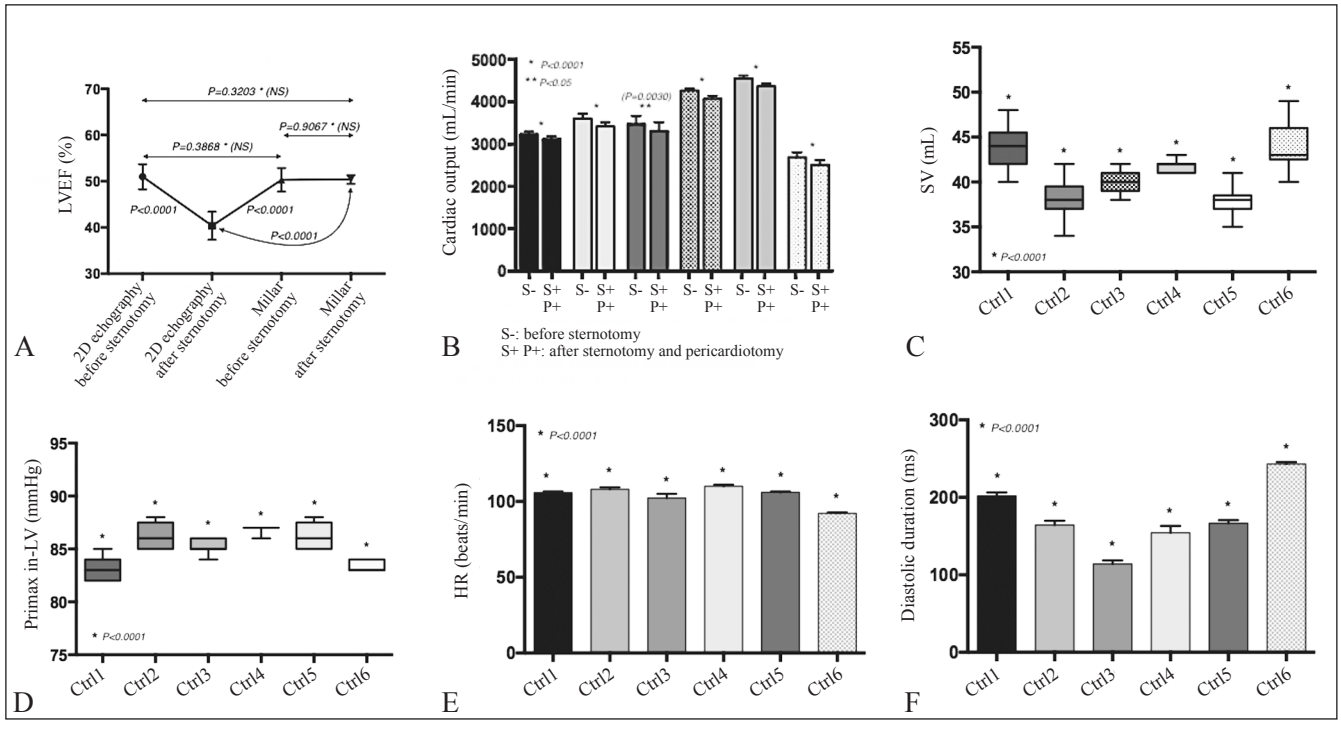


Figure 2.—Influence of sternotomy on comparative left ventricular ejection fraction (LVEF) evaluation with echocardiography (A) and Millar catheter; B) influence of sternotomy on cardiac output (CO); C-F) illustration of individual variability of baseline cardiac parameters (SV, Pmax in-LV, HR, and DD).

pression that may impair CO. This was confirmed by an average decrease in CO of 7.51% (Figure 2B). This result suggests that loss of pleural and lung pressures on the heart reduces the systolic strength of the LV and has to be considered along with the myocardial depressive effects of propofol. In addition to variation in CO, the baseline cardiac parameters that were monitored demonstrated important individual variations as well (Figures 2C-F).

Characteristics of CS and LAV

Due to the importance of azygos venous drainage into the CS, ligation of the LAV significantly reduced the pressure in the CS (Figure 3A). We noted that the residual pressure following ligation of LAV, 50 mmHg, is quite similar to that in humans. Thus, a retroperfusion pressure of at least >55 mmHg would be necessary to perfuse the LV *via* the great cardiac vein. Additionally, the ligation of the LAV did not significantly influence CO (Figure 3B).

Doppler debimetry of the LAD and validation of LAD occlusion

Average systolic and diastolic flow rates in the LAD were 36.1 mL/min and 102.3 mL/min, respectively (Figure 3C). Efficacy of LAD occlusion was confirmed (Figure 3G).

Incidence and delay of ventricular arrhythmia

Following acute occlusion of the LAD, all animals experienced ventricular fibrillation (VF) after an average time delay of 9 min and 14 seconds (4-12 minutes) and rapidly developed a lethal cardiogenic shock. In all cases, VFs were systematically preceded by premature ventricular contractions.

Baseline capillary density

Patent capillary vessels were immunostained (brown) with anti-Factor VIII antibodies (Figure 3D). Mean cap-

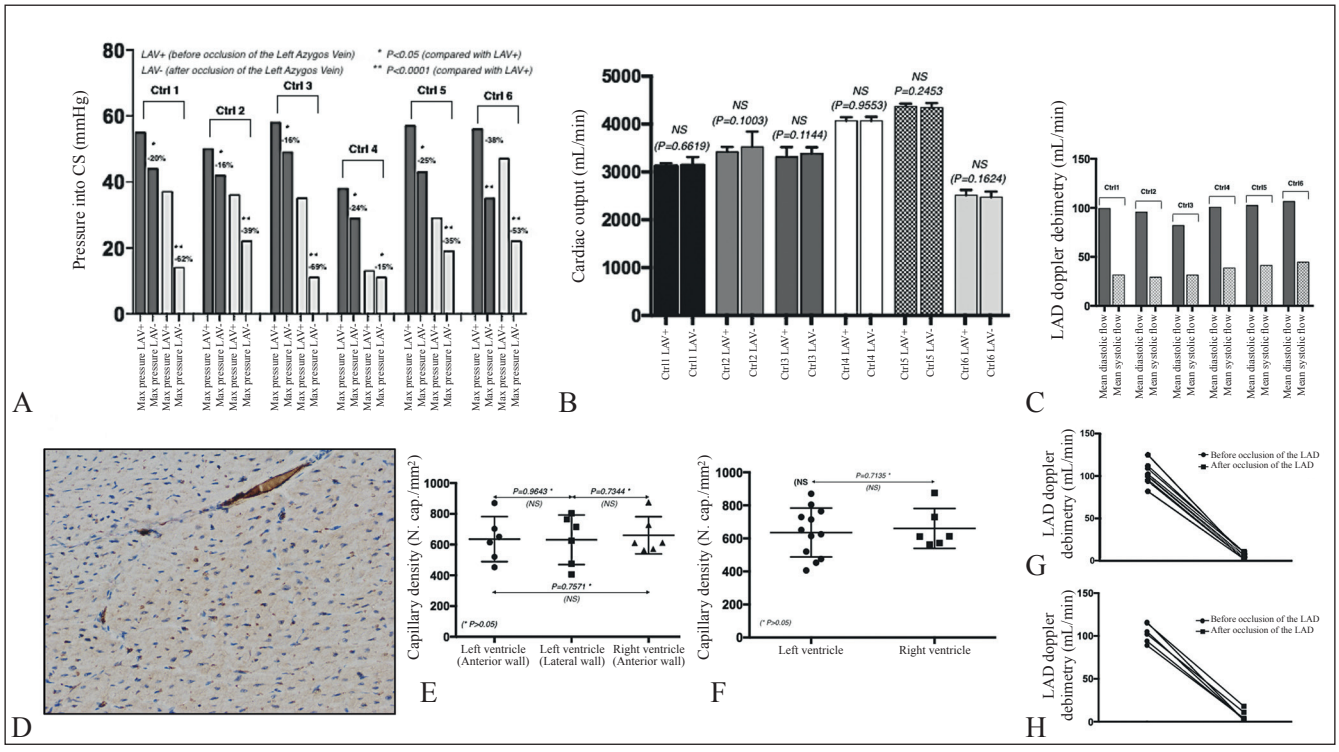


Figure 3.—A) Variations of pressure in the CS before (LAV+) and after occlusion of the LAV (LAV-); B) stability of CO before (LAV+) and after occlusion of the LAV (LAV-); C) Results of Doppler debimetry measured in the LAD; D) control group: Immunostaining of patent capillary vessels (brown) with anti-Factor VIII antibodies. (Original magnification x20); E, F) control group: evaluations of ventricular capillary density; G) documentation of LAD occlusion with the tourniquet in the control group; H) documentation of LAD occlusion with the tourniquet in the SMR group.

illary density in LV and RV was 636 cap/mm² and 660 cap/mm², respectively (P=0.7135) (Figure 3E, F).

SMR group

Six pigs underwent a complete SMR procedure. CO, LVEF, SV, Pmax in-LV, DD, and HR were monitored for at least 240 minutes. Since the baseline arterial systemic pressure ranged between 80 and 90 mmHg (mean: 86 mmHg), improving hemodynamic was necessary. Therefore, prior to occluding the LAD, the preconditioning phase (P3) took between 10 and 35 minutes to produce inotropic effects and increase the arterial systemic pressure.

Assessment of coronary artery occlusion

Following P3, a tourniquet was snared around the LAD and the occlusion was confirmed by Doppler debimetry (Figure 3H).

Hemodynamic parameters

Hemodynamic data were recorded and analyzed during the periods P1, P2, P3, and P4. The mean duration of the procedures with SMR was 27 minutes (SD: 10.69) for P3, 235 minutes (SD: 15.01) for P4 and 282 minutes (SD: 14.023) for the overall procedure. The Figure 4 and Table I illustrate the patterns and variations of CO according to the 4 periods. Despite individual variations, CO and cardiac parameters validated common patterns. As previously observed in the Control group, all procedures confirmed a trend of decrease in CO after sternotomy and pericardiotomy (P1→P2). Then, the preconditioning phase (P3) took between 10 and 35 minutes to produce the inotropic effects characterized by significant improvement in CO (mean: 40.33%; SD: 19.94), SV, and Pmax in-LV (Figure 4), and variable chronotropic responses (Figure 5A). In all procedures, occlusion of the LAD with active SMR (P4) impaired, both, CO and cardiac performance, but ultimately preserved a level of retroperfusion pressure sufficient to initiate hemodynamic compensation and preserve cardiac contractility without any irreversible consequences that might have compromised the procedures. However, compared with P2, CO in the early phase of P4 significantly decreased in 3 cases, whereas in 3 others, it remained comparable to baseline values. The hemodynamic compensation observed in P4 after an average latency period of 21±9

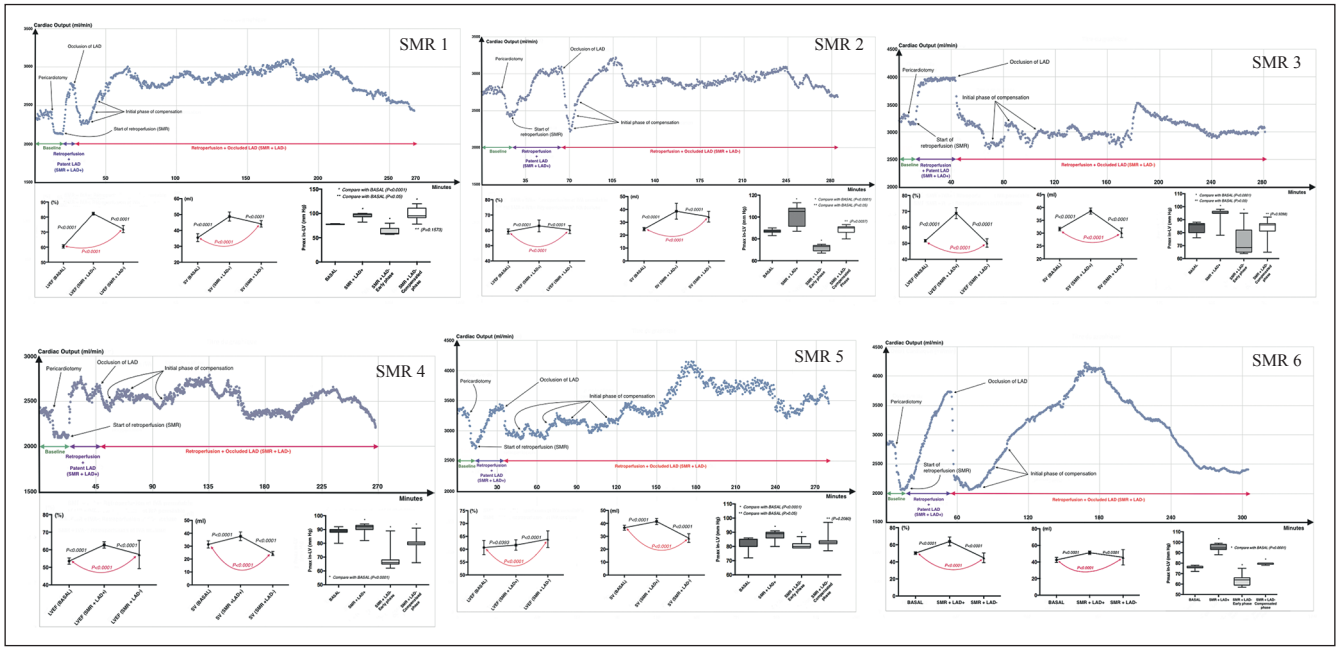


Figure 4.—Variations of CO and cardiac parameters according to periods, Basal, SMR with patent LAD (SMR + LAD+), SMR with occluded LAD (SMR + LAD-).

TABLE I.—*Mean values of cardiac output (CO) in the SMR group.*

	SMR 1	SMR 2	SMR 3	SMR 4	SMR 5	SMR 6
P1 Mean CO (L/min)	2.40	2.81	3.20	2.43	3.42	2.8
P2 Mean CO (L/min)	2.15* (-10.4%) P<0.05	2.38* (-15.3%) P<0.0001	3.07* (-4.0%) NS	2.10* (-13.6%) NS	2.47* (-27.8%) P<0.0001	2.05* (-26.8%) P<0.0001
P3 Mean CO (L/min)	2.82** (+31.2%) P<0.0001	3.14** (+32.0%) P<0.0001	4.0** (+30.3%) P<0.0001	2.72** (+29.5%) P<0.0001	3.42** (+38.5%) P<0.0001	3.70** (+80.50%) P<0.0001
P4 Early phase Mean CO (L/min)	2.25** (+4.65%) NS	2.16** (-9.25%) P<0.05	2.56** (-16.6%) P<0.0001	2.40** (+14.28%) P<0.0001	2.58** (+4.45%) NS	2.03** (-1%) NS
P4 Compensated phase Mean CO (L/min)	2.89** (+34.2%) P<0.0001	2.92** (+22.69%) P<0.0001	3.23** (+5.31%) NS	2.61** (+24.29%) P<0.0001	3.60** (+45.75%) P<0.0001	3.20** (+56.09%) P<0.0001

*Compared with mean Basal Pre sternotomy values; **compared with mean Basal Post sternotomy and pericardiotomy values.

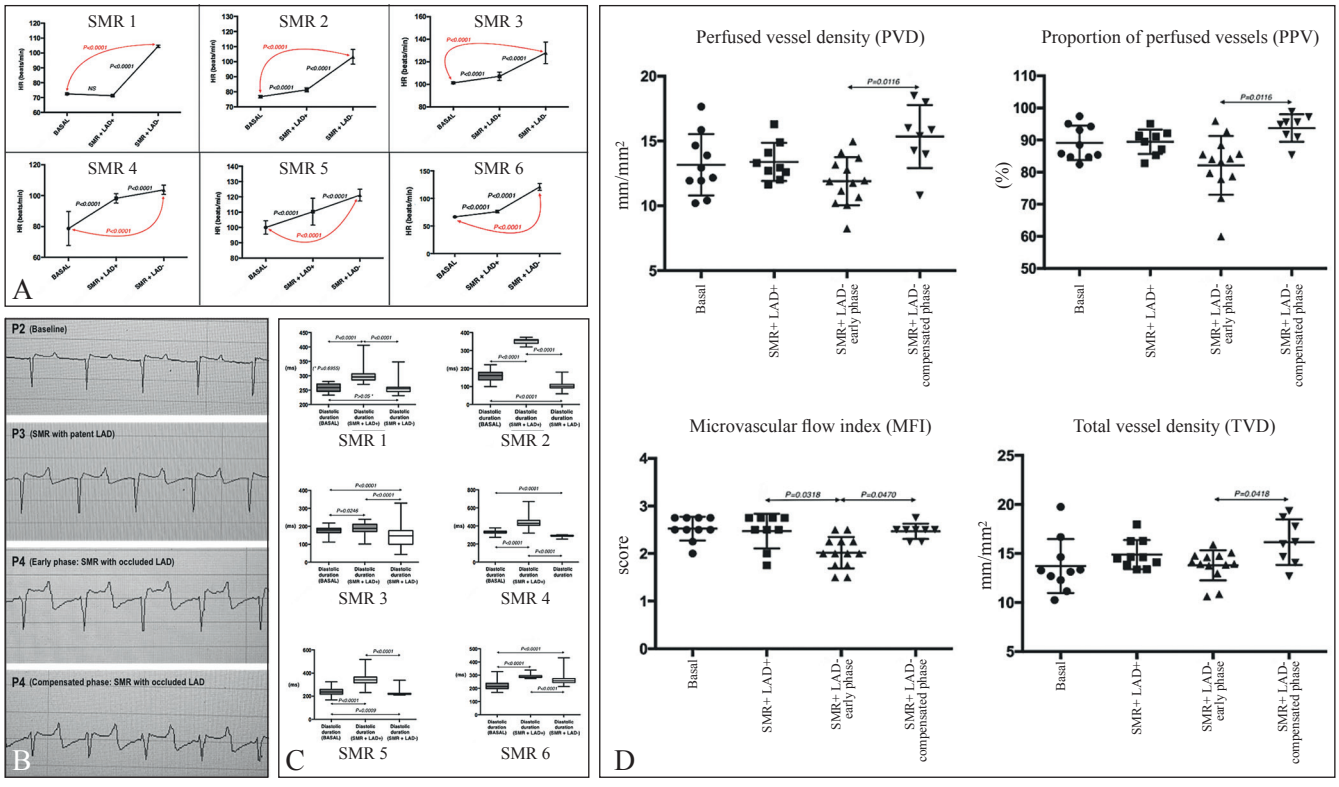


Figure 5.—A) Illustration of individual polymorphism of chronotropic responses; B) typical ECG patterns recorded (ex: SMR 3). P3 shows comparable patterns with the baseline period P2.; P4 (early phase: +11 minutes after LAD occlusion + SMR) shows ST segment elevation; P4 (compensated phase: +38 minutes after LAD occlusion + SMR) shows a regression of ST segment elevation; C) patterns of diastolic durations (DD). P3: antegrade and retrograde perfusion increase DD simultaneously with positive inotropism; P4: single SMR with occluded LAD restores DD comparable to these of basal period (P2). D) Characteristics of sublingual perfusion. P3 tended to moderately improve sublingual perfusion (NS). P4 (early phase) jeopardized markers of sublingual perfusion; P4 (compensated phase) restored nominal sublingual perfusion comparable to the baseline period.

minutes, significantly increased (P<0.0001) and reached a steady-state level before slowly decreasing to baseline values after an average time of 265±35 minutes.

ECG patterns

In all procedures, we observed no differences between baseline ECG and ECG during P3. Throughout the early and compensated phases of P4, neither Pardee T wave nor ventricular arrhythmia was noted (Figure 5B). In order to investigate the electrophysiological adaptive mechanisms involved in variations of CO and SV, we investigated variations in DDs. P3 showed simultaneous improvement of CO and SV with immediate increase in diastolic duration whereas impairment of CO and SV noted in the early phase of P4 was associated with a rapid reduction in diastolic duration compensated by moderate tachycardia (Figure 5C).

Sublingual microcirculation

P3 demonstrated moderate improvement in sublingual perfusion compared with P2. Additionally, impairment of CO and SV, observed in the early phase of P4, was comparable to microcirculatory parameters of P2. Furthermore, the compensated phase of P4 showed improved sublingual microcirculation compared with the early phase, that confirmed the capacity of SMR to preserve myocardial performance and maintain systemic peripheral perfusion (Figure 5D).

Troponin cutoff levels

None of the blood samples showed positive results, denoting levels of troponin I <1.5 ng/mL.

Histology

All hearts revealed moderate superficial hemorrhagic infiltration limited to the epicardium downstream from the occluded LAD with no transmural edema (Figure 6A). Despite the presence of a moderate vascular congestion and erythrocyte extravasation, signs of neither ischemia nor infarct were observed within the anterior wall of the LV (Figure 6B1, B2). Neither specific venous damage nor thrombi was observed. The capillary

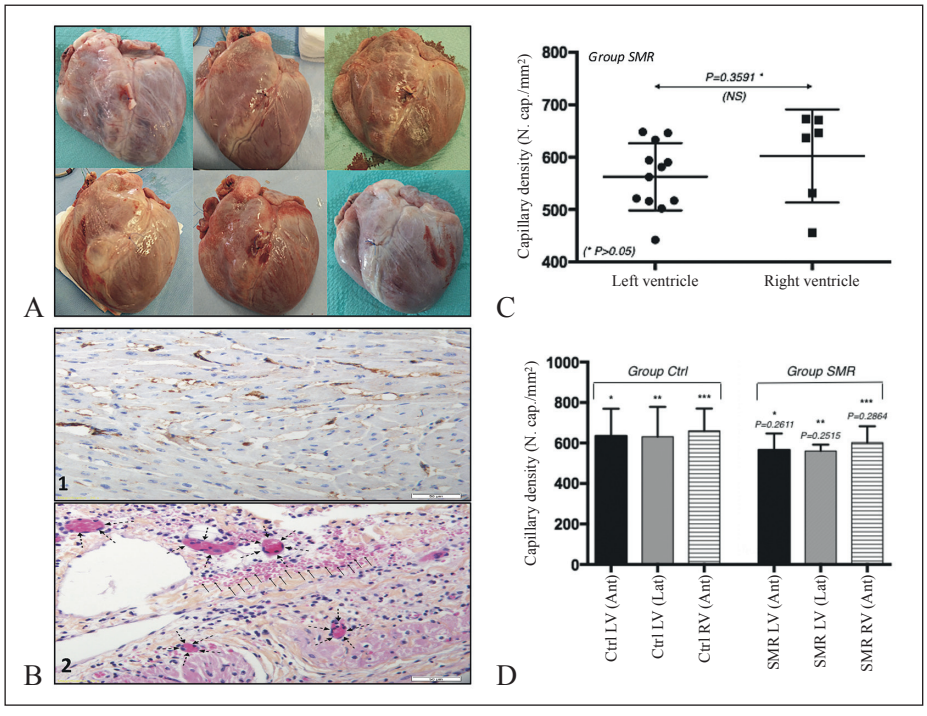


Figure 6.—A) Macroscopic view of the hearts of the SMR group, showing moderate superficial hemorrhagic epicardial infiltration; B) histologic examinations of a sample from the SMR group. 1: Immunostaining of patent capillary vessels (brown) with anti-Factor VIII antibodies. (Original magnification x20). 2: Typical Hematoxylin-Eosin stained section of the superficial myocardial layer displaying vascular congestion (black dotted arrows) and erythrocyte extravasation (black thin arrows). (Original magnification x20). C) SMR group: Evaluations of ventricular capillary density; D) ventricular capillary density: Group Ctrl *vs.* Group SMR.

density of the anterior wall of the LV showed a moderate tendency to decrease (Figure 6C) compared with the control group (-12%). Nevertheless, this trend was not statistically significant (P=0.2611). The modification of the capillary density also involved a limited area of the right ventricle adjacent to the LAD (Figure 6D).

Discussion

Acute occlusion of a coronary artery produces severe ischemia and may lead to myocardial infarction with deterioration of cardiac contractility and increased mortality rate. Such a challenging situation is usually managed by cardiologists. However, sometimes surgeons have to face complex coronary cases with surgery being the only option. Coronary surgery performed with cardioplegia in patients presenting with severe myocardial ischemia or acute myocardial infarction is characterized by operative complications mainly due to ischemia-reperfusion injuries. In contrast, myocardial revascularization performed in a beating heart reduces the incidence of ischemia-reperfusion injuries. This advantage is crucial in patients who present with severely impaired LVEF. For multiple reasons, few high-risk patients with coronary diseases are not eligible for CPB, and an off-pump coronary artery bypass (OPCAB) approach may be the unique solution. Additionally, cardiogenic shock resulting from acute occlusion of a coronary vessel is usually treated by extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) in order to restore hemodynamic balance and provide the cardiologist with enough time to reopen the vessel. Nevertheless, though ECMO restores hemodynamic balance, it does not specifically contribute to preserving the myocardial integrity.

In order to facilitate the management of such difficult cases, we developed an experimental model of SMR dedicated to preserving myocardial oxygenation. Since no animal can completely reproduce the human cardiac physiology, the choice of a relevant model was crucial for our protocol. Significant differences exist between species with regards to cardiovascular characteristics. Therefore, in order to approximate the human cardiac system, large animal models are often required. Traditionally, large animal studies have involved dogs and pigs. However, due to financial and social pressures, the pig remains a more favored animal. Additionally, the porcine model has gained popularity owing to the greater similarity in coronary anatomy and cardiac physiology with humans.

The selection of a suitable model does not depend on anatomic similarities alone. Indeed, coronary artery systems of dogs and pigs are similar to human coronary arteries,[6] but their respective early responses to ischemia are significantly different because of contrasting characteristics of collateral circulation as reported by Schaper.[24, 25] Despite individual variations, dogs have a well-developed coronary collateral circulation, whereas collateralization in pigs, baboons, and young humans remains quite poor.[24-27] Finally, the domestic pig still is the most relevant *in vivo* model to study myocardial ischemia in humans. The age and the weight of pigs have to be accurate to mimic human cardiac features. First, the age of domestic pigs usually ranges from 3 to 6 months, which is enough time for the maturation of the central nervous system regulation of cardiovascular function.[28, 29] Second, as reported in previous studies,[6, 12] the relationship between weight of the heart and body weight is crucial in simulating the human morphology. In humans, the ratio of weight of the heart to the weight of the body ranges from 0.45 to 0.50. For pigs weighing less than 50 kg, the ratio is similar to the human range, whereas for pigs exceeding 50 kg, the ratio dramatically decreases and reaches 0.25 over 100 kg. Finally, domestic pigs weighing less than 50 kg provide the best approximate human heart.

Developing a model of SMR required a thorough knowledge of cardiac anatomy in pigs. We previously described [6] a different positioning of the heart, characterized by an anti-clockwise rotation associated with an anterior lift-off. This specific cardiac orientation limits access to the ascending aorta, mandatory to set up the SMR. Additionally, our model necessitated accurate knowledge of, both, coronary arteries and veins. If arterial coronary network of swine heart is well known and quite similar to that of humans despite few minor differences,[6] in contrast, the importance of the coronary venous return has been poorly understood and probably underestimated. In human cardiac surgery, the venous coronary network remains limited to being a route to deliver, through the CS, a cardioplegic solution to arrest and protect the heart. The concept of SMR required a good knowledge of the coronary venous system to be safely used as a "reverse arterial" route. Therefore, due

to lack of information,[12] we meticulously studied this system [6] and reported a major difference with human hearts since pigs have an LAV directly draining into the CS. The diameter of the LAV is important compared with that of the adjacent venous structures such as CS and inferior vena cava, resulting in larger dimensions of the CS when compared with human anatomy. Therefore, native pressure in CS is likely to be influenced by the LAV.

It was essential to assess this pressure before and after ligation of the LAV in order to ensure an efficient retrograde perfusion. We previously reported [6] a baseline pressure of 50 mmHg with a maximal cut-off resisting pressure ranging from 120 to 150 mmHg. Finally, resistance of CS to pressure-induced strain is remarkable. As the venous return supplied by the LAV is a major component of the blood flow into the CS, in order to complete the "anatomic humanization" of the swine heart and achieve selective retrograde perfusion via the great cardiac vein, occlusion of the LAV was mandatory.[6] Additionally, it was necessary to ensure that the occlusion of the LAV did not influence CO and cardiac parameters.

The choice of a reliable method for continuous monitoring of hemodynamic and cardiac parameters, was a major challenge since our experimentations were not conducted in closed-chests. Indeed, due to specific interactions between pleural and pericardial cavities, we observed a significant influence of sternotomy and pericardiotomy on the echographic evaluation of both the LVEF and regional contractility. Since transesophageal echography was not available, and despite multiple attempts with a senior cardiologist, it was not possible to consider transthoracic echography as a reliable methodology for acquisition of continuous and homogenous data about cardiac contractility and performances. In contrast, the conductance catheter (Millar®) was not influenced by surgical access and showed a remarkable reliability and stability for a continuous monitoring of hemodynamic and cardiac parameters. As initially hypothesized, the Millar® methodology confirmed that sternotomy and pericardiotomy impaired CO. The conductance catheter allowed a simultaneous recording of CO, SV, Pmax in-LV, HR, and DD, which were considered to be relevant markers of hemodynamic and cardiac performances.

The concept of SMR originated from several experiences with beating-heart valve surgery performed under CPB on a cross-clamped and vented beating heart, mimicking an isolated and non-working perfused heart model.[9-11] Although major improvements have been made to improve myocardial protection, cardioplegia inevitably produces some degree of reperfusion injury with obvious adverse effects in patients presenting with severely impaired LVEF and ischemia.[30] Various methods have been reported to reduce the severity of ischemia-reperfusion injury but none has been demonstrated to be superior to regular blood supply itself.[31] In fact, this beating-heart approach is not new, since Lillehei [32] in 1956 reported a case of valvular surgery using venous retrograde perfusion with oxygenated blood. For a few decades, this technique remained quiescent because of advances in cardioplegia. However, a better knowledge of mechanisms of ischemia-reperfusion injury and correlations with cardioplegic arrest emphasized the importance of keeping the heart pumping while performing valvular surgery under CPB. Finally, this approach showed definitive properties of achieving myocardial perfusion with early recovery in patients with severely impaired LVEF and an obvious capacity for the venous retrograde route to achieve reliable myocardial oxygenation.[9-11]

Then, on the basis of these previous reports, considering coronary artery dominance,[33-35] arterial collaterality, and coronary venous anatomy,[6, 12] we postulated that the heart might supply its own oxygenation via a selective retrograde perfusion of the great cardiac vein with oxygenated blood from the ascending aorta and then offset any myocardial damages resulting from acute occlusion of the LAD. We called this technique, the SMR. Due to cardiac characteristics in pigs, the development of the model of SMR required a rigorous surgical learning curve to safely access the ascending aorta and achieve a selective retrograde perfusion of the great cardiac vein. The capacity of SMR to produce inotropic effects with a combination of simultaneous antegrade and retrograde perfusion, was previously reported by us in a preliminary experience with OPCAB surgery.[17] However, limited data were available and the methodology of monitoring was different since we had used a Swan-Ganz catheter. Additionally, a previous study [8] highlighted improved cardiac protection with a combination of antegrade and retrograde perfusion that enhanced the distribution of cardioplegia.

Inotropic properties of SMR were supported by electrophysiological adaptations that showed a rapid increase in DDs to improve cardiac filling. We do not exclude that these adaptations are likely to depend on paracrine regulations triggered by changes in tissue oxygenation and patterns of perfusion. Positive inotropism reported in P3 was a crucial advantage of our "drugless model," since acute occlusion of the LAD rapidly jeopardized the hemodynamic balance that was previously worsened by sternotomy and propofol.[36, 37] Following LAD occlusion, the hemodynamic compensation observed in P4 required a latency delay before reaching a nominal threshold, therefore highlighting the importance of preliminarily induced inotropic effects to preserve a minimal efficient pressure and an adequate flow in the line of retroperfusion throughout the early phase. This point was reinforced by three preliminary experimental observations showing that, for an arterial systemic pressure of 90 mmHg, the flow into the retroperfusion line ranged between 392 mL/min and 470 mL/min.[6] These values were similar to the values recommended in beating heart valve surgery.[9-11]

Finally, SMR demonstrated a capacity to provide myocardial oxygenation of the anterior aspect of a beating LV after occlusion of the LAD for at least 240 minutes, keep the heart in good shape without any ventricular arrhythmia, and achieve a baseline peripheral tissue perfusion, which was supported by integrity of the sublingual microcirculatory parameters known to be influenced by hypoxia and hypoperfusion.[38] In contrast, in the control group, the acute occlusion of the LAD rapidly triggered premature ventricular complexes followed by refractory VF and lethal cardiogenic shock despite multiple attempts of defibrillation with electric shocks.

Our experimental study validated preliminary clinical experiences conducted with either pressure-controlled intermittent coronary sinus occlusion [39-41] or synchronized coronary sinus retroperfusion with arterial blood performed during the diastolic phase and simultaneously with percutaneous transluminal coronary angioplasty that showed a reduction of ischemia during coronary balloon inflation in patients undergoing angioplasty with critical left main stenosis or obstruction.[42, 43]

On the same way, Guo [44] had suggested protective effects against ischemia-reperfusion injuries in pigs while coronary sinus retroperfusion was conducted solely during the reperfusion phase after lifting the LAD occlusion. Nevertheless, whatever the study previously cited, the protocol reported was dramatically different from ours since, in all situations, the occlusion of the LAD was either much more distal,[39, 44] limited to the second and third diagonal branches [40] or even reduced the luminal diameter of the LAD to 80%.[41] None of these reports involved a proximal occlusion of the LAD for at least 240 minutes like it was in our protocol. Additionally, the sinus retroperfusion was started after lifting the LAD occlusion and therefore during the period of reperfusion. This means that these previous reports [39-41, 44] actually targeted the phase of ischemia-reperfusion injuries and despite few similarities with our model, Guo's report [44] did not intend to entirely supply perfusion and oxygenation of the LV while the LAD remained occluded for a delay allowing to produce myocardial damages such as infarction. This latter point represents a major difference with our experimental study.

As reported, the distal occlusion of the LAD,[39, 44] the reduction of its luminal diameter,[41] or the occlusion of diagonal branches [40] followed by an antegrade reperfusion, was mandatory to avoid premature death of animals since coronary collaterality in swine is poor and therefore hemodynamic tolerance to acute and severe myocardial ischemia is extremely low. Despite interesting and encouraging results, the effects of retroperfusion as well as different locations of LAD occlusion introduce methodological bias that may interfere with the reliability of the results. Incidentally, one may assume that benefits of retroperfusion reported in these reports were partly supported by the antegrade reperfusion of the LAD and mainly contributed to reduce ischemia-reperfusion injuries.

Finally, as reported by Lazar,[45] the main application of pressure-controlled intermittent coronary sinus occlusion is to improve the quality of an antegrade cardioplegia. However, this concept is not easy for a safe use in human surgery mainly because of hazards of coronary sinus injuries and remains limited to animal experimentations. Additionally, main advantages of this approach might be considered for a very narrow cohort of patients in whom the coronary network is so worsened that even an antegrade cardioplegia could not adequately perfuse the heart and therefore provide a poor myocardial protection. Even for these challenging patients, surgeons still have the option to use the retrograde cardioplegia.

Even though our model of SMR showed properties of compensating for the adverse effects of LAD occlusion, this compensation may not be considered similar to antegrade perfusion since SMR is not a physiological route to deliver oxygenated blood. Efficacy of the compensation observed with our drugless model was subject to a minimal retrograde pressure, originating from the ascending aorta, of 55 mmHg. We assume that increasing CO and arterial systemic blood pressure with inotropic agents might easily improve the performance of SMR.

The principle of SMR is based on the creation of a left ventricular myocardial perfusion with a reverse oxygenated blood circulation from the venous system towards the arterial vessels. Then, we speculated that SMR might possibly influence the density of patent capillaries. Therefore, the comparative assessment of capillary density between baseline conditions and SMR was a major step to investigate the adaptive mechanisms. Since, in baseline conditions, about 60 to 80% of myocardial capillary vessels are functional while this percentage significantly increases in case of tissue hypoxia,[46] our preference was given to a functional evaluation.

Adaptive mechanisms of microvasculature depend on the properties of resistance arteries to alter their diameters in order to regulate and protect the distal capillary perfusion [47-50] and recruit latent capillaries. Our evaluation of capillary density obviously underestimated the reality of the capillary network since only patent and functional capillaries were immunostained. Additionally, the baseline values of capillary density were not influenced by ventricular topography.

Owing to controversies with retrograde cardioplegia, we hypothesized that SMR, did not faithfully mimic the antegrade perfusion regarding the characteristics of myocardial microcirculation. This hypothesis considered that SMR supplies, like saphenous aorto-coronary bypass, a predominant systolic flow, whereas the physiological antegrade perfusion is predominant during the diastole. This distinction is crucial since, in systole, subendocardial layers are underperfused with increased blood flow resistance in the capillary vessels. This issue was partly confirmed by the comparative evaluation of capillary density which showed a moderately decreased left ventricular capillary density in the SMR group compared with the Control group, nevertheless with a preservation of the native capillary architecture.

Finally, it is remarkable to note that SMR, despite a systolic predominant flow, was able to preserve myocardial tissue integrity and cardiac performances as experimentally suggested in a canine model.[51] Additionally, histologic findings supported moderate imperfections of SMR and showed erythrocyte extravasation and vascular congestion due to prolonged retroperfusion. It is quite likely that an experimental model of chronic SMR may initiate venous modifications that will be further investigated in a forthcoming study.

Conclusions

Ultimately, this experimental study initiates discussions for potential clinical applications of SMR. Induction of positive inotropism has become a reality in OPCAB surgery since we regularly use SMR to preserve and improve hemodynamic balance in patients presenting with severe myocardial ischemia, impaired LVEF, and low CO.[17] Our OPCAB experience with SMR dramatically reduced the necessity to use an intraaortic balloon pump (IABP) in such challenging situations.

Additionally, following informed consent of patients and ethical clearance, in order to reduce the severity of ischemia-reperfusion injuries due to cardioplegic arrest, we successfully combined SMR with CPB to perform beating-heart surgical revascularization in five patients with low LVEF (<30%) presenting with acute myocardial infarction and not eligible for percutaneous angioplasty. Experimental studies, to investigate the benefits and indications of combined SMR with ECMO, in ischemic cardiogenic shock, might be of interest. Based on results of this study and following the report published by Hata,[52] such a combination is likely to promote synergistic effects; ECMO will restore hemodynamic balance while SMR will improve myocardial perfusion and reduce ischemia. Nevertheless, still there is no consensus on the adequate arterial flow to provide into the coronary sinus. For our porcine model, we postulate an average flow of 200 mL/min whereas Hata reported a flow of 60 to 70 mL/min.[52] Additionally, inotropic effects of SMR might delay the incidence of pulmonary edema due to the retrograde arterial inflow from peripheral ECMO and therefore avoid to switch to an anterograde arterial perfusion.

Although the retrograde venous coronary perfusion may not be considered as a new concept,[42-44, 52, 53] this

study reports a novel surgical experimental concept of SMR developed to demonstrate, despite an acute and prolonged occlusion of the proximal LAD, the capacity of the heart to supply entirely the perfusion of the anterior wall of the LV and preserve the integrity and the contractility of the myocardium via a selective retrograde perfusion of the great cardiac vein. Furthermore, SMR showed interesting inotropic effects when performed with a patent LAD, opening interesting perspectives to investigate clinical applications supported by new experimental protocols.

References

1. Lee JH, Jeong DS, Sung K, Kim WS, Lee YT, Park PW. Clinical results of different myocardial protection techniques in aortic stenosis. Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2015;48:164-73.
2. Jasinski M, Kadzioła Z, Bachowski R, Domaradzki W, Wenzel-Jasinska I, Piekarski M, *et al.* Comparison of retrograde *versus* antegrade cold blood cardioplegia: randomized trial in elective coronary artery bypass patients. Eur J Cardiothorac Surg 1997;12:620-6.
3. Menasché P, Piwnica A. Cardioplegia by way of the coronary sinus for valvular and coronary surgery. J Am Coll Cardiol 1991;18:628-36.
4. Shiki K, Masuda M, Yonenaga K, Asou T, Tokunaga K. Myocardial distribution of retrograde flow through the coronary sinus of the excised normal canine heart. Ann Thorac Surg 1986; 41:265-71.
5. Ye J, Sun J, Hoffenberg EF, Shen J, Yang L, Summers R, *et al.* Does retrograde warm blood cardioplegic perfusion provide better protection of ischemic areas than antegrade warm blood cardioplegic perfusion? A magnetic resonance study in pig hearts. J Thorac Cardiovasc Surg 1999;117:994-1003.
6. Grandmougin D, Casse JM, Chalon A, Mourer B, Danli M, Groubatch-Joineau F, *et al.* Anatomie du cœur porcin. Similitudes et différences principales avec le cœur humain et conséquences potentielles en chirurgie cardiaque expérimentale porcine. Journal de Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire 2016;20:1-18.
7. Allen BS, Winkelmann JW, Hanafy H, Hartz RS, Bolling KS, Ham J, *et al.* Retrograde cardioplegia does not adequately perfuse the right ventricle. J Thorac Cardiovasc Surg 1995;109:1116-24.
8. Radmehr H, Soleimani A, Tatari H, Salehi M. Does combined antegrade-retrograde cardioplegia have any superiority over antegrade cardioplegia? Heart, Lung and Circ 2008;17:475-7.
9. Macedo FI, Rodriguez Y, Salerno TA. Myocardial preservation: beating heart techniques. Semin Thorac Cardiovasc Surg 2011;23:314-7.
10. Grandmougin D, Delolme MC, Derouck D, Yammine N, Minetti C, Rahmati M, *et al.* (2007). Surgical options for beating-heart aortic valve replacement in patients with patent coronary artery bypass. J Heart Valve Dis 2007;16:235-9.
11. Derouck, D, Grandmougin D, Delolme MC. Superior biatrial septotomy and beating heart approach for aortic and mitral valve replacement in a patient with refractory cardiac failure. Acta Chir Belg 2007;107:472-5.
12. Crick SJ, Sheppard MN, Ho SY, Gebstein L, Anderson RH. Anatomy of the pig heart: comparisons with normal human cardiac structure. J Anat 1998;193:105-19.
13. Pacher P, Nagayama T, Mukhopadhyay P, Bátkai S, Kass DA. Measurement of cardiac function using pressure-volume conductance catheter technique in mice and rats. Nat Protoc 2008;3:1422-34.
14. Wei AE, Maslov, MY, Pezone MJ, Edelman ER, Lovich MA. Use of pressure-volume conductance catheters in real-time cardiovascular experimentation. Heart Lung Circ 2014;23:1059-69.
15. Applegate RJ, Cheng CP, Little WC. Simultaneous conductance catheter and dimension assessment of left ventricle volume in the intact animal. Circulation 1990;81:638-48.
16. Szwarc RS, Mickleborough LL, Mizuno SI, Wilson GJ, Liu P, Mohamed S. Conductance catheter measurements of left ventricular volume in the intact dog: parallel conductance is independent of left ventricular size. Cardiovasc Res 1994;28:252-8.
17. Grandmougin D, Vanhuyse F, Fiore A, Delolme MC, Liu Y, Laurent N, *et al.* Effects of the self-myocardial retroperfusion with aortic-coronary sinus shunt on cardiac output and ischemic events in high-risk patients undergoing OPCAB surgery. J Cardiovasc Surg 2015;56:929-37.
18. Marcus ML, Chilien WM, Kanattsuka H, Dellsperger KC, Eastham CL, Lamping KG. Understanding the coronary circulation through studies at the microvascular level. Circulation 1990;82:1-7.
19. Maxwell MP, Hearse DJ, Yellon DM. Species variations in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. Cardiovasc Res 1987;21:737-46.
20. Suzuki Y, Yeung AC, Ikeno F. The representative porcine model for human cardiovascular disease. J Biomed Biotechnol 2011;2011:1-10.
21. Guensch D. Myocardial blood flow reflects myocardial oxygenation in healthy swine. J Cardiothorac Vasc Anesth 2015;29:S36.
22. Kanonchoff AD, Filusch E, Shook D, Bartels RL, Fox EL, HamLin RL. Changes in myocardial nuclear and capillary densities in endurance-exercised, thyroxin-stimulated, and sedentary swine. Medecine and Science in Sports and Exercise 1983;15:164.
23. Rakusan K, Batra S, Veprek P, Turek Z. Capillary density, distribution, and length parameters related to oxygen supply in myocardial hypertrophy and atrophy. Idiopathic Dilated Cardiomyopathy 1993;155-64.
24. Schaper J, Weihrauch D. Collateral vessel development in the porcine and canine heart. Collateral Circulation 1992;65-102.
25. Schaper W, Jageneau A, Xhonneux R. The development of collateral circulation in the pig and dog heart. Cardiology 1967;51:321-35.
26. White FC, Bloor CM. Coronary collateral circulation in the pig: correlation of collateral flow with coronary bed size. Basic Res Cardiol 1981;76:189-96.
27. Seiler C. Assessment of the human coronary collateral circulation. Collateral Circulation of the Heart 2009;71-163.
28. Buckley NM, Gootman PM, Yellin EL, Brazeau P. Age-related cardiovascular effects of catecholamines in anesthetized piglets. Circ Res 1979;45:282-92.
29. Duncker DJ, Stubenitsky R, Verdouw PD. Autonomic control of vasomotion in the porcine coronary circulation during treadmill exercise: evidence for feed-forward -adrenergic control. Circulation Research 1998;82:1312-22.
30. Weman SM, Karhunen PJ, Penttilä A, Järvinen AA, Salminen US. Reperfusion injury associated with one-fourth of deaths after coronary artery bypass grafting. Ann Thorac Surg 2000;70:807-12.
31. Buckberg GD. Oxygenated cardioplegia: blood is a many splendored thing. Ann Thorac Surg 1990;50:175-7.
32. Lillehei CW, DeWall RA, Gott VL, Varco RL. The direct vision correction of calcific aortic stenosis by means of a pump-oxygenator and retrograde coronary sinus perfusion. Dis Chest 1956;30:123-32.
33. Waziri H, Jorgensen E, Kelbaek H, Fosbol EL, Pedersen F, Mogensen UM, *et al.* Acute myocardial infarction and lesion location in the left circumflex artery: importance of coronary dominance. EuroIntervention 2016;12:441-8.
34. Abu-Assi E, Castineira-Busto M, Gonzalez-Salvado V, Raposeiras-Roubin S, Riziq-Yousef Abumuaileq R, Pena-Gil C, *et al.* Coronary Artery Dominance and Long-Term Prognosis in Patients with ST-segment Elevation Myocardial Infarction Treated with Primary Angioplasty. Rev Esp Cardiol 2016;69:19-27.
35. Omerbasic E, Hasanovic A, Omerbasic A, Pandur S. Pronostic value of anatomical dominance of coronary circulation in patients with surgical myocardial revascularization. Med Arch 2015;69:6-9.
36. Coetzee A, Fourie P, Coetzee J, Badenhorst E, Rebel A, Bolliger C, *et al.* Effect of various propofol plasma concentrations on regional

myocardial contractility and left ventricular afterload. Anesth Analg 1989;69:473-83.
37. Kurita T, Uraoka M, Jiang Q, Suzuki M, Morishima Y, Morita K, *et al.* Influence of cardiac output on the pseudo-steady state remifentanil and propofol concentrations in swine. Acta Anaestesiol Scand 2013;57:754-60.
38. Martin DS, Goedhart P, Vercueil A, Ince C, Levett DZ, Grocott MP. Caudwell Xtreme Everest research Group. Changes in sublingual microcirculatory flow index and vessel density on ascent to altitude. Exp Physiol 2010;95:880-91.
39. Mohl W, Glogar DH, Mayr H, Losert U, Sochor H, Pachinger O, *et al.* Reduction of infarct size by pressure-controlled intermittent coronary sinus occlusion. Am J Cardiol 1984;53:923-8.
40. Lazar HL, Rajaii A, Roberts AJ. Reversal of reperfusion injury after ischemic arrest with pressure-controlled intermittent coronary sinus occlusion. J Thorac Cardiovasc Surg 1988;95:637-42.
41. Fedele FA, Capone RJ, Most AS, Gewirtz H. Effect of pressure-controlled intermittent coronary sinus occlusion on pacing-induced myocardial ischemia in domestic swine. Circulation 1988;77:1403-13.
42. Incorvati RL, Tauberg SG, Pecora MJ, Macherey RS, Krucoff MW, Diazumba SB, *et al.* Clinical applications of coronary sinus retroperfusion during high risk percutaneous transluminal coronary angioplasty. J Am Coll Cardiol 1993;22:127-34.
43. Nanto S, Nishida K, Hirayama A, Mishima M, Komamura K, Masai M, *et al.* Supported angioplasty with synchronized retroperfusion in high-risk patients with left main trunk or near left main trunk obstruction. Am Heart J 1993;125:301-9.
44. Guo HM, Zhang JF, Wu RB, Zheng SY, Zhuang J. Aortic-coronary sinus shunt retroperfusion protects against acute myocardial ischemia in pigs during off-pump beating heart surgery. Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao 2005;25:457-61.
45. Lazar HL, Khoury T, Rivers S. Improved distribution of cardioplegia with pressure-controlled intermittent coronary sinus occlusion. Ann Thorac Surg 1988;46:202-7.
46. Duncker DJ, Bache RJ. Regulation of coronary blood flow during exercise. Physiol Rev 2008;88:1009-86.
47. Henrion D, Benessiano J, Lévy BI. *In vitro* modulation of a resistance artery diameter by the tissue renin-angiotensin system of a large donor artery. Circ Res 1997;80:189-95.
48. Matrougui K, Maclouf J, Lévy BI, Henrion D. Impaired nitric oxide and prostaglandin mediated responses to flow in resistance arteries of hypertensive rats. Hypertension 1997;30:942-47.
49. Iglarz M, Matrougui K, Lévy BI, Henrion D. Chronic blockade of endothelin ETA receptors improves flow dependent dilation in resistance arteries of hypertensive rats. Cardiovasc Res 1998;39:657-64.
50. Algranati D, Kassab GS, Lanir Y. Mechanisms of myocardium-coronary vessel interaction. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2010;298:H861-873.
51. Mitsugi M, Saito T, Saitoh S, Sato M, Maruyama Y. Effects of synchronized retroperfusion on the coronary arterial pressure-flow relationship. Cardiovasc Res 1996;32:335-43.
52. Hata M. Experimental application of synchronized coronary sinus retroperfusion (SCSR) and left heart bypass (LHB) for severe cardiogenic shock. Nihon Kyobu Geka Gakkai Zasshi 1995;43:1646-56.
53. Kassab GS, Navia JA, March K, Choy JS. Coronary venous retroperfusion: an old concept, a new approach. J Appl Physiol 2008;104:1266-72.

Conflicts of interest.—The authors certify that there is no conflict of interest with any financial organization regarding the material discussed in the manuscript.

Article first published online: January 9, 2018. - Manuscript accepted: January 8, 2018. - Manuscript revised: October 5, 2017. - Manuscript received: June 27, 2017.

RESUME

Introduction : L'arrêt cardiaque réfractaire est défini par l'absence du retour à l'activité circulatoire spontané (RACS) après 30 minutes de réanimation cardiopulmonaire médicalisé. L'ExtraCorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) représente une thérapie alternative urgente dans cette population. L'hémodynamique post la réanimation cardiopulmonaire extracorporel (E-CRP) est une entité complexe et la prise en charge dans les premières heures suivant l'implantation d'ECMO n'est pas bien décrite. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de deux stratégies de débit d'ECMO dans un modèle porcin d'arrêt cardiaque réfractaire sur les conséquences métaboliques, microcirculatoires et inflammatoires

Matériels et Méthodes : L'arrêt cardiaque a été induit par la ligature de l'artère intraventriculaire antérieure (IVA) chez 18 cochons. E-RCP a été initié après 40 minutes de *low-flow* avec un débit d'ECMO bas de 30-35 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ ou un débit d'ECMO standard de 65-70 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$, avec la même pression artérielle moyenne (PAM) de 65 mmHg. Les paramètres hémodynamiques et métaboliques ont été évalués par clairance de lactate et le débit sanguin carotidien. Les paramètres microcirculatoires ont été évalués par la microcirculation sublinguale avec imagerie de SDF et NIRS. Les cytokines inflammatoires ont été mesurées avec une plateforme d'ELISA multiplexe.

Résultats : Pas de différence entre les deux groupes à H basal et à l'initiation d'ECMO (H0). La clairance du lactate était plus faible dans le groupe débit bas comparé au groupe débit standard (6.67 [-10.43-18.78] *vs*. 47.41 [19.54, 70.69] %, *p=0.04*). Le débit carotidien était plus bas significativement (*p<0.005*) dans le groupe débit bas pendant les quatre dernières heures malgré le même niveau de pression artérielle moyenne. Pour les paramètres microcirculatoires, le flux microcirculatoire sublingual évalué par SDF a été moindre transitoirement à H3 et le StO_2 par NIRS était plus bas pendant tout le protocole dans le groupe débit bas. Le niveau de cytokine, l'IL-6 a augmenté significativement dans le groupe débit bas à la fin de l'expérimentation.

Conclusions : Une réanimation à objectif de débit d'ECMO bas 35 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ versus standard $70ml.kg^{-1}.min^{-1}$dans les six premières heures d'un ACR réfractaire n'est pas associée à une meilleure réversion des conséquences métaboliques, microcirculatoires et inflammatoires avec un objectif de PAM à 65 mmHg dans un modèle porcin.

Mots clefs : arrêt cardiaque, choc cardiogénique, ECMO, microcirculation, inflammation

ABSTRACT

Introduction: Refractory cardiac arrest is defined by the absence of the return of spontaneous circulation (ROCS) within 30 minutes of cardiopulmonary resuscitation (CRP) under medical supervision. ExtraCorporeal membrane oxygenation (ECMO) is an emerging alternative therapy in this population. The post extracorporeal cardiopulmonary resuscitation (ECPR) hemodynamic state is a complex entity and the critical care management in the first hours following ECMO implantation is not well defined. This study was designed to assess the effect of two veno-arterial Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) blood-flow strategies in an experimental model of ECPR (extracorporeal cardio-pulmonary resuscitation) on macrocirculatory, metabolic and microcirculatory parameters in the first six hours of ECMO initiation.

Material and methods: Cardiac arrest was induced in 18 pigs by surgical ligature of the left descending coronary artery. ECPR was initiated after 40 minutes of low-flow with an ECMO blood-flow of 30-35 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ (low-blood-flow group, LBF) or 65-70 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ (standard-blood-flow group, SBF), with the same mean arterial pressure target (65 mmHg). Macrocirculatory and metabolic parameters were assessed by lactate clearance and carotid blood-flow. Microcirculatory parameters were assessed by sublingual microcirculation with Sidestream Dark Field (SDF) imaging and peripheral Near-InfraRed Spectrometry (NIRS). Inflammatory cytokine levels were measured with a multiplexed ELISA-based array platform.

Results: There was no between-group difference at baseline and at ECMO initiation (H0). Lactate clearance at H6 was lower in LBF compared to SBF (6.67[-10.43-18.78] *vs*. 47.41[19.54, 70.69] %, *p=0.04*). Carotid blood flow was significantly lower (*p<0.005*) during the last four hours despite similar mean arterial pressure levels. For microcirculatory parameters, SDF parameters were transitorily lower at H3 and StO2 was significantly lower during the whole protocol in LBF. IL-6 cytokine level increased significantly in LBF at the end of the experiment.

Conclusion: In an experimental porcine model of refractory cardiac arrest treated by ECMO, a low-blood-flow strategy during the first six hours of resuscitation was associated with lower lactate clearance and lower cerebral blood-flow with no benefits on ischemia-reperfusion parameters.

Keywords: cardiac arrest, extracorporeal membrane oxygenation, cardiogenic shock, microcirculation, inflammation