

**Université Paris-Est Créteil
MASTER RECHERCHE BIOLOGIE – SANTE
Parcours Sciences Chirurgicales
ANNEE UNIVERSITAIRE 2020 - 2021
Mémoire de Recherche**

Décharge ventriculaire gauche avec la pompe Impella pendant l'ischémie myocardique et la reperfusion : extension du paradigme via un modèle animal de choc cardiogénique par infarctus du myocarde.

MOIROUX--SAHRAOUI Alexander

Laboratoire d'accueil : Laboratoire Expérimental de Soins Intensifs, Hôpital ERASME, Université Libre de Bruxelles (ULB), Belgique

Tuteurs du projet de recherche : Dr Guillaume LEBRETON, Dr Antoine HERPAIN

Avec le soutien de :



1. Introduction

1.1. Physiopathologie et traitement pharmacologique du choc cardiogénique

Malgré des progrès notables dans la prise en charge du syndrome coronaire aigu (SCA), notamment du point de vue des délais de reperfusion, le taux de mortalité reste stable ces dernières années [1-3], notamment en raison de la survenue d'un état de choc cardiogénique le compliquant (environ 10% des cas de SCA) [4, 5]. Le choc cardiogénique est défini comme une insuffisance circulatoire due à un débit cardiaque sévèrement réduit résultant lui-même d'un dysfonctionnement myocardique [6]. Sa forme la plus fréquente et la plus sévère est celle qui complique un infarctus aigu du myocarde avec une mortalité intra-hospitalière restant extrêmement élevée aux alentours de 40 à 60% [7, 8]. Cela témoigne du défi médical persistant quant à l'amélioration de la survie des patients par une meilleure prise en charge durant la phase aiguë initiale après la revascularisation précoce. Sa physiopathologie fait intervenir deux composantes : l'hypoperfusion tissulaire périphérique initiale avec un certain degré de vasoplégie secondaire d'origine inflammatoire, et une composante congestive sur la faillite de la pompe cardiaque et la réanimation liquidienne [9]. Les principes de sa prise en charge reposent alors sur deux objectifs : assurer une perfusion tissulaire satisfaisante et assurer une décharge efficace du ventricule gauche [10].

Les lésions myocardiques dans l'infarctus aigu du myocarde résultent de deux mécanismes physiopathologiques successifs. L'agression ischémique primaire entraîne une perte irréversible d'une partie importante du myocarde dans l'aire à risque d'ischémie. Après la revascularisation, les cellules survivantes dans l'aire à risque sont davantage endommagées par un processus secondaire appelé lésion de reperfusion, résultant du stress oxydatif et de l'inflammation [11]. Une composante importante de la lésion de reperfusion est l'occlusion micro-vasculaire (MVO) causée par l'œdème, les débris thrombotiques et les agrégats de plaquettes et de

polynucléaires neutrophiles [12]. Par conséquent, la taille finale de l'infarctus est déterminée par les effets additifs des lésions ischémiques et de reperfusion [13].

Le développement du choc cardiogénique suite à l'infarctus aigu du myocarde aggrave les lésions myocardiques car l'état d'insuffisance circulatoire active les réflexes neuro-hormonaux avec une libération massive de catécholamines afin de maintenir la perfusion des organes. Cependant, toutes les catécholamines (endogènes ou exogènes) aggraveront également les lésions myocardiques par une augmentation de la demande myocardique en oxygène (MVO₂) consécutive à une augmentation de la fréquence cardiaque, de la contractilité et de la postcharge [13, 14]. Dans le même temps, la circulation coronaire compromise réduit l'apport en oxygène du myocarde. Cette inadéquation exacerbée de l'offre et de la demande en oxygène dans l'aire à risque étend les lésions d'ischémie-reperfusion et la taille de l'infarctus (ce dernier étant directement proportionnel à MVO₂ pendant les phases d'ischémie mais aussi de reperfusion) [11]. Il est bien connu que la taille de l'infarctus est étroitement liée au pronostic clinique à court et moyen termes [15]. Le paradoxe thérapeutique central, mis en évidence dans les recommandations de prise en charge du choc cardiogénique [16 - 18] reste la nécessité de maintenir une fonction circulatoire et une perfusion d'organes suffisants par l'administration de catécholamines exogènes, mais sans augmenter la charge de travail myocardique et blesser davantage un cœur déjà défaillant.

1.2. Support circulatoire mécanique de courte durée dans le choc cardiogénique d'origine ischémique

Jusqu'à récemment, le traitement du choc cardiogénique occasionné par un infarctus aigu du myocarde s'articulait essentiellement sur deux axes [17]. D'une part la revascularisation précoce, généralement par angioplastie percutanée de l'artère occluse, et d'autre part par la réanimation cardiovasculaire à proprement parler dont l'arsenal thérapeutique reposait principalement sur les agents

vasoactifs, plus ou moins l'implantation d'un ballon de contre-pulsion intra-aortique (BCPIA), sans pour autant avoir démontré de bénéfice en termes de survie dans cette indication [19-22].

L'étude SHOCK II a justement remis en cause la place du BCPIA dans cette indication. Sur un essai contrôlé randomisé sur plus de 600 patients comparant le BCPIA au traitement médical dans le choc cardiogénique post-SCA, le ballon n'apportait pas de bénéfice en termes de survie [21-23]. Même si cette étude a été largement critiquée en raison de failles méthodologiques et d'une mortalité inférieure que celle rapportée dans d'autres études, cette étude a bouleversé l'attitude thérapeutique face au SCA, amenant même à reconsidérer la place du BCPIA. La recommandation de son utilisation a donc été rétrogradée d'une classe I à une classe IIb en Europe et IIa aux États-Unis [24, 25].

Ainsi, devant cette situation de choc cardiogénique sévère et réfractaire au traitement pharmacologique, pour laquelle la mortalité a cessé de s'améliorer depuis le début des années 2000 par l'absence de nouvel axe thérapeutique innovant, les cliniciens se tournent désormais vers d'autres dispositifs d'assistance circulatoire mécanique de courte durée ; leur but étant de maintenir la perfusion des organes en remplaçant la fonction cardiaque.

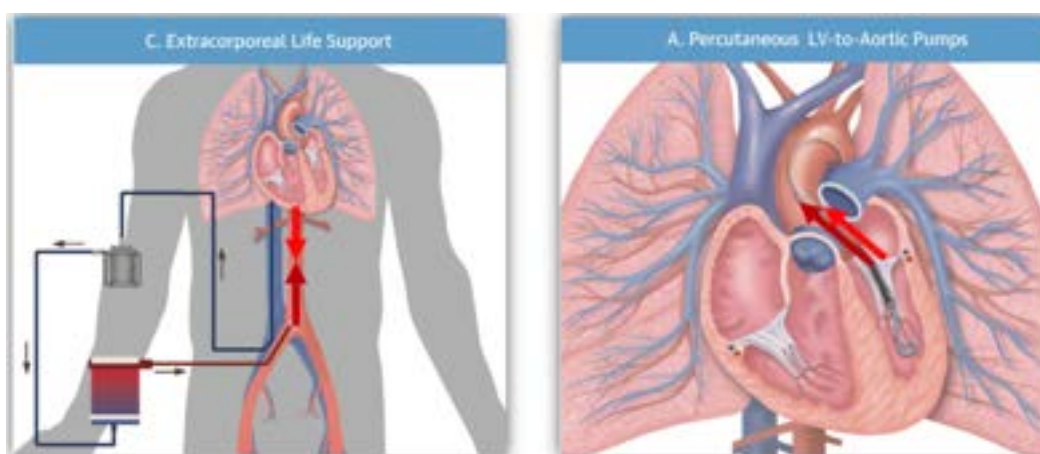


Figure 1 : Assistanes circulatoires mécaniques de courte durée. *Burkhoff, D et al. J Am Coll Cardiol, 2015; 66(23):2663-74.*

L'ECMO-VA (extracorporeal membrane oxygenation veno-artérielle) est une forme de dérivation cardio-pulmonaire [26] fournissant un soutien circulatoire complet et permettant en quelques minutes de restaurer une perfusion et une oxygénation tissulaire. Cette technique s'est largement répandue ces dernières années avec le développement d'Unités Mobiles d'Assistance Circulatoires (UMAC) [27-29]. Elle est actuellement le gold standard pour la prise en charge du choc cardiogénique réfractaire, malgré l'absence d'un bénéfice de survie clair [30] [10, 31]. En effet, l'ECMO VA réinjecte le flux sanguin dans la direction opposée à la propre éjection du ventricule gauche (VG), ce qui augmente la post-charge, entraîne une congestion du VG et une augmentation de la MVO₂, compromettant ainsi la récupération myocardique [17, 32 - 34]. En parallèle, une congestion pulmonaire, avec risque de syndrome d'Arlequin (ou syndrome « Nord-Sud »), est aussi possible.

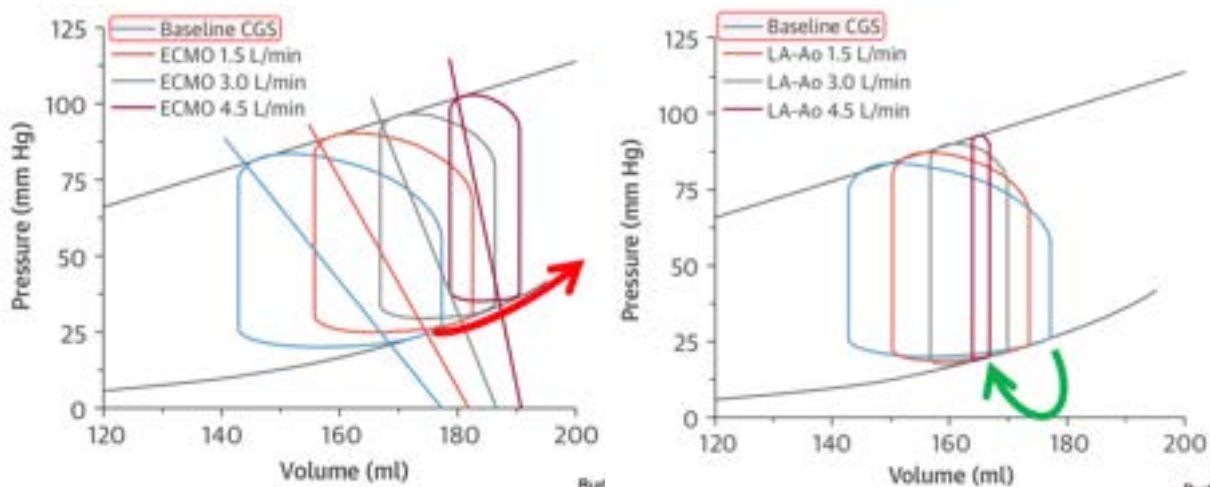


Figure 2 : Effets d'un support circulatoire par ECMO (à gauche) et Impella (à droite) sur le ventricule gauche (modèle mathématique Harvi®). *Burkhoff, D et al. J Am Coll Cardiol, 2015; 66(23):2663-74.*

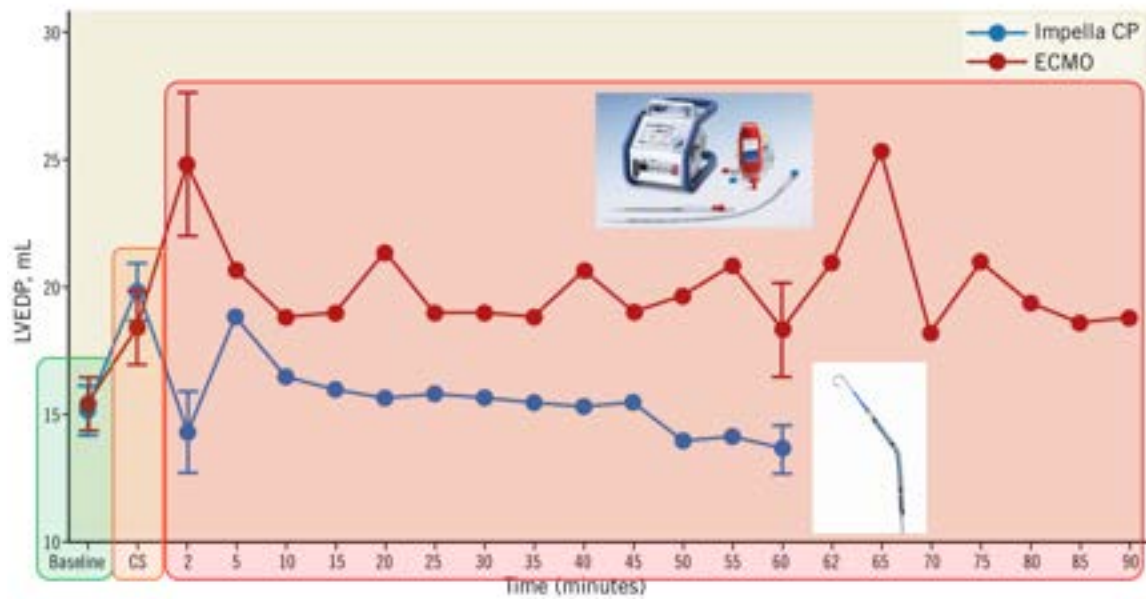


Figure 3 : Évolution de la congestion ventriculaire (PTDVG) au fil du temps sous ECMO (rouge) et Impella (bleu). *Møller-Helgestad, O. K. et al. Eurointervention 14, e1585–e1592 (2019).*

Des alternatives plus récentes sont les dispositifs de décharge percutané du VG, dont le plus largement utilisé est l'Impella® (Abiomed, Danvers, MA, USA). La famille Impella comprend 3 pompes : deux dispositifs pour le support de la fonction cardiaque gauche (le modèle CP percutané et le modèle chirurgical 5.0) et un dispositif percutané pour le support de la fonction droite (modèle RP).

L'Impella CP® est une pompe micro-axiale à débit continu placée à travers la valve aortique dont le principe est d'aspirer le sang depuis le VG, et de l'éjecter dans l'aorte ascendante. Elle présente l'avantage de fournir un soutien circulatoire suffisant (elle peut fournir jusqu'à 3,7 L / min de débit sanguin en parallèle à l'éjection ventriculaire [35]), tout en déchargeant le cœur blessé.

Cette pompe de 14F, montée sur un cathéter 9F, et est insérée dans un introducteur de 14 F par voie percutanée via l'artère fémorale classiquement. La turbine est protégée par une infusion continue de glucosé (G5-10%) hépariné (25-50UI/ml) et gérée de manière automatique par la console.



Figure 4 : Présentation du dispositif Impella™. 1 Valve anti-retour. 2 Réservoir. 3 Filtre. 4 Ligne de pression. 5 Turbine. 6 Capteur de pression. 7 Tuteur *Easy Guide*. 8 Gaine stérile. 9 Désilet de repositionnement.

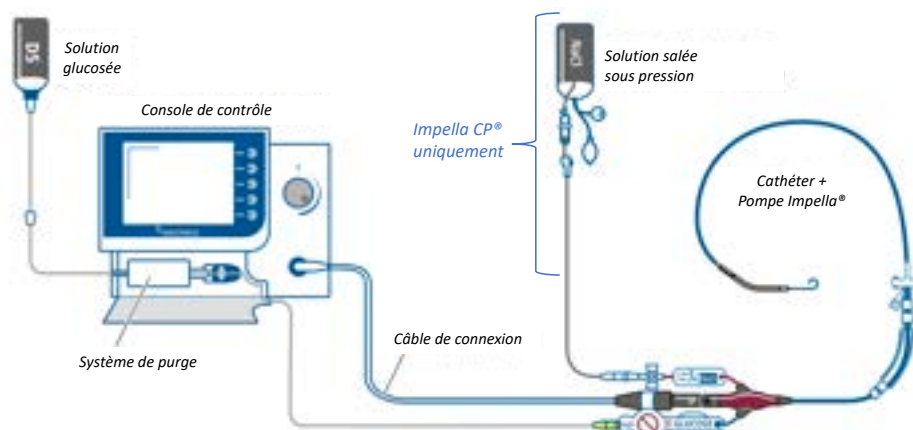


Figure 5 : Système de purge automatisée pour protéger le moteur.

Les indications théoriques de l'assistance cardiaque Impella™ sont les suivantes :

- Principales
 - Choc cardiogénique réfractaire au traitement médical, avec insuffisance ventriculaire gauche prédominante et absence d'insuffisance respiratoire réfractaire : après infarctus aigu du myocarde, après chirurgie cardiaque, sur décompensation d'une insuffisance cardiaque avancée/chronique et autres (Tako Tsubo, myocardite, intoxication, cardiomyopathie du péripartum).

- Décharge ventriculaire gauche lors d'un support préexistant par ECMO-VA périphérique mal toléré (congestion du ventricule gauche ± syndrome d'Arlequin, absence d'ouverture de valve aortique, arythmie maligne) → mise-en-place d'une double assistance circulatoire ECMO-VA + Impella = ECMELLA (ou ECpella).
- Secondaires
 - Complication mécanique pariétal d'un infarctus transmural (réduction de la tension pariétale du ventricule gauche, en attente d'un traitement chirurgical curatif).
 - Support circulatoire pour une revascularisation coronaire percutanée à haut risque (i.e. mauvaise fonction ventriculaire, lésions coronaires sévères, intervention sur le dernier vaisseau perméable).
- En cours d'investigation
 - Décharge ventriculaire gauche précoce pour un large infarctus aigu antérieur de type STEMI - sans insuffisance circulatoire - avant la revascularisation coronaire percutanée, pour limiter les lésions d'ischémie-reperfusion.

Caveat : Aucune des indications reprises ci-dessus n'a pour l'instant fait l'objet d'un essai clinique randomisé multicentrique à grande échelle et, dès lors, d'une quelconque recommandation officielle subséquente par une société savante. Cette liste d'indications ne correspond donc qu'à la synthèse des pratiques habituelles de centres experts de renom, tel que décrit par des groupes de travail d'experts français de l'USIC [36] ou internationaux [37] ainsi que dans des études observationnelles (ces dernières rapportant un large bénéfice de survie après l'implantation de cette stratégie thérapeutique, surtout dans le choc cardiogénique après infarctus aigu du myocarde [38, 39] ou pour le dispositif combiné ECMELLA par rapport à l'ECMO-VA isolée [40, 41]).

Dès lors, le remboursement actuel des assistances circulatoires Impella® varie au sein des pays européens francophones :

- France : Impella 5.0® dans le choc cardiogénique après chirurgie cardiaque.
- Belgique : Impella CP® ou 5.0® dans le choc cardiogénique (quelle qu'en soit l'étiologie) et l'ECMELLA (au détriment du remboursement de l'ECMO-VA en contrepartie).
- Suisse : Impella CP® ou 5.0® dans le choc cardiogénique (quelle qu'en soit l'étiologie), l'ECMELLA et la revascularisation coronaire à haut risque.

Dans le contexte de choc cardiogénique d'origine ischémique qu'est le nôtre, l'Impella semblerait être plus adaptée que l'ECMO [42]. En effet, elle propose de décharger le ventricule gauche en puisant le sang dans la cavité ventriculaire puis en l'éjectant dans le sens antérograde par rapport à l'éjection cardiaque. Elle évite ainsi d'augmenter la post-charge systémique (à l'inverse de l'ECMO-VA) et, surtout, elle décongestionne très efficacement le ventricule gauche et les poumons en amont. Cela empêche (ou traite) toute forme de syndrome d'Arlequin, permet une diminution de la MVO2 et facilite ainsi la récupération du myocarde [43].

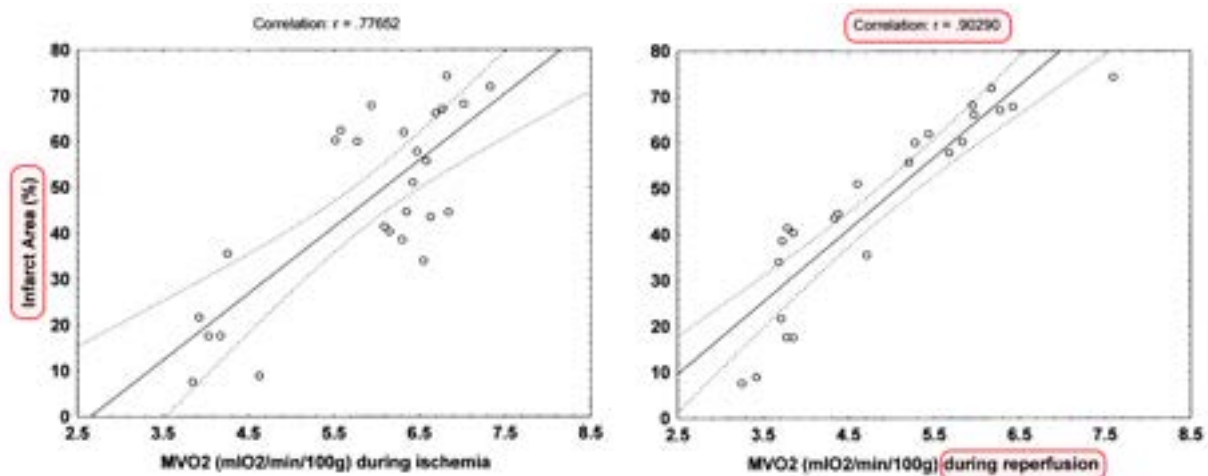


Figure 6 : Corrélation entre la consommation myocardique en oxygène (MVO2) et la taille de l'infarctus pendant l'ischémie (gauche) et la reperfusion (droite).

Meyns, B. et al. J Am Coll Cardiol 41, 1087-1095 (2003).

L'abord axillaire avec sa fixation efficace et la taille réduite de la console de contrôle permettent de mobiliser précocement les malades, même ceux nécessitant un support circulatoire quasi complet, offrant ainsi des perspectives de reconditionnement physique inenvisageables avec l'ECMO-VA. Enfin, cet abord axillaire associé à la taille réduite du cathéter réduisent drastiquement les risques de complications ischémiques des membres inférieures par obstruction de la lumière artérielle fémorale.

Le positionnement stratégique de l'assistance circulatoire Impella® au sein de notre arsenal thérapeutique, tant mécanique que médicamenteux, se concevrait théoriquement ainsi (en l'attente de preuves plus formelles issues d'essais cliniques fiables) : substitution au choix du ballon intra-aortique ou de l'ECMO-VA dans le contexte du choc cardiogénique d'origine ischémique, en complément de l'ECMO-VA pour en prévenir ou en traiter les complications hémodynamiques et en tant qu'alternative mécanique pour certains malades stabilisés mais moyennant de très hautes doses d'agents adrénergiques (permettant d'en réduire les effets indésirables).

Les contre-indications majeures de cette technique sont :

- Une défaillance bi-ventriculaire avérée ou à haut risque de se développer (insuffisance ventriculaire droite et/ou hypertension pulmonaire pré-capillaire sévère, arrêt cardiaque).
- Un besoin de support des échanges gazeux, au-delà du cas de figure d'un œdème pulmonaire aigu de cause hémodynamique rapidement résolutif par décharge du ventricule gauche.
- Un besoin d'un support circulatoire à très haut débit dépassant la capacité théorique du modèle d'Impella® implantable.
- Une insuffisance aortique de grade sévère.
- Un thrombus intra-cavitaire ventriculaire gauche.

- Un bourrelet septal massif responsable d'une obstruction de la chambre de chasse du VG.
- Un accès rendu impossible par une sténose aortique (surface aortique $< 0,6 \text{ cm}^2$), une prothèse valvulaire aortique mécanique ou des vaisseaux de petite taille (diamètre interne inférieur à 5-6mm) ou tortueux.

NB : comme évoqué, la communication interventriculaire aiguë post infarctus n'est pas une contraindication, voire une indication à discuter au cas par cas.

En dehors des complications communes à la plupart des assistances circulatoires mécaniques (accident hémorragique vasculaire périphérique, accident vasculaire cérébral, infection du dispositif et ischémie de membre), les complications propres de l'Impella sont : une insuffisance ventriculaire droite secondaire à l'implantation (par excès d'aspiration sur le septum interventriculaire et/ou retour veineux brutalement augmenté), une hémolyse (mauvais positionnement/déplacement, utilisation de trop longue durée ou défaut d'anticoagulation efficace), une mobilisation accidentelle et un mauvais positionnement endommageant l'appareil valvulaire mitral ou les cuspidés aortiques.

NB : Une pompe récente et bien positionnée ne doit pas occasionner d'hémolyse, même modérée.

En ce qui concerne la prise en charge du syndrome coronarien aigu, le dogme actuel consiste à revasculariser le plus rapidement possible le myocarde [1, 44]. Cependant, depuis le début des années 2000, des études précliniques sur modèles animaux de petits infarctus aigus du myocarde (sans choc cardiogénique) traités par Impella® en fin d'ischémie et avant reperfusion, ont démontré une réduction de la taille de l'infarctus lors de la décharge du VG [45 - 49]. La faisabilité clinique de cette stratégie de décharge ventriculaire gauche précoce, quitte à différer modérément la revascularisation, a été vérifiée dans un essai clinique pilote (étude

de non-infériorité) d'infarctus sévère antérieurs. Les résultats concluants de cette dernière mènent désormais à un deuxième essai clinique randomisé plus important (étude de supériorité), en cours de recrutement (mais dont les patients en état de choc cardiogénique sont exclus) [50]. Si ce paradigme se confirmait, cela remettrait en cause nos stratégies thérapeutiques actuelles, où la décharge ventriculaire n'est qu'exceptionnellement assurée avant revascularisation, la place du BCPIA (qui assure une décharge ventriculaire sans générer de débit d'assistance) ayant été largement reconsidéré [51, 52]. Comme pour tous les dispositifs d'assistance circulatoire mécanique, les données concernant la décharge du VG des patients en état de choc cardiogénique sont actuellement rares, issues d'études hétérogènes, essentiellement rétrospectives et de mauvaise qualité [53].

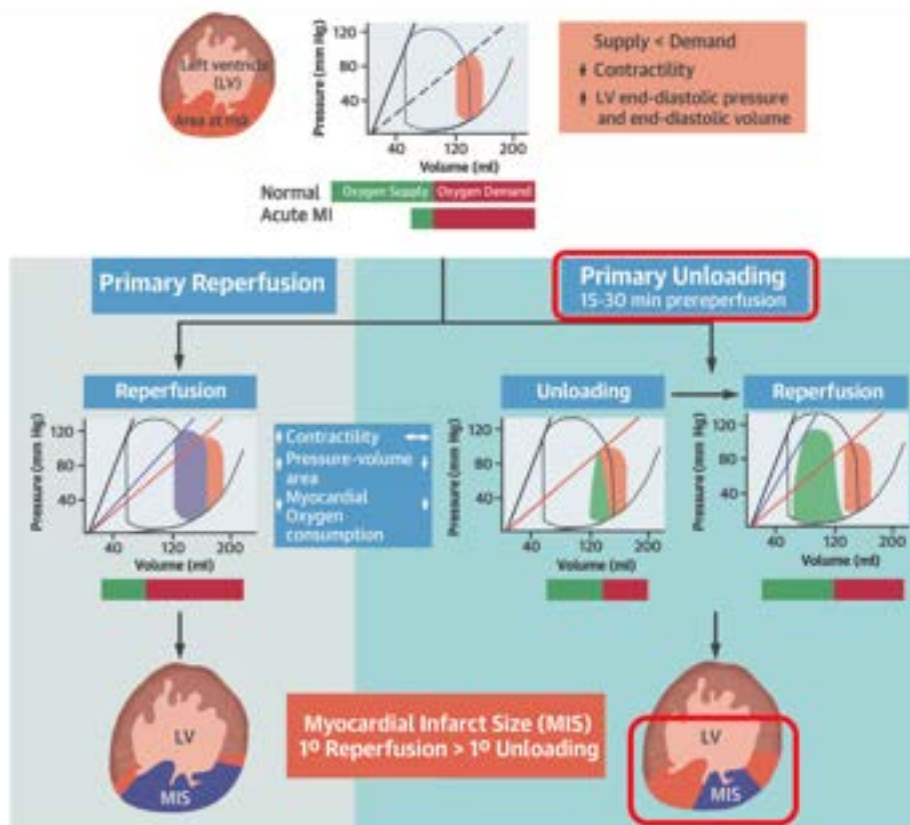


Figure 7 : Illustration des conséquences en termes de taille d'infarctus entre une prise en charge par reperfusion immédiate versus décharge immédiate et reperfusion décalée Uriel, N. et al. *J Am Coll Cardiol* 72, 569-580 (2018).

Objectifs

Nous espérons que notre étude pourra étendre le niveau de connaissances et la validation externe de l'intérêt de la décharge ventriculaire gauche précoce dans le traitement du choc cardiogénique par infarctus du myocarde avec altération de la perfusion systémique et inflammation systémique ; un scénario clinique qui n'a pas encore été abordé par les études expérimentales à ce jour. Notre étude a également pour but de répondre aux principales limitations des études précliniques en la matière.

Nous espérons qu'une stratégie de décharge précoce du ventricule gauche avec revascularisation différée protégera le cœur de lésions myocardiques secondaires de reperfusion, afin de mener à une réduction significative de la taille d'infarctus (critère de jugement principal) ; une réduction de la consommation myocardique en oxygène, de la congestion ventriculaire gauche, et une meilleure perfusion systémique, y compris au niveau de la microcirculation (critères de jugement secondaires).

1.3.Intégration du projet dans le laboratoire

Cette étude s'inscrit dans la continuité des travaux effectués au sein de l'équipe des Soins Intensifs de l'hôpital Érasme, sous la direction du Professeur Jacques Créteur. Il s'agit d'un centre expert sur la prise en charge des états de choc circulatoire, en atteste la publication d'une revue de la littérature dans le *New England Journal of Medicine* « Circulatory Shock » en 2013 [54].

Ce travail poursuit les recherches des Dr Lorenzo Pitisci et Dr Amina Khaldi sur des modèles porcins d'infarctus aigu antérieurs du myocarde, menées au sein du Laboratoire Expérimental de Soins Intensifs de l'ULB.

2. Matériel et méthodes

Étude prospective, randomisée, contrôlée, expérimentale. Le protocole a été validé par le CEBEA (Commission éthique et du bien-être animal) de l'Université Libre de Bruxelles, Belgique ; numéro de protocole 712N, soumis en juin 2019. L'expérimentateur principal est titulaire de la formation aux soins et techniques des animaux de laboratoire (FSTAL) de niveau 1 (février 2021). Tous les intervenants sont titulaires de la FSTAL niveau 1 ou 2. Les soins et prises en charge des animaux étaient en accord avec les recommandations européennes (EU Directive 2010/63/EU) sur la recherche expérimentale.

2.1. Protocole expérimental

2.1.1. Modèle porcin

Le modèle porcin est reconnu dans le domaine de la recherche cardiovasculaire comme un modèle translationnel d'infarctus aigu du myocarde et de choc cardiogénique en raison des similitudes entre l'anatomie et la physiologie humaine et porcine. La grande taille des porcs permet l'utilisation de divers instruments de mesure (cathétérisme cardiaque gauche et droit, échocardiographie) également utilisés en pratique clinique. Historiquement, le modèle expérimental de cœur porcin entre en concurrence directe avec le cœur de chien. En plus des raisons éthiques et économiques, le cœur de chien présente des différences anatomiques et physiologiques rédhibitoires pour notre étude, en particulier en ce qui concerne le réseau artériel coronaire (dominance gauche exclusive et collatéralité coronarienne native importante et rapidement recrutée, générant une tolérance accrue à l'ischémie myocardique).

Si l'architecture anatomique du cœur de porc est comparable au cœur humain, néanmoins, certaines particularités anatomiques doivent être identifiées car susceptibles d'interférer avec le bon déroulement de procédures chirurgicales

expérimentales, en particulier lorsqu'elles concernent le réseau coronaire artériel et veineux et nécessitent l'utilisation d'une assistance circulatoire.

Parmi ces spécificités, celles qui ont trouvé un intérêt pour notre travail sont :

- L'axe global du cœur : orienté vers le bas et la droite, pratiquement perpendiculaire à l'axe du sternum (et non pas vers le bas et la gauche), à connaître lors de la pratique de l'échographie transthoracique.

- La notion que seul le segment inféro-basal repose sur le plan postérieur (contrairement à la quasi-totalité du segment postérieur chez l'homme), le reste de la face inférieure étant séparé du diaphragme par une extension de la cavité pleurale qui contribue à projeter l'apex vers le haut ; cet élément rend caduque l'utilisation de l'échographie trans-œsophagienne.

- Le positionnement du cœur dans le sac péricardique : l'ascension de l'apex associé à la rotation antihoraire du cœur place l'artère pulmonaire directement devant l'aorte ascendante, très courte, et complique donc son accès lors de la dissection finale.

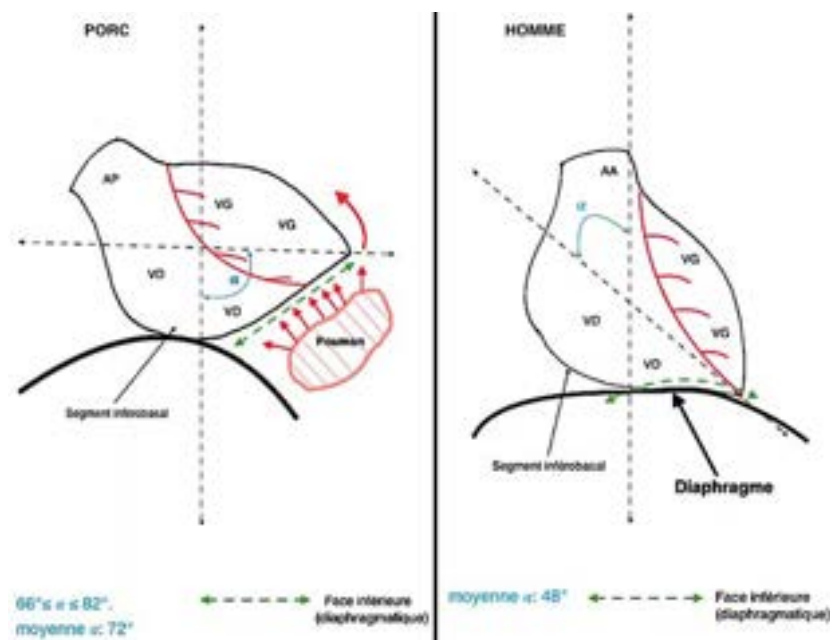


Figure 8 : Orientations comparatives et positionnement sus-diaphragmatique des cœurs porcins et humains. *Grandmougin D et al. Anatomie du cœur porcine.*

Journal de chirurgie thoracique et cardio-vasculaire 2016;20(3)

- L'anatomie du sinus coronaire : il reçoit 4 afférences veineuses principales, la grande veine cardiaque, la petite veine cardiaque, la veine interventriculaire postérieure et la veine azygos gauche (contre 3 chez l'homme où il n'existe aucune communication entre le système azygos et le réseau coronaire) ; le retour veineux coronaire est se retrouve donc « pollué » par le retour azygos ce qui impose de collecter le sang veineux coronaire en amont de l'afférence de la veine azygos.

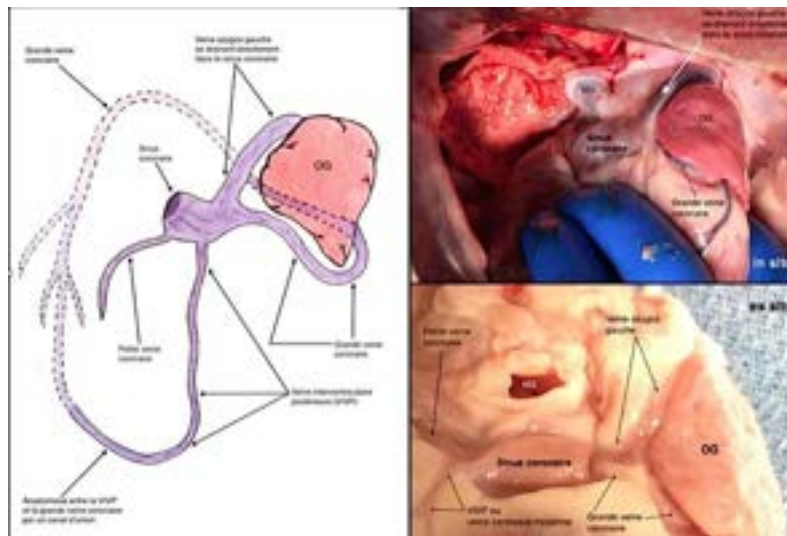


Figure 9 : Architecture globale du réseau veineux coronaire porcin et rapports spécifiques de la veine azygos gauche avec les structures cardiaques de voisinage. *Grandmougin D et al. Anatomie du cœur porcin. Journal de chirurgie thoracique et cardio-vasculaire 2016;20(3)*

Les animaux sont livrés quelques jours (maximum une semaine) avant la date de l'expérience. Entre-temps, les soins et attentions habituelles sont appliqués par le personnel de l'animalerie pour veiller à un accès régulier à de l'eau (*ad libitum* via un dispositif en cage que l'animal peut enclencher), une alimentation quotidienne et un nettoyage régulier des cages. Celles-ci sont pourvues d'un hébergement conforme à la législation en cours et munies d'accessoires pour distraire les animaux. Enfin, les animaux sont hébergés en groupe et le moins souvent possible seul en cage, tant que leur nombre le permet, afin de favoriser les interactions sociales nécessaires au maintien du bien-être animal.

2.1.2. Sédation et anesthésie

Les porcs (*Sus scrofa domesticus*, RA-SE Genetics), mâle ou femelle, d'âge 5 à 7 mois et non génétiquement modifiés (outre le fait qu'ils sont « sans stress », i.e. qu'ils ne comportent aucune mutation génétique associée au développement d'hyperthermie maligne pendant l'anesthésie) sont à jeûn 18 heures avant l'expérience. Une sédation en cage par Midazolam 50mg (DORMICUM ; Roche, Belgique) et Kétamine 1000mg, (NIMATEK, Eurovet Animal Health, Belgique), est effectuée par voie intramusculaire. Après le transport de l'animal vers la salle opératoire, un cathéter veineux est inséré au niveau d'une veine auriculaire (14G, Terumo, Belgique) et un cathéter artériel fémoral 4,5 F (Terumo, Belgique) est placé dans l'artère fémorale gauche pour mesure invasive de la pression artérielle et recueil des futurs prélèvements sanguins artériels. L'anesthésie générale est induite par 2 µg/kg de Sufentanil (SUFENTA, Eurocept pharmaceutical, Pays-Bas), Propofol 1mg/kg (PROPOVET, laboratoire Abbott, Belgique) et 0.1mg/kg de Rocuronium Bromide (ESMERON ; Organon, Pays-Bas), permettant la mise en place d'un tube endotrachéal (8 mm, Hi-Contour, Mallinckrodt Medical, Athlone, Ireland) [55]. Une ventilation invasive en mode contrôlée (Primus, Dragër, Belgique) est débutée avec les paramètres suivants : volume courant à 8ml/kg, PEEP (pression expiratoire positive) à 5cmH₂O, un temps inspiratoire/expiratoire à 1:2 et une fréquence respiratoire réglée pour obtenir une PaCO₂ entre 35-45mmHg. La FiO₂ est initialement à 0,30 puis ajustée pour maintenir une PaO₂ > 90 mmHg. La sédation continue est maintenue par Sévoflurane inhalé (SEVOFLO, laboratoire ABBOTT, Belgique) à une concentration alvéolaire de 2,0-2,5% et Sufentanil 2-5 µg/kg/h intraveineux, dont la posologie est régulièrement adaptée aux tests de stimulation nociceptive pour s'assurer de la profondeur d'anesthésie générale optimale. Les animaux sont paralysés par du Rocuronium Bromide 1,6 - 2,2 mg/kg/h. Une perfusion d'entretien par une solution cristalloïde balancée à 3-10ml/kg/h est effectuée au cours de la procédure chirurgicale (PLASMALYTE,

Baxter, Belgique) puis en entretien à 5ml/kg/h au cours du reste de la manipulation. L'euglycémie est maintenue par l'administration de Glucose IV continu (Glucose G20%, Baxter, Belgique). La température centrale est mesurée via le cathéter de Swan Ganz et maintenue entre 38,5°C et 39,5°C (i.e. normothermie pour un cochon) à l'aide d'un matelas chauffant. Une antibioprophylaxie est réalisée grâce à de l'Augmentin 2g (AMOXICLAV, Sandoz, Belgique) administré toutes les 8h en intraveineux.



Figure 10 : Installation générale (à gauche) et lors de la coronarographie (à droite).

2.1.3. Chirurgie et instrumentation

Après mini-laparotomie sus-pubienne, un cathéter de Foley 14F (Beiersdorf AG, Allemagne), est introduit dans la vessie. Une iléostomie en canon de fusil est effectuée sur le flanc droit et recouverte de compresses humidifiées. Une incision cutanée sous-xiphoïdienne (extra-péritonéale) permet la réalisation des coupes échographiques cardiaques transdiaphragmatiques. Afin de préserver les interactions cœur/poumon et l'interdépendance ventriculaire, thorax et péricarde restent fermés tout au long de l'expérience et tous les cathéters sont posés en percutané, sous guidage échographique [56]. Un cathéter veineux central 4 voies 20cm (Teleflex, Belgique) est introduit dans la veine jugulaire externe droite sous

contrôle échographique (E90, GE Machines, Allemagne) et deux introducteur veineux 8F (Terumo, Belgique) dans celle de gauche, pour la mise en place d'un cathéter de Swan Ganz (7F Edwards Lifesciences, États-Unis) au niveau de l'artère pulmonaire et d'un cathéter de sinus coronaire (5F ADROIT Guiding Catheter, Cordis, Cardinal Health EMEA). Un ballon de valvuloplastie Tyshak II (Numed, Pays-Bas) est placé au niveau de la veine cave inférieure via un introducteur veineux fémoral droit (8F, Terumo, Belgique). Trois introducteurs artériels 6F et deux 8F (Terumo, Belgique) sont mis en place par voie percutanée : respectivement dans la carotide gauche pour la mise en place d'un cathéter de mesure de pression (haute-fidélité) et volume (admittance) du ventricule gauche (5F VSL P/V Catheter®, Transonic, Pays-Bas) ; dans la carotide droite (x2) pour la mise en place des introducteurs coronaires Judkins left 4F (Terumo Benelux, Louvain, Belgique) et des cathéter de mesure de pression coronaire (PressureWire X wireless®, Abbott, Belgique) ; dans l'artère fémorale droite pour mesure de la pression (micro-manomètre à haute-fidélité) fémorale (Mikrotip MILLAR® 5F Pressure Catheter, AD-Instruments, Texas, États-Unis) et dans l'artère fémorale gauche pour mesure de la pression (haute-fidélité) dans la crosse aortique (5F Catheter®, Transonic, Pays-Bas). Un cathéter artériel radial à tubulure liquidienne est inséré au niveau de l'équivalent porcin de l'artère radiale droite (3F Leader Cath®, Vygon, France).

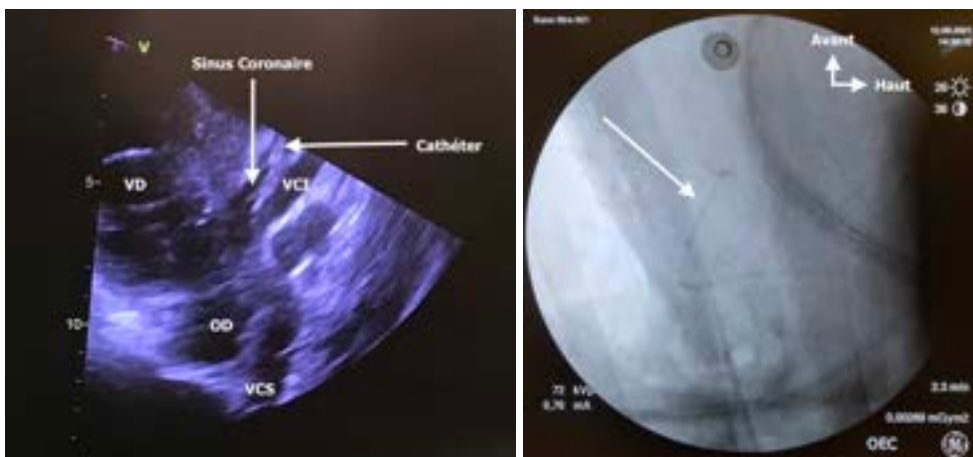


Figure 11 : Mise en place du cathéter de sinus coronaire sous échocardiographie et vérification de son bon positionnement sous angiographie.

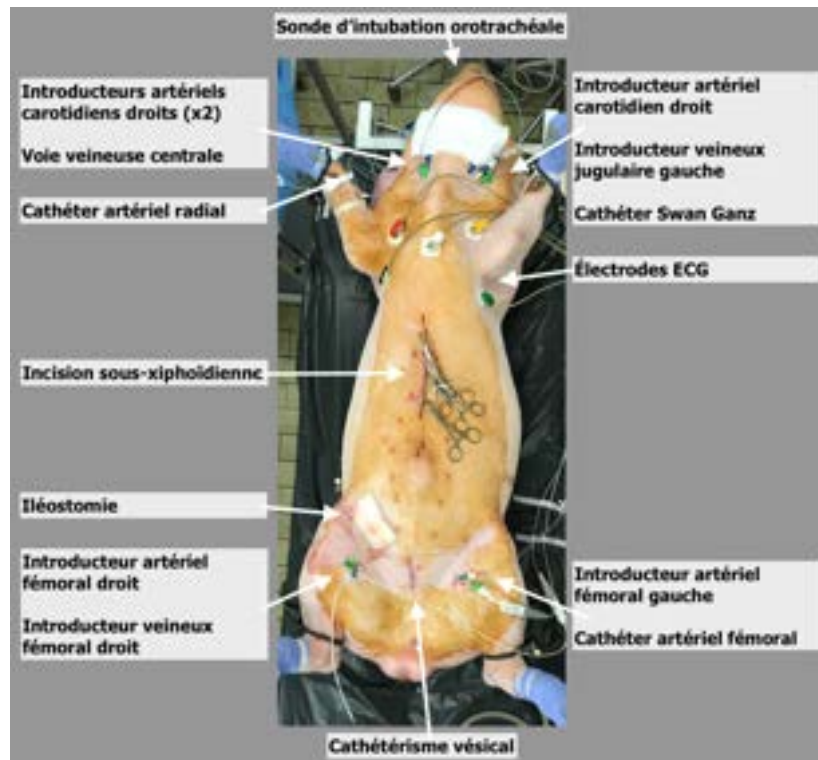


Figure 12 : Installation de l'animal sur la table d'opération

2.1.4. Infarctus du myocarde

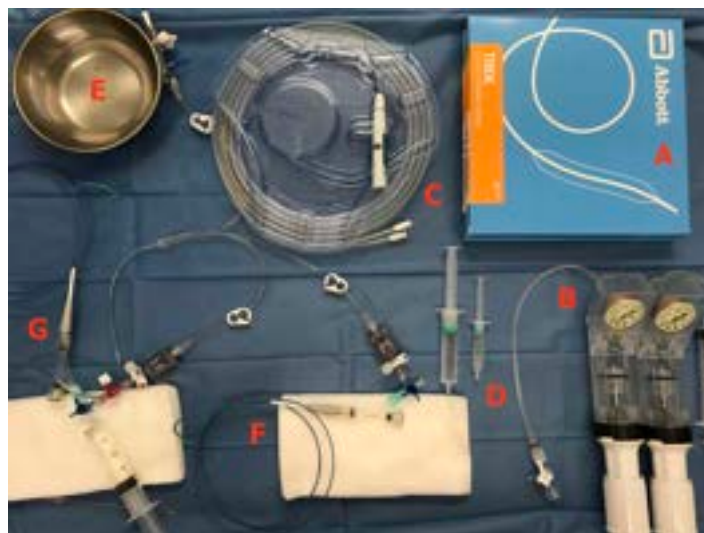


Figure 13 : Table de coronarographie. A : ballons d'angioplastie. B : inflateurs. C : PressureWire X wireless. D : Seringues d'HÉPARINE et de CÉDOCARD. E : Sérum physiologique. F-G : introducteurs coronaires reliés via un adaptateur en Y (PITON™ Y-PACK, Medtronic) à une tête de pression et une seringue de produit de contraste (VISIPAQUE™, GE Healthcare).

Après cathétérisation de l'ostium coronaire gauche (introduceurs coronaire Judkins Left 4F), les ballons d'angioplastie gonflables percutanés (TREK Coronary Dilatation Catheter, 3.50-4.00 mm, Abbott, Belgique) sont guidés par fluoroscopie dans l'artère interventriculaire antérieure proximale (IVA) et l'artère circonflexe moyenne (Cx). Afin d'obtenir une aire à risque et un retentissement hémodynamique suffisants, les ballons sont positionnés respectivement juste après la bifurcation du tronc coronaire gauche (afin d'être certain d'occlure la première branche septale, naissant de manière très proximale) et entre la première et la seconde branche marginale.

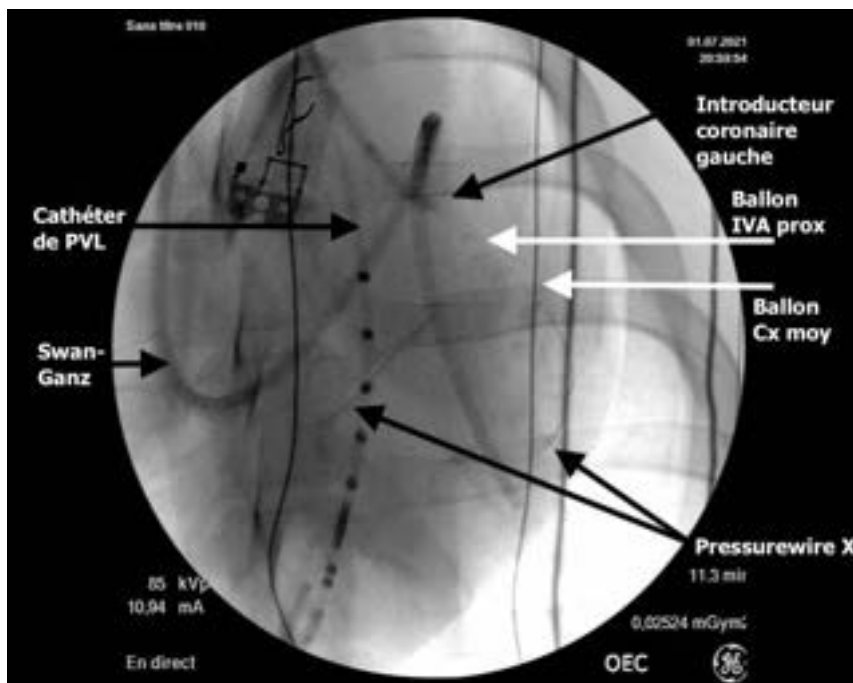


Figure 14 : Installation du matériel intra-coronaire.

Le gonflage des ballons (dispositif de gonflage à usage unique EVEREST™ 30, Medtronic) est titré en fonction des pressions en aval du ballon, mesurées par des filaments PressureWire X wireless® (Abbott, Belgique) eux-mêmes connectés au système de mesure intégré Quantien (Abbott, Belgique).



Figure 15 : PressureWire X wireless® et moniteur Quantien (Abbott, Belgique)

La titration de la sub-occlusion est guidée par deux indices : le RFR (*resting full-cycle ration*), reflet direct de la sévérité de la sub-occlusion et le rapport Pd-PTDVG (pression télédiastolique du ventricule gauche), reflet du gradient de la perfusion coronaire *stricto sensu*. L'expérience nous a permis de définir deux seuils à ne pas enfreindre pour ces indices : 0,3 de RFR (soit une réduction maximale de 70% du flux coronaire) et 5mmHg pour le gradient de perfusion. Ainsi, le risque d'arythmie maligne réfractaire et d'arrêt cardiaque est réduit de manière significative par cette approche de sub-occlusion critique (< 10% vs > 20% dans les cas d'occlusion complète).

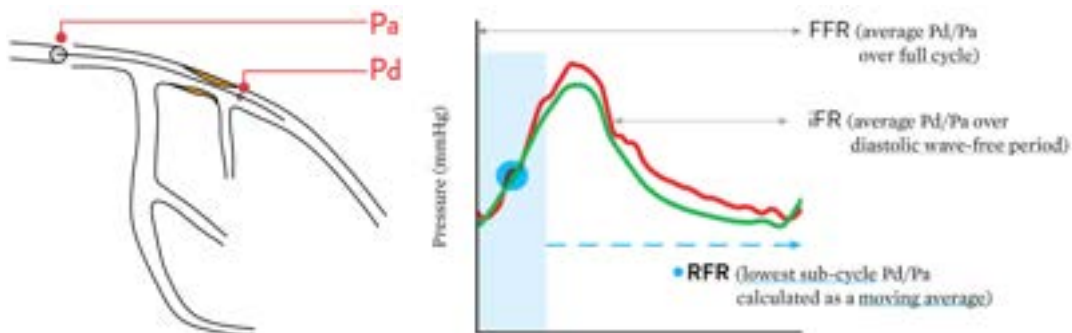


Figure 16 : Indices physiologiques d'évaluation des sténoses épigardiques.

L'ensemble des indices d'appréciation des sténoses épigardiques repose sur le même principe. Ils sont issus du ratio entre la pression résiduelle Pd (pression distale en aval du ballon) et la pression aortique Pa. Chronologiquement, la FFR (*fractional flow reserve*, moyenne du ratio Pd/Pa sur un cycle entier), puis l'iFR

(*instantaneous wave-free ration*, moyenne du ratio Pd/Pa en diastole) et enfin la RFR (valeur de Pd/Pa la plus faible au cours du cycle) qui se sont imposés comme la référence en termes d'évaluation des sténoses épocardiques et de prises de décision concernant les gestes de revascularisation coronaire.

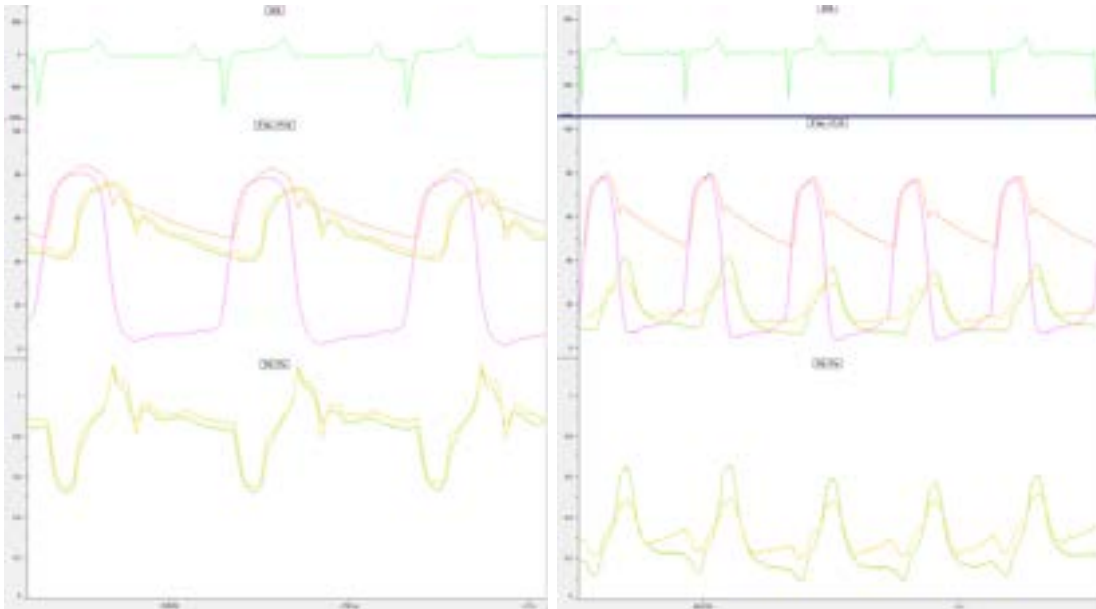


Figure 17 : Évolution des signaux de pression et des indices coronaires au cours de la procédure d'infarctus (à gauche avant inflation et à droite après inflation). En violet, la pression ventriculaire gauche : en rouge, la pression aortique ascendante ; en jaune, la pression résiduelle (et son ratio Pd/Pa) dans l'IVA et en vert, la pression résiduelle (et son ratio Pd/Pa) dans la Cx. À l'état basal, les pressions coronaires sont sensiblement égales entre-elles et à la pression aortique. La RFR est aux alentours de 0,95 et le gradient de perfusion est supérieur à 30 mmHg en diastole. L'inflation des ballons est ensuite réalisée et titrée jusqu'à obtenir une valeur de RFR aux alentours de 0,3, tout en gardant un gradient de perfusion supérieur à 5 mmHg. Le tracé ECG (ici la dérivation externe D2) est un témoin de la souffrance myocardique. Il participe également à la titration des ballons, d'une part dans les situations où malgré des seuils de RFR et de gradient atteints, l'ECG resterait inchangé ; et d'autre part, en cas de sus-décalage du segment ST important malgré des indices de perfusion non ou peu altérés.

10.000 UI d'Héparine (200 UI/kg) et 0,2mg de Dinitrate d'Isosorbide (CÉDOCARD, Takeda, Belgique) sont administrées en IV avant l'introduction du matériel intra-coronaire. Un monitoring des valeurs d'ACT durant toute la procédure est réalisé avec un objectif $> 250s$ (iSTAT®, Abbott). Pour obtenir une relative stabilité rythmique, une administration continue par voie veineuse d'Amiodarone 1mg/kg/h IV (Cordarone, Sanofi, Belgique) et de Lidocaïne 2mg/kg/h IV (XYLOCARD, Aspen, Ireland) est réalisée.

En cas de tachycardie ventriculaire soutenue ou de fibrillation ventriculaire, une défibrillation par choc électrique externe (200J) est réalisée. En l'absence de reprise d'activité cardiaque spontanée (RACS) après 2 chocs, et devant les conséquences dramatiques d'une période de no-flow sur la pertinence du modèle, l'expérimentation est interrompue. En cas de RACS, il est important de vérifier ensuite le bon positionnement de l'ensemble des dispositifs intravasculaires (matériel intra-coronaire, Impella, cathéters de pression).

La fin de cette sub-occlusion est obtenue par exsufflation des ballons. Après avoir objectivé une reperfusion satisfaisante (i.e. valeur de Pd/Pa $> 95\%$), l'ensemble du matériel intra-coronaire est retiré.

2.1.5. Mise en place de l'Impella®

Un introducteur artériel 6F est introduit dans l'artère axillaire gauche. Alors que beaucoup d'études optent pour la voie fémorale (plus simple d'accès), nous privilégions, sous les conseils de Christoph Nix (directeur médical chez Abiomed Europe GmbH et co-inventeur de l'Impella), la voie axillaire en raison d'un meilleur positionnement de la machine au travers de la valve aortique et de plus faibles contraintes pariétales lors du passage dans la crosse aortique. Après avoir cathétérisé, sous contrôle d'amplificateur de brillance, le ventricule gauche à l'aide d'une sonde de type « Pigtail » de 4-6F elle-même montée sur un guide Emerald 0,035'', l'opérateur y amène un guide 0,018'' à la place du guide 0,035'', puis

procède à l'ablation de la sonde « Pigtail » et l'échange avec le cathéter Impella. La pompe Impella (modèle CP) est ensuite insérée sur le guide 0,018''.

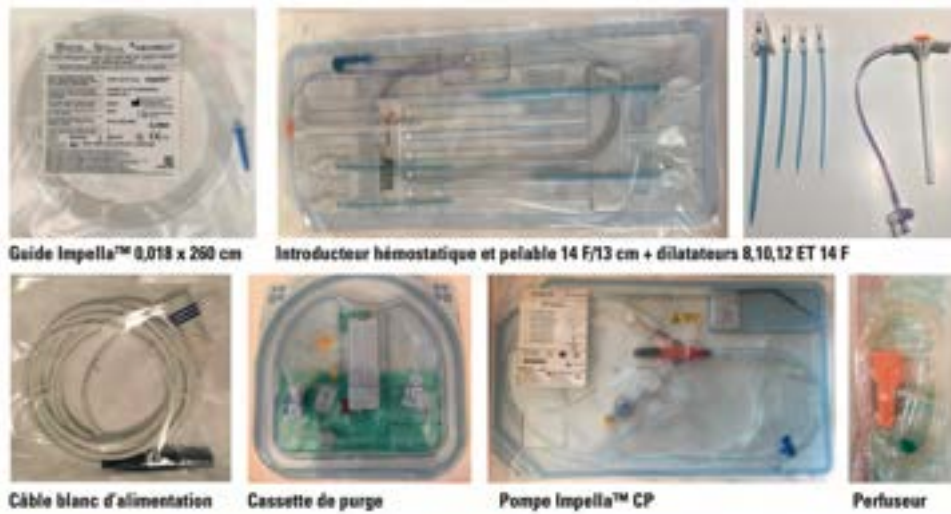


Figure 18 : Détail des accessoires fournis dans le kit Impella™.

L'appréciation du bon positionnement de la pompe est réalisée grâce à la surveillance du tracé de la pression distale en tête de pompe (un transducteur de pression externe classique mesure la pression distale régnant à l'orifice situé à hauteur des fenêtres de l'orifice d'éjection de la pompe, via un dispositif traditionnel de pression sanguine par tubulure liquidienne).



Figure 19 : Courbe de signal de positionnement du cathéter Impella™ (en rouge) et courbe du courant moteur (en vert).

Les règles générales de bon positionnement sont les suivantes :

- L'éjection par l'orifice de sortie doit entièrement se réaliser dans l'aorte ascendante (échocardiographie 2D + flux en Doppler couleur).
- L'orifice d'aspiration doit être éloigné de la valve mitrale, avec le « Pigtail » de la pompe visant l'apex du ventricule gauche (échocardiographie 2D).
- La canule du corps de pompe doit être enfoncée de 3,5 à 4 cm en mesurant à partir de la valve aortique (image en « rails » en échocardiographie 2D).
- Le signal du courant moteur doit être pulsatile (sauf en cas de ventricule gauche inerte), témoignant que la pompe aspire bien dans le ventricule et éjecte dans l'aorte.
- Le signal de positionnement doit afficher une pression pulsatile typique *aortique* (i.e. systolique et diastolique hautes) et non pas *ventriculaire* (i.e. systolique haute mais diastolique basse).



Figure 20 : Critères échographiques de bon positionnement de la pompe.

Une fois la pompe correctement positionnée dans le ventricule gauche, le guide est retiré, et la pompe est démarrée à la vitesse P2. On procède à sa fixation et la vitesse de l'Impella est alors réglée à la vitesse P8 (48.000t/min soit 3,7L/min). Il est important de vérifier l'anticoagulation, dont l'ACT qui doit être supérieur à 250 secondes avant l'insertion du cathéter Impella™ [57].

2.1.6. Analyse de la microcirculation

La microcirculation intestinale, reflet de la microcirculation cérébrale, est analysée à l'aide d'une caméra CytoCam IDF (Braedius medical, Pays-Bas). Il s'agit d'une caméra rattachée à une console informatique associant la combinaison d'une microscopie à chambre noire (Incident Dark Field) à une lumière pulsée LED de 2 ms. La LED utilise une lumière verte de 530 nm de longueur d'onde qui correspond au point d'absorption spectrale de la (des)-oxyhémoglobine. L'image ainsi obtenue permet donc de voir en temps réel les hématies dans les vaisseaux de la microcirculation [58]. Plusieurs variables d'intérêt sont issues de l'analyse de ces images. Elles permettent d'estimer les altérations de la microcirculation, en analysant les caractéristiques de convection et de diffusion.

La sonde de la caméra est placée dans l'iléostomie à 6-8cm de profondeur, contre la muqueuse iléale. A chaque étape de mesures, 3 boucles vidéo sont enregistrés, de 4 secondes chacune, en prenant garde aux artéfacts de pression (un flux conservé dans les veinules étant un prérequis à l'enregistrement de la vidéo). Les clips sont analysés en aveugle par un seul opérateur selon une analyse semi-quantitative à l'aide d'un logiciel Analysis Manager V3 (Braedius, Pays-Bas).

Quelques études se sont intéressées à l'analyse de la microcirculation iléale en utilisant le MFI (*microvascular flow index*, gold standard de l'analyse de la microcirculation sublinguale), avec cependant comme problématique de ne pas tenir compte de la microcirculation par unité villositaire, mais d'établir une estimation visuelle, et donc plus subjective, de la microcirculation uniquement par quadrant [59]. Afin de pallier à cette limite, et par analogie avec le MFI conventionnel, nous avons introduit le MFI villositaire comme nouveau paramètre d'analyse de la microcirculation iléale. Pour chaque villosité, un score de 0 (pas de flux), 1 (flux intermittent), 2 (flux ralenti) ou 3 (flux absent) était attribué. Le MFI villositaire correspondait à la moyenne des unités villositaires sur 3 enregistrements vidéo. En moyenne, 20 villosités sont visibles par enregistrements vidéo.



Figure 21 : Illustration de vidéo microscopie iléale par cytocam IDF issue du logiciel « Analysis Manager » (Braedius).

2.1.7. Boucles de pression-volume du ventricule gauche

Les courbes de de corrélation instantanée entre la pression et le volume (boucles P/V) du ventricule gauche sont recueillies via un cathéter de boucles pression-volume (5F VSL P/V Catheter®, Transonic, Pays-Bas) inséré au niveau de la carotide gauche et placé sous contrôle échographique avec son extrémité au niveau de l'apex du ventricule gauche. Le cathéter de de boucles pression-volume, ainsi que le cathéter de mesure de pression (haute-fidélité) aortique, sont rattachés à une console de mesure (ADV500, Transonic Europe, Pays-Bas) pour recueil et analyse des tracés. Nous avons enregistré en triplet des séquences de boucles pression-volume avec réduction progressive de la précharge du ventricule gauche en gonflant le ballon de la veine cave inférieure, en apnée. Nous colligeons également les résultats de l'indice de contractilité dP/dT_{max} (c'est à dire la valeur maximale de la première dérivée de la pression du ventricule gauche selon le temps, exprimée en mmHg/sec) sur base de la valeur moyenne de 3 cycles cardiaques, en apnée, enregistrés avant toute décroissance de la précharge, à chaque étape de mesures de l'expérience [60].

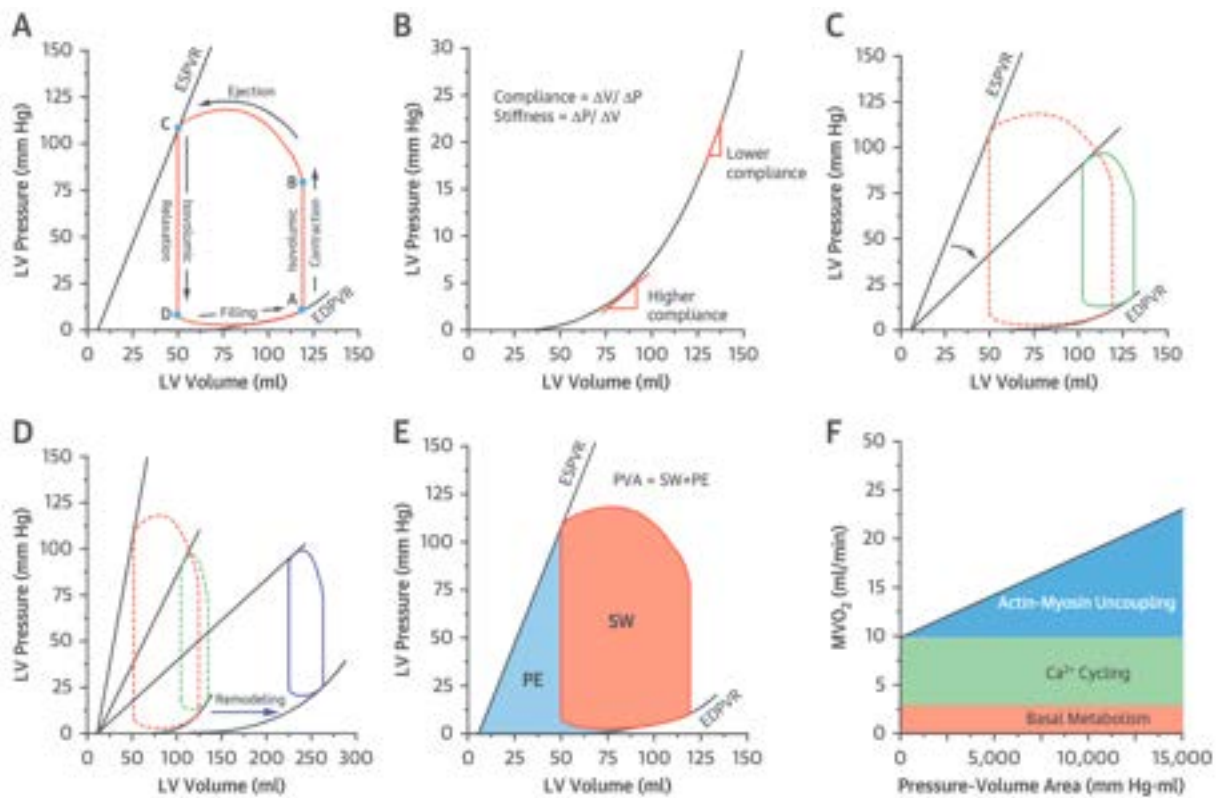


Figure 22 : Boucles pression-volume du ventricule gauche lors de l'infarctus aigu du myocarde et de la décharge. *Uriel, N. et al. J Am Coll Cardiol 72, 569-580 (2018).*

(A) La boucle pression-volume (PV) du VG est délimitée par la relation pression-volume télé-systolique (ESPVR) et la relation pression-volume télédiastolique (EDPVR). Le point A représente la fermeture de la valve mitrale et le début de la contraction iso-volumique. Le point B représente l'ouverture de la valve aortique et le début de l'éjection systolique. Le point C représente la fermeture de la valve aortique et le début de la relaxation iso-volumique. Le point D représente l'ouverture de la valve mitrale et le début de la période de remplissage diastolique.

(B) La compliance ventriculaire (propriétés passives) est déterminée par la pente de l'EDPVR et diminue avec l'augmentation des pressions de remplissage.

(C) Après un infarctus aigu du myocarde, la contractilité cardiaque est réduite et la pente ESPVR est réduite. La boucle PV montre une réduction de la pression générée et une diminution du volume d'éjection systolique (boucle verte).

(D) À la suite d'une lésion myocardique, le remodelage ventriculaire entraîne un

déplacement vers la droite de l'EDPVR et vers le bas de l'ESPVR, provoquant un élargissement du VG et une diminution de la contractilité du VG (boucle bleue). (E) Le travail mécanique du VG est composé du « travail de course » ou stroke work (SW) et de l'énergie potentielle (PE). La surface pression-volume (PVA) est la somme du SW et du PE et représente le travail mécanique total du cœur par battement. (F) La consommation d'oxygène du myocarde (MVO₂) est composée du métabolisme basal, du cycle du calcium (Ca²⁺) et du travail mécanique. La MVO₂ est directement corrélé au PVA.

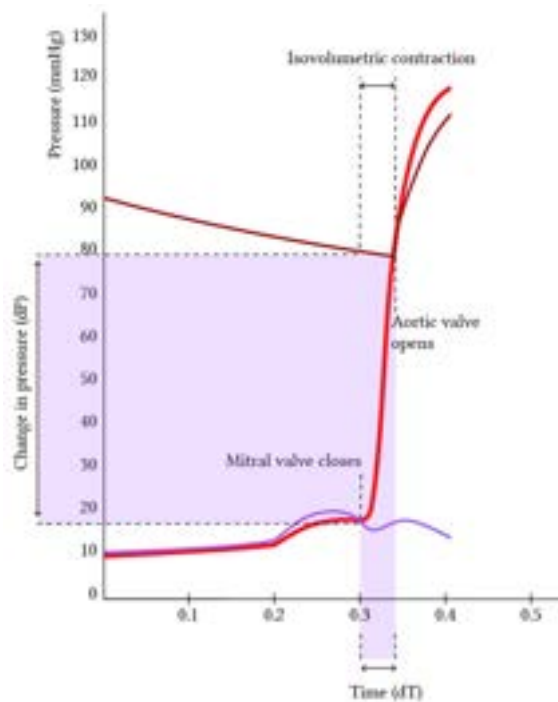


Figure 23 : L'indice dP/dT_{max} comme mesure de la contractilité myocardique. La contractilité est la variation de la force isométrique maximale (pression isovolumique) à une longueur de fibre initiale donnée (volume télédiastolique). Les déterminants physiologiques de la contractilité comprennent : la précharge (son augmentation augmente la force de contraction), la postcharge (son augmentation augmente la force de contraction via une augmentation du volume télé-systolique et par conséquent un étirement du sarcomère, effet Anrep) et la fréquence cardiaque (son augmentation augmente la force de contraction via un

défaut d'élimination du calcium intracellulaire, effet Bowditch). Dans une mesure moindre, la contractilité dépend également de la concentration de calcium intracellulaire dans les myocytes (catécholamines, disponibilité de l'ATP, calcium extracellulaire) et de la température. Les indices de contractilité sont : l'ESPVR, qui décrit la pression maximale pouvant être développée par le ventricule à un volume donné (sa pente augmente avec l'augmentation de la contractilité) et le dP/dT_{max} (ou $\Delta P/\Delta T_{max}$), variation de pression par unité de temps. Plus précisément, il s'agit de la vitesse maximale de variation de la pression ventriculaire gauche pendant la période de contraction iso-volumétrique. Ce paramètre est dépendant de la précharge. *www.derangedphysiology.com*

2.1.8. Échographie cardiaque transthoracique et sous-diaphragmatique

À l'aide d'un appareil E90 (GE Healthcare), une échocardiographie transthoracique et sous-diaphragmatique est réalisée à chaque étape de mesure. En raison de limites inhérentes à l'utilisation de la fraction d'éjection du ventricule gauche (FEVG) comme seul marqueur de la fonction ventriculaire (absence de valeur pronostique au-delà de 45%, variabilité intra- et inter-observateur, cas d'insuffisance cardiaque à FEVG préservée, non-identification de zones d'anomalie de cinétique et difficulté d'interprétation en cas de valeurs extrêmes de fréquence cardiaque ou d'insuffisance mitrale [61, 62]), nous avons réalisé une évaluation de l'index de travail myocardique grâce à la technique du « 2D Speckle Tracking ».

L'imagerie du strain myocardique (déformation du tissu) est un outil de quantification précis de la fonction et de la contractilité myocardique, apparu il y a une dizaine d'années [63]. Cette technique applique l'analyse du mouvement myocardique par « tracking des speckles » (marqueurs acoustiques naturels) au sein de l'image ultrasonique en 2D pour calculer les paramètres de mouvement et de déformation dans les trois axes (longitudinal, radial et circonférentiel) et

fournissant ainsi une évaluation complète de la fonction cardiaque. Cela est d'autant plus pertinent que la contraction myocardique est un phénomène complexe associant épaisseur, raccourcissement et torsion (ou twist) qui va au-delà de la simple déformation radiale (principe sur laquelle repose la mesure de la FEVG). Ces marqueurs, statistiquement répartis de façon égale au sein du myocarde et d'une taille comprise entre 20 et 40 pixels, sont identifiés et suivis au cours d'un certain nombre d'images consécutives. Leur déplacement géométrique représente le mouvement tissulaire local.

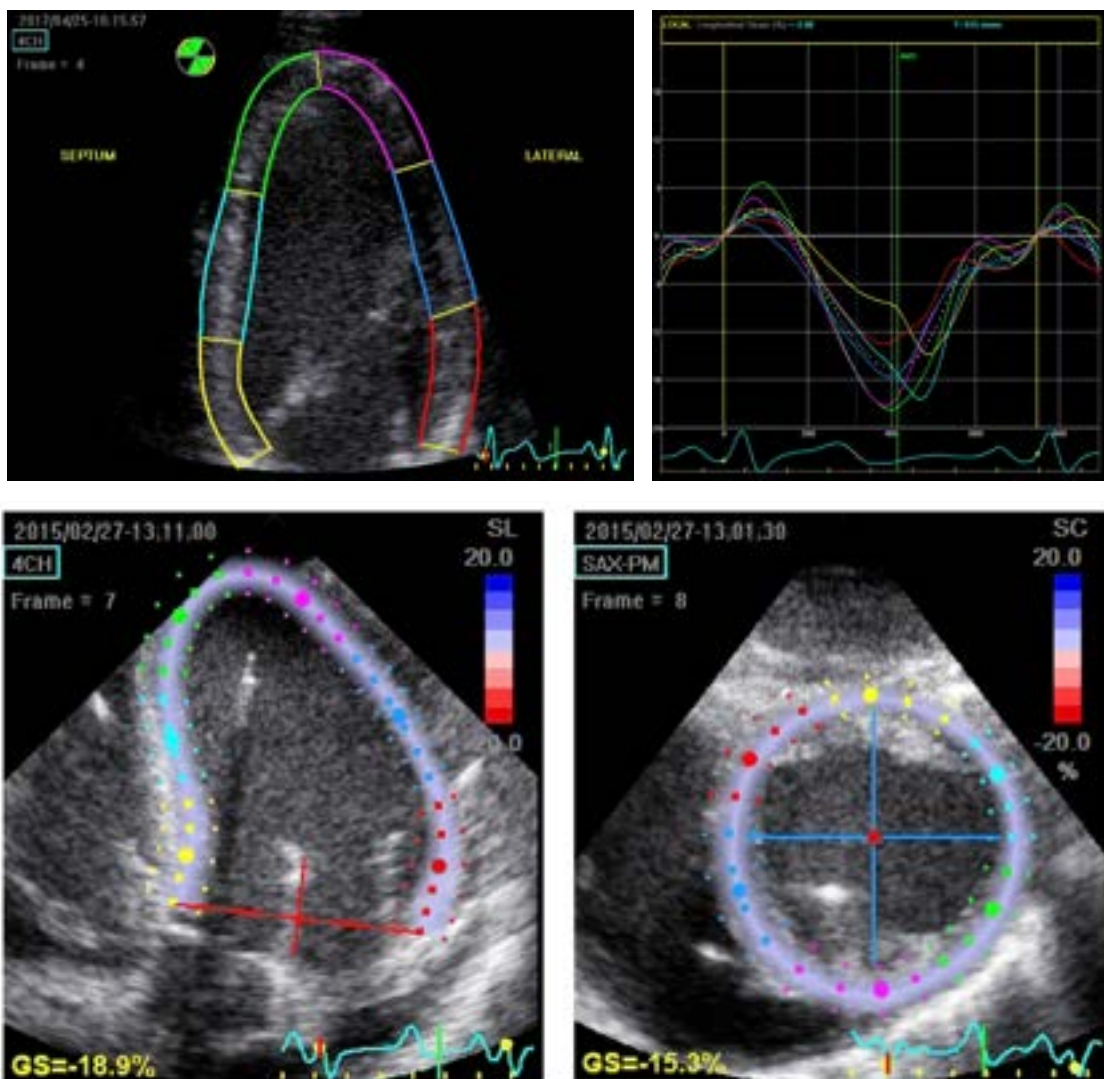


Figure 24 : Technique du « 2D Speckle Tracking ». Le myocarde est divisé en 6 segments codés en couleur. Chaque courbe colorée représente le strain longitudinal moyen au niveau d'un segment myocardique.

2.1.9. Analyse de l'onde de pouls

La technologie Sphygmocor (AtCor Medical) est le gold-standard pour la mesure non invasive (tonométrie par aplanation) de la pression artérielle centrale (*pulse wave analysis*, PWA) et de la vitesse de l'onde de pouls (*pulse wave velocity*, PWV). À l'aide de l'enregistrement de la forme de l'onde de pouls radial, le logiciel permet, via une fonction de transfert, de rapporter des données vitales de la pression artérielle centrale : pression artérielle de l'aorte ascendante, pression d'augmentation (*aortic augmentation pressure*, AP), index d'augmentation (*augmentation index*, Aix (quotient entre la pression d'augmentation et la pression pulsée), durée d'éjection et le rapport de viabilité sous-endocardique (indice de Buckberg). De plus, la mesure de la vitesse de l'onde pouls est une technique bien établie pour obtenir une mesure de la rigidité artérielle.

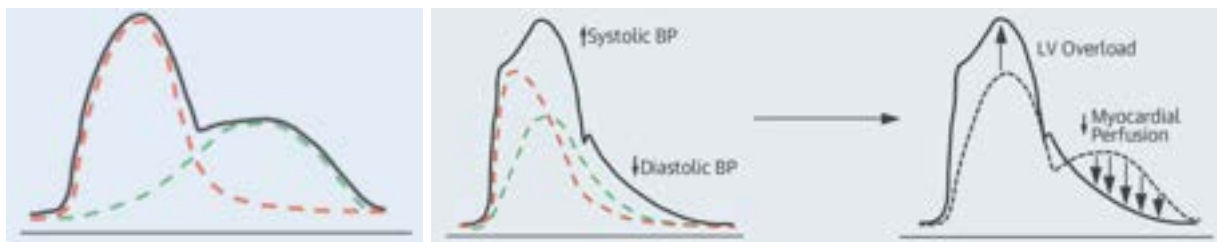


Figure 25 : Onde de pouls. Les courbes de pression aortique sont le résultat de la sommation de deux ondes différentes : une onde antérograde (provenant du cœur lors de l'éjection, rouge) et une onde rétrograde (réfléchie vers le cœur, vert). Normalement, lorsqu'il existe un couplage ventriculo-artériel physiologique, l'onde de pouls réfléchie retourne au ventricule gauche en diastole et sert à augmenter la perfusion coronarienne. Lors de situations pathologiques, avec une fréquence cardiaque anormale, l'onde de pouls réfléchie peut revenir pendant la systole ventriculaire. L'inadéquation qui en résulte augmentera la pression systolique centrale et diminuera la pression diastolique. En résulte, une surcharge ventriculaire gauche et une diminution de la perfusion myocardique. *Messerli, F.H. et al. J Am Coll Cardiol. 2016;68(7):754-62*

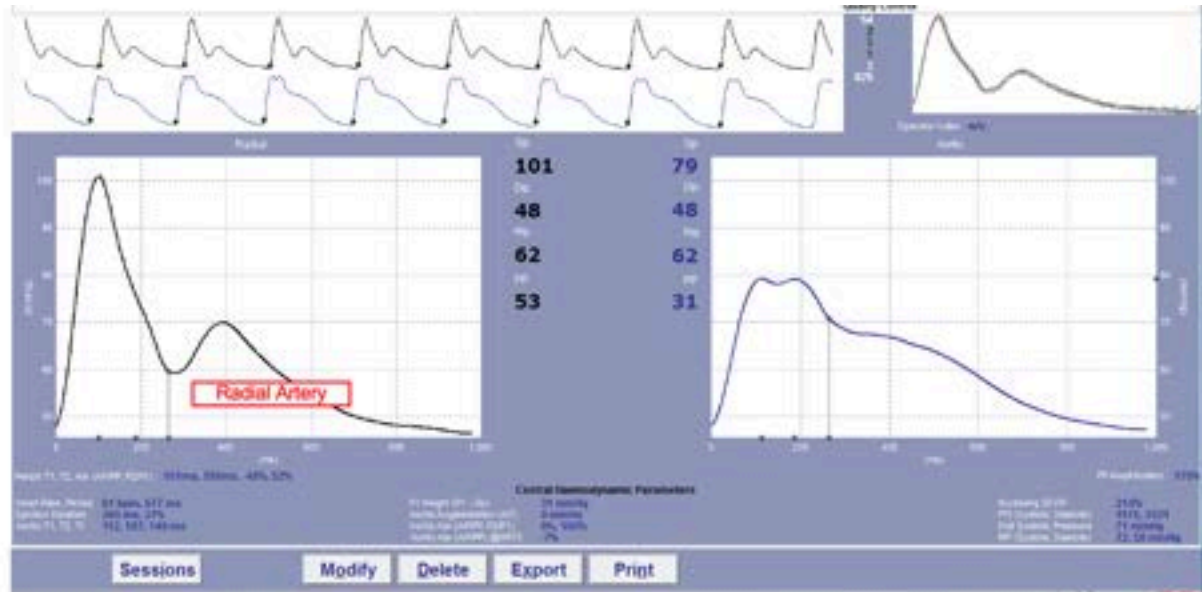


Figure 26 : Illustration d'enregistrement de l'onde de pouls radial par Sphygmocor (AtCor Medical).

2.1.10. Évaluation de la taille de l'infarctus du myocarde

Au cours des 2 dernières décennies, la résonance magnétique cardiaque (*cardiac magnetic resonance*, CMR) s'est imposée comme la technique de référence pour la caractérisation non invasive du tissu myocardique. De plus, les indices basés sur la CMR sont de plus en plus utilisés comme paramètres de substitution dans les essais translationnels et cliniques testant les thérapies cardioprotectrices [64].

Le rehaussement tardif au gadolinium (*late gadolinium enhancement*, LGE) pondéré en T1 a clairement été établi comme le meilleur substitut pour la taille de l'infarctus. Après administration intraveineuse de gadolinium, l'agent de contraste perfuse localement à travers les capillaires myocardiques et diffuse dans le compartiment interstitiel. Dans le myocarde normal, le gadolinium s'élimine rapidement et il n'y a pas de prise de contraste (le voxel apparaît en noir). La rupture des paroi cellulaires des cellules myocardiques lésées augmente ce volume interstitiel, ce qui réduit son taux de lavage, et entraîne une augmentation de la concentration de produit de contraste par rapport au tissu sain ; ainsi la zone infarctée apparaît en hypersignal sur l'imagerie T1 (voxels « brillants »).

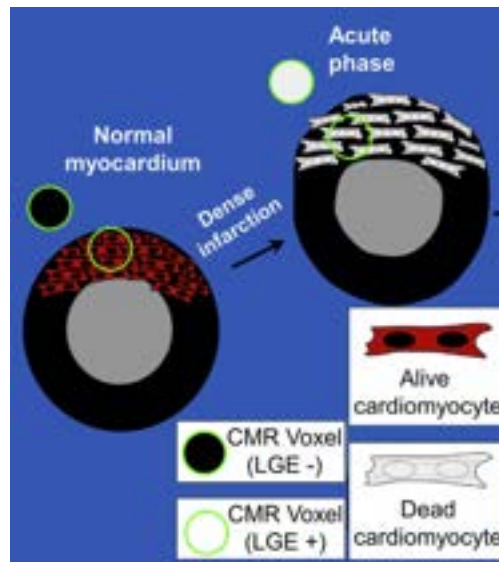


Figure 27 : Résonance magnétique cardiaque (CMR) et notion de rehaussement tardif au gadolinium (LGE). *Ibanez, B. et al. J Am Coll Cardiol 74, 238-56 (2019).*

Lors de l'évaluation par CMR du myocarde après ischémie-reperfusion, les caractéristiques d'imagerie du myocarde infarci peuvent subir d'importants changements. Au cours de l'ischémie, un œdème intracellulaire se déclenche. La reperfusion, après une ischémie prolongée, entraîne elle la formation d'un œdème extracellulaire. Les fibres cardiaques sont alors « séparées » et il en résulte un gonflement du myocarde (augmentation de l'épaisseur). L'augmentation de la pression interstitielle qui dépasse alors la pression intravasculaire peut conduire à des obstructions micro-vasculaires (*microvascular obstructions*, MVO) [11]. Cet œdème lié à la reperfusion est significativement atténué en 24 heures. Au cours des jours suivant la reperfusion, des neutrophiles, macrophages et autres cellules inflammatoires infiltrent la région post-ischémique. On observe ainsi le remplacement progressif des débris de cardiomyocytes par du collagène et de la matrice extracellulaire. Cela entraîne une diminution significative de l'épaisseur myocardique. Ainsi la taille du myocarde apparemment « mort » peut évoluer avec le temps ; c'est la notion de remodelage post-infarctus, ô combien importante lors de l'interprétation des images LGE.

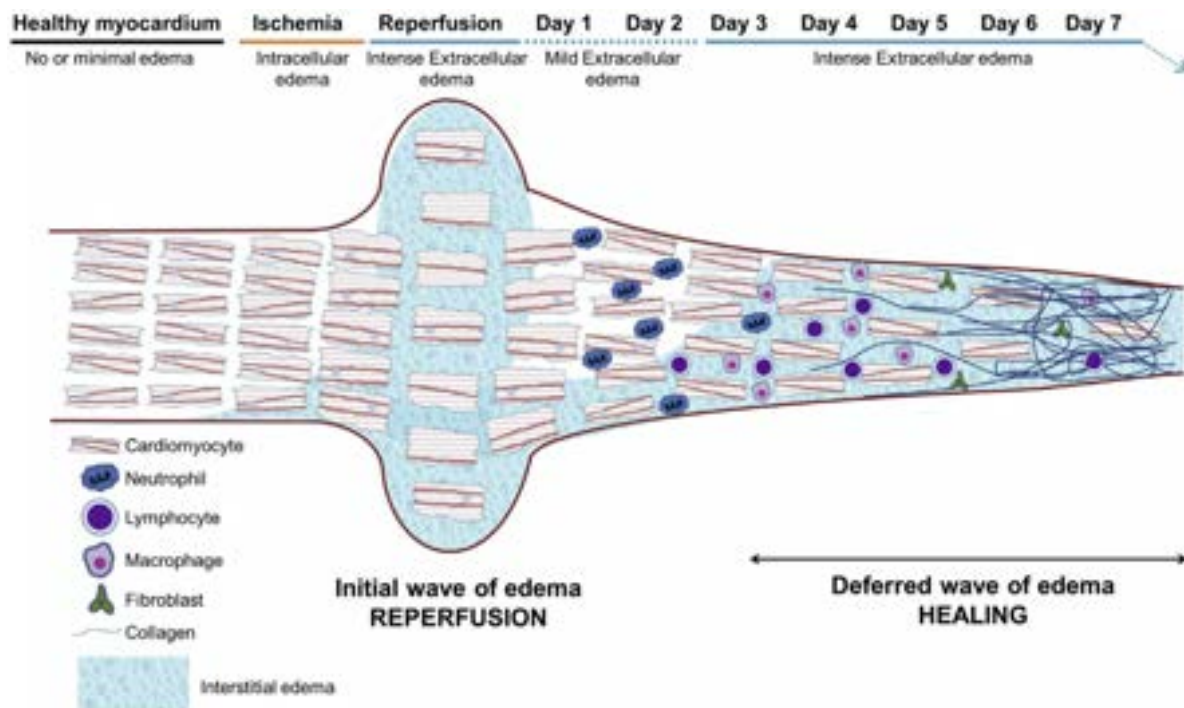


Figure 28 : Évolution dynamique de la composition tissulaire survenant après une ischémie-reperfusion. *Ibanez, B. et al. J Am Coll Cardiol 74, 238-56 (2019).*

Notre protocole d'imagerie par résonance magnétique cardiaque ex vivo (IRM 9.4T, Bruker Biospec) se déroule de la sorte. Avant l'euthanasie, un double marquage in-vivo est réalisé. Il consiste en une injection systémique de 40 ml de produit de contraste à base de Gadolinium (DOTAREM 0,5 mmol/ml) d'une part (marquage de la zone à risque), et d'une injection de 10 ml de microbilles ferromagnétiques (SPHERO™ Carboxyl Magnetic Particles, Spherotech Inc, USA) en intra-coronaire d'autre part (marquage de la zone non à risque). L'injection des microbilles est réalisée après inflation maximale de ballons d'angioplastie placés au même niveau que lors de la réalisation de l'infarctus.

Après euthanasie, le cœur est immédiatement plongé dans un milieu de transport *ad hoc* (solution de sérum physiologique glacée) et mis dans une glacière de transport pour être acheminé jusqu'au campus Gosselies du CMMI (Centre de microscopie et d'imagerie moléculaire, Université Libre de Bruxelles).



Figure 29 : IRM Biospec 9,4T du CMMI

L'analyse des coupes d'IRM (environ 80 par spécimen) ainsi que la délimitation des zones d'intérêts est réalisé de manière semi-automatique à l'aide du logiciel Cvi42 (Circle Cardiovascular Imaging, v5.13) par deux chercheurs expérimentés et en aveugle de l'intervention.

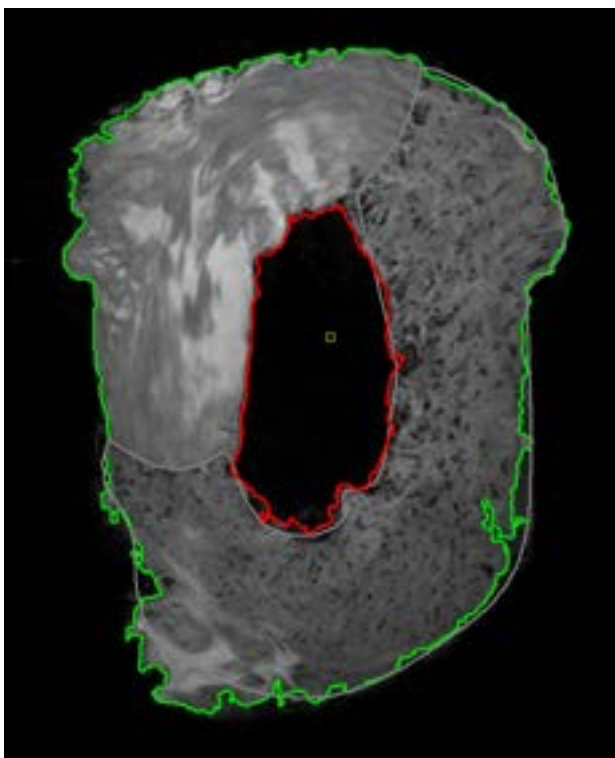


Figure 30 : Illustration d'une IRM de STEMI antérieur analysée à l'aide du logiciel Cvi42. Délimitation semi-automatique de l'endocarde (rouge), de l'épicarde (vert), de la zone à risque LGE+ (paroi antérieure et septum interventriculaire) en hypersignal (gris) et de l'aire non à risque (paroi latérale et postérieure du VG) délimitée par les microbilles.

2.1.11. Étude la perfusion myocardique

Afin d'étudier la perfusion myocardique (*regional myocardial blood flow*, MBF), nous avons recours à une imagerie nucléaire par SPECT et PET/CT (Bioscan) cardiaque ex vivo après injection de microsphères d'albumine (3M Company) marquées au Technétium-99 métastable sestamibi (Curium). L'injection des 5 ml de préparation (ne dépassant pas le seuil autorisé de 200 MBq) est réalisé au niveau de l'apex du VG (cathéter multi-perforé de type « Pigtail » de 4-6F) en 20 secondes. Notre technique de calibration des microsphères et de comptage de la radioactivité développée avec l'équipe du Professeur Serge Goldman (Service de Médecine Nucléaire, ULB) est semblable à celle décrite dans les articles princeps des années 1970 [65-67]. Immédiatement avant l'injection des microsphères et jusqu'à 90 secondes après, des prélèvements sanguins à débit constant (14,5 ml/min) sont réalisés via le cathéter artériel fémoral, à l'aide de pompes Harvard (Harvard Apparatus, France). Le flux sanguin myocardique est calculé selon l'équation suivante : $MBF = Q_r \times (C_m/C_r)$, où Q_r représente le débit du prélèvement sanguin artériel (en ml/min), C_m la radioactivité par gramme de tissu myocardique (endo- et épicarde) et C_r la radioactivité du prélèvement sanguin de référence. Le débit cardiaque est lui estimé selon la formule suivante : $CO = Q_r \times (C_i/C_r)$, où C_i représente la radioactivité totale injectée dans le VG.

Le SIPP (Service Interne pour la Protection et la Prévention au Travail) de l'hôpital Erasme a donné son accord concernant les aspects de radioprotection. La demi-vie de l'isotope étant assez courte (6h), l'élément est complètement éliminé en 60 heures. Dans le cas du Tc99m, l'activité étant inférieure à 10 MBq et le débit de dose inférieur à 5 μ Sv/h au contact (et 0,5 μ Sv/h à 1 mètre), on se retrouve en colis « exempté » et il n'est pas nécessaire de prévoir de transporteur agréé. Des précautions sont néanmoins nécessaires : récipient hermétiquement fermé, portant la mention « UN 2910 MATIÈRES RADIOACTIVES », transport signalé au SIPP,

mesure de l'activité sur place (activimètre) et document attestant que l'activité transportée est exemptée (et non pas exceptée) de transporteur agréé.



Figure 31 : NanoSPECT à gauche de l'image et NanoPET/CT (Bioscan) à droite du CMMI

2.1.12. Acquisition des données

Toutes les données analogiques mentionnées précédemment sont digitalisées puis enregistrées à haute résolution temporelle ($\geq 5000\text{Hz}$) via le logiciel d'acquisition NOTOCORD-hem 4.4.0.2 (NOTOCORD, France). Chaque mesure de pression est calibrée au début de l'expérience, avec la réalisation du zéro atmosphérique. Le débit cardiaque est monitoré en continu via le cathéter de Swan-Ganz (CCO Monitoring continue Vigilance 2^{ème} génération, Edwards Lifesciences, États-Unis).

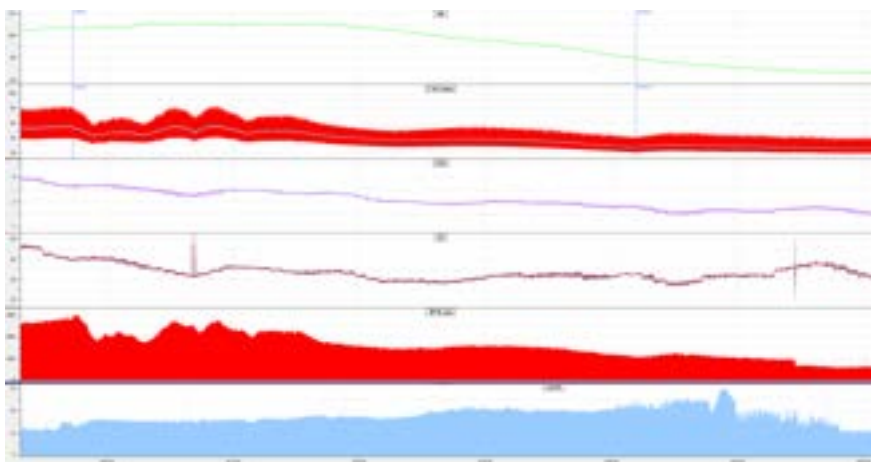


Figure 32 : Données hémodynamiques issues du logiciel d'acquisition NOTOCORD.

Les gaz du sang artériels et veineux sont analysés sur place (Cobas b 123, Roche Diagnostics, Allemagne). Des prélèvements sanguins systémiques et au niveau du sinus coronaire (plasma dans tubes 6 ml EDTA et 4 ml Héparine, et sérum dans tubes secs 4 ml) sont recueillis dans des tubes Eppendorf de 1 ml après centrifugation puis congelés à -20°C en vue d'analyses ultérieures (agents pro-inflammatoires type alarmines et cytokines, réponse immunitaire, substrats énergétiques cardiaque et troponine hypersensible pour ne citer qu'eux). Des échantillons urinaires sont eux aussi recueillis à chaque time point.

2.1.13. Déroulé du protocole (cf. Annexe 1)

L'instrumentation et la chirurgie étaient suivis d'une période de stabilisation de 2 heures. Les différentes étapes de mesures (« time-points ») étaient les suivantes :

- Mesures basales à « **BL** » (baseline)
- Début du choc cardiogénique (après 90 minutes de reperfusion) à « **T2** »
- Mesures finales (après 4h de latence) à « **T3** »

Chaque étape de mesures comportait l'enregistrement des données suivantes :

- Paramètres cardiaques : fréquence cardiaque, pression artérielle (systolique, diastolique et moyenne, au niveau du cathéter liquidien de l'artère radiale), pression artérielle pulmonaire (systolique, diastolique et moyenne), débit cardiaque total, saturation veineuse en oxygène (SvO₂), pression de remplissage du cœur droit (PVC) (cf. **Annexe 2**)
- Mesure de la variation de la pression pulsée (VPP) artérielle (sur le cathéter artériel fémoral haute-fidélité) selon la formule : $VPP = (PP_{max} - PP_{min}) / ((PP_{max} + PP_{min}) / 2)$ et avec un objectif de $VPP \leq 13\%$ au cours du choc cardiogénique (soit un état de remplissage optimal)
- Biologie sanguine (artérielle et sinus coronaire) et urinaire (cf. **Annexe 3**)

- Gazométrie artérielle et veineuse centrale : pH, PaO₂, PaCO₂, HCO₃, lactatémie, saturation veineuse en oxygène (SvO₂), gradient veino-artériel en CO₂ (différence PaCO₂-PvCO₂), glycémie
- Échocardiographie transthoracique et sous-diaphragmatique
- Courbes de Pression-Volume du ventricule gauche
- Analyse de la microcirculation iléale
- Analyse de l'onde de pouls (au niveau aortique, fémoral et radial)

La randomisation affectera l'animal à l'un de ces groupes :

- **Groupe 1 – Contrôle** : 120 min d'ischémie suivie d'une reperfusion immédiate. Traitement pharmacologique standard avec perfusion de Noradrénaline pour maintenir une pression artérielle moyenne supérieure ou égale à 65 mmHg et une saturation veineuse en oxygène supérieure à 60%.
- **Groupe 2 - Impella® précoce** : insertion préliminaire d'Impella®. Début de l'ischémie myocardique. Activation de l'Impella® à 90 min d'ischémie, soit 30 min avant reperfusion à 120 min. Support Impella® jusqu'à la fin de l'expérience (sans perfusion de catécholamines).

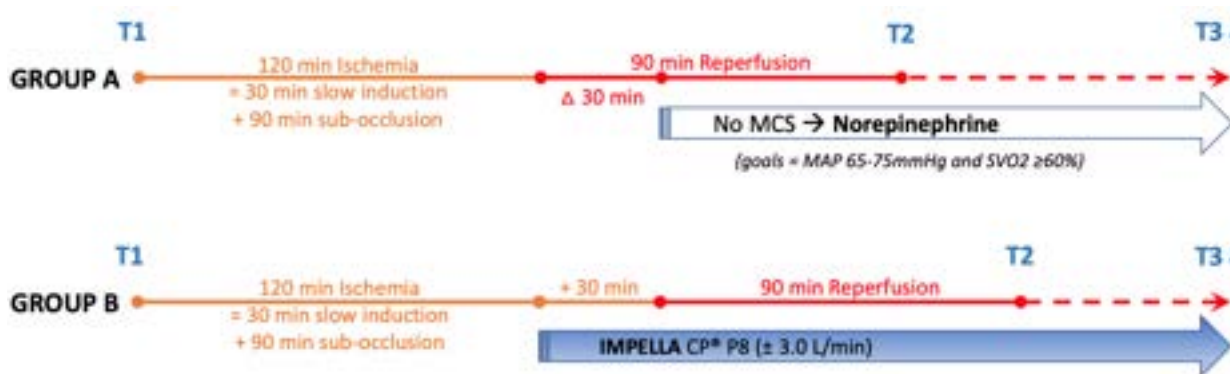


Figure 33 : Protocole expérimental.

2.1.14. Taille des groupes de l'étude

En tant qu'expérience préliminaire translationnelle, aucun calcul de puissance ne semble envisageable. En effet, il n'existe actuellement aucune autre étude animale antérieure de ce type permettant d'évaluer précisément la taille de l'échantillon nécessaire dans chaque sous-groupe pour atteindre une puissance statistique suffisante. Cet avis est confirmé par le Professeur Christian Melot, responsable du cours de statistiques de la FSTAL. D'un autre côté, notre expérience locale et les publications d'autres groupes travaillant sur des modèles similaires, nous laissent penser que 6 animaux par groupes sont suffisants.

Même en prenant en compte les animaux pilotes utilisés au développement du modèle, l'agrément éthique (45 spécimens) couvre très largement le nombre d'animaux utilisés.

2.1.15. Autopsie

Immédiatement après l'euthanasie (administration de 40 mEq de Potassium IV), une autopsie est effectuée avec les prélèvements suivants : artère radiale, fémorale, rénale, pulmonaire, interventriculaire antérieure, thoracique descendante, paroi libre du ventricule gauche et du ventricule droit, lobe pulmonaire moyen, iléon, rein et foie. Les prélèvements cardiaque, réalisés à l'aide d'une aiguille de biopsie de moelle osseuse (Jamshidi™, Cardinal Health), consistent en « carottes » d'1 cm³ dans les zones à risque (paroi antérieure) et non à risque (base de la paroi latérale) du ventricule gauche et au niveau de la paroi libre du ventricule droit. Une biobanque a été créée en lien avec le Laboratoire de Physiologie de l'ULB (Dr Dewachter). Les prélèvements sont stockés sous 3 formes pour analyses ultérieures : dans une solution de stabilisation de l'ARN (RNA-later, Merck, Allemagne), congelés à -80°C (*Flash Frozen*, FF) et fixés en formol puis paraffine (*Formaline-fixed Paraffin-embedded*, FFPE) (cf. **Annexe 3**).

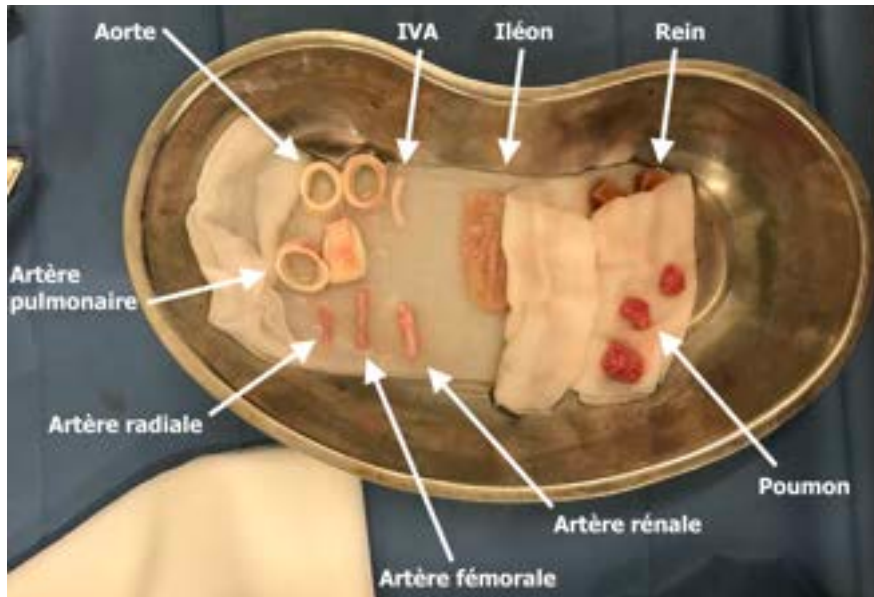


Figure 34 : Prélèvements histologiques.



Figure 35 : Spécimen cardiaque (VG) après dissection et biopsies myocardiques (à gauche). 3 modes de conservation pour les prélèvements : tubes à essais remplis de solution de RNA-later, pot de 20 ml FFPE et papier aluminium pour FF.

2.1.16. Statistiques

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne, avec expression des valeurs extrêmes (minimum et maximum) pour chaque variable. Les variances ont été analysées à l'aide du logiciel GraphPad (V1.1.9) selon analyses de variance ANOVA, avec correction de Bonferroni pour les analyses multiples. $P < 0,05$ est considéré comme significatif.

3. Résultats

Vingt-quatre expériences ont été réalisées entre novembre 2020 et août 2021. La mise au point du modèle de choc cardiogénique par double sub-occlusion coronaire critique, lui-même basé sur le modèle de STEMI antérieur par sub-occlusion critique de l'IVA proximale (*Pitisci, L et al., under reviewing*), a nécessité huit expériences pilotes (technique de sub-occlusion avec deux ballons d'angioplastie et deux introducteurs coronaires, modification des « timepoints », arrêt de la mesure continue du flux coronaire au-delà de la période d'ischémie, ajout de Lidocaïne lors de la période d'ischémie). Huit expériences ont été exclues de l'analyse en raison d'une trop grande sévérité du modèle pour deux d'entre-eux (décès de l'animal quelques minutes après la reperfusion, justifiant l'introduction par la suite de Noradrénaline dans le groupe contrôle) ; de l'absence de RACS malgré deux CEE lors de la survenue d'une fibrillation ventriculaire per-ischémie pour deux d'entre eux ; d'un choc hémorragique non-contrôlé lors de la mise en place de l'Impella par voie axillaire ; d'une rupture de ballon de VCI lors de la réalisation des boucles de pression-volume lors du T2 (embolie gazeuse massive) ; d'une poussée d'hypertension artérielle sévère lors de l'insertion du ballon de VCI (stérilité du matériel compromise) ; et d'un décès survenu au cours de la coronarographie finale (dissection de l'artère coronaire droite lors de la mise en place de l'introducteur coronaire).

Les résultats préliminaires sont les suivants : six expériences ont été effectuées sans assistance circulatoire mécanique (groupe contrôle) et deux expériences ont été effectuées avec assistance circulatoire mécanique (groupe intervention).

En raison d'une panne survenue sur les machines d'IRM (9.4T, Bruker Biospec) et de NanoSPECT (Bioscan), seul le premier animal inclus a pu bénéficier d'une investigation par imagerie à ce jour. Les cinq expérimentations suivantes ont été réalisées à des fins principalement hémodynamiques, biologiques et anatomopathologiques. Le 25/08, et devant le coût très important de ces

expérimentations, nous avons décidé de suspendre les expérimentations après l'inclusion de 6 animaux et ce jusqu'à réparation complète du matériel du CCMI.

Le poids médian est à 47,8 (40-57) kg (group contrôle) contre 50,5 (48-53) kg (groupe Impella), (p=0,3949).

3.1. Hémodynamique globale

Les caractéristiques hémodynamiques globales sont détaillées dans le **tableau 1** et la **figure 36**.

		BL		T2 (90 min of reperfusion)		T3 (6,5 hours of reperfusion)	
FC, bpm	Contrôle	95,3	85 - 108	153,7	139 - 168	179,5	165 - 194
	Impella	90,5	88 - 93	121,0	117 - 125	119,5	116 - 123
PAM, mmHg	Contrôle	73,3	67 - 82	70,7	67 - 74	65,5	65 - 66
	Impella	81,0	71 - 91	75,5	72 - 79	77	73 - 81
DC, L/min	Contrôle	5,2	4,6 - 6,8	6,0	4,6 - 8,8	6,1	3,9 - 8,2
	Impella	6,8	6,2 - 7,3	4,3	3,9 - 4,6	4,2	4 - 4,4
VES, mmHg	Contrôle	55,8	45 - 80	39,0	26 - 57	33	24 - 42
	Impella	74,5	69 - 80	35,0	32 - 38	35,5	31 - 40
POD, mmHg	Contrôle	10,5	9 - 12	10,0	9 - 11	10,5	10 - 11
	Impella	10,5	9 - 12	11,5	10 - 13	12,5	11 - 14
PAPs, mmHg	Contrôle	33,5	29 - 40	50,0	47 - 53	39,5	38 - 41
	Impella	32,0	29 - 35	52,5	50 - 55	51,5	49 - 54
SVO2, %	Contrôle	58,5	56 - 63	64,5	53,5 - 75,1	63,1	50,8 - 75,4
	Impella	64,5	56 - 73	66,1	59,5 - 72,7	66,8	60,1 - 73,5
ΔPCO2, mmHg	Contrôle	7,5	5,9 - 9	7,1	6 - 8,2	8,6	7 - 10,2
	Impella	8,0	7 - 9	7,4	5,5 - 9,2	7,2	5,9 - 8,4
DO2, mL/min	Contrôle	599,3	514 - 777	948,3	674 - 1397	942	571 - 1313
	Impella	617,0	599 - 635	908,6	700,2 - 1117	973,9	743,8 - 1204

Tableau 1 : Caractéristiques hémodynamiques globales. FC : fréquence cardiaque, PAM : pression artérielle moyenne (fémorale), DC : débit cardiaque, VES : volume d'éjection systolique, POD : pression de l'oreillette droite, PAPs : pression artérielle pulmonaire systolique, SVO2 : saturation veineuse en oxygène, PCO2 : pression partielle en dioxyde de carbone, DO2 : délivrance en oxygène.

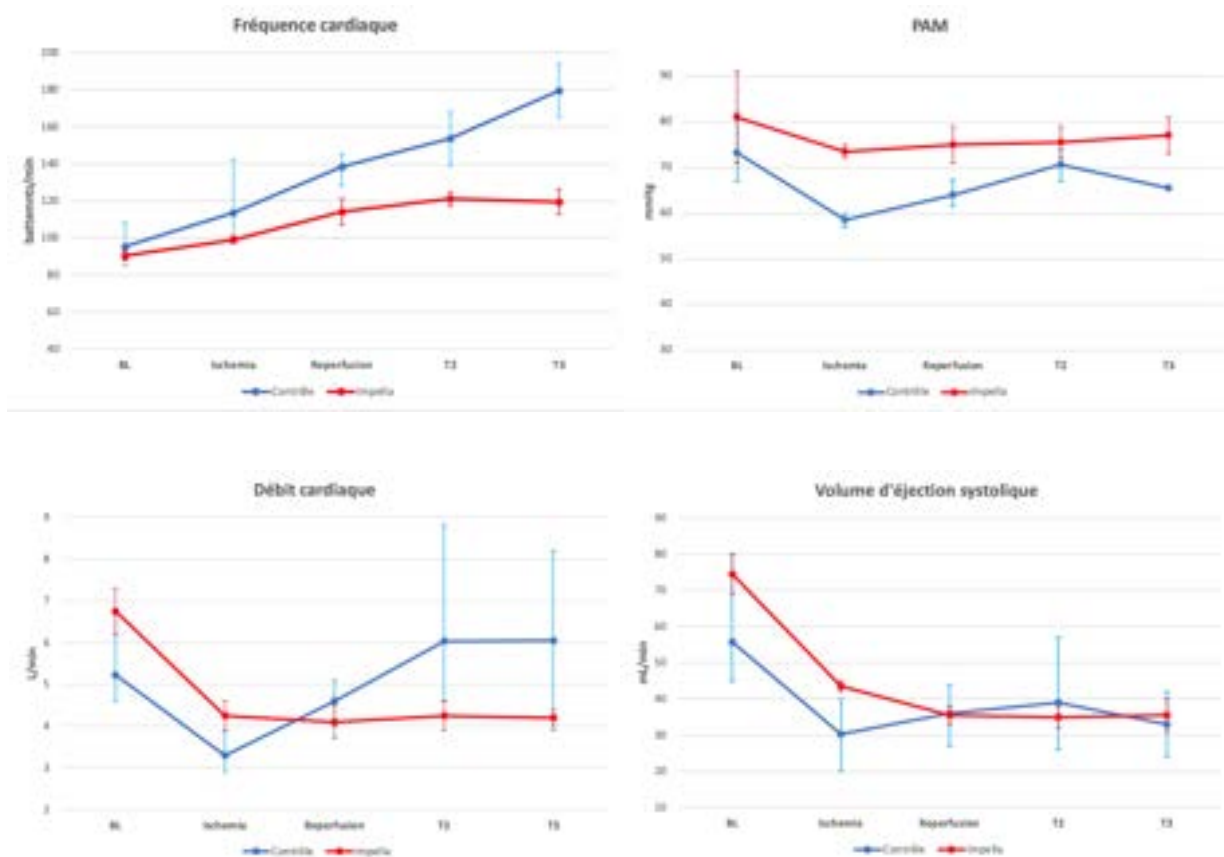


Figure 36 : Profils évolutifs de la fréquence cardiaque, de la pression artérielle moyenne, du débit cardiaque et du volume d'éjection systolique au cours du temps.

Entre le baseline et la fin de la période d'ischémie, le débit cardiaque chute de 35% (5,7 (4,6-7,3) L/min (BL) vs. 3,7 (2,9-4,6) L/min (120 min d'ischémie) ($p < 0,05$)), la SVO₂ de 30% (57 (56-73) % (BL) vs. 40,1 (38,2-43,2) % (120 min d'ischémie) ($p < 0,05$)) et la PAM de 23% (75,8 (67-91) mmHg (BL) vs. 58,5 (57-60) mmHg (120 min d'ischémie) ($p = 0,0812$)). Le delta PCO₂ passe de 8 (5,9-9) mmHg (BL) à 12,8 (11-14) mmHg (120 min d'ischémie) et subit donc une augmentation de 60% ($p < 0,05$).

Concernant le bilan hydrique, les données sur la gestion de la volémie sont montrées dans le **tableau 3**. La balance hydrique positive entre l'anesthésie générale et le time point T3 est à 4821 (4380-5262) ml dans le groupe contrôle contre 4675 (4550-4800) ml dans le groupe Impella ($p = 0,7245$)

	B1		T2 (90 min of reperfusion)		T3 (6,5 hours of reperfusion)	
	Contrôle	Impella	Contrôle	Impella	Contrôle	Impella
PPV	8,25 (7-10)	7,5 (7-8)	7 (5-9)	7 (6-8)	27 (23-30)	15 (13-17)
Apports hydriques, ml	2500 (2000-2900)	2650 (2300-3000)	2650 (2130-3237)	2325 (2050-2600)	1510 (1300-1720)	2200 (1950-2450)
Diurèse, ml	1050 (690-1550)	1100 (850-1350)	430 (250-670)	700 (500-900)	170 (120-220)	725 (450-1000)
PAP0, mmHg	11,75 (11-12)	10 (9-11)	15 (11-19)	12 (10-14)	14,5 (12-17)	11,5 (11-12)

Tableau 2 : Bilan hydrique.

3.2. Analyse des débits cardiaques et d'assistance

Le débit systémique était évalué par le monitoring en continu (cathéter artériel pulmonaire de Swan Ganz) en phase non assisté, puis comme la somme du débit d'assistance et du débit natif du ventricule gauche (calculé par le produit du volume d'éjection systolique et de la fréquence cardiaque).

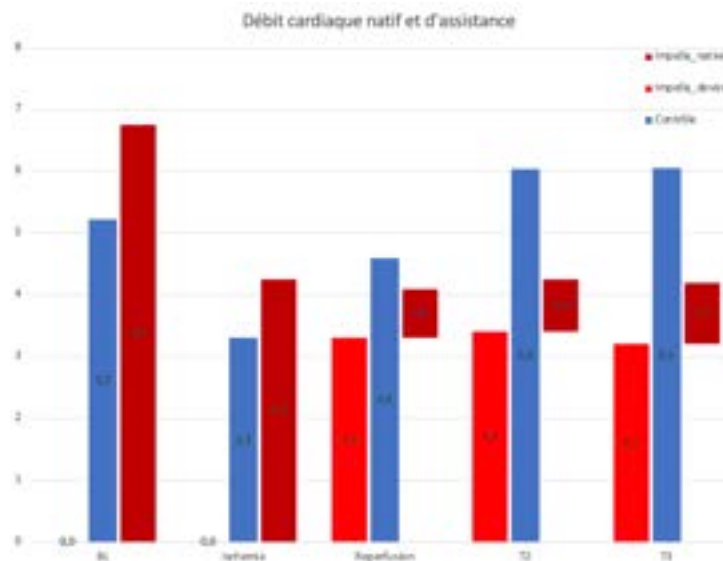


Figure 37 : Évolution du débit cardiaque.

Après démarrage de l'Impella, le débit cardiaque natif est réduit de 81,4% alors qu'il connaît une augmentation de 28,3% sous noradrénaline. En outre, on observe que cette différence tend à augmenter au fil du temps puisque dans le groupe Impella, le débit cardiaque natif reste constant alors qu'il continue d'augmenter dans le groupe contrôle.

3.3.Évolution des conditions de charge du ventricule gauche

L'analyse des courbes pressions-volumes montre que l'occlusion coronaire entraîne une diminution de la compliance ventriculaire. En conséquence, les pressions ventriculaires (PTDVG et PTSVG) et le volume télésystolique (VTSVG) augmentent alors que le volume télédiastolique (VTDVG) diminue. Cela provoque ainsi une diminution du volume d'éjection systolique et du débit cardiaque.

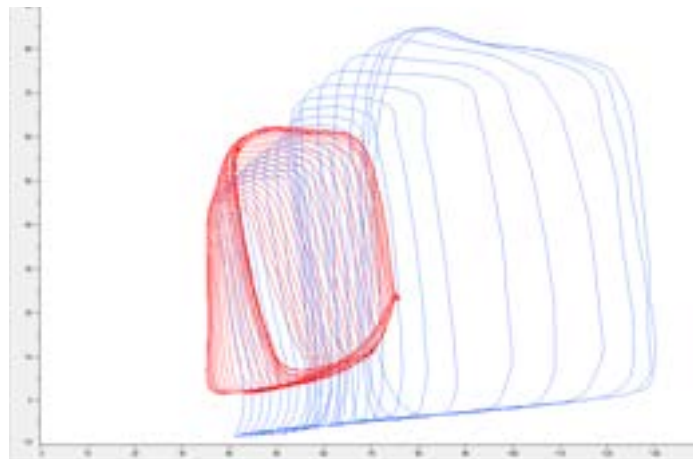


Figure 38 : Boucles pression-volume avant (bleu) et pendant (rouge/noir) l'occlusion coronaire.

L'ensemble de ces éléments est retrouvé lors de l'analyse des clichés échographiques.

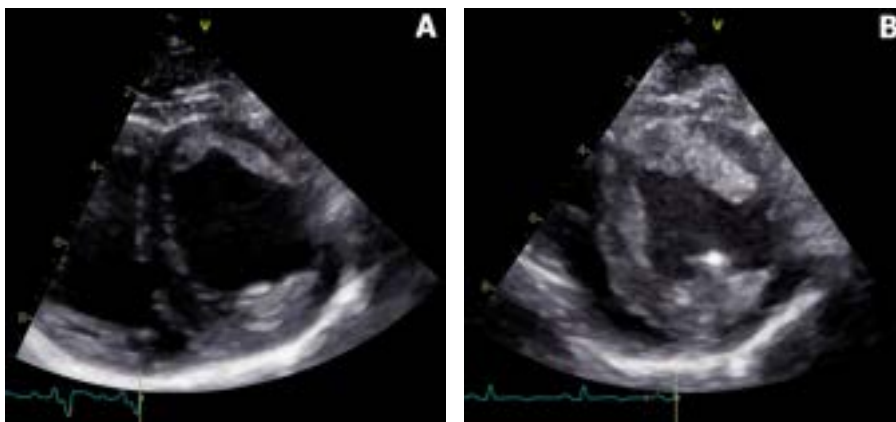


Figure 39 : Échocardiographie transthoracique. Coupe petit axe parasternale avant (A) et après infarctus (B). Œdème myocardique massif.

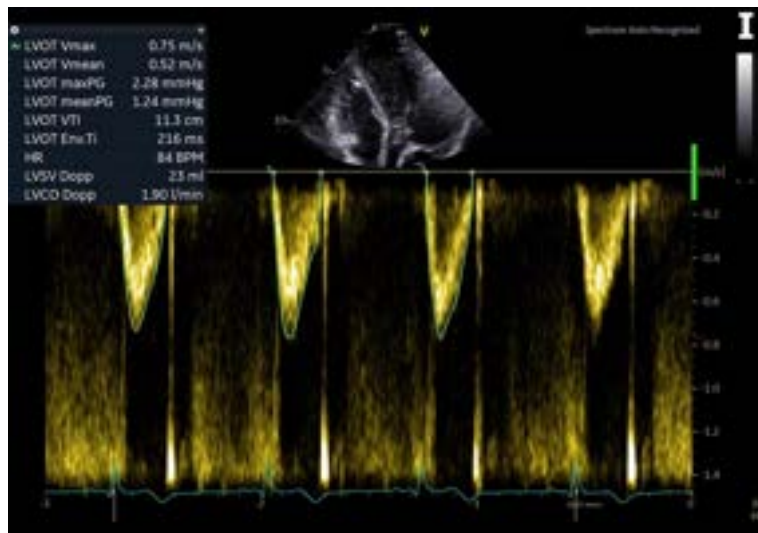


Figure 40 : Doppler pulsé au niveau de l’anneau aortique. Estimation du débit cardiaque à l’aide de l’intégrale temps-vitesse de l’éjection aortique (LVOT VTI).

Les valeurs de pression télédiastolique sont résumées dans la **figure 41**. Au cours de l’infarctus la congestion du ventricule gauche est multipliée par deux (12,5 (8-16) mmHg (BL) à 24,8 (16-30) mmHg (120 min d’ischémie) ($p < 0,05$)), sans que celle-ci ne se normalise après reperfusion (25 (16-32) mmHg (T2) ($p = 0,9234$)). L’utilisation de l’Impella permet de réduire de manière significative la PTDVG d’un facteur deux pour ainsi la normaliser (25,5 (25-26) mmHg (120 min d’ischémie) à 12,8 (12-13,5) mmHg (30 min de reperfusion) ($p < 0,05$)).

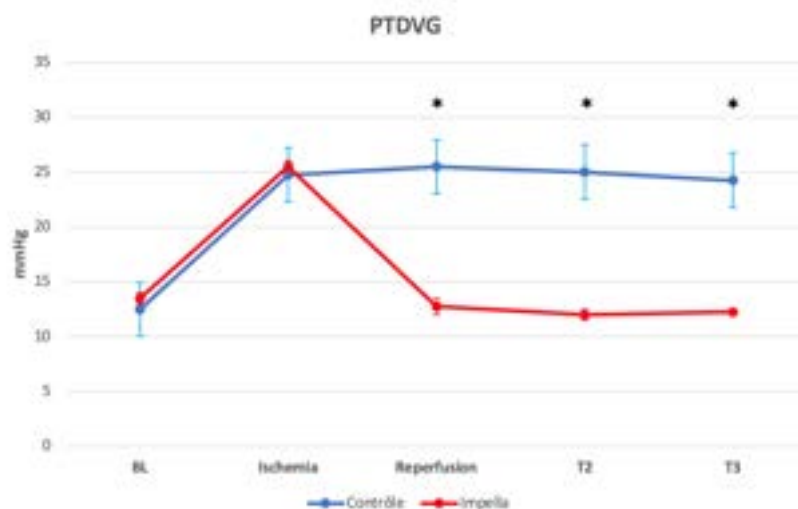


Figure 41 : Courbes pression/volume du ventricule gauche.

3.4. Estimation de la consommation myocardique en oxygène

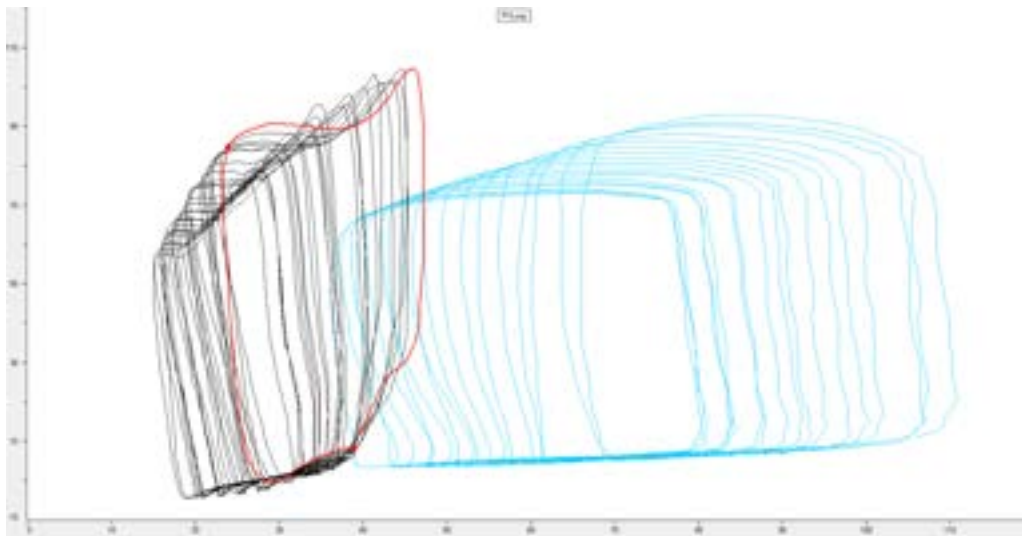


Figure 42 : Boucles pression-volume sans (bleu) et avec assistance (rouge/noir) circulatoire par Impella.

La **figure 42** illustre les effets du dispositif d'assistance Impella sur la boucle pression-volume. On observe que la boucle se déplace vers le bas et la gauche, réduisant ainsi le travail myocardique (aire PVA) et par conséquent la consommation myocardique en oxygène (MVO₂).



Figure 43 : Estimation de la consommation myocardique en oxygène.

Le produit de PVA et de la fréquence cardiaque, reflet de la MVO₂, diffère significativement entre les deux groupes (55,65 (51,4-58,7) mmHg*ml*min⁻¹ versus 31,07 (26-36,1) mmHg*ml*min⁻¹ (T3) (p<0,05)).

3.5. Contractilité cardiaque estimée par le $\Delta P/\Delta T_{max}$

Les valeurs du dP/dT_{max} sont résumées dans la **figure 44**. Au baseline, le dP/dT_{max} est à 2101,3 (1610-2671) dans le groupe contrôle versus 2201,5 (1590-2813) dans le groupe Impella ($p=0,7425$). L'administration de la noradrénaline s'accompagne d'une augmentation de la contractilité de 1113,5 (615-1518) mmHg/sec (reperfusion) à 2885 (2457-3312) mmHg/sec (T2) ($p<0,05$). L'utilisation de l'Impella permet une diminution du dP/dT_{max} (2934 (2587-3352) mmHg/sec vs. 2310 (1980-2640) mmHg/sec (T3) ($p=0,0506$).

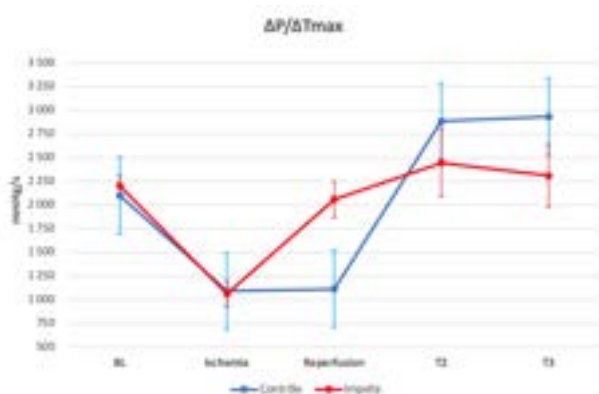


Figure 44 : Évolution du dP/dT_{max} au cours du temps.

3.6. Système respiratoire

Les données biologiques de l'analyse du système respiratoire sont montrées dans le **tableau 3**.

	BL		T2 (90 min of reperfusion)		T3 (6,5 hours of reperfusion)	
	Contrôle	Impella	Contrôle	Impella	Contrôle	Impella
pH	7,48 (7,47-7,51)	7,48 (7,45-7,50)	7,45 (7,42-7,47)	7,45 (7,40-7,49)	7,45 (7,42-7,47)	7,44 (7,40;7,48)
PaO ₂ , mmHg	100 (80-112)	107 (105-109)	96 (73-115)	102,5 (98-107)	131 (114-148)	114,5 (110-119)
PaCO ₂ , mmHg	48 (45-49)	47 (44-49)	45 (42-47)	44,5 (44-45)	44 (43-45)	46 (42-48)
HCO ₃ ⁻ , mmol/L	34,3 (32,7 - 37,1)	34,1 (31,3 - 36,8)	31,4 (29,9- 34,4)	31,9 (30,2- 33,6)	29,5 (28,3- 30,6)	31,4 (29,9- 32,8)
PaO ₂ /FIO ₂	320 (280-400)	370 (350-390)	210 (180-230)	290 (270-310)	250 (240-260)	305 (280-330)

Tableau 3 : Évolution de la gazométrie artérielle.

3.7. Taille de l'infarctus du myocarde

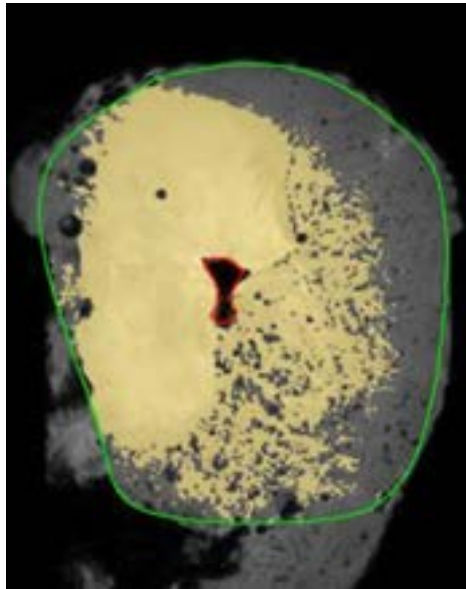
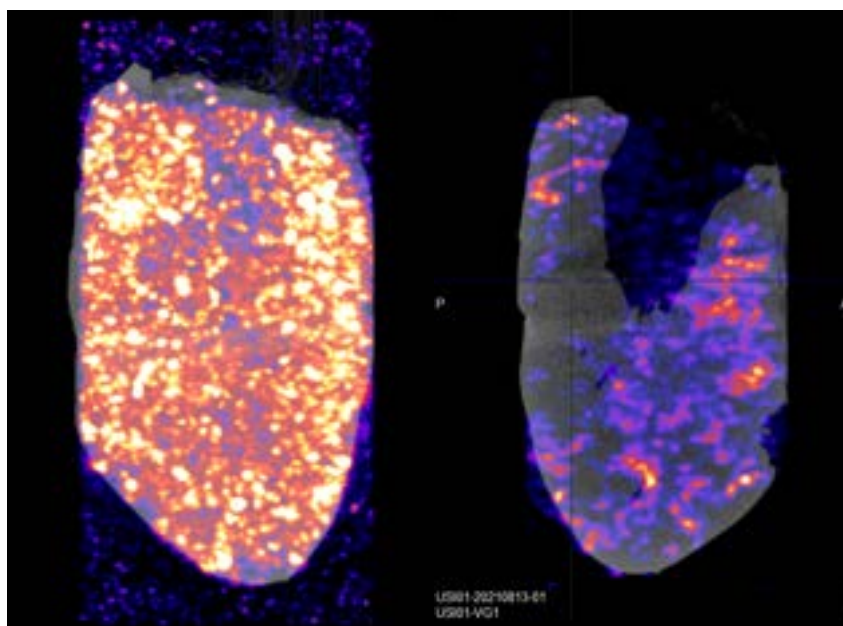


Figure 45 : IRM myocardique ex vivo. La zone colorée en jaune correspond à l'aire à risque. On observe un infarctus de localisation antéro-septale (majoritaire et transmural) et latérale (minoritaire, non-transmural).

Sur l'unique animal (groupe contrôle) ayant bénéficié de l'IRM ex vivo, la taille de l'infarctus représentait 67,2 % de l'aire à risque, soit 48,38 % du VG.

3.8. Perfusion myocardique



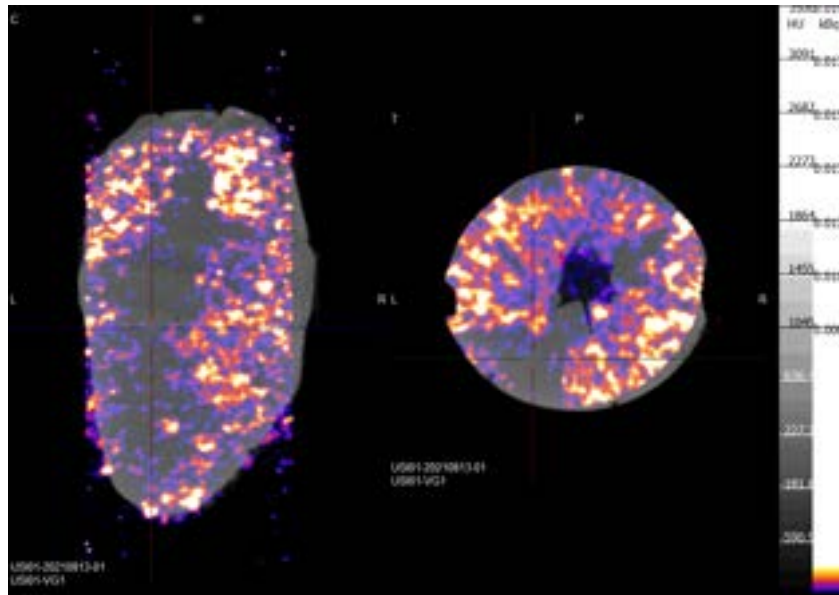


Figure 46 : Scintigraphie de perfusion mode MIP (*Maximal Intensity Projection*) à 360° et en coupes dans les trois plans de l'espace (axial, sagittal et frontal). L'échelle de couleur associée au μ CT est représentée du noir (faible densité) vers le blanc (densité élevée). Celle associée au μ SPECT est représentée du bleu (peu de radioactivité) au rouge-jaune-blanc (beaucoup de radioactivité). On observe un infarctus de localisation antérieure (majoritaire et transmural) et latérale (minoritaire, non-transmural).

L'analyse de la perfusion myocardique, sur l'unique animal (groupe contrôle) ayant bénéficié d'une scintigraphie, révélait dans la zone infarctée un flux sanguin myocardique (MBF) égal à 4,41 ml/min en épocardique et 0,09 ml/min en endocardique.

3.9. Autres

À ce stade-ci, nous ne disposons pas encore des résultats concernant la microcirculation intestinale, la biologie sanguine et l'anatomopathologie. L'envoi des prélèvements vers les différents laboratoires partenaires se fera une fois l'ensemble des expérimentations terminées.

4. Discussion

Dans les études précliniques sur des modèles de grands animaux, l'occlusion coronaire aigue totale (par ligature ou inflation complète d'un ballon d'angioplastie) engendrant un taux de mortalité élevé per-procédure, la grande majorité des travaux publiés n'ont induit que des infarctus de taille modérée avec inévitablement un retentissement hémodynamique moindre qu'en pratique clinique [45, 68-71]. Cela en sachant pourtant que l'état de choc cardiogénique est l'élément qui engendre le principal risque de mortalité. La seule équipe à avoir réalisé un véritable modèle de choc cardiogénique porcin, tout en étudiant le support de l'Impella, avait induit une insuffisance cardiaque par micro-embolisations successives ; un modèle pertinent en termes de défaillance multiviscérale mais non relevant en ce qui concerne les lésions myocardiques de reperfusion [72]. Ainsi, nous proposons un nouveau modèle porcin de choc cardiogénique, induit par une double sub-occlusion critique transitoire du réseau proximal de l'artère coronaire gauche. Les huit animaux développent un état de choc cardiogénique (avec une réponse hyper-dynamique, moyennant expansion volémique et restauration d'une précharge optimale) caractérisé par l'apparition d'une tachycardie, d'une hypotension artérielle, et de défaillance d'organes (œdème pulmonaire hémodynamique, oligurie, marbrures cutanées, etc.). Ce tableau hémodynamique est accompagné d'une baisse de la SVO₂ témoignant d'une extraction plus importante de l'oxygène, d'une diminution du débit cardiaque, ainsi que d'une hémococoncentration. Le delta PCO₂, élevé à la fin de la période d'ischémie, témoigne d'une dysfonction de l'oxygénation tissulaire. Enfin le ratio PaO₂/FiO₂ est lui aussi très altéré, témoignant la défaillance respiratoire associée au modèle. Après une courbe d'apprentissage assez longue concernant la maîtrise du modèle, sa sévérité n'est actuellement pas liée à une surmortalité par rapports aux études déjà publiées (< 20%).

La méthode habituelle de mesure de la taille de l'infarctus par double coloration (bleu de Evans et chlorure de triphényltétrazolium) compromet la plupart des analyses immuno-histologiques et donc l'exploration des voies biocellulaires (stimulées ou inhibées) qui permettent d'obtenir cette réduction de la taille de l'infarctus. Nous avons ainsi développé un protocole d'imagerie par résonance magnétique nucléaire ex vivo afin de mesurer la taille de l'infarctus sans mettre en péril les analyses histologiques ultérieures.

Dans la majorité des études déjà publiées sur le sujet, le délai habituel avant la fin de la période d'observation et le sacrifice de l'animal était limité à quelques heures (< 3-4h) après la reperfusion, ce qui paraît insuffisant pour embrasser l'ensemble des mécanismes physiopathologiques précédemment évoqués. Avec une observation prolongée à plus de 6 heures après la reperfusion, nous avons pu mettre en évidence l'œdème du myocarde dans la zone à risque et la réaction inflammatoire systémique (un état de choc distributif comparable à ce qui peut être observé en pratique courante a été objectivé sur plusieurs animaux, suite au relargage des débris cellulaires myocardiques dans la circulation systémique).

De plus, les conclusions des études précédentes concernant le timing et la stratégie optimale entre la décharge du ventricule gauche d'un côté et la revascularisation de l'autre doivent également être confirmées dans ce contexte clinique plus sensible d'infarctus du myocarde plus grave avec une défaillance circulatoire plus sévère, telle que proposé par notre étude expérimentale et notre modèle animal. Dans une étude publiée dans *JACC (Journal of the American College of Cardiology)*, l'équipe du Dr. Navin K. Kapur a montré, sur un modèle porcin, qu'une décharge du VG pendant 30 min, mais pas 15 min, avant la reperfusion était associée à une diminution des lésions myocardiques [46]. C'est en ce sens que nous avons développé notre modèle et la poursuite des expérimentations nous confirmera, ou pas, l'hypothèse précédemment évoquée.

L'analyse biocellulaire, comprenant la réaction systémique inflammatoire, l'activation des cellules immunitaires, la régulation des récepteurs adrénergiques (myocarde et paroi des vaisseaux artériel) et le changement des substrats énergétiques cardiaques, devrait également avoir un intérêt pour la communauté scientifique internationale, en plus d'un affinement des connaissances actuelles sur la réanimation du choc cardiogénique et l'équilibre délicat entre les agents adrénergiques et le support circulatoire mécanique transitoire.

Outre le texte ci-dessus, nous souhaiterions mettre l'accent sur le fait que de nombreuses machines que nous utilisons déjà au sein de notre Laboratoire Expérimental de Soins Intensifs sont déjà dérivées de pratiques cliniques et/ou de recherche clinique. En d'autres termes, toute conclusion pertinente faite lors de nos observations devrait être intéressantes pour améliorer la gestion de nos patients sous assistance circulatoire mécanique dans l'unité de soins intensifs.

A la lumière de publication récentes [73] et des derniers avis d'experts [74] concernant le type de vasopresseur à utiliser en première ligne dans le traitement du choc cardiogénique, et à la suite de la diminution progressive de l'utilisation de la dopamine dans cette indication, nous avons décidé d'utiliser la noradrénaline.

La pression de perfusion coronaire (PPC) correspond à la différence entre la pression artérielle diastolique et la PTDVG. Elle est assurée par les artères coronaires et reste relativement stable (entre 50 et 150 mmHg) grâce à des mécanismes d'autorégulation métaboliques, neuro-humoraux et liés à la fonction endothéliale. Les artères coronaires sont vasoconstrictées à l'état basal et leur vasodilatation constitue une réserve coronarienne mobilisable en cas de situation de stress, notamment en ce qui concerne la perfusion du sous-endocarde (particulièrement sensible à l'ischémie) [75]. Outre la coronaropathie, cette réserve est diminuée par une augmentation de la fréquence cardiaque, de la contractilité ventriculaire ou de la PTDVG. Avec seulement deux animaux inclus dans le groupe

intervention, nous restons encore prudents quant aux conclusions sur le bénéfice de l'Impella dans ce contexte (aussi bien en ce qui concerne la réduction de la consommation myocardique en oxygène, estimée par le produit de l'aire PVA par la fréquence cardiaque, que sur les différents paramètres respiratoires). Cela étant, nos résultats semblent indiquer que l'utilisation de l'Impella permet la restauration d'une macro-hémodynamique satisfaisante (PAM > 65 mmHg, SVO₂ > 60%) sans pour autant compromettre la réserve coronarienne. Fréquence cardiaque et contractilité myocardique sont, dans le groupe Impella, inférieures aux valeurs retrouvées dans le groupe contrôle sous noradrénaline (stimulation β 1-adrénergique de la noradrénaline) et la PTDVG est normalisée en quelques minutes seulement après le démarrage de l'assistance.

Enfin, outre sa sévérité, notre modèle présente d'ores et déjà une singularité qu'il nous semblait important de rapporter. En ce qui concerne l'analyse des boucles de pression-volume, nous observons, non pas un décalage de celles-ci vers la droite (augmentation parallèle du volume et de la pression télédiastolique par insuffisance diastolique primaire), mais un décalage vers la gauche (évolution dissociée du volume télédiastolique qui diminue et de la pression télédiastolique qui augmente). Ce comportement s'apparente à celui des cardiomyopathies hypertrophiques où l'épaississement et la rigidification du muscle ventriculaire entraîne une diminution de la compliance ventriculaire et du VTD, et une augmentation du VTS et des pressions ventriculaires aboutissant *in fine* à une réduction globale du débit cardiaque. Ici, l'épaississement du myocarde n'est pas dû à une hypertrophie à proprement parlé mais à un œdème massif du myocarde se constituant tout au long de la phase d'ischémie-reperfusion.

Limites et perspectives

Plusieurs limites à notre étude peuvent être évoquées. Tout d'abord, notre travail ne porte pour le moment que sur un nombre limité d'animaux. Ainsi, la puissance

statistique est encore trop faible pour mettre en évidence une différence significative dans nombre de variables. De plus, comme dans la plupart des modèles animaux, nous utilisons des animaux jeunes et en bonne santé. Ainsi, le potentiel adaptatif d'autorégulation du flux coronaire, de la vasomotricité et de la microcirculation est probablement différent de celui d'un sujet âgé, avec des comorbidités et des traitements médicamenteux. Par ailleurs, la maladie coronarienne est le plus souvent d'évolution lente et progressive, engendrant des remaniements structurels et/ou électriques dans la cardiopathie ischémique chronique, remaniements non pris en considération ici.

La gestion de la volémie doit être évoquée également car diffère des principales études sur le sujet. En effet, nous avons fait le choix d'utiliser la VPP comme marqueur de réponse au remplissage [76]. Il s'agit d'un marqueur fiable de précharge dépendance sous certaines conditions (ventilation mécanique en volume contrôlé, rythme sinusal, ventilation non protectrice) remplies par notre modèle. Afin d'obtenir un état de choc purement cardiogénique, nous avons choisi une optimisation maximale de la précharge cardiaque. Cette optimisation nous permet, entre autres, d'analyser l'indice dP/dT_{max} en minimisant la variabilité induite par les conditions de précharge ($VPP \leq 13\%$, pause télé-expiratoire maximisant le retour veineux systémique). Cependant, maintenir la $VPP \leq 13\%$ se traduit par une expansion volémique importante, avec une balance hydrique positive aux alentours de cinq litres dans les deux groupes, qui peut altérer la microcirculation.

Les résultats encore très préliminaires de l'imagerie de perfusion myocardique laissent penser que la méthodologie est à revoir. En effet, si dans la zone infarctée, le ratio entre la perfusion de l'endocarde et de l'épicarde (x50, en défaveur de l'endocarde) atteste de la réussite du modèle, la radioactivité mesurée (nombre de coups par minute, CPM) est encore trop faible (25.000 CPM) pour être satisfaisante en vue des analyses prévues (50.000 CPM serait idéal). Cette

amélioration pourrait venir d'une meilleure calibration des microsphères utilisées afin que la taille de celles-ci soit moins hétérogène (entre 3 et 50 μm après 2 étapes de filtration) et corresponde mieux au calibre des vaisseaux au niveau de la microcirculation coronaire ($\approx 25 \mu\text{m}$). Les microsphères calibrées 22 μm de chez Thermo Fisher Scientific sont pour l'instant l'option privilégiée.

En plus de limiter les effets délétères de la stimulation adrénergique et de l'inadéquation entre l'offre et la demande en oxygène [60], les bêtabloquants, notamment le Métoprolol (bêtabloquant sélectif β_1), ont montré leur capacité spécifique à bloquer l'activation des neutrophiles et à réduire les lésions d'ischémie-reperfusion médiées par les occlusions micro-vasculaires au cours de l'infarctus aigu du myocarde [77]. Cependant, dans le contexte clinique actuel, l'utilisation de bêtabloquants dans le choc cardiogénique d'origine ischémique est contre-indiquée en raison de leur effet inotrope négatif. Le support circulatoire unique du dispositif Impella® offre la possibilité de compenser les effets hémodynamiques indésirables des bêtabloquants sur le VG, tout en bénéficiant de leurs propriétés cardioprotectrices, permettant ainsi une réduction mécanique et pharmacologique simultanée de la MVO₂. Illustrant le potentiel de cette approche, une étude combinant le bêtabloquant Landiolol avec le dispositif Impella® dans un modèle porcin d'infarctus du myocarde sans choc cardiogénique a montré une meilleure réduction de la taille de l'infarctus par rapport au support Impella® seul [68]. Il serait logique de s'attendre à un bénéfice encore plus grand de cette association dans l'infarctus aigu du myocarde avec choc cardiogénique, étant donné la plus grande stimulation adrénergique et les lésions d'ischémie-reperfusion plus importantes dans ce contexte. C'est en ce sens que nous avons décidé d'ajouter un autre groupe intervention dans notre étude, selon le design suivant :

- **Groupe 1 & 2** : cf. protocole détaillé précédemment.

- **Groupe 3 - Impella® tardive** : insertion préliminaire d'Impella®. Début de l'ischémie myocardique. Activation de l'Impella® à 120 min d'ischémie + 30 min de reperfusion. Support Impella® jusqu'à la fin de l'expérience (sans perfusion de catécholamines).

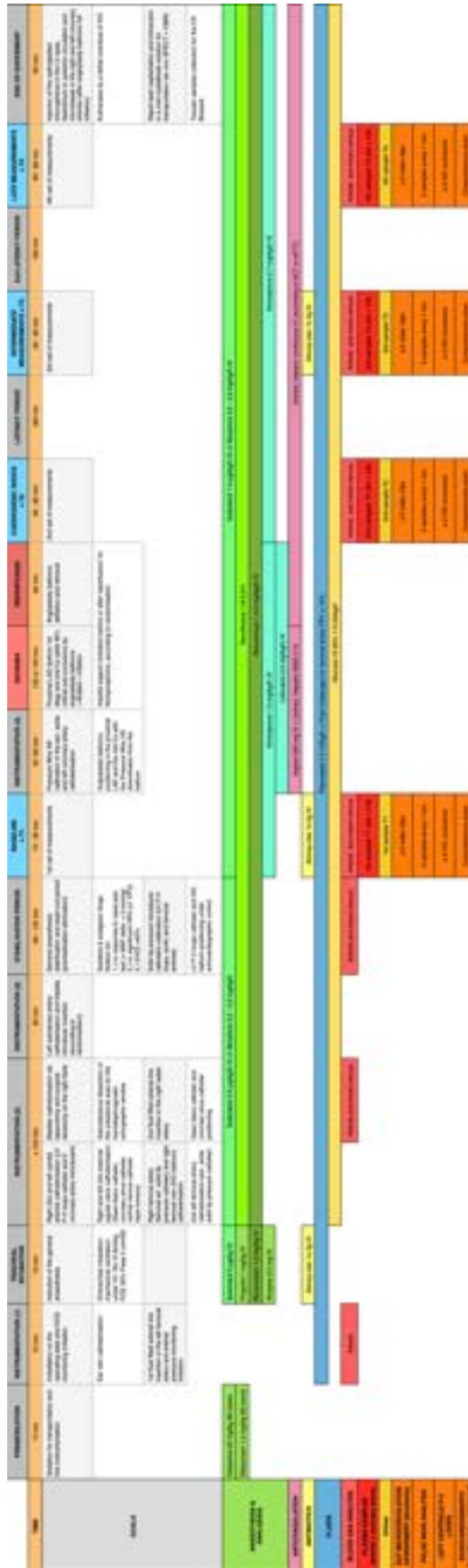
- **Groupe 4 - Impella® précoce et Métoprolol** : insertion préliminaire d'Impella®. Début de l'ischémie myocardique. 1ère dose de Métoprolol 5 MG en bolus IV et activation d'Impella® à 90 min d'ischémie. Reperfusion à 120 min, avec le 2e bolus IV de Métoprolol 5 MG. Support Impella® continu et 3e bolus IV de Métoprolol 5 MG à 180 min. Administration supplémentaire de Métoprolol au besoin pour maintenir la fréquence cardiaque (FC) en dessous de 80 battements / min.

- **Groupe 5 - Impella® précoce et Ivabradine** : l'Ivabradine est un agent chronotrope négatif sélectif sans effets inotropes ou adrénergiques. Son utilisation pour obtenir la même FC que dans le groupe 3 permettrait de tester si les effets de blocage adrénergique du Métoprolol confèrent des bénéfices indépendamment des bénéfices connus de la réduction de la fréquence cardiaque [69].

Enfin nous avons développé avec l'équipe du Pr. Alexandre Mebazaa (Département d'Anesthésie-Réanimation, Hôpital Lariboisière, Paris), une collaboration autour de la physiopathologie de la Dipeptidyl peptidase-3 (DPP3) et de son anticorps monoclonal inhibiteur. A l'issue de notre protocole, une partie de nos prélèvements sanguins sera donc utilisée pour réaliser ces analyses (4Teen4 Pharmaceuticals GmbH, Hennigsdorf, Allemagne).

ANNEXES

1. Timeline



2. Hémodynamique

PRO	DATE	PROTOCOLE	TUN
Sex			
Weight	kg	Random	

TIMING	Time	HR	SAP rad	SAP med	MAP rad	SAP fem	SAP fem	MAP fem	CO	CO	SV	SVL	PPV	SAP	PAFs	PAPd	PADP	OPPG
Pre-medication																		
Pre-intubation																		
Baseline	T1																	0
Pre-ischemia	P1																	0
Ischemia 120'	+120																	0
Ischemia +30'	+30'																	0
Reperfusion 90'	T2																	0
T2 end + 30'	T2.5																	0
T2 end + 3h	T3																	0
T3 end + 90'	T3.5																	0
T3 end + 3h	T4																	0
Euthanasia																		0

LIQUID BALANCE	
IN	0 ml
OUT	0 ml
TOT	0 ml

DRIP	0.1 ml/h	ADP	0.1 ml/h
------	----------	-----	----------

CAG	LM	mm	LAD	%	Cx	%
-----	----	----	-----	---	----	---

EMG	

TVO2	Lac_A	Lac_V	iCO2	DO ₂	DO ₂	CaO ₂	CaO ₂	VO ₂	RQ	Ddur	Pleural	T ^m	VI	RR	Pplat	PEEP	FI _{O₂}	
																		0.21
																		0.0
																		0.0
																		0.0
																		0.0
																		0.0
																		0.0
																		0.0
																		0.0
																		0.0

Coronary sinus

TIMING	pH	P _{O₂}	P _a CO ₂	Sat O ₂	Hb	iCO ₂	CaO ₂	Lac	RQ	BE
T1										
+120										
+30'										
T2										
T2.5										
T3										
T3.5										
T4										

pH	FaO ₂	FaO ₂	FaO ₂	FaO ₂	Hb _c	BE	SaO ₂	PP	Cx	Hb	Pd	Sp	K ⁺	Cl ⁻	AG	Ca ⁺⁺	Gluc	Serum	Morph	Rac	Cortic	HA	Aluminate	

3. Biobanque

	What	Amount	Medium	Handling & processing			Storing	LABEL	
Whole blood	Blood from the fluid filled femoral artery catheter								
	Plasma	2 x 6 ml	1x EDTA tube (sawder cap)	Gently inverting 10x	Centrifugation - 10min 2500 RPM +4°C	x 2 x 1 ml plasma in 1.5ml Eppendorf	Immediate freezing at -20°C in the ICU Lab freezer	Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB (postdoc) Plg (17) (by mm, JB) Plasma, II (Time point) or Plasma, III (Time point)
			2x Heparin tube (green cap)						
	Serum	1 x 6 ml	Dry tube (red cap)	Clot formation: tube verticalized for 45-60min at room T°	Centrifugation - 10min 3000 RPM +4°C	x 2 x 1 ml serum in 1.5ml Eppendorf	Immediate freezing at -20°C in the ICU Lab freezer	Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB (postdoc) Plg (17) (by mm, JB) Serum (Time point)
			JNB + 60min otherwise risk of cellular lysis						
Coronary Sinus Blood	Blood from the fluid filled coronary sinus catheter								
	Plasma	2 x 6 ml	1x EDTA tube (sawder cap)	Gently inverting 10x	Centrifugation - 10min 2500 RPM +4°C	x 2 x 1 ml plasma in 1.5ml Eppendorf	Immediate freezing at -20°C in the ICU Lab freezer	Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB (postdoc) Plg (17) (by mm, JB) Plasma, II (Time point) or Plasma, III (Time point)
			1x Heparin tube (green cap)						
	Serum	1 x 6 ml	Dry tube (red cap)	Clot formation: tube verticalized for 45-60min at room T°	Centrifugation - 10min 3000 RPM +4°C	x 2 x 1 ml serum in 1.5ml Eppendorf	Immediate freezing at -20°C in the ICU Lab freezer	Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB (postdoc) Plg (17) (by mm, JB) Serum (Time point)
			JNB + 60min otherwise risk of cellular lysis						
Urine	Mid night stream in the bladder catheter								
	Frozen	1 x 10 ml	10 ml syringe	Gently inverting	5 x 2 ml urine in 2.5ml Eppendorf		Immediate freezing at -20°C in the ICU Lab freezer	Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB (postdoc) Plg (17) (by mm, JB) Urine (Time point)
TISSUES									
Left Ventricle	Base-medial part of the lateral LV wall (x AAF)								
	Flash Frozen	4 x 1 cm²	Dry and freezing resistant material (e-wrap of aluminum foil)	Liquid nitrogen immersion (x30 sec)	Immediate freezing at -20°C in the ICU Lab freezer			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB (postdoc) (group) Plg (17) (by mm, JB) LV - FF
			(x 2 cm ² of surface area)	Split in 4 x containers					
	FFPE	2 x 47 cm²	10% (v/v) Neutral Buffer Formalin (NBF) or 4% (w/v) fresh Paraformaldehyde (PFA)	Gently inverting 10x	Keep in fixation solution (NBF or PFA) at room T° for 24h (max 48h)	Transfer to 70° alcohol (for max 1 week)	Bring to Physio Lab for permanent FFPE fixation (Pataksiotis)	Paraffin embedding and storing in the Physio Lab	ULB (postdoc) (group) Plg (17) (by mm, JB) LV - FFPE
			(x 1 cm ² of surface area x 5 mm in every dimension, if possible)	15-20x samples volume in one container					
	RNA later	2 x 100 mg	RNA later solution (5-10x sample volume)	Gently inverting 10x	Store in the +4°C ICU Lab fridge for x24h to max 1 month			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB (postdoc) (group) Plg (17) (by mm, JB) LV - RNA
			(ideally transparent)	Split in 2 x containers					
	Medial-lateral part of the anterior LV wall (x AAF)								
	Flash Frozen	4 x 1 cm²	Dry and freezing resistant material (e-wrap of aluminum foil)	Liquid nitrogen immersion (x30 sec)	Immediate freezing at -20°C in the ICU Lab freezer			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB (postdoc) (group) Plg (17) (by mm, JB) LV - FF
			(x 2 cm ² of surface area)	Split in 4 x containers					
	FFPE	2 x 47 cm²	10% (v/v) Neutral Buffer Formalin (NBF) or 4% (w/v) fresh Paraformaldehyde (PFA)	Gently inverting 10x	Keep in fixation solution (NBF or PFA) at room T° for 24h (max 48h)	Transfer to 70° alcohol (for max 1 week)	Bring to Physio Lab for permanent FFPE fixation (Pataksiotis)	Paraffin embedding and storing in the Physio Lab	ULB (postdoc) (group) Plg (17) (by mm, JB) LV - FFPE
			(x 1 cm ² of surface area x 5 mm in every dimension, if possible)	15-20x samples volume in one container					
RNA later	2 x 100 mg	RNA later solution (5-10x sample volume)	Gently inverting 10x	Store in the +4°C ICU Lab fridge for x24h to max 1 month			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB (postdoc) (group) Plg (17) (by mm, JB) LV - RNA	
		(ideally transparent)	Split in 2 x containers						
Right Ventricle	Medial part of the RV free wall								
	Flash Frozen	4 x 1 cm²	Dry and freezing resistant material (e-wrap of aluminum foil)	Liquid nitrogen immersion (x30 sec)	Immediate freezing at -20°C in the ICU Lab freezer			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB (postdoc) (group) Plg (17) (by mm, JB) RV - FF
			(x 2 cm ² of surface area)	Split in 4 x containers					
	FFPE	2 x 47 cm²	10% (v/v) Neutral Buffer Formalin (NBF) or 4% (w/v) fresh Paraformaldehyde (PFA)	Gently inverting 10x	Keep in fixation solution (NBF or PFA) at room T° for 24h (max 48h)	Transfer to 70° alcohol (for max 1 week)	Bring to Physio Lab for permanent FFPE fixation (Pataksiotis)	Paraffin embedding and storing in the Physio Lab	ULB (postdoc) (group) Plg (17) (by mm, JB) RV - FFPE
			(x 1 cm ² of surface area x 5 mm in every dimension, if possible)	15-20x samples volume in one container					
	RNA later	2 x 100 mg	RNA later solution (5-10x sample volume)	Gently inverting 10x	Store in the +4°C ICU Lab fridge for x24h to max 1 month			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB (postdoc) (group) Plg (17) (by mm, JB) RV - RNA
(ideally transparent)			Split in 2 x containers						

Coronary Ar.	LAD, after 1st diagonal and circumflex location	± 20 mm length								
	Flash Frozen	2 x ring of 3 mm length	Dry and freezing resistant material sec. wrap of aluminum foil	Liquid nitrogen immersion (±30 sec)	Immediate freezing at -80°C in the ICU Lab freezer				Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 LAD_FF)
			Split in 2 x containers							
FFPE	2 x ring of 3 mm length	10% (v/v) Neutral Buffer Formalin (NBF) w/ 4% (w/v) fresh Paraformaldehyde (PFA)	Gently inverting 10x	Keep in fixation solution (NBF or PFA) at room T° for 24h (max 48h)	Transfer to 70° alcohol for max 1 week	Bring to Physio Lab for permanent FFPE fixation (HistoLab)	Paraffin embedding and storing in the Physio Lab	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 LAD_FFPE)		
		15-20x samples volume in one container								
RNA later	2 x ring of 3 mm length	RNA later solution (5-10x sample volume)	Gently inverting 10x	Store in the +4°C ICU Lab fridge for ±24h to max 1 month			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 LAD_RNA)		
		Split in 2 x containers								
Pulmonary Ar.	Left or Right pulm. artery, 1cm after main pulm. art. infurcation	± 20 mm length								
	Flash Frozen	2 x 1/2 ring of 3 mm length	Dry and freezing resistant material sec. wrap of aluminum foil	Liquid nitrogen immersion (±30 sec)	Immediate freezing at -80°C in the ICU Lab freezer			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 PA_FF)	
			Split in 2 x containers							
FFPE	2 x 1/2 ring of 3-3 mm length	10% (v/v) Neutral Buffer Formalin (NBF) w/ 4% (w/v) fresh Paraformaldehyde (PFA)	Gently inverting 10x	Keep in fixation solution (NBF or PFA) at room T° for 24h (max 48h)	Transfer to 70° alcohol for max 1 week	Bring to Physio Lab for permanent FFPE fixation (HistoLab)	Paraffin embedding and storing in the Physio Lab	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 PA_FFPE)		
		15-20x samples volume in one container								
RNA later	2 x 1/2 ring of 3 mm length	RNA later solution (5-10x sample volume)	Gently inverting 10x	Store in the +4°C ICU Lab fridge for ±24h to max 1 month			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 PA_RNA)		
		Split in 2 x containers								
Desc. Aorta	1 cm downstream after left subclavian art. infurcation	± 20 mm length								
	Flash Frozen	2 x 1/2 ring of 3 mm length	Dry and freezing resistant material sec. wrap of aluminum foil	Liquid nitrogen immersion (±30 sec)	Immediate freezing at -80°C in the ICU Lab freezer			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 Ao_FF)	
			Split in 2 x containers							
FFPE	2 x 1/2 ring of 3 mm length	10% (v/v) Neutral Buffer Formalin (NBF) w/ 4% (w/v) fresh Paraformaldehyde (PFA)	Gently inverting 10x	Keep in fixation solution (NBF or PFA) at room T° for 24h (max 48h)	Transfer to 70° alcohol for max 1 week	Bring to Physio Lab for permanent FFPE fixation (HistoLab)	Paraffin embedding and storing in the Physio Lab	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 Ao_FFPE)		
		15-20x samples volume in one container								
RNA later	2 x 1/2 ring of 3 mm length	RNA later solution (5-10x sample volume)	Gently inverting 10x	Store in the +4°C ICU Lab fridge for ±24h to max 1 month			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 Ao_RNA)		
		Split in 2 x containers								
Femoral Ar.	Common fem. artery (F) or IJ before the split in deep and superficial fem. art.	10-20 mm length								
	Flash Frozen	2 x ring of 3 mm length	Dry and freezing resistant material sec. wrap of aluminum foil	Liquid nitrogen immersion (±30 sec)	Immediate freezing at -80°C in the ICU Lab freezer			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 Fem_FF)	
			Split in 2 x containers							
FFPE	2 x ring of 3 mm length	10% (v/v) Neutral Buffer Formalin (NBF) w/ 4% (w/v) fresh Paraformaldehyde (PFA)	Gently inverting 10x	Keep in fixation solution (NBF or PFA) at room T° for 24h (max 48h)	Transfer to 70° alcohol for max 1 week	Bring to Physio Lab for permanent FFPE fixation (HistoLab)	Paraffin embedding and storing in the Physio Lab	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 Fem_FFPE)		
		15-20x samples volume in one container								
RNA later	2 x ring of 1-3 mm length	RNA later solution (5-10x sample volume)	Gently inverting 10x	Store in the +4°C ICU Lab fridge for ±24h to max 1 month			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 Fem_RNA)		
		Split in 2 x containers								
Radial Ar.	Following the arterial catheter insertion guidance.	10-20 mm length								
	Flash Frozen	2 x ring of 3 mm length	Dry and freezing resistant material sec. wrap of aluminum foil	Liquid nitrogen immersion (±30 sec)	Immediate freezing at -80°C in the ICU Lab freezer			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 Rad_FF)	
			Split in 2 x containers							
FFPE	2 x ring of 3 mm length	10% (v/v) Neutral Buffer Formalin (NBF) w/ 4% (w/v) fresh Paraformaldehyde (PFA)	Gently inverting 10x	Keep in fixation solution (NBF or PFA) at room T° for 24h (max 48h)	Transfer to 70° alcohol for max 1 week	Bring to Physio Lab for permanent FFPE fixation (HistoLab)	Paraffin embedding and storing in the Physio Lab	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 Rad_FFPE)		
		15-20x samples volume in one container								
RNA later	2 x ring of 1-3 mm length	RNA later solution (5-10x sample volume)	Gently inverting 10x	Store in the +4°C ICU Lab fridge for ±24h to max 1 month			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULB protocol (group) Fig 17 (50 mm, 100 Rad_RNA)		
		Split in 2 x containers								

Renal Art.	As close as possible to the kidney	15-20 mm length								
	Flash Frozen	2 x ring of 3 mm length	Dry and freezing resistant material (e.g. wrap of aluminum foil)	Liquid nitrogen immersion (>30 sec)	Immediate freezing at -80°C in the ICU Lab freezer				Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULS (protocol) Pig (1) by mm_ahd Ren_FF
			Split in 2 # containers							
FFPE	2 x ring of 2 mm length	10% (v/v) Neutral Buffer Formalin (NBF) or 4% (w/v) fresh Paraformaldehyde (PFA)		Gently inverting 10s	Keep in fixation solution (NBF or PFA) at room T° for 24h (max 48h)	Transfer to 70° alcohol (for max 1 week)		Paraffin embedding and storing in the Physics Lab	ULS (protocol) Pig (1) by mm_ahd Ren_FFPE	
		10-20x samples volume in one container								
RNA later	2 x ring of 1-2 mm length	RNA later solution (5-10x sample volume)		Gently inverting 10s	Store in the +4°C ICU Lab fridge for >24h to max 1 month			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULS (protocol) Pig (1) by mm_ahd Ren_RNA	
		Split in 2 # containers								
Spleen	>10cm upstream of the testis/ovary	3 cm length								
	Flash Frozen	2 x 1/2 ring of 4 mm length	Dry and freezing resistant material (e.g. wrap of aluminum foil)	Liquid nitrogen immersion (>30 sec)	Immediate freezing at -80°C in the ICU Lab freezer			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULS (protocol) Pig (1) by mm_ahd Ren_FF	
			1 single container							
FFPE	2 x 1/4 ring of 4 mm length	10% (v/v) Neutral Buffer Formalin (NBF) or 4% (w/v) fresh Paraformaldehyde (PFA)		Gently inverting 10s	Keep in fixation solution (NBF or PFA) at room T° for 24h (max 48h)	Transfer to 70° alcohol (for max 1 week)	Bring to Physics Lab for permanent FFPE fixation (Histochemie)	Paraffin embedding and storing in the Physics Lab	ULS (protocol) Pig (1) by mm_ahd Ren_FFPE	
	(x 1 cm ² of surface area, x 3 mm in every dimension, if possible)	10-20x samples volume in one container								
RNA later	2 x 100 mg	RNA later solution (5-10x sample volume)		Gently inverting 10s	Store in the +4°C ICU Lab fridge for >24h to max 1 month			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULS (protocol) Pig (1) by mm_ahd Ren_RNA	
	(transmural)	1 single container								
Liver	Random but more than 1cm away from the superficial capsule and any major vessel or biliary duct	3-4 cm ³								
	Flash Frozen	4 x 1 cm ³	Dry and freezing resistant material (e.g. wrap of aluminum foil)	Liquid nitrogen immersion (>30 sec)	Immediate freezing at -80°C in the ICU Lab freezer			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULS (protocol) Pig (1) by mm_ahd Liver_FF_R and Liver_FF_NR	
	(x1 Fixed in NaCl 0.9% and (x2 not fixed)	Split in 4 # containers								
Kidney	Random, in the renal cortex (7 cm away from the capsule)	3-4 cm ³								
	Flash Frozen	4 x 1 cm ³	Dry and freezing resistant material (e.g. wrap of aluminum foil)	Liquid nitrogen immersion (>30 sec)	Immediate freezing at -80°C in the ICU Lab freezer			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULS (protocol) Pig (1) by mm_ahd Kidney_FF_R and Kidney_FF_NR	
	(x1 Fixed in NaCl 0.9% and (x2 not fixed)	Split in 4 # containers								
Lung	Random, in the middle lobe of the right lung (but 2 cm away from the visceral pleural layer)	3-4 cm ³								
	Flash Frozen	4 x 1 cm ³	Dry and freezing resistant material (e.g. wrap of aluminum foil)	Liquid nitrogen immersion (>30 sec)	Immediate freezing at -80°C in the ICU Lab freezer			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULS (protocol) Pig (1) by mm_ahd Lung_FF_R and Lung_FF_NR	
		(x1 Fixed in NaCl 0.9% and (x2 not fixed)	Split in 4 # containers							
RNA later	2 x 100 mg	RNA later solution (5-10x sample volume)		Gently inverting 10s	Store in the +4°C ICU Lab fridge for >24h to max 1 month			Transfer to the -80°C ICU Lab freezer for long term storage	ULS (protocol) Pig (1) by mm_ahd Lung_RNA	
		Split in 2 # containers								

4. FSTAL

UNIVERSITE
LIBRE DE
BRUXELLES

ULB

Formation en Science et Technique des Animaux
de Laboratoire

Attestation de réussite

Nous attestons que :

Mr Alexander Moiroux-Sahraoui s'est soumis au contrôle des connaissances organisé en date du 25 février 2021 dans le cadre du module 1 (catégorie B : « Personnes prenant part activement aux expériences ») de la formation en Science et Technique des Animaux de Laboratoire. Cette épreuve a été validée et le candidat est en attente du Certificat Universitaire en Science des Animaux de Laboratoire qui lui sera délivré prochainement.

Fait à Bruxelles, le 26 février 2021,



Dr. P. Lybaert

REFERENCES

1. Menees DS, Peterson ED, Wang Y, Curtis JP, Messenger JC, Rumsfeld JS et al. Door-to-balloon time and mortality among patients undergoing primary PCI. *N Engl J Med.* 369:901-9.
2. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al. Heart disease and stroke statistics--2013 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 127:e6-e245.
3. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 125:188-97.
4. Babaev A, Frederick PD, Pasta DJ, Every N, Sichrovsky T, Hochman JS et al. Trends in management and outcomes of patients with acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *JAMA.* 2005;294:448-54.
5. Jeger RV, Radovanovic D, Hunziker PR, Pfisterer ME, Stauffer JC, Erne P, et al. Ten-year trends in the incidence and treatment of cardiogenic shock. *Ann Intern Med.* 2008;149:618-26.
6. Chioncel O, Parissis J, Mebazaa A, Thiele H, Desch S, Bauersachs J, et al. Epidemiology, pathophysiology and contemporary management of cardiogenic shock – a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail.* 2020;22(8):1315–41.
7. Harjola V-P, Lassus J, Sionis A, Køber L, Tarvasmäki T, Spinar J, et al. Clinical picture and risk prediction of short-term mortality in cardiogenic shock. *Eur J Heart Fail.* 2015;17(5):501–9.

8. Aissaoui N, Puymirat E, Delmas C, Ortuno S, Durand E, Bataille V, et al. Trends in cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction. *Eur J Heart Fail.* 2020;22(4):664–72.
9. Hochman JS. Cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction: expanding the paradigm. *Circulation.* 2003;107:2998-3002.
10. Kapur NK and Zisa DC. Veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation (VA-ECMO) fails to solve the haemodynamic support equation in cardiogenic shock. *EuroIntervention.* 11:1337-9.
11. Ibáñez B, Heusch G, Ovize M, Werf FV de. Evolving Therapies for Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury. *J Am Coll Cardiol.* 2015;65(14):1454–71.
12. Bekkers SCAM, Yazdani SK, Virmani R, Waltenberger J. Microvascular Obstruction Underlying Pathophysiology and Clinical Diagnosis. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(16):1649–60.
13. Guyton AC, Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology.* 12th edition. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2011.
14. Heusch G. Heart rate in the pathophysiology of coronary blood flow and myocardial ischaemia: benefit from selective bradycardic agents. *Brit J Pharmacol.* 2008;153(8):1589–601.
15. Stone GW, Selker HP, Thiele H, Patel MR, Udelson JE, Ohman EM, et al. Relationship Between Infarct Size and Outcomes Following Primary PCI

- Patient-Level Analysis From 10 Randomized Trials. *J Am Coll Cardiol.* 2016;67(14):1674–83.
16. Belletti A, Landoni G, Lomivorotov VV, Oriani A, Ajello S. Adrenergic downregulation in critical care: molecular mechanisms and therapeutic evidence. *J Cardiothor Vasc An.* 2019;34(4):1023–41.
 17. Mebazaa A, Combes A, Diepen S van, Hollinger A, Katz JN, Landoni G, et al. Management of cardiogenic shock complicating myocardial infarction. *Intens Care Med.* 2018;44(6):760–73.
 18. Tehrani BN, Truesdell AG, Psotka MA, Rosner C, Singh R, Sinha SS, et al. A Standardized and Comprehensive Approach to the Management of Cardiogenic Shock. *Jacc Hear Fail.* 2020;8(11):879–91.
 19. Sjauw KD, Engstrom AE, Vis MM, van der Schaaf RJ, Baan J, Jr., Koch KT, et al. A systematic review and meta-analysis of intra-aortic balloon pump therapy in ST-elevation myocardial infarction: should we change the guidelines? *Eur Heart J.* 2009;30:459-68.
 20. Thiele H, Ohman EM, Desch S, Eitel I and de Waha S. Management of cardiogenic shock. *Eur Heart J.* 2015;36:1223-30.
 21. Thiele H, Zeymer U, Neumann FJ, Ferenc M, Olbrich HG, Hausleiter J, et al. Intraaortic balloon support for myocardial infarction with cardiogenic shock. *N Engl J Med.* 2012;367:1287-96.
 22. Unverzagt S, Buerke M, de Waha A, Haerting J, Pietzner D, Seyfarth M, et al. Intra-aortic balloon pump counterpulsation (IABP) for myocardial infarction

complicated by cardiogenic shock. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015:CD007398.

23. Thiele H, Zeymer U, Neumann FJ, Ferenc M, Olbrich HG, Hausleiter J, et al. Intra-aortic balloon counterpulsation in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock (IABP-SHOCK II): final 12 month results of a randomised, open-label trial. *Lancet.* 382:1638-45.

24. Roffi M, Patrono C, Collet JP, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2016;37:267-315.

25. Levine GN, Bates ER, Blankenship JC, Bailey SR, Bittl JA, Cercek B, et al. 2015 ACC/AHA/SCAI Focused Update on Primary Percutaneous Coronary Intervention for Patients With ST-Elevation Myocardial Infarction: An Update of the 2011 ACCF/AHA/SCAI Guideline for Percutaneous Coronary Intervention and the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of ST-Elevation Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2016;67:1235-1250.

26. Keebler ME, Haddad EV, Choi CW, McGrane S, Zalawadiya S, Schlendorf KH, et al. Venoarterial Extracorporeal Membrane Oxygenation in Cardiogenic Shock. *Jacc Hear Fail.* 2018;6(6):503–16.

27. Beurtheret S, Mastroianni C, Pozzi M, D'Alessandro C, Luyt CE, Combes A, et al. Extracorporeal membrane oxygenation for 2009 influenza A (H1N1)

- acute respiratory distress syndrome: single-centre experience with 1-year follow-up. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2012;41:691-5.
28. Roger D, Dudouit JM, Resiere D, Mehdaoui H, Courcier D, Villain L, et al. Interhospital transfer of ECMO-assisted patients in Martinique. *Ann Fr Anesth Reanim*. 2013;32:307-14.
29. Gariboldi V, Grisoli D, Tarmiz A, Jaussaud N, Chalvignac V, Kerbaul F et al. Mobile extracorporeal membrane oxygenation unit expands cardiac assist surgical programs. *Ann Thorac Surg*. 2010;90:1548-52.
30. Becher PM, Schrage B, Sinning CR, Schmack B, Fluschnik N, Schwarzl M, et al. Venoarterial Extracorporeal Membrane Oxygenation for Cardiopulmonary Support: Insights From a German Registry. *Circulation*. 2018;138(20):2298–300.
31. de Waha S, Fuernau G, Desch S, Eitel I, Wiedau A, Lurz P, et al. Long-term prognosis after extracorporeal life support in refractory cardiogenic shock: results from a real-world cohort. *EuroIntervention*. 11:1363-71.
32. Meani P, Gelsomino S, Natour E, Johnson DM, Rocca HBL, Pappalardo F, et al. Modalities and Effects of Left Ventricle Unloading on Extracorporeal Life support: a Review of the Current Literature. *Eur J Heart Fail*. 2017;19(S2):84–91.
33. Burkhoff D, Sayer G, Doshi D and Uriel N. Hemodynamics of Mechanical Circulatory Support. *J Am Coll Cardiol*. 66:2663-74.

34. Koeckert MS, Jorde UP, Naka Y, Moses JW and Takayama H. Impella LP 2.5 for left ventricular unloading during venoarterial extracorporeal membrane oxygenation support. *J Card Surg.* 26:666-8.
35. Thiele H, Smalling RW, Schuler GC. Percutaneous left ventricular assist devices in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Eur Heart J.* 2007;28(17):2057-63.
36. Bonello L, Delmas C, Schurtz G, Laurent G, Bonnefoy E, Aissaoui N, et al. Mechanical circulatory support in patients with cardiogenic shock in intensive care units: A position paper of the "Unité de Soins Intensifs de Cardiologie" group of the French Society of Cardiology, endorsed by the "Groupe Athérome et Cardiologie Interventionnelle" of the French Society of Cardiology. *Arch Cardiovasc Dis.* 2018 Oct;111(10):601-612. doi: 10.1016/j.acvd.2018.03.008. Epub 2018 Jun 11. PMID: 29903693.
37. Schäfer A, Werner N, Westenfeld R, Møller JE, Schulze PC, Karatolios K, et al. Clinical scenarios for use of transvalvular microaxial pumps in acute heart failure and cardiogenic shock - A European experienced users working group opinion. *Int J Cardiol.* 2019 Sep 15;291:96-104. doi: 10.1016/j.ijcard.2019.05.044. Epub 2019 May 21. PMID: 31155332.
38. Tehrani BN, Truesdell AG, Sherwood MW, Desai S, Tran HA, Epps KC, et al. Standardized Team-Based Care for Cardiogenic Shock. *J Am Coll Cardiol.* 2019 Apr 9;73(13):1659-1669. doi: 10.1016/j.jacc.2018.12.084. Erratum in: *J Am Coll Cardiol.* 2019 Jul 23;74(3):481. PMID: 30947919.
39. Basir MB, Kapur NK, Patel K, Salam MA, Schreiber T, Kaki A, et al. Improved Outcomes Associated with the use of Shock Protocols: Updates from the National Cardiogenic Shock Initiative. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2019 Jun

1;93(7):1173-1183. doi: 10.1002/ccd.28307. Epub 2019 Apr 25. PMID: 31025538.

40.Pappalardo F, Schulte C, Pieri M, Schrage B, Contri R, Soeffker G, et al. Concomitant implantation of Impella[®] on top of veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation may improve survival of patients with cardiogenic shock. *Eur J Heart Fail.* 2017 Mar;19(3):404-412. doi: 10.1002/ejhf.668. Epub 2016 Oct 6. PMID: 27709750.

41.Schrage B, Becher PM, Bernhardt A, Bezerra H, Blankenberg S, Brunner S, et al. Left Ventricular Unloading Is Associated With Lower Mortality in Patients With Cardiogenic Shock Treated With Venoarterial Extracorporeal Membrane Oxygenation: Results From an International, Multicenter Cohort Study. *Circulation.* 2020 Dec;142(22):2095-2106. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048792. Epub 2020 Oct 9. PMID: 33032450; PMCID: PMC7688081.

42.O'Neill WW, Schreiber T, Wohns DH, Rihal C, Naidu SS, Civitello AB, et al. The current use of Impella 2.5 in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock: results from the USpella Registry. *J Interv Cardiol.* 27:1-11.

43.Uriel N, Sayer G, Annamalai S, Kapur N, Burkhoff D. Mechanical Unloading in Heart Failure. *J Am Coll Cardiol.* 2018;72(5):569–80.

44.Rihal CS, Naidu SS, Givertz MM, Szeto WY, Burke JA, Kapur NK, et al. 2015 SCAI/ACC/HFSA/STS Clinical Expert Consensus Statement on the Use of Percutaneous Mechanical Circulatory Support Devices in Cardiovascular Care (Endorsed by the American Heart Association, the Cardiological Society of

India, and Sociedad Latino Americana de Cardiologia Intervencion; Affirmation of Value by the Canadian Association of Interventional Cardiology-Association Canadienne de Cardiologie d'intervention). *J Card Fail.* 21:499-518.

45.Meyns B, Stolinski J, Leunens V, Verbeken E, Flameng W. Left ventricular support by Catheter-Mounted axial flow pump reduces infarct size. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(7):1087–95.

46.Esposito ML, Zhang Y, Qiao X, Reyelt L, Paruchuri V, Schnitzler GR, et al. Left Ventricular Unloading Before Reperfusion Promotes Functional Recovery After Acute Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2018;72(5):501–14.

47.Wei X, Li T, Hagen B, Zhang P, Sanchez PG, Williams K, et al. Short-term mechanical unloading with left ventricular assist devices after acute myocardial infarction conserves calcium cycling and improves heart function. *JACC Cardiovasc Interv.* 6:406-15.

48.Kapur NK, Paruchuri V, Urbano-Morales JA, Mackey EE, Daly GH, Qiao X, et al. Mechanically unloading the left ventricle before coronary reperfusion reduces left ventricular wall stress and myocardial infarct size. *Circulation.* 128:328-36.

49.Kapur NK, Qiao X, Paruchuri V, Morine KJ, Syed W, Dow S, et al. Mechanical Pre-Conditioning With Acute Circulatory Support Before Reperfusion Limits Infarct Size in Acute Myocardial Infarction. *JACC Heart Fail.* 3:873-82.

50.Kapur NK, Alkhouli M, DeMartini T, Faraz H, George Z, Goodwin M, et al. Unloading the Left Ventricle Before Reperfusion in Patients with Anterior ST-

Segment Elevation Myocardial Infarction: A Pilot Study Using the Impella CP®. *Circulation*. 2019;139(3):337–46.

51. Azevedo CF, Amado LC, Kraitchman DL, Gerber BL, Edvardsen T, Osman NF, et al. The effect of intra-aortic balloon counterpulsation on left ventricular functional recovery early after acute myocardial infarction: a randomized experimental magnetic resonance imaging study. *Eur Heart J*. 2005;26:1235-41.
52. Nanas JN, Nanas SN, Kontoyannis DA, Moussoutzani KS, Hatzigeorgiou JP, Heras PB, et al. Myocardial salvage by the use of reperfusion and intraaortic balloon pump: experimental study. *Ann Thorac Surg*. 1996;61:629-34.
53. Ouweneel DM, Eriksen E, Sjauw KD, Dongen IM van, Hirsch A, Packer EJS, et al. Percutaneous Mechanical Circulatory Support Versus Intra-Aortic Balloon Pump in Cardiogenic Shock After Acute Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2017;69(3):278–87.
54. Vincent J-L, Backer DD. Circulatory Shock. *New Engl J Medicine*. 2013;369(18):1726–34
55. Swindle M. Swine in the laboratory: Surgery, Anesthesia, Imaging, and Experimental Techniques, 2nd edition (2010), CRC Press
56. Li JK-J. Comparative Cardiovascular Dynamics of Mammals (1996), CRC Press
57. Vandenbrielle C, Dannenberg L, Monteagudo-Vela M, Balthazar T, Metzen D, Voss F, et al. Optimal antithrombotic regimen in patients with cardiogenic

shock on Impella™ mechanical support: less might be more, *European Heart Journal*, Volume 41, Issue Supplement_2, November 2020, ehaa946.1843

58. Aykut G, Veenstra G, Scorcella C, Ince C, Boerma C. Cytocam-IDF (incident dark field illumination) imaging for bedside monitoring of the microcirculation. *Intensive Care Medicine Exp*. 2015;3(1):4.

59. Jacquet-Lagrèze M, Allaouchiche B, Restagno D, Paquet C, Ayoub J-Y, Etienne J, et al. Gut and sublingual microvascular effect of esmolol during septic shock in a porcine model. *Crit Care*. 2015;19(1):241.

60. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*. 2016;37(27):2129–200.

61. Curtis JP, Sokol SI, Wang Y, Rathore SS, Ko DT, Jadbabaie F, et al. The association of left ventricular ejection fraction, mortality, and cause of death in stable outpatients with heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Aug 20;42(4):736-42. doi: 10.1016/s0735-1097(03)00789-7. PMID: 12932612.

62. Marwick TH. Ejection Fraction Pros and Cons: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*. 2018 Nov 6;72(19):2360-2379.

63. D'hooge J, Heimdal A, Jamal F, Kukulski T, Bijnens B, Rademakers F, et al. Regional strain and strain rate measurements by cardiac ultrasound: principles, implementation and limitations. *Eur J Echocardiogr*. 2000 Sep;1(3):154-70.

doi: 10.1053/euje.2000.0031. Erratum in: Eur J Echocardiogr 2000 Dec;1(4):295-9. PMID: 11916589.

64.Ibanez B, Aletras AH, Arai AE, Arheden H, Bax J, Berry C, et al. Cardiac MRI Endpoints in Myocardial Infarction Experimental and Clinical Trials: JACC Scientific Expert Panel. J Am Coll Cardiol. 2019 Jul 16;74(2):238-256. doi: 10.1016/j.jacc.2019.05.024. PMID: 31296297; PMCID: PMC7363031.

65.Buckberg GD, Luck JC, Payne DB, Hoffman JI, Archie JP, Fixler DE. Some sources of error in measuring regional blood flow with radioactive microspheres. J Appl Physiol. 1971 Oct;31(4):598-604. doi: 10.1152/jappl.1971.31.4.598. PMID: 5111009.

66.Rudolph AM, Heymann MA. The circulation of the fetus in utero. Methods for studying distribution of blood flow, cardiac output and organ blood flow. Circ Res. 1967 Aug;21(2):163-84. doi: 10.1161/01.res.21.2.163. PMID: 4952708.

67.Domenech RJ, Hoffman JI, Noble MI, Saunders KB, Henson JR, Subijanto S. Total and regional coronary blood flow measured by radioactive microspheres in conscious and anesthetized dogs. Circ Res. 1969 Nov;25(5):581-96. doi: 10.1161/01.res.25.5.581. PMID: 5351326.

68.Yoshitake I, Hata M, Sezai A, Unosawa S, Wakui S, Kimura H, et al. The effect of combined treatment with Impella® and landiolol in a swine model of acute myocardial infarction. Journal of Artificial Organs, 15(3), 231–239. <https://doi.org/10.1007/s10047-012-0640-x>.

69.Sunagawa G, Saku K, Arimura T, Nishikawa T, Mannoji H, Kamada K, et al. Mechano-chronotropic unloading during the acute phase of myocardial

infarction markedly reduces infarct size via the suppression of myocardial oxygen consumption. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 12(2), 124–134. [https:// doi.org/10.1007/s12265-018-9809-x](https://doi.org/10.1007/s12265-018-9809-x).

70.Saku K, Kakino T, Arimura T, Sunagawa G, Nishikawa T, Sakamoto T, et al. Left ventricular mechanical unloading by total support of Impella in myocardial infarction reduces infarct size, preserves left ventricular function, and prevents subsequent heart failure in dogs. *Circulation. Heart Failure*, 11(5), e004397. [https://doi.org/10.1161/ CIRCHEARTFAILURE.117.004397](https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.117.004397).

71.Briceno N, Annamalai SK, Reyelt L, Crowley P, Qiao X, Swain L, et al. Left ventricular unloading increases the coronary collateral flow index before reperfusion and reduces infarct size in a swine model of acute myocardial infarction. *Journal of the American Heart Association*, 8(22), e013586. <https://doi.org/10.1161/JAHA.119.013586>

72.Møller-Helgestad OK, Hyldebrandt JA, Banke A, Rud CS, Udesen NLJ, Linde L, et al. Impella CP or VA-ECMO in profound cardiogenic shock: left ventricular unloading and organ perfusion in a large animal model. *EuroIntervention*. 2019 Feb 8;14(15):e1585-e1592. doi: 10.4244/EIJ-D-18-00684. PMID: 30418160.

73.De Backer D, Biston P, Devriendt J, Madl C, Chochrad D, Aldecoa C, et al. SOAP II Investigators. Comparison of dopamine and norepinephrine in the treatment of shock. *N Engl J Med*. 2010 Mar 4;362(9):779-89. doi: 10.1056/NEJMoa0907118. PMID: 20200382.

74. Levy B, Bastien O, Karim B, Cariou A, Chouihed T, Combes A, et al. Experts' recommendations for the management of adult patients with cardiogenic shock. *Ann Intensive Care*. 2015 Dec;5(1):52.
75. Duncker DJ, Koller A, Merkus D, Canty JM Jr. Regulation of coronary blood flow in health and ischemic heart disease. *Prog Cardiovasc Dis*. 2015 Mar-Apr;57(5):409-22. doi: 10.1016/j.pcad.2014.12.002. Epub 2014 Dec 2. PMID: 25475073; PMCID: PMC5856234.
76. Teboul JL, Monnet X, Chemla D, Michard F. Arterial Pulse Pressure Variation with Mechanical Ventilation. *Am J Resp Crit Care*. 2019;199(1):22–31.
77. Clemente-Moragón A, Gómez M, Villena-Gutiérrez R, Lalama DV, García-Prieto J, Martínez F, et al. Metoprolol exerts a non-class effect against ischaemia–reperfusion injury by abrogating exacerbated inflammation. *Eur Heart J*. 2020;ehaa733.

RESUME

Contexte : La prise en charge du choc cardiogénique par infarctus du myocarde repose actuellement sur la revascularisation myocardique la plus précoce possible. Cependant les bénéfices d'une décharge du ventricule gauche, a fortiori avant même l'étape de revascularisation coronaire, montrent des résultats prometteurs.

Objectifs : Étudier les effets de la décharge du ventricule gauche par la pompe micro-axiale Impella® sur la taille de l'infarctus du myocarde, la perfusion myocardique, les caractéristiques hémodynamiques ainsi que la microcirculation. Cette étude vise également à surmonter certaines limites inhérentes aux premières études expérimentales animales.

Méthodes : Étude prospective, randomisée et contrôlée. Deux ballons d'angioplastie sont gonflés dans l'artère interventriculaire antérieure proximale et l'artère circonflexe moyenne pendant 120 minutes afin d'induire un choc cardiogénique par infarctus du myocarde (double sub-occlusion critique). Les animaux sont répartis en deux groupes : groupe « contrôle » (reperfusion immédiate, sans décharge ventriculaire) et groupe « Impella » (reperfusion différée après 30 minutes de décharge ventriculaire). Une imagerie par résonance magnétique cardiaque ex vivo est réalisée pour mesurer la taille de l'infarctus.

Résultats : Sur 8 cochons adolescents *Sus scrofa domesticus* de 48,5±5 kg, l'ensemble des animaux développent un état de choc cardiogénique caractérisé par une chute du débit cardiaque, une hypotension artérielle et des défaillances d'organes. Deux animaux ont été implantés par une Impella® CP. La taille de l'infarctus représentait 67,2 % de l'aire à risque (n = 1).

Conclusion : Les résultats préliminaires laissent suggérer que la décharge ventriculaire mécanique par Impella® limite la consommation myocardique en oxygène et donc *in fine* la taille de l'infarctus du myocarde.