



**HAL**  
open science

**Protection tissulaire dans l'arrêt circulatoire : du  
massage cardiaque à la protection pharmacologique.  
Approche clinique et expérimentale**

Pascal Incagnoli

► **To cite this version:**

Pascal Incagnoli. Protection tissulaire dans l'arrêt circulatoire : du massage cardiaque à la protection pharmacologique. Approche clinique et expérimentale. Autre. Université de Grenoble, 2011. Français. NNT : 2011GRENV019 . tel-00602422

**HAL Id: tel-00602422**

**<https://theses.hal.science/tel-00602422>**

Submitted on 22 Jun 2011

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

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

## THÈSE

Pour obtenir le grade de

## DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

Spécialité : Physiologie-Physiopathologie-Pharmacologie

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

**Pascal INCAGNOLI**

Thèse dirigée par : **Professeur Jean-Louis PÉPIN** et  
codirigée par : **Professeur Jean-François PAYEN**

préparée au sein du Laboratoire : **HP2, Hypoxie Physiopathologie  
Respiratoire et Cardiovasculaire, INSERM ESPRI 3745, Grenoble,  
France.**

dans **l'École Doctorale** : Chimie et Science du Vivant

**Protection tissulaire dans l'arrêt circulatoire :  
du massage cardiaque à la protection  
pharmacologique. Approche clinique et  
expérimentale**

Thèse soutenue publiquement le **24 Mai 2011**  
devant le jury composé de :

Mr le Professeur Pierre CARLI

Mr le Professeur Alain CARIOU

Mr le Docteur Benoit VIVIEN

Mr le Professeur Patrick PLAISANCE

Mr le Professeur Pierre-Yves GUEUGNIAUD

Mr le Professeur Jean-Louis PÉPIN

Mr le Professeur Jean-François PAYEN

Président

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Directeur

Co directeur



*"La maladie qui m'a conduit à la réanimation m'a emmené plus loin que la réa, bien au delà du cap Horn, dans ce qu'il convient d'appeler une expérience de mort approchée »*

**Philippe LABRO, "la traversée".**

**Je dédie ce travail à mes amis disparus,**

**Le Docteur Patrick SAUVAL**

**Le Docteur Alain ÉDOUARD**

## **Remerciements,**

### ***A Monsieur le Professeur Pierre CARLI,***

*J'ai eu l'immense chance de faire partie de votre équipe au SAMU de Paris où vous m'avez transmis votre passion pour la médecine d'urgence et l'organisation des secours. C'est un honneur pour moi de vous avoir comme Président de ce jury.*

### ***A Monsieur le Professeur Alain CARIOU et à Monsieur le Docteur Benoît VIVIEN***

*Votre connaissance de la prise en charge pré hospitalière et hospitalière de l'arrêt cardiaque en France font de vous des experts reconnus par tous. Je vous remercie très sincèrement d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail.*

### ***A Monsieur le Professeur Patrick PLAISANCE et à Monsieur le Professeur Pierre-Yves GUEUGNIAUD,***

*Je ne pouvais pas rêver d'experts plus prestigieux pour juger ce travail. Vos travaux ont permis d'améliorer la prise en charge pré hospitalière de l'arrêt cardiaque en France. Je vous remercie de me faire l'honneur de participer à ce jury.*

### ***A Monsieur le Professeur Jean Louis Pépin et A Monsieur le Professeur Jean François PAYEN,***

*Je tiens à vous remercier d'avoir accepté de relire ce travail et de bien avoir voulu me faire confiance.*

Je tiens également à remercier :

Monsieur **le Docteur Marc SAVASTA**, sans lequel la soutenance de ce travail n'aurait pas eu lieu,

Les professeurs **Kamran SAMII et Maurice LAMY** : je vous dois ma spécialité ...

Monsieur **le Professeur Patrick LEVY**, Monsieur **le Professeur Christophe RIBUOT**, qui m'ont ouvert la porte de leur laboratoire malgré mon grand âge et m'ont permis de m'initier au difficile travail de recherche expérimentale,

Madame **le Docteur Marie JOYEUX-FAURE** pour son soutien sans faille et son aide constante pour mener les projets depuis la rédaction des protocoles jusqu'à la publication des travaux. Sans toi, Marie, je n'aurais sûrement pas été au bout de ce travail,

Madame **le Docteur Claude JACQUOT**, pour la confiance et l'écoute que vous m'avez accordée,

**Amandine, Elise et Pauline** qui m'ont encouragé lorsque je réanimais les rats ....

Toute l'équipe du SAMU de Paris en particulier **les docteurs Daniel Jannière, Philippe Delpech, Michel Szmajer, Alain Rozenberg et Suzanne Tartière** pour m'avoir formé à la médecine d'urgence. J'ai passé avec vous les meilleurs années de ma formation.

**Elisabeth, Jean Pierre et Ghislaine, Reza et Nazila, Pierre et Véro, Sophie et Juju, Jean Pierre et Joëlle** ... pour tous les bons moments passés ensemble.

**A RAPHAËLLE ET CÉCILE,**

**A BÉNÉDICTE,**

## **Table des matières**

<b>I Introduction</b>	11
<b>II Généralités</b>	16
1/ <u>Historique de la réanimation de l'arrêt cardiaque</u>	17
2/ <u>Épidémiologie de la mort subite</u>	19
3/ <u>Pronostic de l'arrêt cardiaque</u>	22
4/ <u>Les lésions d'ischémie reperfusion dans l'arrêt cardiaque</u>	23
4-1 Lésions cellulaires de l'ischémie-reperfusion	24
4-1-1 Conséquences cellulaires de l'ischémie	24
4-1-2 Conséquences cellulaires de la reperfusion	26
4-2 Ischémie-reperfusion myocardique et cérébrale	27
4-2-1 Ischémie-reperfusion myocardique	27
4-2-2 Ischémie-reperfusion cérébrale	29
4-3 Le syndrome post-arrêt cardiaque	31
4-3-1 Physiopathologie du syndrome post-arrêt cardiaque	31
4-3-2 Manifestations cliniques et biologiques du syndrome post-arrêt cardiaque	34
4-3-2-1 La défaillance hémodynamique	34
4-3-2-2 La défaillance neurologique	36
4-3-2-3 La dysfonction surrénalienne	36
4-3-2-4 Les anomalies de la coagulation	37
4-3-2-5 Autres défaillances d'organes	38
<b>III La protection tissulaire dans l'arrêt cardiaque : rôle du massage cardiaque</b>	39
1/ <u>Physiopathologie du massage cardiaque externe</u>	41
1.1 Théorie de la pompe cardiaque	41
1.2 Théorie de la pompe thoracique	42
1.3 Théorie de la pompe pulmonaire	44
2/ <u>Rôle du massage cardiaque externe dans la réanimation de l'arrêt cardiaque</u>	45
2.1 Massage cardiaque et pression de perfusion cérébrale	45
2.2 Massage cardiaque et pression de perfusion coronaire	46
3/ <u>Massage cardiaque externe standard</u>	47
4/ <u>Techniques améliorant l'efficacité du massage cardiaque externe</u>	48
4.1 La contention abdominale	49
4.2 Compression et ventilations simultanées	49
4.3 Compression pneumatique sous diaphragmatique	51
4.4 La veste pneumatique	52
4.5 Compression abdominale alternée	54
4.6 La compression-décompression active (CDA)	55
4.7 La valve d'impédance inspiratoire	61
4.8 Compression phasique abdominothoracique : le Lifestick™	62
4.9 Massage cardiaque automatisé	63
5/ <u>ETUDE 1 : le massage cardiaque interne par mini-thoracotomie</u>	64

5-1 Description du dispositif	65
5-2 Technique d'insertion du dispositif	67
5-3 Défibrillation	68
5-4 Etudes animales	69
5-5 Etude sur cadavre	70
5-6 Etude extra hospitalière chez l'homme	71
5-6-1 Patients et méthode	71
5-6-2 Résultats	72
5-6-2-1 Caractéristiques des patients	72
5-6-2-2 Insertion et retrait du dispositif	73
5-6-2-3 Aspect hémodynamique, échographique et coronarographique	75
5-6-2-4 Récupération d'une activité circulatoire spontanée et survie	79
5-6-2-5 Complications observées pendant l'étude	79
5-6-3 Discussion	80

#### **IV La protection tissulaire post arrêt circulatoire : rôle de la reperfusion coronaire et de l'hypothermie thérapeutique** 83

1/ <u>La reperfusion coronaire</u>	84
1-1 La thrombolyse	84
1-2 L'angioplastie en urgence	85
2/ <u>L'hypothermie thérapeutique</u>	86
2-1 Définition de l'hypothermie thérapeutique induite	87
2-2 Effets métaboliques de l'hypothermie	88
2-3 Effets cellulaires de l'hypothermie	88
2-4 Effets sur l'inflammation	89
2-5 Effets sur les radicaux libres	89
2-6 Effets sur les canaux calcium	90
2-7 Place de l'hypothermie dans l'arrêt cardiaque	90

#### **V La protection tissulaire post arrêt circulatoire : approche pharmacologique, exemple de l'érythropoïétine.** 94

1/ <u>Pharmacologie de l'érythropoïétine</u>	96
1-1 Le récepteur de l'érythropoïétine	97
1-1-1 Structure génique	97
1-1-2 Structure protéique	98
1-1-3 Mécanismes des modifications transcriptionnelles et traductionnelles	99
1-1-4 Sites et mécanisme d'activation du récepteur à l'EPO	100
1-2 L'érythropoïétine (EPO)	101
1-2-1 Structure génique	101
1-2-2 Structure protéique	101

1-3 Les Voies de signalisation de l'EPO	102
1-3-1 Voie de la protéine Kinase C	103
1-3-2 Voie Jak / STAT	103
1-3-3 Voie Akt/ PI3 kinase	104
1-3-4 Voie des MAP kinases	105
1-3-5 Rôle de l'oxyde nitrique (NO) et des canaux potassiques	106
1-3-5-1 Rôle de l'oxyde nitrique	106
1-3-5- 2 Rôle des canaux potassiques $K_{ATP}$	107
2/ <u>Effets cardioprotecteurs et neuroprotecteurs de l'EPO</u>	109
2-1 Effets cardioprotecteurs de l'EPO	109
2-1-1 In vivo	109
2-1-2 In vitro	110
2-2 Effets neuroprotecteurs de l'EPO	112
2-2-1 Erythropoïétine et développement embryonnaire	112
2-2-2 Erythropoïétine et barrière hémato-méningée (BHM)	113
2-2-3 Travaux expérimentaux	113
2-2-4 EPO et neuroprotection : études cliniques	117
2-2-5 Mécanismes d'action neuroprotectrices de l'EPO	118
3/ <u>Les érythropoïétines de synthèse (EPO-rh) et les dérivés non hématoïétiques</u>	118
3-1 Les érythropoïétines de synthèse (EPO-rh)	118
3-2 Les dérivés non hématoïétiques	119
3-2-1 Asialo-EPO	120
3-2-2 L'EPO carbamylée (CEPO)	120
4/ <u>ETUDE 2 : intérêt potentiel de l'utilisation de l'EPO dans l'arrêt cardiaque chez le rat</u>	121
4.1 Choix du modèle d'arrêt cardiaque	122
4.2 Matériel et méthode	122
4.2.1 Animaux	123
4.2.2 Préparation chirurgicale	124
4.2.3 Protocole d'arrêt cardiaque	124
4.2.4 Protocole de réanimation	124
4.2.5 Paramètres analysés	126
4.2.6 Analyse statistique	127
4.3 Résultats	127
4.3.1 Variables expérimentales avant arrêt cardiaque	127
4.3.2 EPO et reprise d'activité circulatoire spontanée	128
4.3.3 EPO et adrénaline	129
4.3.4 EPO et survie	129
4.3.5 Hémodynamique post arrêt cardiaque	131
4.4 Limites de l'étude expérimentale	132
4.5 Discussion et conclusion	133
5/ <u>ETUDE 3 : EPO et arrêt circulatoire en chirurgie cardiaque</u>	133
5-1 Matériel et méthode	136
5-1-1 Les patients	136
5-1-2 Le traitement	136
5-1-3 Procédure pré-per-et post-opératoire	138
5-1-4 Objectifs de l'étude	138

5-1-5 Les prélèvements biologiques	139
5-1-6 Analyse statistique	140
5-2 Résultats	140
5-2-1 Caractéristiques des patients	141
5-2-2 Données initiales	143
5-2-3 Les marqueurs de l'ischémie	143
5-2-4 Les marqueurs de l'inflammation	145
5-2-5 Les complications post-opératoires	145
5-3 Discussion de l'étude	146
5-4 Conclusion de l'étude	148
6/ <u>EPO et arrêt cardiaque chez l'homme</u>	149

<b>VI Protection tissulaire dans l'arrêt circulatoire : discussion et perspective d'avenir</b>	152
--	-----

<b>VII Annexes</b>	164
--------------------	-----

<b>VIII Références bibliographiques</b>	189
---	-----

<b>IX Résumé-Abstract</b>	213
---------------------------	-----

## **I/ Introduction**

Le pronostic de l'arrêt cardiaque (AC) est très sombre puisque le taux global de survie, tous pays confondus est inférieur à 5%. Un certain nombre de paramètres de la chaîne de survie se sont révélés comme primordiaux dans l'amélioration de ce pronostic. L'intervalle de temps entre l'arrêt cardiaque et le début de la réanimation cardio-pulmonaire est le premier paramètre fondamental de la réanimation de l'arrêt cardiaque car il est inversement proportionnel au taux de survie. Le deuxième point important est le rythme initial du patient qui donne en lui-même une idée des chances de récupération : jusqu'à 40% de survie lorsque le rythme initial est une fibrillation ventriculaire, seulement 2% lorsque ce rythme est une asystole. Ceci est d'autant plus important que, dans environ 70% des cas, le rythme d'un patient présentant un arrêt cardiaque en pré hospitalier est une fibrillation ventriculaire. Ce rythme pouvant rapidement se dégrader en asystole, tout doit être entrepris pour réduire le délai entre l'effondrement et le premier choc électrique externe. Le massage cardiaque externe, débuter si possible par les témoins permet, lors de la réanimation cardio-pulmonaire de base, de prolonger la durée de cette fibrillation ventriculaire. Le troisième point fondamental est dicté par les deux premiers : il est nécessaire que le ou les témoins de la mort subite puissent accéder le plus rapidement possible à la défibrillation semi automatique. La défibrillation du patient en fibrillation ventriculaire avant même l'arrivée des secours permet d'augmenter de manière très importante la survie des patients. Tous ces paramètres, sans lesquels aucun succès de réanimation n'est possible, constituent les premiers maillons de la chaîne de survie et doivent être enseignés à grande échelle car ils constituent la base du pronostic des patients en arrêt cardiaque. Le dernier maillon de la chaîne de survie est constitué par la réanimation spécialisée. Cette

réanimation spécialisée comprend elle-même deux parties, l'une pré-hospitalière et l'autre hospitalière, ces deux parties devant fonctionner en parfaite synergie.

La recherche sur l'arrêt cardiaque est très active depuis de nombreuses années. Elle concerne l'épidémiologie, la formation du public à la réanimation cardio-pulmonaire de base, les techniques de défibrillation, les aspects pharmacologiques de la réanimation, la compréhension des mécanismes du massage cardiaque externe et les différents moyens d'optimiser ce massage cardiaque ainsi que la compréhension des phénomènes d'ischémie -reperfusion et le développement de thérapeutiques capables de limiter les dégâts tissulaires de la reperfusion. Nous nous intéresserons essentiellement à ces deux derniers points.

La première partie de ce travail est consacrée au massage cardiaque. Le rôle fondamental du massage cardiaque est de pouvoir maintenir une pression de perfusion coronaire et une pression de perfusion cérébrale suffisante pour permettre la survie. De ces deux paramètres vont dépendre l'existence ou non de séquelles cérébrales en post arrêt cardiaque.

Depuis la description du massage cardiaque externe par le Docteur William-Bennett Kouwenhoven [1] en 1960, des techniques nouvelles ont été proposées basées sur les théories de la pompe cardiaque et de la pompe thoracique. La plupart des méthodes de réanimation cardio-pulmonaire se sont concentrées sur l'augmentation de la pression intra-thoracique pendant la phase de compression afin d'augmenter le volume éjecté par le ventricule gauche et d'améliorer ainsi la perfusion des organes vitaux. Ces techniques sont principalement la compression abdominale alternée, la ventilation simultanée à la compression, l'emploi du pantalon antichoc et la Vest CPR. Certaines d'entre elles ont montré une amélioration de la perfusion des organes vitaux mais aucune n'a fait la

preuve de supériorité par rapport au massage cardiaque externe en terme de survie. D'autres travaux se sont portés depuis 1990 sur l'amélioration durant la phase de diastole (décompression). Cette phase de décompression est en effet primordiale dans la physiopathologie de la réanimation cardio-pulmonaire puisqu'elle constitue le temps durant lequel la perfusion myocardique est maximale. L'idée selon laquelle la négativation de la pression intra thoracique permet d'améliorer le retour veineux est née. C'est le concept de la « compression-décompression Active » (CDA). Cette technique démontre au travers d'importants travaux non seulement une amélioration des débits des organes vitaux mais également une amélioration de la survie des arrêts cardiaques à court et à long terme. Les principales limites du massage cardiaque externe sont d'une part son faible rendement, puisque l'on peut considérer que correctement réalisé il ne permet de rétablir que 6% à 30% du débit carotidien normal et d'autre part, le fait qu'il entraîne une gêne au retour veineux en particulier cérébral du fait de l'augmentation des pressions intra-thoraciques. Par ailleurs, plusieurs études ont montré chez l'animal que les pressions de perfusion coronaire étaient meilleures lorsque le massage cardiaque pratiqué était un massage cardiaque interne [2]. En partant de ce principe, nous avons donc essayé de reproduire par l'intermédiaire d'un dispositif ressemblant à un drain thoracique associé à une ombrelle un massage cardiaque interne. Cette technique baptisée THERACARDIA permet de réaliser avec seulement une minithoracotomie de quelques centimètres d'une part, un massage cardiaque directement au contact du cœur, et, d'autre part, une défibrillation « basse énergie ».

La deuxième partie de ce travail est consacré à un autre volet tout aussi important de la réanimation de l'arrêt cardiaque qui est la protection de l'organisme contre les phénomènes d'ischémie reperfusion. Cette « organoprotection » est un concept un peu

nouveau dans la réanimation de l'arrêt cardiaque. D'abord représentée par l'hypothermie, de nouvelles molécules comme l'érythropoïétine (EPO) semblent pouvoir conférer une cardioprotection et/ou une neuroprotection lors d'une phase d'hypoperfusion sévère comme celle existant dans l'arrêt cardiaque. Dans une première étude, nous décrivons au travers d'un modèle expérimental d'arrêt cardiaque chez le rat le potentiel effet bénéfique de l'administration de l'EPO sur la survie des animaux. Dans une deuxième étude réalisée chez l'homme en chirurgie cardiaque sous circulation extra-corporelle, nous nous intéresserons dans ce modèle d'hypoperfusion globale aux éventuels effets bénéfiques de l'EPO sur les marqueurs de l'ischémie cardiaque, de l'ischémie cérébrale et sur les paramètres de l'inflammation.

Enfin, lorsque les techniques conventionnelles de réanimation ont échouées, la circulation extra-corporelle (CEC) pourrait constituer une arme supplémentaire pour repousser encore les limites de la réanimation de l'arrêt cardiaque. Nous aborderons donc brièvement dans une dernière partie, la place des techniques émergentes dans la prise en charge moderne de l'arrêt cardiaque.

## **II/ Généralités**

## **1/ Historique de la réanimation de l'arrêt cardiaque**

L'histoire de la réanimation de l'arrêt cardiaque est déjà décrite dans l'ancien testament, le prophète Elie ressuscitant un enfant en état de mort apparente : « *alors il se leva et s'allongea à côté de l'enfant, appuyant sa bouche contre sa bouche...la peau de l'enfant redevint chaude...* ». Avant le XIX<sup>ème</sup> siècle, les techniques de réanimation étaient basées sur le réchauffement du corps où le drainage de l'eau inhalée en cas de noyade. C'est en 1878 que Boehm décrit les compressions thoraciques chez le chat. Koenig applique cette technique chez l'homme en 1883. Les compressions sont initialement réalisées à une fréquence très lente pour privilégier la ventilation plus que la circulation. Peu après, Mass modifie la technique de Koenig et augmente la fréquence de compression à 120/minute. En 1882, Piot rédige une thèse sur la resuscitation des animaux asphyxiés par une muselière étanche et réanimés par le soufflet intégré à son masque, accompagnée par « une pression énergique au niveau du cœur coïncidant avec l'expiration ». En fait, la première véritable observation de réanimation cardio-pulmonaire est décrite à Göttingen en 1892 par Koenig et Mass. Ils rapportent l'observation clinique d'un enfant de 9 ans admis dans une clinique chirurgicale pour une chirurgie de fente palatine sous anesthésie générale au chloroforme. L'enfant cesse brusquement de respirer, devient cyanosé et ses pupilles se dilatent. Le massage cardiaque est débuté selon les recommandations émises par Koenig à 30 compressions par minutes et une trachéotomie est pratiquée. Au bout de 30 minutes sans résultats, l'enfant est transféré dans une autre pièce. Koenig déclarait : « *Je devais maintenant le considérer comme mort. Néanmoins je décidais de reprendre les compressions dans ma région du cœur et dans mon excitation je me mis à comprimer plus rapidement et plus vigoureusement. Les pupilles se contractèrent soudain et comme je continuais à*

*comprimer encore plus vite, elles redevinrent serrées et pendant les pauses, une respiration faible recommença. Au bout de 30 minutes, le pouls carotidien réapparaissait et la cyanose disparut*». La réanimation de l'arrêt cardiaque était née. L'adrénaline est découverte vers 1890 et utilisée à partir de 1906 chez les patients en asystolie. Crile en 1914 est le premier à évoquer l'importance du délai de prise en charge des patients victimes d'un arrêt cardiaque. Il décrit une méthode de compression thoracique et abdominale simultanée et réalise les premières administrations d'adrénaline. « ...la chose la plus essentielle est de suppléer le cerveau avec une circulation oxygénée. La respiration artificielle peut être maintenue indéfiniment avec facilité, le cœur peut également repartir, mais à moins de prévenir l'anoxie cérébrale en moins de 7 minutes, la patient passe dans un état de mort dont on sait qu'il ne sortira pas ». C'est au XIX<sup>ème</sup> siècle que Hoffa et Ludwig décrivent la fibrillation ventriculaire mais elle n'est pas immédiatement interprétée comme pouvant être la cause de la mort et reste sans traitement jusqu'à la découverte de la défibrillation par Prévost et Batelli en 1899 chez l'animal, d'abord à thorax ouvert puis à thorax fermé.

La première défibrillation chez l'homme date de 1947 par le chirurgien Claude Beck. A l'hôpital de Cleveland un enfant de 14 ans subit une intervention pour déformation congénitale de sa cage thoracique. Au moment de la fermeture survient une fibrillation ventriculaire toujours mortelle. Le patient bénéficie d'une nouvelle thoracotomie et des électrodes sont appliquées au contact direct du cœur, le défibrillateur délivrant un courant alternatif de 110 V. L'enfant est défibrillé. Il s'agit de la première tentative réussie de défibrillation ventriculaire chez l'homme. Il faudra encore attendre 10 ans avant que le Dr Paul Zoll réussisse la première défibrillation trans-thoracique chez

l'homme [3]. Cette étape marque alors une avancée décisive dans le traitement des arythmies ventriculaires létales.

Ce n'est qu'en 1960 que le docteur Kouwenhoven propose une technique de réanimation basée sur les caractéristiques anatomiques, technique qui va être à la base de toute la réanimation cardiopulmonaire moderne [1]. Il réintroduit la technique déjà décrite par Koenig en 1884 qui consiste à dire que le cœur étant situé entre le sternum et le rachis dorsal, sa compression entre ces deux structures solides permet de générer une onde de pouls apparentée à la systole tandis que le relâchement de la compression, équivalent d'une décompression passive équivaldrait à la diastole. La théorie de la pompe cardiaque était née même si cette théorie devait être remise en cause par la suite. Depuis la description de cette réanimation cardio-pulmonaire « moderne », la recherche n'a cessée de s'intensifier proposant chaque année des innovations techniques et pharmacologiques dans le seul but de tenter de ramener à la vie un être humain en état de mort apparente.

## **2/ Epidémiologie de la mort subite**

La mort subite à une épidémiologie mal connue en France de fait de l'absence jusqu'à très récemment d'un registre de recueil national des arrêts cardiaques. Les données de la littérature rapportent une incidence de 0,05% à 0,15% aux Etats-Unis [4], ce qui donnerait une estimation de 30 000 à 90 000 décès par an en France soit moins de 10% des décès annuels. Les résultats Français de l'étude MONICA insistent sur la prévalence de l'origine coronarienne de ces décès aux environs de 60/100 000 chez l'homme et de 10/10 000 chez la femme. L'étiologie cardiaque est la cause la plus souvent retrouvée dans l'arrêt cardiaque de l'adulte. Les causes sont essentiellement représentées par les

origines ischémiques à type de fibrillation ventriculaire. Les autres causes cardiaques sont les troubles de la conduction, les troubles du rythme (syndrome de Brugada, tachycardie de Wolff-Parkinson-White), une dysplasie arythmogène du ventricule droit, un syndrome du QT court ou les torsades de pointes du syndrome du QT long qui peut être congénital ou acquis. L'arrêt cardiaque peut être également d'origine extra-cardiaque que se soit d'origine respiratoire, circulatoire, neurologique ou métabolique.

Tableau 1 : Principales causes d'arrêt cardio-circulatoire

**Causes d'origine cardiaque**

Troubles du rythme : fibrillation ventriculaire +++

Troubles de conduction

Infarctus du myocarde

Tamponnade péricardique

**Causes d'origine non cardiaque**

Embolie pulmonaire

Pneumothorax suffocant

Obstruction des voies aériennes, hypoxie

Hypovolémie quelle que soit la cause (hémorragie, anaphylaxie...)

Causes métaboliques : acidose, hypo/hyperkaliémie, autres troubles ioniques

Hypothermie

Intoxication médicamenteuse (quinidiniques,  $\beta$  bloquants, digitaliques...)

Parmi les facteurs de risques d'arrêt cardiaque, on retrouve des facteurs d'ordre socio-culturels, corrélés à un comportement à risque. Les comportements à risques sont des conduites addictives ou celles qui augmentent le risque lié au traumatisme. D'autres facteurs sont liés au risque cardiovasculaire mais 90% de ces patients ne sont pas identifiables comme à haut risque de mort subite. Plusieurs auteurs [5,6] rapportent que l'âge moyen de survenue d'un arrêt cardiaque en extra hospitalier est de 70 ans avec une augmentation de la proportion de la population féminine qui est de l'ordre de 33%. Il est constaté une baisse de l'incidence de la fibrillation ventriculaire dans le cadre de l'étiologie cardiaque qui reste néanmoins prépondérante chez l'adulte. Il n'est pas noté

de corrélation entre l'âge de la victime et la survenue de fibrillation ventriculaire dans le cas d'arrêt cardiaque d'étiologie non-cardiaque [7]. La réalisation de la RCP par les témoins a tendance à augmenter même si elle est plus rare sur une victime âgée [8]. Le taux d'hospitalisation a tendance à augmenter mais sans variation significative du taux de survie à 1 mois. Ce taux diminue avec l'âge de la victime. Certaines populations et zones géographiques présentent une incidence plus élevée d'arrêt cardiaque non récupérés et ces variations semblent liées à une distribution des équipes de secours ainsi qu'à la disponibilité des moyens de défibrillation et médicaux. En effet, l'implication de la population dans la pratique de la réanimation cardio-pulmonaire (RCP) initiée de façon précoce dans le cadre de la chaîne de secours permet d'améliorer la récupération de ces arrêts [8]. Les chances de survie augmentent quand l'arrêt cardiaque a lieu en dehors du domicile et en présence de témoins. Les chances de sortir vivant de l'hôpital à un an sont multipliées par 4,4 lorsque l'arrêt cardiaque survient devant un témoin et de encore multipliées par 3,7 lorsque les témoins initient les manœuvres de réanimation cardio-pulmonaire. Ceci reste vrai même si la réanimation par les témoins ne comprend que des compressions thoraciques seules [9]. L'utilisation d'un défibrillateur automatisé externe (DAE) multiplie par 3,4 les chances de sortir vivant de l'hôpital à 1 an. Le problème majeur reste que 80 % des arrêts cardiaques surviennent à domicile sans témoins avec un taux de survie estimé à 2.5% [10]. Une étude a par ailleurs récemment montrée que l'existence d'un défibrillateur semi-automatique au domicile de patient à risque de mort subite, en ayant formé l'entourage à son utilisation, ne modifiait pas la survie en cas d'arrêt cardiaque au domicile ce qui relativise l'intérêt de mettre un DAE au domicile [11].

### **3/ Pronostic de l'arrêt cardiaque**

Le pronostic de l'arrêt cardiaque reste très sombre puisque le taux global de survie, tous pays confondus, est inférieur à 5% et peu d'amélioration n'est constatée depuis 1982 [12]. Sur notre territoire, le taux de survie est d'environ 4% ce qui est identique aux taux retrouvés dans les études internationales. Malgré de nombreux travaux de recherche depuis 1960 menés à la fois sur les techniques d'amélioration du massage cardiaque, sur la défibrillation, l'utilisation des vasopresseurs et des anti-arythmiques, sur la cardio-protection pour tenter de diminuer la dysfonction myocardique post-arrêt cardiaque, le taux de survie de la mort subite reste désespérément bas. Ceci a motivé la création en 1992 par l'American Heart Association et l'European Resuscitation Council du concept de la chaîne de survie qui a pour objectif de sensibiliser les acteurs potentiels de la prise en charge d'un patient en arrêt cardiaque aux 4 étapes de la réanimation cardio-pulmonaire. Les deux premiers maillons de cette chaîne de survie s'adressent au grand public et les deux derniers aux secours organisés et institutionnels. Les recommandations sont régulièrement actualisées et aboutissent à partir de travaux expérimentaux et cliniques à des modifications de notre pratique de tous les jours. Les deux premiers maillons font l'objet d'une attention toute particulière. Ils s'adressent au premier témoin et veulent transformer un témoin passif en citoyen actif. La reconnaissance par le grand public des signes évidents de détresse vitale est essentielle, conduisant à l'alerte immédiate au centre 15, c'est le premier maillon de la chaîne de survie en France. La pratique des gestes élémentaires de survie (massage cardiaque externe sans ventilation lorsque la victime est un adulte) sans attendre l'arrivée des secours spécialisés constitue le deuxième maillon de la chaîne de survie mais seulement 3 à 4% des français semblent former à la réanimation cardio-pulmonaire de base. Et

c'est là le problème. Soixante dix pour cent des morts subites de l'adulte surviennent en fibrillation ventriculaire. Lorsque tous les maillons de la chaîne de survie sont présents, la défibrillation précoce devient primordiale. Idéalement le premier choc électrique doit pouvoir être délivré dans les 3 premières minutes suivant l'effondrement. Des taux de survie à la sortie de l'hôpital de 59% des patients présentant initialement une fibrillation ventriculaire peuvent alors être observés [13]. La défibrillation précoce est de tous les maillons celui qui améliore de la manière la plus spectaculaire le pronostic de ces patients. La réanimation spécialisée, en France, constitue probablement le maillon le plus performant de la chaîne de survie. Il faut néanmoins être bien conscient que sans amélioration des trois premiers maillons, aucune augmentation significative de la survie dans la mort subite ne sera possible.

#### **4/ Les lésions d'ischémie reperfusion dans l'arrêt cardiaque**

L'ischémie est classiquement définie par une réduction ou une interruption du débit sanguin dans un territoire vasculaire donné, responsable d'une inadéquation entre d'une part les apports en oxygène et en substrat énergétiques et d'autre part, les besoins de la cellule pour son fonctionnement et sa survie. Cette ischémie contribue à la physiopathologie de nombreuses situations cliniques. Elle peut être secondaire à une interruption complète du flux sanguin soit au niveau d'un organe comme dans l'infarctus du myocarde ou l'accident vasculaire cérébral mais elle peut être globale comme dans l'arrêt cardiaque. Elle peut être aussi liée à une diminution de la perfusion tissulaire en dessous d'un certain seuil critique comme cela peut s'observer dans un grand nombre de situation d'insuffisance circulatoire aiguës comme dans les états de choc septique, les états de choc hémorragique ou encore les états de choc cardiogénique.

La reperfusion est définie quant à elle par la restauration du débit sanguin dans un territoire ayant été préalablement soumis à une ischémie. Actuellement la principale option thérapeutique est la restauration la plus rapide possible du flux sanguin dans les organes ischémiques. Dans l'arrêt cardiaque, la précocité et la qualité du massage cardiaque mis en route va conditionner la survie des patients. Cependant, si la reperfusion reste le seul moyen d'éviter ou de limiter des lésions cellulaires irréversibles, la reperfusion peut induire des lésions directes des membranes cellulaires et des lésions indirectes initiant la une réaction inflammatoire elle même à l'origine de lésions tissulaires et d'une altération fonctionnelle de l'organe en cause.

#### **4-1 Lésions cellulaires de l'ischémie reperfusion**

##### 4-1-1 Conséquences cellulaires de l'ischémie

La production d'énergie est indispensable au maintien de l'intégrité cellulaire et est nécessaire aux fonctions cellulaires de chaque organe. Pendant l'ischémie, la production par phosphorylation oxydative de composés riches en énergie, principalement l'adénosine 5'-triphosphate (ATP) et la phosphocréatine, devient insuffisante pour assurer le métabolisme et la survie des cellules. La glycolyse anaérobie devient alors la principale source de production d'ATP de la cellule. Cependant, le rendement énergétique de la glycolyse anaérobie est beaucoup plus faible que celui de la voie oxydative puisque 2 molécules d'ATP sont produites à partir d'une molécule de glucose contre 36 molécules d'ATP en condition aérobie. Cette glycolyse anaérobie aboutit à la production de pyruvate puis de lactate. Alors qu'en condition aérobie le pyruvate est décarboxylé puis intégré dans le cycle de Krebs, en condition anaérobie, il est transformé en lactate par la lactate déshydrogénase. L'accumulation de lactate ainsi que l'hydrolyse de l'ATP produite par la glycolyse anaérobie sont source de protons qui

vont contribuer au développement de l'acidose intracellulaire. Le pH intracellulaire va baisser dans les minutes qui suivent l'ischémie de 7,0 à moins de 6,0. Cette charge brutale en ions H<sup>+</sup> va stimuler l'échangeur Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> dans le sens d'une extrusion des ions H<sup>+</sup> et d'une entrée des ions Na<sup>+</sup> aboutissant à une augmentation de la concentration intracellulaire de Na<sup>+</sup>. L'augmentation du Na<sup>+</sup> intracellulaire provoque l'activation de l'échangeur Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> dans le sens d'une extrusion du Na<sup>+</sup> et d'une entrée du Ca<sup>2+</sup> dans la cellule. Une fraction du Ca<sup>2+</sup> cytosolique est captée par les mitochondries entraînant une surcharge calcique mitochondriale à l'origine d'une augmentation de la perméabilité de la membrane interne des mitochondries. Cette augmentation de la perméabilité est secondaire à l'ouverture de mégacanaux transmembranaires appelés pore de transition de perméabilité permettant la libération de facteurs inducteurs de l'apoptose comme par exemple le cytochrome c. L'augmentation du calcium intracellulaire va être également responsable de l'activation des enzymes responsables des réactions de phosphorylation et de protéolyse des protéines constituant ou stabilisant les microtubules du cytosquelette aboutissant à une destruction de celui-ci. La désorganisation du réseau de microtubules est parfois mise en évidence dès les premières minutes suivant le début de l'ischémie. Outre l'altération de nombreuses fonctions cellulaires comme la phagocytose ou la cohésion cellulaire, la destruction du réseau des microtubules contribuerait également au processus de mort cellulaire par apoptose ou par nécrose. Enfin, l'ischémie assure la promotion ou la répression de l'expression de gènes impliqués non seulement dans les lésions cellulaires (nécrose et apoptose) mais aussi dans les mécanismes de défense contre l'ischémie.

#### 4-1-2 Conséquences cellulaires de la reperfusion

La reperfusion réintroduit brutalement de l'oxygène en grande quantité dans les cellules qui en étaient privées. La chaîne respiratoire mitochondriale fonctionnellement endommagée par l'ischémie ne peut pas utiliser correctement cet excès d'oxygène. Au lieu de synthétiser de l'ATP, la mitochondrie produit des espèces radicalaires de l'oxygène (ROS). La production de ces radicaux libres de l'oxygène est très rapide et a été mise en évidence dans les secondes qui ont suivi la réintroduction de l'oxygène. Elle est multifactorielle : mitochondriale, cellules endothéliales, xanthine oxydase, polynucléaires neutrophiles. La production explosive de ces radicaux libres dès les premières secondes de la reperfusion induit des lésions directes des membranes cellulaires par le biais des réactions de peroxydation lipidique et en particulier des lésions de la membrane mitochondriale. De plus, ces radicaux libres participent à l'attraction et à l'activation des polynucléaires neutrophiles par le biais de l'activation de la phospholipase A<sub>2</sub> à l'origine de la synthèse de thromboxane A<sub>2</sub> et de leucotriènes. Enfin, ils sont susceptibles d'activer l'expression des gènes codant pour les molécules d'adhésion et les cytokines par l'intermédiaire de l'activation du facteur NF- $\kappa$ B et d'activer le système du complément. L'activation des fractions C3 et C5 du complément va promouvoir et amplifier la réaction inflammatoire locale, induire la production de cytokines (IL6, IL1, TNF- $\alpha$ ...), altérer la perméabilité vasculaire, induire une contraction des cellules musculaires lisses vasculaires et provoquer la libération d'histamine par les mastocytes et les polynucléaires basophiles. Par ailleurs, l'activation des facteurs du complément va promouvoir la synthèse et l'expression des molécules d'adhésions à la surface des cellules endothéliales et induire directement des lésions membranaires.

## **4-2 Ischémie-reperfusion myocardique et cérébrale**

### **4-2-1 Ischémie-reperfusion myocardique**

Dans les secondes qui suivent le début de l'ischémie, une diminution très brutale et importante de l'activité contractile se produit, l'épaississement/raccourcissement du myocarde est remplacé par un amincissement/dilatation passif. Les modifications architecturales qui caractérisent la phase toute initiale de l'ischémie sont essentiellement représentées par une diminution des amas de glycogène intracellulaire et le développement d'un œdème intracellulaire. Pendant les premières minutes de l'ischémie, les dommages cellulaires restent totalement réversibles. Chez le chien, lorsque la reperfusion cellulaire est rétablie après une occlusion artérielle coronaire de 15 minutes, il n'apparaît pas d'infarctus, les cellules qui ont été ischémiques puis reperfusées retrouvent un métabolisme et une fonction normale dans les heures qui suivent cette reperfusion. Si l'ischémie est plus prolongée (durée supérieure à 20 minutes chez le chien), les myocytes cardiaques sont irréversiblement endommagés. Le sous-endocarde qui est plus sensible à l'ischémie est le premier touché. Chez le chien, après 60 minutes d'occlusion artérielle coronaire, le tiers interne de l'épaisseur de la paroi du myocarde ischémique est infarci. Lorsque l'on prolonge encore plus la durée d'ischémie, la nécrose s'étend progressivement de l'endocarde vers l'épicarde: ce phénomène a été appelé «wavefront phenomenon» par Reimer et Jennings [14]. L'ultra-structure du myocarde irréversiblement endommagée se caractérise par la présence d'inclusions intra-mitochondriales denses, des ruptures de membranes et, si la lésion est évoluée par une anarchie architecturale. Le tissu myocardique endommagé perd tout métabolisme normal. L'extension de la nécrose myocardique dépend principalement de 3 facteurs : la durée de l'ischémie, l'intensité de l'ischémie et la taille

de la zone d'ischémie. La reperfusion coronaire en urgence est dans l'arrêt cardiaque d'origine coronarienne comme dans l'infarctus du myocarde le seul moyen de sauver un myocarde ischémique. Cependant de très nombreux travaux expérimentaux puis cliniques ont soulevé la question d'un possible effet néfaste de la reperfusion comme nous l'avons évoqué précédemment. Jennings et al émettent l'hypothèse que chez le chien la reperfusion s'accompagne d'une accélération du processus nécrotique commencé au décours de l'épisode ischémique préalable [15]. Hearse et al ont démontré par la suite dans un modèle de coeur isolé perfusé de rat que la réoxygénation du myocarde ischémique s'accompagnait d'une libération massive d'enzymes cardiaques et de nombreux dommages ultra-structuraux beaucoup plus importants que si l'ischémie avait été maintenue au lieu de la reperfusion [16]. Les lésions de reperfusion correspondent à un évènement associé à la reperfusion, qui est totalement nouveau et qui peut être atténué ou amplifié par une intervention thérapeutique commencée seulement au moment de la reperfusion. Il existe 4 formes de lésions de reperfusion : les troubles du rythme ventriculaire, les arythmies de reperfusion, la sidération myocardique (myocardial stunning) et l'hibernation myocardique. Les conditions favorables à ces phénomènes de reperfusion sont une baisse de l'ATP intracellulaire, une accumulation de  $Ca^{2+}$  dans la mitochondrie, une surproduction de radicaux libre de l'oxygène. Les troubles du rythme ventriculaire sont secondaires à des automatismes anormaux, des ralentissements localisés de la conduction à l'origine de circuits de réentrée, à la dispersion des périodes réfractaires et à des troubles de l'excitabilité représentées par des post-dépolarisations précoces ou tardives. Les mécanismes principaux impliqués dans ces troubles du rythme sont la dépolarisation membranaire et

les modifications des concentrations intracellulaire et extracellulaire des ions induites par l'ischémie.

Les arythmies de reperfusion sont très fréquentes chez les patients au cours de la reperfusion coronaire après un infarctus et après récupération d'une activité cardiaque spontanée dans l'arrêt cardiaque et sont le plus souvent sans gravité car représentées en majorité par des rythmes idioventriculaires lents ou rapides. Les mécanismes impliqués dans ces arythmies sont les anomalies de l'homéostasie du  $Ca^{2+}$  et les mouvements rapides d'ions de part et d'autre du sarcolemme. Le myocarde hibernant est une dysfonction myocardique persistante secondaire à une ischémie chronique, totalement réversible après la reperfusion myocardique

La sidération myocardique (stunning) est une dysfonction myocardique transitoire survenant après la reperfusion du myocarde ischémique et ce malgré l'absence de lésions irréversibles. Elle est totalement réversible avec le temps. Les mécanismes impliqués sont principalement les lésions induites par la production explosive de radicaux libres de l'oxygène, les anomalies de l'homéostasie du calcium. La diminution ou l'inadéquation de la synthèse d'ATP à la phase initiale de la reperfusion et les lésions endothéliales et vasculaires à l'origine d'un vasospasme ou d'un flux sanguin incomplètement restauré (no-reflow) sont également impliqués. Ce phénomène de sidération myocardique est fréquemment retrouvé en post-arrêt cardiaque.

#### 4-2-2 Ischémie-reperfusion cérébrale

Au niveau cérébral, le mécanisme déclenché par l'ischémie commence à être bien compris. D'une part les perturbations cellulaires non spécifiques induites par l'ischémie reperfusion sont également retrouvées au niveau des neurones. D'autre part, le déficit en

ATP et le dysfonctionnement de la Na/K ATPase provoquent une réversion des transporteurs au glutamate. Le glutamate libéré alors par les neurones et les cellules gliales va inonder massivement les compartiments extracellulaires de différentes zones cérébrales et activer les récepteurs glutamatergiques synaptiques et extra-synaptiques. L'activation des récepteurs de type NMDA provoque au niveau des neurones un influx massif de sodium et surtout de calcium. L'excès de calcium est excitotoxique, il entraîne une augmentation du taux des radicaux libres, active des protéases et des endonucléases, déclenche des voies de signalisation apoptotique ou bien mène à la nécrose.

Lors d'une ischémie globale temporaire, provoquée par exemple par un arrêt cardiaque transitoire de quelques minutes, on peut remarquer deux choses particulièrement intéressantes. La première est le fait que toutes les zones du cerveau ne présentent pas la même vulnérabilité à l'ischémie. La région préoptique, le cortex, l'hippocampe et le striatum sont des régions très sensibles à l'ischémie mais au sein d'une même structure comme l'hippocampe, les neurones pyramidaux des régions CA1 meurent alors que les neurones pyramidaux de la région voisine CA3 survivent à une ischémie transitoire de quelques minutes. Il existe donc une vulnérabilité de certaines structures cérébrales et plus particulièrement de certains types neuronaux ce qui permet de penser que certains types de neurones ont développé des mécanismes neuroprotecteurs endogènes ou bien ont une constitution qui les rend moins sensibles à l'ischémie. La deuxième observation est que la mort des neurones n'est pas immédiate. En l'absence d'hémorragie, les lésions cérébrales de patients ayant subi une ischémie générale transitoire n'apparaissent qu'après un à deux jours en imagerie par résonance magnétique et, in

vitro, après une hypoxie de quatre à six minutes, la mort des neurones n'est constatée qu'entre 24h et 72h.

### **4-3 Le syndrome post-arrêt cardiaque**

Décrit pour la première fois par un médecin russe, Negovsky [17], la maladie post-ressuscitation a été rebaptisée comme étant en fait un véritable syndrome par l'équipe de Safar et al [18,19] : le syndrome post-arrêt cardiaque. Les patients qui survivent à la phase initiale de la prise en charge préhospitalière vont dans la grande majorité avoir une évolution hospitalière péjorative. Dès les premières heures suivant l'arrêt cardiaque ils vont développer un syndrome inflammatoire systémique le plus souvent accompagné d'un tableau de choc avec des désordres biologiques sévères évoluant très rapidement, en l'absence d'une prise en charge réanimatoire très invasive vers une défaillance multiviscérale et le décès [20]. Deux tiers des patients qui vont survivre au syndrome de reperfusion précoce présentent par la suite des lésions cérébrales évoluant soit vers le décès, soit à des séquelles neurologiques responsables d'un état végétatif. La fréquence, l'intensité de ces complications dépendent d'un certain nombre de paramètres dont les principaux sont le délai de prise en charge initiale (délai entre l'effondrement et le début du massage cardiaque externe par les témoins), l'efficacité du massage cardiaque et du délai écoulé entre l'effondrement du patient et la restauration d'une hémodynamique spontanée efficace.

#### **4-3-1 Physiopathologie du syndrome post-arrêt cardiaque**

Nous avons déjà un peu abordé la physiopathologie du syndrome post-arrêt cardiaque lorsque nous avons décrit précédemment les dégâts cellulaires engendrés par le

phénomène d'ischémie reperfusion. Dans le cadre de l'arrêt cardiaque, l'importance du phénomène tient au fait que le syndrome d'ischémie reperfusion est globale concernant l'ensemble de l'organisme et notamment le cerveau. Durant la phase d'ischémie, l'absence d'oxygène empêche la phosphorylation oxydative dans la mitochondrie, la production d'ATP n'étant alors assurée que par la voie anaérobie beaucoup moins efficace en termes de rendement énergétique, aboutissant à une chute importante de la synthèse d'ATP. Celle-ci est responsable d'une dépolarisation de la membrane plasmique, d'une ouverture des canaux calciques voltages dépendants du sarcolemme et d'une chute du potentiel de membrane mitochondrial. Nous avons vu que ces phénomènes aboutissaient à une augmentation de la concentration du calcium intracytoplasmique responsable de lésions cellulaires. C'est donc au cours de la phase de « no flow » que vont se constituer les premières lésions cellulaires. La reprise d'un flux sanguin engendré par le massage cardiaque va constituer le premier temps de la reperfusion (phase de low-flow) mais est à l'origine de la formation de radicaux libres de l'oxygène qui vont être responsables de l'aggravation des lésions initiées lors de l'ischémie et vont aboutir à la mort cellulaire [21]. Les espèces radicalaires de l'oxygène vont être responsables de l'inactivation des cytochromes, vont altérer les protéines de transport membranaire et la peroxydation des lipides membranaires. Bien que la sévérité des lésions soit en particulier liée à la durée de l'ischémie, d'autres facteurs semblent jouer un rôle primordial influençant l'étendue et la sévérité des lésions comme la température et le pH lors du rétablissement de la perfusion. La libération de radicaux libres de l'oxygène, l'activation de la coagulation et de la voie du complément et la libération de cytokines (IL-1, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ ), activent les leucocytes avec une surexpression de leurs marqueurs de surface d'adhésion [22]. Ces

leucocytes activés se lient à des récepteurs endothéliaux et migrent vers les zones et les tissus lésés. Cette adhésion leucocytaire à l'endothélium aboutit à une augmentation de la perméabilité capillaire et des microthromboses. Les phénomènes d'ischémie reperfusion peuvent être également responsables de lésions d'origine infectieuses en rapport avec des translocations bactériennes du fait de l'altération de la muqueuse digestive ce qui expliquerait les taux élevés d'endotoxines plasmatiques, observés chez les sujets les plus sévèrement atteints [23]. Dans l'étude de Adrie et al, une élévation très importante des cytokines et des récepteurs solubles plasmatiques a été observée dès l'admission en réanimation des patients ayant présenté un arrêt cardiaque ressuscité avec retour à une circulation spontanée, cette élévation était d'autant plus importante que les patients ont eu une évolution neurologiques défavorable ou ont nécessité un support vasopresseur. Les taux de certaines cytokines, comme l'IL-6 et le récepteur soluble du TNF (type II), étaient étroitement corrélés à la lactacidémie ce qui faisait suggérer aux auteurs une relation étroite entre ischémie et reperfusion d'une part et le développement d'une réaction inflammatoire d'autre part. Par contre, la présence d'endotoxine détectable dans le plasma n'était pas corrélée à la mortalité. La même équipe a mis en évidence une hyporéactivité des leucocytes circulants prélevés chez des patients ayant fait un arrêt cardiaque. D'autres études ont également montré une élévation des concentrations des molécules d'adhésion intercellulaire soluble de type 1, des molécules d'adhésion vaisseaux-cellules de type 1 et des sélectines solubles plasmatiques de type P (plaquettes) et E (endothélium) témoignant également de l'existence d'une réaction inflammatoire [24,25,26].

#### 4-3-2 Manifestations cliniques et biologiques du syndrome post-arrêt cardiaque

Le syndrome de reperfusion post arrêt cardiaque comporte un ensemble de manifestations cliniques et biologiques qui vont être corrélées à la durée et à la difficulté de la réanimation initiale [27]. La défaillance cardio-circulatoire domine le tableau clinique dans les premières heures, mais ce sont les lésions neurologiques anoxiques qui provoquent la majorité des décès chez les patients réanimés d'un arrêt cardiaque.

##### 4-3-2-1 *La défaillance hémodynamique*

Le « choc post-arrêt cardiaque » décrit en 1972 par Negovsky [17] est un choc mixte ayant une composante cardiogénique et périphérique. La défaillance myocardique est le plus souvent au premier plan. Des études animales suggèrent que l'instabilité hémodynamique après arrêt cardiaque est en partie liée à une dysfonction myocardique systolique aiguë avec une diminution de la contractilité, du travail myocardique et des anomalies de la fonction diastolique. Ce tableau clinique est transitoire régressant en quelques heures ou quelques jours après le retour à une circulation spontanée [28]. Cette dysfonction myocardique attribuée à une sidération myocardique (cardiac stunning) [30] peut être prévenue sur le plan expérimental, par l'administration précoce de dobutamine [29]. L'évidence expérimentale d'une dysfonction myocardique précoce a pu être confirmée chez l'homme même en l'absence d'étiologie coronaire à l'arrêt cardiaque. Laurent et al [31] ont décrit le profil hémodynamique du choc post arrêt cardiaque. Dans cette étude incluant 148 patients consécutifs hospitalisés au décours d'un arrêt cardiaque ressuscité, 73 (49%) ont développé un état de choc précoce (délai médian de huit heures). Ces patients ont fait l'objet d'une exploration hémodynamique invasive

par cathéter artériel pulmonaire. Ces patients présentaient dès l'arrivée à l'hôpital une diminution de la fraction d'éjection ventriculaire gauche angiographique indépendamment de l'étiologie coronaire ou non de l'arrêt cardiaque, même chez les patients sans instabilité hémodynamique initiale. Le début de l'instabilité était retardé de quelques heures (4 à 8 heures) avec une récupération *ad integrum* à la soixante-douzième heure. L'instabilité hémodynamique était plus fréquente chez les patients ayant une occlusion coronarienne comme cause d'arrêt cardiaque ou une durée prolongée des manœuvres de ressuscitation. La persistance d'un index cardiaque effondré à la 24<sup>e</sup> heure était associée à une survenue plus précoce du décès. L'auteur notait par ailleurs d'une part que la mortalité par choc réfractaire après angioplastie efficace était plus faible que chez les patients sans infarctus récent et d'autre part que le succès d'une angioplastie immédiate de l'artère responsable était indépendamment associé à une meilleure survie [32]. Ce bénéfice semblait être lié à une récupération myocardique plus rapide et à une diminution des récurrences des troubles du rythme cardiaque. La défaillance hémodynamique n'est cependant pas uniquement liée à la dysfonction myocardique. En effet, même si la fonction myocardique semble évoluer relativement rapidement chez les survivants, Laurent et al. ont également montré que les vasopresseurs devaient souvent être maintenus jusqu'à la 72<sup>e</sup> heure, en association avec un remplissage vasculaire important ce qui permettait aux auteurs de suggérer que l'existence d'une composante vasoplégique associée à la dysfonction myocardique était probablement la conséquence du syndrome d'inflammation généralisé existant en post arrêt cardiaque chez l'homme.

#### 4-3-2-2 *La défaillance neurologique*

Les lésions neurologiques anoxo-ischémiques provoquent la majorité des décès observés chez les patients initialement réanimés d'un arrêt cardiaque [33]. Ces lésions neurologiques peuvent être décelées en l'absence de sédation entre le 3<sup>e</sup> et le 7<sup>e</sup> jour suivant l'hospitalisation [34]. La persistance d'anomalies neurologiques au delà du septième jour conduit le plus souvent au décès ou à des séquelles neurologiques majeures. Plusieurs équipes se sont intéressées à l'analyse du débit sanguin cérébral au décours d'un arrêt cardiaque [35,36,37]. Elles ont mis en évidence l'existence d'une diminution du débit sanguin cérébral associé à une diminution de l'extraction cérébrale en oxygène qui semble être en rapport avec une majoration des résistances vasculaires cérébrales. Cette anomalie se corrige en 72 heures. Chez les patients survivants, la normalisation du débit sanguin cérébral s'accompagne d'une augmentation de l'extraction cérébrale en oxygène témoignant du rétablissement du couplage physiologique de ces deux paramètres. Par contre, chez les patients qui présentent des lésions létales, la différence de couplage entre le débit sanguin cérébral et l'extraction apparaît progressivement pour aboutir à augmentation anormale de la perfusion cérébrale [37]. Là encore, les données issues de modèles expérimentaux ont montrées que les dégâts tissulaires cérébraux étaient certes en partie imputables à l'interruption circulatoire initiale mais qu'ils étaient accentués au cours de la phase de reperfusion pour les raisons que nous avons évoquées précédemment.

#### 4-3-2-3 *La dysfonction surrénalienne*

Comme au cours du choc septique, il existe une insuffisance surrénalienne relative chez les patients réanimés d'un arrêt cardiaque. Shultz et al [38] avaient déjà mis en évidence

que la cortisolémie était élevée pendant et après un arrêt cardiaque. Une diminution de la réponse au Synactène® a également été objectivée dans ce contexte d'arrêt cardiaque sans néanmoins faire de distinction entre « répondeurs » et non « répondeurs ». Hekimian et al ont montré que chez 33 patients admis en réanimation au décours d'un arrêt cardiaque, la cortisolémie était plutôt élevée [39]. Parmi eux, 42% présentaient une insuffisance surrénalienne relative. Dans cette étude, il n'a pas été mis en évidence de relation entre l'absence de test à la corticotropine et les marqueurs de sévérité ou la cause du décès. Il est cependant à noter que les niveaux de cortisolémie à l'état basal étaient plus bas chez les patients décédant dans un contexte d'état de choc, suggérant un déficit vrai avec une insuffisance surrénale dans ce groupe de patient. Très récemment, une étude a suggérée que l'utilisation d'hydrocortisone pendant les manœuvres de réanimation pourrait être associée au retour plus précoce à une circulation spontanée chez les patients ayant présenté un arrêt cardiaque extra-hospitalier [40].

#### *4-3-2-4 Les anomalies de la coagulation*

De très nombreuses anomalies de la coagulation ont décrites durant et après les manoeuvres de réanimation [41,42]. Les deux systèmes coagulation/anticoagulation, fibrinolyse/antifibrinolyse sont activés chez les patients récupérant une activité circulatoire spontanée après un arrêt cardiaque. Les complexes thrombine/antithrombine, marqueurs de l'activation de la coagulation sont constamment élevés tandis que les facteurs anticoagulants comme l'antithrombine, la protéine C, la protéine S sont diminués. L'activation de la thrombolyse est constante et est associée à une activation de l'inhibiteur de la fibrinolyse avec une augmentation de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène 1 dès l'admission avec une poursuite de l'augmentation

dans les jours suivants [41]. On peut noter également une augmentation très importante de la protéine C activée diminuant rapidement dans les heures et jours qui suivent l'admission. Ces altérations de la coagulation, associés à l'état inflammatoire majeur qui suit l'arrêt cardiaque vont encore venir aggraver les lésions d'ischémie et de reperfusion.

#### *4-3-2-5 Autres défaillances d'organes*

Les autres défaillances d'organe habituellement observées sont principalement rénales et respiratoires atteignant 40 à 50% des patients réanimés d'un arrêt cardiaque. Dans environ 30% des cas, le choc observé dans les suites d'un arrêt cardiaque conduit à une défaillance multiviscérale et au décès précoce.

**III/ La protection tissulaire dans l'arrêt circulatoire :  
rôle du massage cardiaque**

Le massage cardiaque externe est une composante primordiale de la réanimation cardio-pulmonaire de base dès la première minute de prise en charge par les témoins. Le massage cardiaque permet d'assurer une perfusion tissulaire en particulier une perfusion cérébrale et une perfusion myocardique. De cette perfusion tissulaire dès les premiers instants dépendra la survie. Les recommandations sont remises en question tous les cinq ans avec des modifications importantes entre 1992 (date des premières recommandations) et 2005 (date des dernières recommandations). De nouvelles recommandations seront émises en novembre 2010. La fréquence des compressions est passée de 80 par minute en 1992 à au moins 100 par minute en 2000. Depuis 2005 il est recommandé aux témoins de ne plus pratiquer le bouche à bouche au début de la réanimation mais de se concentrer uniquement sur le seul massage cardiaque [43]. Par ailleurs, le rapport de compression/ventilation a augmenté passant de 5:1 en 1992 à 15:2 en 2000 et à 30:2 depuis 2005. Ces recommandations reposent sur plusieurs observations. D'une part, un massage cardiaque seul correctement réalisé fait mieux que l'absence totale de geste où qu'un massage cardiaque externe associé à une ventilation dans une efficacité et une coordination imparfaite. D'autre part la combinaison d'un massage cardiaque inadéquat associé à des interruptions trop fréquentes pour la ventilation est responsable d'une diminution du débit cardiaque, coronaire et cérébrale et d'une réduction de la probabilité de succès de la RCP [44]. Une étude récente a montré que le ratio 30:2 (30 compressions thoraciques pour 2 insufflations) était supérieur à l'ancien ratio 15 :2 [45]. Cette modification permet d'augmenter le nombre de compressions thoraciques dans un temps donné et d'améliorer le débit cardiaque pendant la réanimation cardio-pulmonaire.

## **1/ Physiopathologie du massage cardiaque externe**

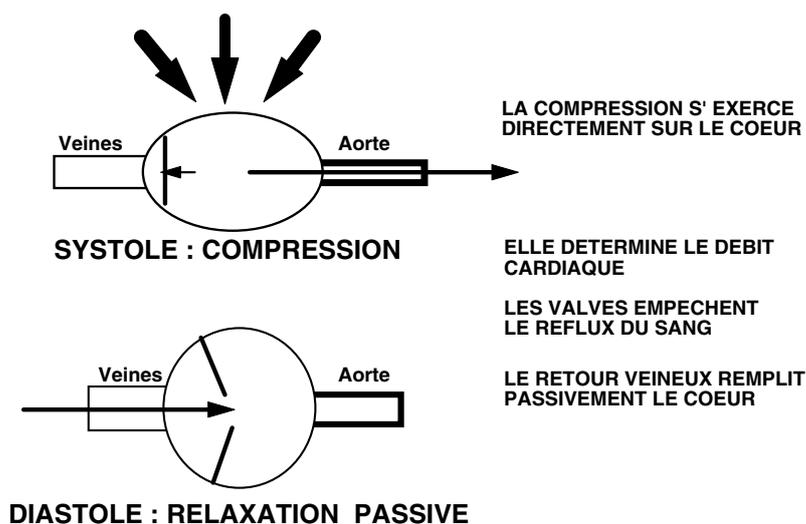
Il est intéressant de savoir par quel mécanisme le sang peut circuler lors des manœuvres de massage cardiaque externe. Lors d'un arrêt circulatoire, la pression intravasculaire est identique dans tout le territoire vasculaire. Elle est de 7 mmHg chez l'homme et correspond à la pression systémique moyenne. Le but du massage cardiaque externe est de créer une circulation artificielle permettant de perfuser à minima les organes vitaux (myocarde et cerveau). Dans le contexte de l'arrêt circulatoire, il n'existe plus d'autorégulation. Ainsi, pression de perfusion et débit sanguins sont liés linéairement. Le seul moyen d'assurer un débit est de créer une pression motrice qui induira un débit systémique et un retour veineux [46]. Cette pression motrice va être créée par le massage cardiaque externe.

### **1-1 Théorie de la pompe cardiaque**

La première description du mécanisme par lequel le sang circule au cours des manœuvres de massage cardiaque a été faite en 1960 par Kouwenhoven [1]. C'est la théorie de la pompe cardiaque basée sur le fait que le massage cardiaque externe reproduit une activité cardiaque normale avec des valves fonctionnelles. Ainsi le cœur est directement comprimé entre le rachis et le sternum. Pendant cette phase de compression sternale qui peut être assimilée à la systole, les pressions intraventriculaires augmentent plus que les pressions intra-auriculaires. Un gradient de pression ventriculo-auriculaire se crée provoquant la fermeture des valves mitrales et tricuspides. La circulation sanguine ne peut qu'être antérograde par l'ouverture des valves pulmonaires et aortiques. Pendant la phase de décompression sternale assimilée à la diastole, les pressions ventriculaires diminuent jusqu'à devenir inférieure aux pressions auriculaires. Cela induit l'ouverture des valves auriculo-ventriculaires et le

remplissage ventriculaire. Les valves aortiques et pulmonaires se ferment. Tout cela suppose que l'impact de la compression sternale sur le cœur soit différent en fonction de la zone comprimée. Selon cette théorie de la pompe cardiaque, le débit cardiaque est uniquement fonction de la force de compression et de la fréquence des compressions sternales. Plus ces deux paramètres augmentent, plus le débit généré est grand. En revanche, les variations « temps de compression/temps de décompression » ne changent rien à la valeur du débit.

Figure 1 : théorie de la pompe cardiaque

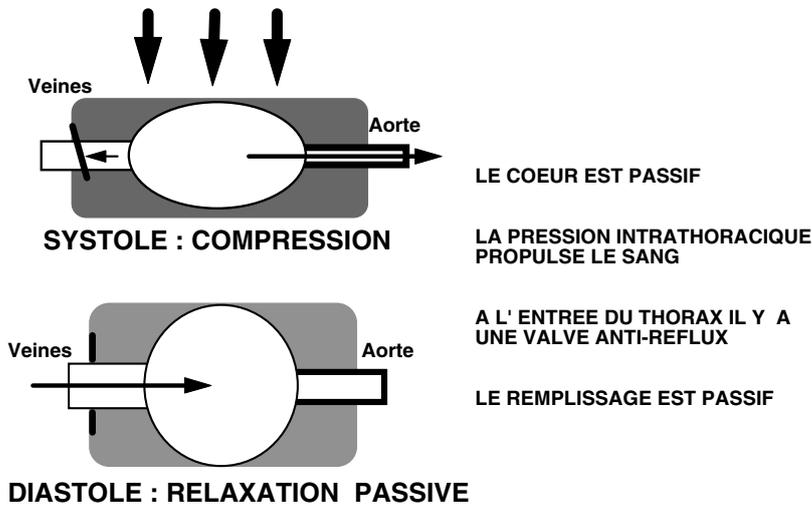


## 1-2 Théorie de la pompe thoracique

Plus tard, certains auteurs ont montré que les compressions sternales produisent au contraire une augmentation uniforme des pressions dans les cavités cardiaques et le réseau vasculaire intra thoracique [47]. De plus, en 1976, lors d'un cathétérisme cardiaque, Criley [48] constate le maintien de l'état de conscience chez un patient qui présentait soudainement une fibrillation ventriculaire et qui, simultanément, eut des

efforts de toux. Aucune compression sternale n'était alors appliquée. Il en déduit que la compression directe du cœur n'est pas seule responsable de la circulation du sang lors d'un arrêt circulatoire. Les efforts de toux pourraient comprimer le cœur de façon indirecte par augmentation des pressions intra-thoraciques. Cette observation fut à l'origine de la « Cough-CPR » point de départ de la théorie de la pompe thoracique. Selon cette théorie, le cœur n'est pas directement comprimé entre deux os de façon antéro-postérieure mais les compressions sternales induisent une élévation globale de pression intra-thoracique transmise aussi bien aux cavités cardiaques qu'aux structures vasculaires. Le thorax tout entier sert de soufflet. Il n'y a plus de gradient de pressions auriculo-ventriculaires et les valves cardiaques restent en permanence ouvertes. La compression du sternum augmente la pression intra-thoracique et, par ce biais, comprime indirectement le cœur. Le flux généré est à la fois rétrograde et antérograde même si ce dernier est prépondérant. En effet la compression thoracique augmente toutes les pressions intravasculaires thoraciques sans changement dans les structures extra-thoraciques. Ce différentiel de pression génère une pression motrice, donc un débit antérograde. Le flux rétrograde vers le système veineux cave va s'arrêter aux limites du thorax par le collapsus secondaire à la pression et grâce aux valves veineuses se trouvant dans le territoire cave inférieur. Dans cette théorie, le débit généré est fonction de la force de compression et du rapport « temps de compression/temps de décompression ». Il est augmenté quand le temps de compression devient égal au temps de décompression mais est indépendant de la fréquence de compression.

Figure 2 : théorie de la compression thoracique



### 1-3 Théorie de la pompe pulmonaire

Dans cette théorie, le cœur n'est ni une pompe à part entière ni un conduit passif. Selon les auteurs de cette théorie [49] la compression sternale induit une augmentation de la pression intra-thoracique qui est transmise de manière homogène à toutes les structures intra-thoraciques. Pendant cette période, il existe une régurgitation minimale de sang venant de l'artère pulmonaire et allant vers le ventricule droit et la veine cave jusqu'à ce que la valve pulmonaire se ferme. La pression qui est exercée sur la vascularisation pulmonaire entraîne une éjection du sang par le cœur gauche. Lors de la décompression, la pression intra-thoracique chute en dessous de celle de la vascularisation extra-thoracique permettant au sang de revenir au thorax via la veine cave et l'aorte. Le volume vasculaire est restauré par le débit de sang venant du cœur droit à travers les valves pulmonaire et tricuspide ouvertes. Le débit aortique rétrograde est interrompu par la fermeture de la valve aortique.

## **2/ Rôle du massage cardiaque externe dans la réanimation de l'arrêt cardiaque.**

Les pressions de perfusion coronaire et cérébrale sont les deux paramètres principaux qui vont conditionner la survie et l'existence ou non de séquelles neurologiques dans les suites d'un arrêt cardiaque. L'objectif du massage cardiaque est de maintenir un gradient constant de pression systolo-diastolique afin de conserver la pression des organes vitaux.

### **2-1 Massage cardiaque et pression de perfusion cérébrale**

Le tissu cérébral est particulièrement sensible à l'ischémie compte tenu de son incapacité à fonctionner en métabolisme anaérobie. L'absence d'apport en oxygène pendant plus de 3 minutes entraîne des lésions cérébrales irréversibles. Le débit sanguin cérébral obtenu par la compression sternale lors du massage cardiaque ne représente au mieux que 30% du débit sanguin cérébral normal mais est indispensable pour pouvoir espérer une survie sans séquelles neurologiques après la reprise d'une activité circulatoire spontanée. Il est difficile de connaître chez l'homme la valeur minimale de pression de perfusion cérébrale permettant de garder une oxygénation tissulaire cérébrale compatible avec une survie sans séquelle neurologique. Il semblerait qu'une pression de perfusion cérébrale d'au moins 25 mmHg soit nécessaire au cours du massage cardiaque pour assurer une pression tissulaire cérébrale en oxygène d'au moins 10 mmHg, valeur généralement considérée comme le seuil au dessous duquel le risque d'ischémie cérébrale devient majeur [50]. En pratique, les compressions thoraciques manuelles produisent une pression artérielle moyenne de 30 à 50 mmHg [51]. Il est également important de noter que la pression intracrânienne au cours du massage cardiaque externe chez le chien peut atteindre le tiers de la pression aortique [52], ce qui diminue

encore la pression de perfusion cérébrale durant le massage cardiaque externe. Enfin, il est important de noter qu'il existe une altération de l'autorégulation cérébrale dans les vingt-quatre heures suivant la récupération de patients victimes d'un arrêt cardio-circulatoire [53], l'autorégulation étant soit absente soit déviée vers la droite ce qui nécessite d'optimiser la pression artérielle moyenne en post arrêt cardiaque comme il est recommandé de le faire dans la réanimation du traumatisé crânien grave.

## **2-2 Massage cardiaque et pression de perfusion coronaire**

Concernant la perfusion myocardique, le débit sanguin coronaire obtenu par la compression sternale lors du massage cardiaque ne représente au mieux que 10% à 20 % du débit coronaire normal. Le maintien du débit coronaire est une condition essentielle pour faciliter la reprise d'une activité circulatoire lors de la réanimation. Une pression de perfusion coronaire supérieure à 15 mmHg semble nécessaire pour garantir une reprise spontanée d'activité circulatoire [54]. Une corrélation a d'ailleurs été établie entre le débit sanguin myocardique produit lors des efforts de réanimation cardio-pulmonaire et le succès de la défibrillation ou la survie [55]. Comme pour la circulation cérébrale, il existe également pour la circulation myocardique une autorégulation coronaire. L'autorégulation coronaire maintient un meilleur débit sanguin au niveau endocardique avec un rapport endocarde/épicarde  $>1$ . Cette distribution est significativement altérée au cours de la réanimation cardio-pulmonaire où la grande majorité du débit sanguin myocardique se fait au niveau épicaire avec un rapport endocarde/épicarde  $<1$  [56]. Quelques secondes après l'arrêt cardiaque, l'autorégulation disparaît et le débit sanguin myocardique devient complètement dépendant de la pression de perfusion coronaire [57]. Ceci est d'autant plus important qu'une sténose coronaire est souvent associée et/ou responsable de l'arrêt cardiaque [58].

### **3/ Massage cardiaque externe « standard »**

Un apprentissage du massage cardiaque « standard » est nécessaire pour optimiser le débit de sang délivré aux organes vitaux que sont le myocarde et le cerveau. Cet apprentissage peut concerner l'ensemble de la population mais l'absence d'apprentissage préalable ne doit pas être un motif pour ne pas pratiquer de massage cardiaque externe. Des compressions thoraciques efficaces pourront être effectuées sur simple conseil téléphonique. Les composantes du massage cardiaque sont la fréquence des compressions thoraciques, la force des compressions thoraciques et le rapport temps de compression/temps de décompression. Chacun de ces paramètres doit être optimal pour assurer une efficacité maximale au massage cardiaque. Selon la théorie de la pompe cardiaque, plus la fréquence de compression est importante, plus le débit généré est grand pour une même force de compression. Une fréquence de compression trop faible induit un rapport temps de compression / temps de décompression trop faible. La fréquence recommandée pour la pratique du massage cardiaque externe est de 100 compressions par minute. Par contre une fréquence de compression trop importante, supérieure à 100 compressions par minute, induit une fatigue plus précoce du sauveteur et peu diminuer la force de compression. Dans tous les cas, la durée moyenne de bonne pratique continue d'un massage cardiaque pour un sauveteur est aux alentours de 2 minutes.

Une force de compression sternale optimale doit assurer une dépression sternale de 4 à 5 cm. Cette force n'est pas facile à appliquer. On peut s'aider de plusieurs éléments pour s'assurer que la force de compression est optimale : la palpation d'un pouls de massage carotidien ou fémoral par un aide, le monitoring en continu de l'ETCO<sub>2</sub> (End Tidal CO<sub>2</sub>) (à fréquence de compression égale, une baisse de l'ETCO<sub>2</sub> peut signifier une

baisse de la force de compression), la pose d'un cathéter artériel permet de renseigner les niveaux de pression artérielle systolique générés dont un des paramètres est le volume d'éjection systolique induit par la compression. Pour un même sauveteur, la baisse de la pression systolique baisser signifie une baisse de la force de compression.

#### **4/ Techniques permettant d'améliorer le massage cardiaque « standard »**

Le rôle du massage cardiaque externe est de maintenir les pressions de perfusion coronaire et cérébrale les plus optimales possible pendant toute la durée de la réanimation qui peut parfois être très longue dans des pathologies particulières comme les hypothermies, les intoxications médicamenteuses ou encore les troubles métaboliques. Ceci impose une continuité du massage cardiaque des lieux de l'arrêt cardiaque jusqu'à l'hôpital dans des conditions de transport difficile (transport hélicoptéré). Dans ces circonstances, plus que le temps total du massage cardiaque, c'est l'efficacité de la technique et la non interruption du massage cardiaque qui est fondamentale. Le problème du massage cardiaque externe manuel est qu'il n'assure qu'un faible pourcentage du débit sanguin normal et qu'il induit une fatigue importante dommageable pour la qualité et l'efficacité du massage cardiaque. Ceci se traduit sur le plan physiopathologique par une instabilité des pressions coronaire et cérébrale au cours de la réanimation. Depuis de nombreuses années, des techniques de réanimation cardiopulmonaire ont été inventées et étudiées dans le seul but d'améliorer l'hémodynamique per massage cardiaque et donc d'augmenter la survie.

#### **4-1 La contention abdominale**

En 1967, Harris et collaborateur sont les premiers à démontrer chez l'animal, qu'une contention abdominale associée à un massage cardiaque externe entraînait un meilleur débit sanguin carotidien [59]. Cette technique nécessite la présence d'un sauveteur supplémentaire positionné soit à côté du sauveteur pratiquant les compressions thoraciques soit sur le côté opposé. Ce sauveteur place les mains sur l'abdomen, à proximité de l'ombilic et comprime l'abdomen pendant la phase de relaxation de la compression thoracique. Le rapport compression thoracique/compression abdominale est égal à 1. Plusieurs auteurs se sont intéressés à la mesure de la pression à appliquer sur l'abdomen mais jamais aucune recommandation n'a pu être proposée. Les forces de compressions abdominales qui ont pu être mesurées varient entre 20 et 150 mmHg. Ohomoto et al ont été les premiers à proposer en 1976 un appareil comportant un piston pour le thorax et un piston pour l'abdomen [60]. Le mode d'action de la contention abdominale, semble suggérer une augmentation du retour veineux cave inférieur pendant la relaxation thoracique permettant une redistribution du sang vers les territoires sus-diaphragmatiques durant la compression. En fait, il semblerait que non seulement la contention abdominale n'augmente pas le retour veineux mais qu'elle est délétère sur le débit sanguin coronaire [61]. Une étude sur 10 patients a permis de montrer une augmentation des pressions artérielles systolique et diastolique mais aucune amélioration de la survie n'a pu être démontrée [62].

#### **4-2 Compression et ventilation simultanées**

La technique de compression et de ventilation simultanée décrite initialement nécessite que le patient victime d'un arrêt cardiaque soit intubé. La fréquence du massage

cardiaque externe est de 40 compressions par minutes donc bien inférieure aux recommandations actuelles (100/minute) et la ventilation est appliquée avec une pression importante au niveau des voies aériennes supérieures (comprise entre 60 et 100 mmHg) de manière synchrone avec chaque compression. Plusieurs auteurs ont modifiés la technique originale soit en augmentant la fréquence de compression soit en associant une compression abdominale [63]. La plupart des études animales et chez l'homme ont été réalisées à l'aide d'un dispositif de compression thoracique auquel été intégré un dispositif d'insufflation trachéale. La technique de compression et ventilation spontanée repose sur l'hypothèse selon laquelle les variations de la pression intra-thoracique au décours du massage cardiaque créent une circulation sanguine. L'étude réalisée chez les chiens par Chandra [63] a permis d'analyser les modifications des débits carotidiens, coronaires et aortiques lors de la compression thoracique associée à la ventilation spontanée avec ou sans contention abdominale. Pendant la compression thoracique avec ventilation spontanée, il y a une élévation plus importante des pressions de l'oreillette droite par rapport au reste de la circulation extra thoracique ce qui entraîne pendant la phase de décompression un gradient plus important que lors de la réanimation conventionnelle et induit un flux antérograde plus élevé et donc un meilleur débit sanguin cérébral. De la même manière, le flux sanguin antérograde coronaire qui survient pendant la diastole est augmenté par l'utilisation de la compression ventilation spontanée. Lorsque l'on ajoute une contention abdominale le gradient de pression disparaît, les pressions intra-thoraciques sont identiques dans toutes les structures intra-thoraciques. Il en résulte une diminution des débits sanguins cérébral et coronaire. Dans une étude réalisée chez l'homme Chandra et al rapportent une augmentation de la pression artérielle mesurée dans l'artère radiale et une augmentation de la vitesse

carotidienne au décours des manœuvres de réanimation lorsqu'une compression abdominale est ajoutée en alternance aux compressions thoraciques mais cette étude ne démontre pas de bénéfice concernant la survie et le pronostic neurologique [64]. Martin et al ont également réalisé une étude hémodynamique chez cinq patients bénéficiant, après échec d'une réanimation conventionnelle, d'une réanimation par compression thoracique et ventilation simultanée. Ils mettent en évidence une diminution de la pression de perfusion coronaire [65]. Mais l'étude la plus importante est l'étude menée par Krischer et al [66] sur 994 patients victimes d'un arrêt cardiaque extra-hospitalier et bénéficiant soit d'une réanimation conventionnelle soit d'une réanimation par compression et ventilation simultanée avec compression abdominale. Les résultats de cette étude montrent une survie à l'admission plus importante dans le groupe réanimation conventionnelle (26%) que dans le groupe compression-ventilation simultanée (19%) mettant fin à l'intérêt porté à cette technique.

#### **4-3 Compression pneumatique sous diaphragmatique**

La compression pneumatique est proposée au début du XX<sup>ème</sup> siècle au patient présentant un état de choc hémorragique. Son but est de comprimer les vaisseaux de l'abdomen et des membres inférieurs afin de redistribuer le sang vers le cœur et le cerveau [67]. Son application dans l'arrêt circulatoire vise à améliorer le débit cardiaque en favorisant le retour veineux en récupérant par compression le sang présent dans le secteur artério-veineux des membres inférieurs. L'étude de Warren [68] menée chez des animaux montre que l'utilisation de la compression sous-diaphragmatique lors du massage cardiaque externe entraîne une augmentation des pressions artérielles systoliques et diastoliques, une élévation de la pression de l'oreillette gauche, une augmentation du flux sanguin myocardique et carotidien sans augmentation du débit

cardiaque et une diminution du flux sanguin rénal. Les auteurs concluent que l'augmentation des résistances périphériques limite l'éjection systolique et par conséquent le débit cardiaque. Une étude réalisée par Bircher chez le chien [69] analyse la pression de perfusion cérébrale et les pressions partielles artérielles en O<sub>2</sub> et en CO<sub>2</sub>. La pression de perfusion cérébrale est inchangée par la compression pneumatique sous-diaphragmatique associée à la réanimation cardio-pulmonaire versus réanimation standard, la PaO<sub>2</sub> est significativement diminuée et la PaCO<sub>2</sub> est augmentée. Une étude pré hospitalière menée sur 294 patients ne montre aucune amélioration en terme de survie initiale ou à long terme de cette méthode de réanimation cardio-pulmonaire par rapport à la réanimation cardio-pulmonaire standard [70]. Cette technique présente également des effets secondaires puisque l'augmentation de la pression intra-abdominale induit une augmentation de la pression intra-gastrique à l'origine de régurgitations pouvant entraîner des syndromes d'inhalation pulmonaire.

#### **4-4 La veste pneumatique**

Il s'agit d'un dispositif très simple de fonctionnement mais encombrant. Le dispositif est constitué d'une « veste » pneumatique entourant le thorax du patient, reliée à un système pneumatique qui lui insuffle du gaz 60 fois par minute. Ce système permet une compression circonférentielle plus importante que celle générée par la compression ponctuelle sternale du massage cardiaque externe standard. Le système permet de contrôler la fréquence des compressions, la durée de la compression et la force de compression. La « veste » pneumatique est généralement gonflée à une pression de 250 mmHg, soixante fois par minute avec un temps de compression de 40% à 50% du cycle total. Des patches de défibrillation peuvent être préalablement disposés sur le thorax du patient avant d'appliquer la « veste » pneumatique ce qui permet de défibriller sans

interruption du massage cardiaque externe. Plusieurs générations de « vestes » ont été utilisées. Une des premières études rapportée est celle de Luce et al en 1983 et 1984 montrant sur un modèle d'arrêt cardiaque chez le chien que l'utilisation de la « veste » pneumatique pour le massage cardiaque externe permettait d'obtenir une légère amélioration des paramètres hémodynamiques par rapport au massage cardiaque standard [71,72]. Nieman et al [73], Halperin et al [74] mettent en évidence une amélioration des pressions de perfusions durant le massage cardiaque à l'aide de la « veste » pneumatique par rapport au massage cardiaque standard. Les résultats sont identiques que la ventilation soit ou non simultanée au massage cardiaque externe. Dans l'étude menée par Halperin, la survie des animaux est meilleure dans le groupe bénéficiant du massage cardiaque par la « veste pneumatique ». A de fortes pressions de compression, le débit sanguin myocardique et le débit sanguin cérébral sont identiques à ceux observés avant arrêt cardiaque mais les animaux présentaient des traumatismes thoraciques. A des pressions inférieures, le débit sanguin myocardique pendant le massage cardiaque est égal à 40% du débit sanguin initial tandis que le débit sanguin cérébral est identique à celui existant avant l'arrêt cardiaque. Aucun traumatisme thoracique n'est signalé. Quelques années plus tard, Halperin et al ont utilisé une « veste » pneumatique encore plus élaborée englobant plus largement le thorax [75]. Ce dispositif permet également de maintenir une légère pression positive sur le thorax en dehors de la phase de compression. Les auteurs ont montré une nette amélioration des paramètres hémodynamiques par rapport au massage cardiaque externe standard. Le pic de pression aortique est presque doublé (avec un maximum de 138 mmHg) et la pression de perfusion coronaire est augmentée de plus de 50%. Quatre des vingt neuf patients bénéficiant de la « veste » pneumatique ont récupéré une activité circulatoire

spontanée malgré un début tardif de la réanimation (50±22 minutes). Dans la deuxième partie de l'étude d'Halperin et al, les patients sont randomisés pour bénéficier d'un massage cardiaque externe soit de manière standard soit par « veste » pneumatique après environ 15 minutes d'échec d'une réanimation cardio-pulmonaire classique. Les résultats montrent une tendance à augmenter le taux de récupération d'activité circulatoire spontanée mais l'effectif trop faible de cette étude ne permet pas de conclure sur le plan statistique.

#### **4-5 Compression abdominale alternée**

Le principe de cette technique consiste à exercer une compression abdominale pendant la phase de décompression thoracique lors du massage cardiaque externe. Le but de cette technique est d'augmenter le retour veineux dans le territoire cave inférieur lors de la relaxation thoracique. Cette technique nécessite deux personnes pour assurer le massage cardiaque : une pour le thorax, l'autre pour l'abdomen. Lors de la décompression thoracique, la compression simultanée de l'abdomen augmente le retour veineux cave inférieur qui est habituellement très faible au décours du massage cardiaque standard. Elle nécessite une synchronisation parfaite entre les deux sauveteurs, ce qui s'avère particulièrement difficile sur le plan pratique. Le travail le plus connu est celui de Babbs et al qui ont évalué le bénéfice hémodynamique de la compression abdominale alternée chez le chien [76]. Les auteurs démontrent une augmentation des pressions artérielles systolique et diastolique, l'absence d'élévation de la pression veineuse centrale et un accroissement du débit cardiaque. Si cette technique entraîne de meilleurs résultats hémodynamiques, la preuve de son avantage en terme de survie n'a pas pu être démontrée chez l'animal. Une étude menée sur l'homme par Ward et al utilise comme marqueur indirect du débit cardiaque l'ETCO<sub>2</sub> et confirme

l'avantage de la compression abdominale alternée par rapport au massage cardiaque standard [77]. Les résultats obtenus sur 33 patients qui bénéficient alternativement de la réanimation cardio-pulmonaire standard et de la réanimation cardio-pulmonaire avec compression abdominale alternée pendant 20 minutes montrent une élévation de l'ETCO<sub>2</sub> chez tous les patients lors de la compression abdominale alternée et un retour à une circulation spontanée chez 6 patients avec cette méthode contre un patient avec la méthode de massage cardiaque standard. Une étude de survie a été menée par Sack [78] sur 103 patients hospitalisés. Les résultats sont favorables à la compression abdominale alternée avec une amélioration de la survie à 24 heures, un plus grand nombre de patients quittant vivants l'hôpital avec un meilleur devenir neurologique. Les résultats des études concernant les arrêts cardiaques extrahospitaliers sont plus décevants. Dans l'étude de Mateer [79], il n'est montré aucun bénéfice de la compression abdominale alternée par rapport à la réanimation cardio-pulmonaire sur un collectif de 291 patients pris en charge lors d'un arrêt cardiaque extra-hospitalier. La technique de compression abdominale alternée est intéressante mais difficile car elle impose une synchronisation parfaite des secouristes. Les études sur la survie sont controversées et positive uniquement dans le contexte hospitalier.

#### **4-6 La compression- décompression active (CDA)**

En 1990, une observation anecdotique dans laquelle un homme parvint à réanimer avec succès son père à l'aide d'un « débouche évier » a été publiée [80]. Cette observation a permis de parler pour la première fois du concept de « décompression active » se distinguant de la décompression passive secondaire au simple retour de la cage thoracique au repos au cours du massage cardiaque externe standard. Un appareil basé sur ce principe a été conçu et commercialisé par les laboratoires AMBU (Ambu

international Inc, Glostrup, Danemark) sous le nom de CardioPump<sup>TM</sup>, appareil disponible en France depuis 1992. Cet appareil est constitué d'une ventouse en caoutchouc siliconé ayant à sa base un joint à lèvres permettant l'adhérence sur le thorax. Cette ventouse est surmontée d'un piston central formé par un ressort entraînant, lors de sa pression, une compression thoracique sur une zone de contact d'environ 5 cm de diamètre. Lors de la décompression, la ventouse exerce une traction thoracique antérieure grâce à son effet aspiratif sur le sternum. La poignée ronde de la CardioPump<sup>TM</sup> contient en son centre un dynamomètre relié au ressort et permettant au secouriste de contrôler les niveaux de compression et de décompression active. Les compressions se font habituellement à une pression de 29,5 Kg à 50 Kg équivalant à une dépression sternale de 3,8 à 5,6 cm en fonction de l'élasticité de la paroi thoracique du patient. La décompression active se fait en soulevant la poignée jusqu'à une force de -13,5 Kg. Grâce à l'effet ventouse de la cardioPump<sup>TM</sup>, la décompression thoracique devient un phénomène actif. Dans le cadre de la théorie de la pompe thoracique, le passage d'une décompression passive à une décompression active se traduit par l'abaissement notable de la pression intra-thoracique et donc par l'augmentation du gradient de pression trans-thoracique. Durant la compression, le débit généré est à la fois dû à l'augmentation de la pression intra-thoracique (théorie de la pompe thoracique) et à la compression directe du cœur (théorie de la pompe cardiaque). Les études réalisées chez l'animal et chez l'homme montrent que la pression intra-thoracique augmente et que les valves aortiques et pulmonaires s'ouvrent pendant la compression [81]. Il n'y a pas de flux rétrograde du fait de la fermeture des valves mitrale et tricuspide qui reste fonctionnelles. Alors que durant le massage cardiaque externe standard la pression de perfusion coronaire est rarement positive [82], pendant

le massage cardiaque par CDA, la pression de perfusion coronaire a été trouvée positive pendant cette phase de compression aussi bien chez l'animal [83] que chez l'homme [81]. Dans l'étude de Lindner [83], l'expérimentation consiste à comparer chez les animaux les effets de la réanimation cardio-pulmonaire standard et de la réanimation cardio-pulmonaire avec CDA avant et après injection d'un bolus d'adrénaline (0,2 mg/kg). Les auteurs montrent une élévation de la pression artérielle systolique et diastolique, une augmentation de la pression de perfusion coronaire et de la valeur de l'ETCO<sub>2</sub> ainsi qu'une augmentation des débits sanguins myocardique et cérébral ainsi que l'élévation de la pression de perfusion cérébrale plus élevée dans le cas de la réanimation cardio-pulmonaire avec CDA. Dans l'étude de Shultz [81], la pression de perfusion coronaire est augmentée de 15% pendant la phase de décompression active et s'accroît jusqu'à 50% pendant la phase de compression sternale. Le niveau minimal de pression de perfusion coronaire à atteindre pendant le massage cardiaque est fondamental car corrélé à la survie. Paradis et al ont montré que, chez l'homme, une pression de perfusion coronaire d'au moins 15 mmHg est nécessaire pour que la survie soit possible [84]. La CDA permet d'obtenir une pression de perfusion coronaire allant jusqu'à 25 mmHg [85]. Plusieurs équipes de chercheurs se sont intéressées au mécanisme qui génère l'augmentation de la pression de perfusion coronaire lors du massage cardiaque externe avec CDA. Chez l'animal, Chang et al ont étudiés chez le chien la circulation de l'artère circonflexe par sonde doppler pendant la réanimation cardio-pulmonaire standard et la réanimation cardio-pulmonaire avec CDA [86]. Pendant la phase de compression sternale aucune modification significative n'a été trouvée avec la réanimation cardio-pulmonaire avec CDA. En revanche pendant la phase de décompression, la vitesse de circulation sanguine est plus importante avec la

décompression active et il existe une augmentation du débit sanguin circonflexe antérograde probablement responsable de l'accroissement de la pression de perfusion myocardique. Comme pour l'animal, on retrouve chez l'homme une augmentation significative de tous les paramètres hémodynamiques (débit cardiaque, pression artérielle systolique et diastolique, temps de remplissage diastolique du ventricule gauche, pression de perfusion coronaire, ETCO<sub>2</sub>, SvO<sub>2</sub>) lors du massage cardiaque par CDA par rapport à l'effet produit par le massage cardiaque externe classique [81,87,88]. En dehors de son efficacité hémodynamique, du fait de son action importante sur les variations de la pression intrathoracique, notamment par la dépression créée lors de la décompression active, la compression-décompression active présente également un effet ventilatoire propre supérieur à celui du massage cardiaque externe standard. Cet effet a été démontré à la fois chez l'animal [89,90] et chez l'homme [81]. Enfin, après avoir démontré l'efficacité hémodynamique et les effets ventilatoires spécifiques du massage cardiaque par compression-décompression active, les études se sont intéressées à son efficacité en terme de survie et de pronostic neurologique chez l'homme. Les premières études réalisées en intra-hospitalier ont montré que l'on pouvait doubler le taux de retour à la circulation spontanée et la survie à 24 heures après CDA comparée au massage cardiaque externe standard [91,92]. Dans l'étude de Cohen [91], les auteurs constatent une augmentation du taux de récupération d'une activité circulatoire spontanée initiale, une amélioration de la survie à vingt quatre heures ainsi qu'une amélioration du pronostic neurologique comparé à la réanimation cardio-pulmonaire standard. L'étude de Tucker [92] confirme les résultats obtenus par Cohen mais il met en évidence une diminution du délai séparant le début de la réanimation cardio-pulmonaire de la reprise d'une activité circulatoire spontanée lorsque le massage

cardiaque utilise la compression-décompression active par rapport au massage cardiaque standard. Dans le domaine extra-hospitalier, Lurie et al ont montré dès 1994 un impact positif de la CDA dans l'état du Minnesota où les paramédics interviennent dans de brefs délais avec une formation à la défibrillation précoce [93]. K Lurie et al ont constaté une forte tendance à l'amélioration du retour à une circulation spontanée et à l'augmentation du taux de patients admis à l'hôpital. Dans plus de 50% des cas, le premier rythme retrouvé est une fibrillation ventriculaire. Dans cette étude, les patients dont la réanimation est débutée dans les dix minutes après l'effondrement, avait une survie à court terme significativement améliorée s'ils bénéficiaient de la réanimation par CDA comparée au massage cardiaque standard. Le taux d'admission vivant à l'hôpital est doublé de même que le taux des patients survivants sortant de l'hôpital avec un état neurologique comparable à l'état antérieur dans 30% des cas vs 20% après massage cardiaque standard ( $p < 0,05$ ). D'autres études Américaines n'ont pas montré les mêmes résultats mais parfois en raison de biais méthodologiques importants [94]. Les plus grandes études préhospitalières sur la CDA ont été réalisées en France par Patrick Plaisance [95,96] montrant à la fois une survie à court et à long terme. Dans ces études, l'inclusion des patients débute à l'arrivée de l'équipe médicalisée soit environ dix neuf minutes en moyenne après l'effondrement du patient et dix minutes après l'arrivée des premiers secours. Malgré ces délais d'arrivée longs et les rythmes cardiaques initiaux retrouvés en asystolie dans 80% des cas, les taux de retour à une circulation spontanée, d'admission à l'hôpital et des sorties vivants de l'hôpital sans atteinte neurologique sont significativement augmentés dans le groupe CDA. La survie à un an passe de 1,9% après massage cardiaque standard à 4,6% après CDA. L'analyse des survivants à un an montre qu'ils se sont tous effondrés devant témoins. De plus, il a fallu moins de temps

de réanimation cardio-pulmonaire spécialisée avant de récupérer un rythme spontané dans le groupe CDA que dans le groupe massage cardiaque classique. Il est par ailleurs intéressant de noter que la survie est bien meilleure chez les patients ayant bénéficié d'un massage cardiaque par CDA à la fois au cours des manœuvres de réanimation de base et spécialisée que chez les patients ayant bénéficié d'un massage cardiaque externe standard pendant ces deux phases. Bien que ces deux études, parfaitement conduites sur le plan méthodologique, montrent une amélioration de la survie à court et à long terme, les résultats cliniques obtenus avec la CDA restent assez contradictoires. Deux méta-analyses ne retrouvent pas les bénéfices cliniques de la CDA rapportés par les études Françaises. La première regroupe dix études réalisées en pré-hospitalier et implique 4162 patients alors que la deuxième comprend deux études totalisant 826 patients [97]. Aucun bénéfice de la CDA par rapport au MCE conventionnel n'a pu être mis en évidence sur la survie à court et à long terme. Les différences entre les études Françaises et Américaines peuvent être expliquées par plusieurs points : entraînement préalable à l'utilisation de la CDA, qualité du massage cardiaque par la CDA (respect de la fréquence, de la profondeur et de la durée des compressions), nombre de secouristes pouvant pratiquer la CDA (fatigabilité plus importante comparé au MCE standard), autant de critères de qualité de la réanimation qui n'ont pas été toujours prises en compte dans les études Américaines. Enfin, il est particulièrement intéressant de citer l'étude de PY Gueugniaud [98]. Cette étude inclue plus de 3000 patients et a pour but de comparer l'impact en terme de survie des fortes doses d'adrénaline (5 mg IVD) aux doses recommandées dans les recommandations internationales (1 mg IVD). Environ 1000 patients ont été réanimés à l'aide de la technique par CDA sur le simple fait de l'habitude des utilisateurs. Quand on compare le taux de survie à court terme des

patients ayant été massés par CDA à celui des patients ayant été massés par technique standard dans le sous-groupe ayant reçu 1 mg d'adrénaline, on constate une différence très significative en faveur de la CDA. Ces résultats sont en parfait accord avec ceux des deux études Françaises précédemment citées.

#### **4.7 La valve d'impédance inspiratoire**

Au cours du massage cardiaque standard, le retour de la cage thoracique à son état de repos en fin de décompression est le principal élément induisant le retour du sang dans les cavités droites. La négativation des pressions intra thoraciques engendrées par cette décompression varie en fonction du patient et ne génère qu'une faible pression motrice. Les études menées sur le mécanisme du massage cardiaque standard et de la CDA ont montré que les variations de pressions intra-thoraciques sont relativement modestes quand les voies aériennes sont maintenues ouvertes du fait de la sonde d'intubation (de 5 à 25 mmHg pendant la phase de compression et -5 mmHg pendant la phase de décompression) [99]. Par contre, l'occlusion partielle voire complète des voies aériennes pendant la phase de décompression induit une baisse encore plus importante de la pression intra-thoracique et un retour veineux encore plus grand. Cette manœuvre d'occlusion réalisée alors qu'aucune ventilation n'est effectuée, augmente le gradient de pression trans-thoracique induisant une augmentation du débit sanguin revenant aux cavités droites. C'est à partir de ces observations qu'a été développée une valve d'impédance respiratoire. Cette valve est composée d'une partie proximale qui se relie au ballon auto-remplisseur et d'une partie distale connectée au masque où à la sonde d'intubation. L'élément intermédiaire comprend un diaphragme en silicone de très grande compliance, une capsule fenêtrée et une valve anti-retour s'ouvrant quand la pression intra-thoracique devient inférieure à  $-22 \text{ cm H}_2\text{O}$ . Ce niveau de pression a été

choisi à partir de l'observation des dépressions intra-thoraciques mesurées chez des patients au cours du massage cardiaque par CDA. Le principe de la valve d'impédance est d'occlure la sonde d'intubation quand la pression est inférieure à la pression atmosphérique. Ainsi, à la phase de décompression du massage cardiaque externe, cette valve empêche l'arrivée de gaz frais, les pressions intra-thoraciques restent plus longtemps négatives ce qui a pour effet d'augmenter le retour veineux. Lors de l'exsufflation ou de la compression thoracique, la valve n'induit aucune résistance au flux de gaz. Utilisée seule lors du massage cardiaque externe standard, il a été démontré que la valve d'impédance améliorait les paramètres hémodynamiques tels que les pressions systolique et diastolique ainsi que les débits sanguins cérébral et ventriculaire gauche chez l'animal [100,101] par un effet de la pression intra-thoracique [102]. Il a également été montré une amélioration de survie chez l'homme en dissociation électromécanique par rapport au massage cardiaque standard [103]. Du fait de leur effet commun sur la pression intra-thoracique et afin d'améliorer encore plus le retour veineux, un des études associant la valve d'impédance inspiratoire et la compression-décompression active ont été réalisées. Elles retrouvent non seulement une amélioration de l'hémodynamique pendant le massage cardiaque mais également une amélioration de la survie chez l'animal comme chez l'homme [104,105,106].

#### **4.8 Compression phasique abdomino-thoracique: le Lifestick™.**

Cet appareil englobe à la fois la technique de compression-décompression active et celle de la compression abdominale alternée. Il comprend un axe reliant deux ventouses et leur poignée. Les deux ventouses se fixent respectivement sur le thorax et l'abdomen. Le secouriste se place parallèlement au patient et utilise cet appareil avec les deux mains

(une sur la poignée thoracique, l'autre sur la poignée abdominale) en utilisant l'axe comme balancier. Ainsi la compression abdominale est associée simultanément à une décompression active thoracique et inversement. Une étude sur un modèle d'arrêt cardiaque animal a montré un avantage significatif du dispositif en terme de pression de perfusion coronarienne, de récupération d'activité circulatoire spontanée et de survie à 24h par rapport à un massage cardiaque standard [107]. Une étude randomisée a été réalisée chez l'homme et ne montre aucune amélioration de survie par rapport à la technique standard [108].

#### **4-9 Dispositifs de massage cardiaque automatisé**

Deux dispositifs sont actuellement disponibles sur le marché. Il s'agit de l'Autopulse® et du Lucas®.

L'Autopulse®: Nous avons vu précédemment que, il y a une quinzaine d'année, Halperin a inventé une « veste pneumatique » appelée « vest CPR ». Celle-ci entoure le thorax du patient et est reliée à un piston pneumatique lui envoyant du gaz et induisant un gonflage 60 fois par minute. Cette technique a le désavantage d'être très lourde du fait de son piston pneumatique et donc impossible à utiliser en dehors d'une chambre de réanimation. Depuis, des travaux ont été effectués afin d'élaborer un appareil transportable sur les lieux même de la réanimation. L'Autopulse® utilise une technique de massage cardiaque circonférentielle du thorax à l'aide d'une sangle thoracique qui fonctionne sur batteries. Le patient est positionné sur une planche tête-thorax et est entouré par cette large bande elle-même fixée sur la planche et qui, lorsqu'elle est actionnée comprime le thorax de façon régulière soixante fois par minute (et non pas 80 fois par minute comme indiquée dans les recommandations internationales). Il a été

montré que cette technique comparée au massage cardiaque externe manuel améliore, sur un modèle animal d'arrêt cardiaque, de manière significative les paramètres hémodynamiques et permet de restaurer 100% du débit cardiaque pré-arrêt cardiaque [109]. Cette planche à masser a également été utilisée chez l'homme dans un contexte pré-hospitalier. Les résultats ont montré une amélioration de survie à l'arrivée aux urgences [110]. Deux autres travaux ont montré des résultats contradictoires sur la survie et le pronostic neurologique [111,112].

Le LUCAS® (Lund University Cardiac Arrest system): Ce dispositif, inventé par des chercheurs suédois est basé sur la compression-décompression active. La compression-décompression est assurée par une ventouse identique à celle utilisée manuellement mais qui cette fois est actionnée automatiquement à partir d'une bouteille d'air en pré hospitalier ou à partir d'une prise murale d'air à l'hôpital. Deux études chez l'animal en fibrillation ventriculaire ont montré que le LUCAS® améliorait l'hémodynamique et la survie à court terme comparé à la technique standard [113,114]. Chez l'homme une étude menée chez 328 patients en 2006 ne montre pas de différence significative en termes de récupération d'activité circulatoire spontanée ou de sortie vivant de l'hôpital par rapport au massage cardiaque standard [115]. Il est à noter par ailleurs, que les traumatismes engendrés par le dispositif LUCAS® ne sont pas plus fréquents que ceux engendrés par un massage cardiaque standard [116].

## **5/ ETUDE n°1 : Massage cardiaque interne par minithoracotomie (MID-CM®) en préhospitalier**

Le massage cardiaque à thorax fermé est le type de massage cardiaque le plus pratiqué en pratique de médecine d'urgence alors que plusieurs études animales et humaines ont montré une amélioration de l'efficacité du massage cardiaque lorsque celui-ci était réalisé directement au contact du cœur c'est-à-dire à thorax ouvert [117]. La limite pour pratiquer un massage cardiaque à thorax ouvert est la réalisation d'une thoracotomie en urgence ce qui est difficilement envisageable dans des conditions de réanimation pré hospitalière et en l'absence de chirurgien même si cette technique est réalisée en pratique courante par certaines équipes de médecins anglo-saxons. De plus les complications sont extrêmement graves et fréquentes. C'est pour cette raison que nous avons proposé une alternative à la thoracotomie dans le but de réaliser un véritable massage cardiaque interne avec les mêmes performances hémodynamiques sans les inconvénients de la thoracotomie. Cette technique appelée «Minimally Invasive Direct Cardiac Massage» (MID-CM®) permet un massage cardiaque au contact direct du cœur et une défibrillation sans thoracotomie élargie mais après seulement une thoracostomie de 1 à 2 cm.

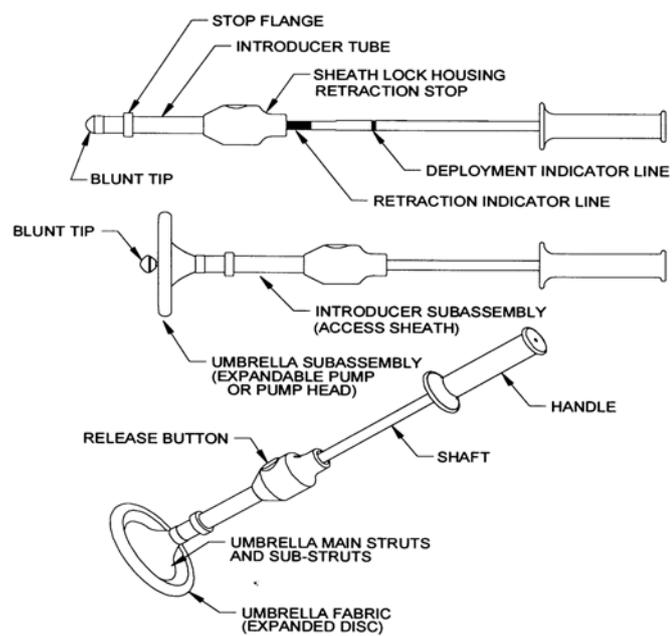
### **5-1 Description du dispositif**

Le dispositif est représenté ci-dessous (figure 3). Il ressemble à un drain thoracique avec un introducteur de 40 French Gauge de diamètre externe au bout duquel se trouve une ombrelle ayant la forme d'un disque plat rétracté à l'intérieur de l'introducteur. Après l'insertion de l'introducteur (technique d'insertion d'un drain thoracique), l'ombrelle est déployée par simple pression sur un bouton placé sur le manche du dispositif (figure4). Elle se déploie alors sous la forme d'un disque de 7,5 cm de diamètre.

Figure 3 : dispositif de massage cardiaque intra thoracique (MID-CM®) (Theracardia device)



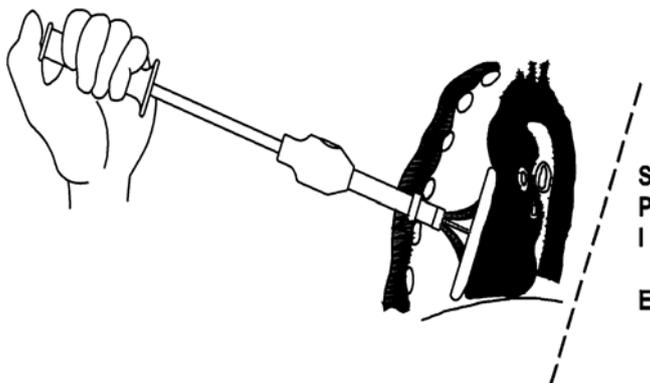
Figure 4 : Schéma du dispositif de massage cardiaque intra thoracique (MID-CM®) (Theracardia device)



## 5-2 Technique d'insertion du dispositif chez l'homme

La technique d'insertion du dispositif est extrêmement simple et ne prend que quelques secondes pour un praticien habitué à poser des drains thoraciques après un court apprentissage sur cadavre. Le point d'insertion se situe sur le bord gauche du sternum au niveau du 4<sup>ème</sup> espace intercostal à 5 cm du milieu du sternum. Après repérage du point d'insertion, une incision de 2 cm est réalisée à l'aide d'un bistouri froid jusqu'au muscle pectoral. Le reste de la dissection se fait au doigt par un mouvement circulaire permettant de libérer une cavité de quelques centimètres à proximité du cœur. Le dispositif est alors inséré par l'orifice de thoracostomie tout en restant sur la face externe du péricarde. L'ombrelle est alors déployée, s'appuyant sur le cœur et un mouvement de compression-décompression à la fréquence de 100/mn permet de réaliser ainsi un massage cardiaque « interne » (figure 5).

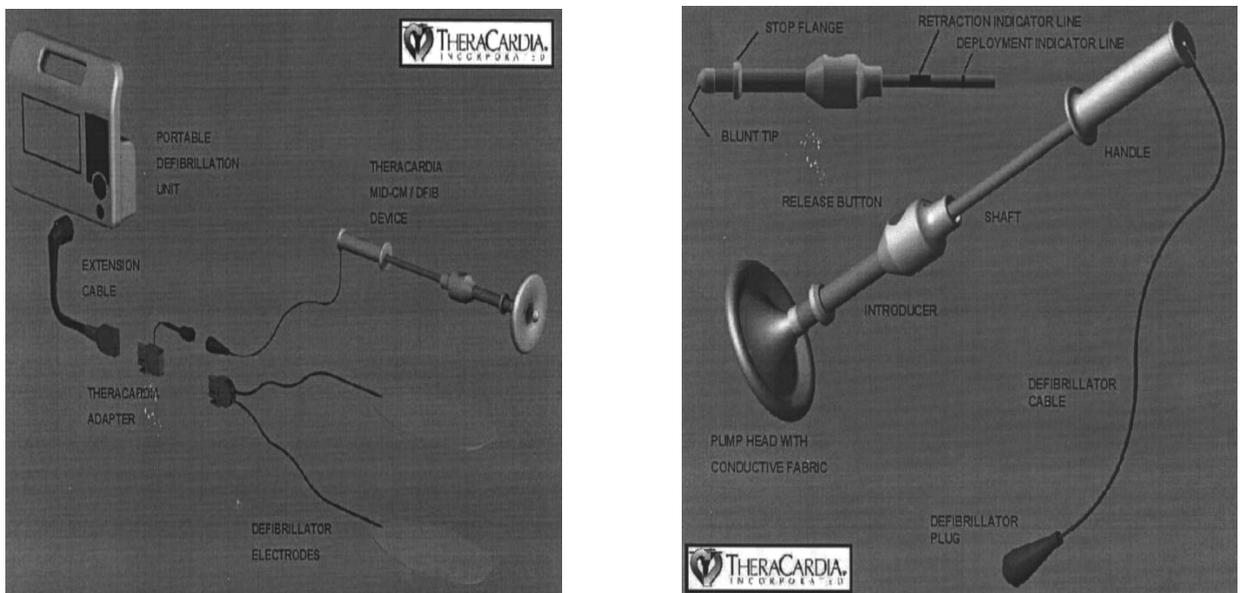
Figure 5: Position du MID-CM ® et mécanisme de compression après insertion.



### 5-3 MID-CM ® et défibrillation

Le même dispositif de massage cardiaque par minithoracotomie a pu être modifié pour insérer un dispositif permettant la défibrillation (figure 6).

Figure 6: Dispositif de massage cardiaque intra-thoracique (MID-CM) associé à un dispositif de défibrillation interne.



La réflexion sur l'adjonction d'un dispositif de défibrillation est partie de la constatation que seulement 4% du courant appliqué lors d'une défibrillation externe traverse le cœur [118]. La grande majorité de l'énergie est en effet dissipée dans la paroi thoracique et les autres organes intra thoraciques. La défibrillation « interne » permet l'utilisation d'une énergie bien moins importante que l'énergie nécessaire lors d'une défibrillation externe [119]. La modification du dispositif de MID-CM a consisté en l'adjonction d'une électrode située extérieurement, positionnée préférentiellement postérieurement

entre les 2 omoplates. L'utilisation d'un courant biphasique a montré qu'une défibrillation interne était possible avec le MID-CM en utilisant seulement 10 à 15% de l'énergie nécessaire à une défibrillation externe soit environ 15 à 20 joules [120].

#### 5-4 Etudes animales

Les études animales avec un prototype de MID-CM ont démontré que le massage cardiaque interne permettait avec ce dispositif d'obtenir des résultats hémodynamiques et métaboliques tout à fait similaires à ceux obtenus en réalisant un massage cardiaque à thorax ouvert [121,122]. En comparaison du massage cardiaque externe réalisé avec un piston (Thumper device), le massage cardiaque à l'aide du MID-CM permet d'assurer une pression de perfusion coronaire égale ou supérieure durant un arrêt cardiaque prolongé [123].

Tableau 2 : Hémodynamique pulmonaire

Groupe	Baseline	10min	20 min	30 min
<i>Pression systolique artère pulmonaire (mmHg)</i>				
OC-CPR	29±6	49±8 <sup>b</sup>	51±16 <sup>b</sup>	50±14 <sup>b</sup>
MID-CPR	36±5 <sup>a</sup>	62±8 <sup>a,c</sup>	91 ±14 <sup>a,c</sup>	85±13 <sup>a,c</sup>
<i>Pression distolique artère pulmonaire (mmHg)</i>				
OC-CPR	23±5	24±8 <sup>b</sup>	28±16 <sup>b</sup>	26±14 <sup>b</sup>
MID-CPR	21±5 <sup>a</sup>	22±8 <sup>a,c</sup>	19 ±14 <sup>a,c</sup>	21±13 <sup>a,c</sup>

OC-CM: open chest cardiac massage, minimally-invasive direct cardiac massage  
<sup>a</sup> P:NS vs OC-CM, <sup>b</sup> P<0,05 vs baseline, <sup>c</sup> P<0,005 vs baseline

## **5-5 Etude sur cadavre**

Une étude préliminaire a initialement été réalisée sur cadavre. Cette étude avait comme principal but de tester la facilité et la rapidité d'insertion du dispositif dans des conditions proches de la réalité. Les données concernant l'entraînement de notre équipe n'ont pas été publiées mais les résultats sont similaires à ceux publiés par Hanouz et al [124]. Dans ce travail 38 médecins ont été testés : 20 médecins anesthésistes, 9 médecins réanimateurs, 5 chirurgiens cardiaques et 4 cardiologues. Le temps moyen d'insertion du dispositif (de l'incision cutanée au déploiement du dispositif) est de  $16 \pm 11$  secondes (écart type de 8 à 58 s). Le temps d'insertion est différent en fonction des catégories de praticien :  $15 \pm 8$  s pour les anesthésistes (écart type 8-28 s),  $11 \pm 2$  pour les chirurgiens cardiaques (écart type 9-15s),  $12 \pm 4$  s pour les réanimateurs (écart type 8-18s) et  $42 \pm 14$ s pour les cardiologues (écart type 27-58s). Le temps de mise en place du dispositif par les cardiologues dans cette étude est significativement plus long que pour les autres catégories de praticien du fait d'une moins grande habitude dans la pose d'un drain thoracique démontrant la nécessité d'une formation et d'un entraînement préalable à la mise en place de ce dispositif. Pour les praticiens entraînés, le délai de mise en place est réduit à quelques secondes ( $19 \pm 12$ s). Ceci est particulièrement important dans la mesure où le temps d'insertion du dispositif impose un arrêt du massage cardiaque qui doit être le plus bref possible. Cette étape d'apprentissage sur cadavre était donc une étape préliminaire indispensable avant de débiter une étude clinique dans des conditions réelles d'arrêt cardiaque pré hospitalier.

## **5-6. Etude pré hospitalière chez l'homme**

### **5-6-1 Patients et méthodes**

Après la phase nécessaire d'apprentissage sur cadavre, une étude a été débutée lors de la phase pré-hospitalière de la prise en charge de l'arrêt cardiaque. Après approbation du comité local, l'étude a été débutée au SAMU de Paris. Les patients adultes âgés entre 18 et 85 ans sont inclus dans l'étude après un arrêt cardiaque brutal s'ils ont bénéficié d'un massage cardiaque par des secouristes plus de 5 minutes après l'effondrement et s'il n'y a aucun retour à une circulation spontanée après 20 minutes de réanimation spécialisée bien conduite. Les patients traumatisés, hypothermes, intoxiqués ou ayant bénéficiés d'une chirurgie thoracique dans leurs antécédents sont systématiquement exclus de l'étude. Seuls les praticiens entraînés préalablement sur mannequin ou sur cadavre sont habilités à participer au protocole. La technique est simple. L'incision cutanée est réalisée sur la face antérieure du thorax au niveau du 4<sup>ème</sup> ou du 5<sup>ème</sup> espace intercostal à 5 cm de la partie médiane du sternum. Un bouton de thoracostomie de 2 à 4 cm est réalisé à l'aide d'un bistouri chirurgical en incisant la peau, le tissu adipeux et le muscle pectoral. Le praticien effectue ensuite une dissection au doigt en péricardique afin d'éliminer tout obstacle à l'insertion du dispositif. Le dispositif est ensuite inséré dans l'orifice de thoracostomie et déployé en restant à la surface du péricarde. Le massage cardiaque peut alors commencer à la fréquence de 80 à 100/min en accord avec les recommandations internationales. Les variables suivantes sont collectées :

- la facilité d'insertion, de déploiement puis du retrait du dispositif ;
- la localisation anatomique optimale de l'insertion ;

- la technique optimale de massage cardiaque ;
- les complications durant l'insertion et le massage cardiaque externe ;
- les variables hémodynamiques : pression artérielle, fréquence du massage cardiaque et ETCO<sub>2</sub>. Ces variables étaient comparées à celles obtenues après une minute de massage cardiaque externe standard ;
- la récupération d'une activité circulatoire spontanée (défini comme la perception d'un pouls carotidien pendant au moins 5 minutes) ;
- le respect des recommandations de la réanimation spécialisée pendant la procédure du protocole ;
- le délai entre le délai de l'effondrement et la récupération d'une activité circulatoire spontanée ou la fin de la réanimation.

Chez tous les patients ayant récupérés une activité circulatoire spontanée, un drain thoracique (8 French) est inséré après retrait du dispositif de massage cardiaque et l'incision cutanée est suturée. Compte tenu des critères restrictifs d'inclusion dans le protocole, les patients avaient peu de chance de survie. Aucune des variables de survie (survie à l'admission, survie à 24h et sortie vivant de l'hôpital) n'avaient donc été retenues dans cette étude. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD.

## 5-6-2 Résultats

### 5-6-2-1 *Caractéristiques des patients*

Vingt cinq patients ont été inclus dans l'étude. Les caractéristiques de ces patients sont reprises ci-dessous (tableau 3)

Tableau 3 : caractéristiques des patients (n=25)

Age (Années)	59±16 (26-85)
Sexe ration M/F	18/7
Rythme cardiaque initiale	FV = 12 (48%) Asystole = 12 (48%) Autre = 1 (4%)
Délai effondrement/RCP (min)	8±5 (0-20)
Délai effondrement/ début des compressions (min)	47±10 (29-74)
Durée de massage par MID-CM® (min) <sup>b</sup>	21±15 (1-57)
Nombre de RASC	n=7
Nombre de patients admis vivants à l'hôpital	n=4
Survie	1 jours n=1 5 jours n=1

<sup>a</sup> Moyenne ± SD <sup>b</sup> Résultats donnés sur les 24 patients où le dispositif a pu être inséré  
RCP : réanimation cardio-pulmonaire, RASC : récupération activité circulatoire spontanée, MID-CM®: Minimally Invasive Direct Cardiac Massage

#### 5-6-2-2 Insertion et retrait du dispositif

L'insertion du dispositif a été considérée comme simple et facile à utiliser par l'ensemble des praticiens. Durant les 3 premières insertions, des minimes difficultés ont été notées probablement en raison d'une certaine appréhension mais le temps d'insertion reste inférieur à 1 minute. L'insertion et le déploiement du dispositif se sont révélés impossibles chez un seul patient du fait de l'existence d'une cardiomégalie et d'adhérences péricardiques. Après cet échec la procédure d'insertion du dispositif a été modifiée. Une exploration au doigt au travers de l'orifice de thoracostomie est devenue systématique afin de détecter des adhérences du péricarde. Au début de l'étude et chez deux patients, le dispositif a été introduit trop bas au 5<sup>ème</sup> espace intercostal et trop latéralement par rapport à la ligne médiane du sternum (8cm). L'étude oriente vers une

insertion optimale du dispositif de massage cardiaque interne au niveau du 4<sup>ème</sup> espace intercostal à 5 cm à gauche de la ligne médiane du sternum. Un massage cardiaque efficace est obtenu avec le dispositif MID-CM®. Chez la majorité des patients un massage cardiaque doux (possible en tenant le dispositif entre deux doigts) et sans effort avec une dépression de 4 cm (tableau 4).

Tableau 4 : comparaison entre MID-CM® et massage cardiaque standard (nombre de patients).

n=25	Très facile	Facile	Modérément facile	Difficile	Très difficile
MCE	17	8	0	0	0
MID-CM®	12	10	1	1	1

MCE : massage cardiaque externe

MID-CM®: Minimally Invasive Direct Cardiac Massage

Néanmoins, chez six patients ayant reçus de fortes doses d'adrénaline, après un massage cardiaque prolongé, les compressions sont de plus en plus difficile au cours du temps. Cette difficulté, peut être décrite accessible lors d'un massage cardiaque standard, n'est pas en rapport avec une difficulté d'insertion ou de déploiement du dispositif mais avec un changement de consistance de la structure même du myocarde appelé « stunning » qui a été décrit dans les arrêts cardiaques prolongés avec ischémie myocardique [125]. Pour les 19 autres cas, le massage cardiaque à l'aide du dispositif MID-CM® est plus facile et sans effort par comparaison au massage cardiaque externe conventionnel et a pu être continué efficacement durant la phase de transport en ambulance de réanimation jusqu'à l'hôpital. Le repli et le retrait du dispositif n'ont jamais posé de problèmes et se sont

révélés être simples. Le retrait du dispositif est conseillé pour réaliser une défibrillation externe mais plusieurs patients ont été défibrillés en laissant le dispositif en place sans que ne soit observées de complications.

#### *5-6-2-3 Aspect hémodynamique, échographique et coronarographique*

En comparaison avec le massage cardiaque standard, le massage avec le MID-CM® a également permis de montrer une amélioration des paramètres hémodynamiques. Un pouls carotidien a été retrouvé chez l'ensemble des patients et la mesure d'une pression artérielle non invasive (pression artérielle systolique  $> 85\text{mmHg}$ ) a été possible chez 9 patients alors qu'aucune mesure n'était enregistrable sous massage cardiaque standard. Chez presque la totalité des patients où la mesure d'ETCO<sub>2</sub> est possible, il existe une augmentation des valeurs de l'ETCO<sub>2</sub> sous massage par MID-CM® par rapport à l'ETCO<sub>2</sub> qui a pu être mesuré mesurable sous massage cardiaque standard (figure 7). L'efficacité hémodynamique maximale est obtenue pendant le massage cardiaque pour une position du dispositif MID-CM® parfaitement perpendiculaire au plan du thorax (figure 18). Chez deux patients qui ont pu être transportés à l'hôpital sous massage cardiaque par le dispositif MID-CM®, des informations ont pu être obtenues en réalisant une échographie cardiaque (figure 8) ainsi qu'une coronarographie pendant le massage cardiaque par MID-CM® (figure 9).

Figure 7 : Comparaison de l'ETCO<sub>2</sub> entre massage cardiaque standard et massage cardiaque par MID-CM®.

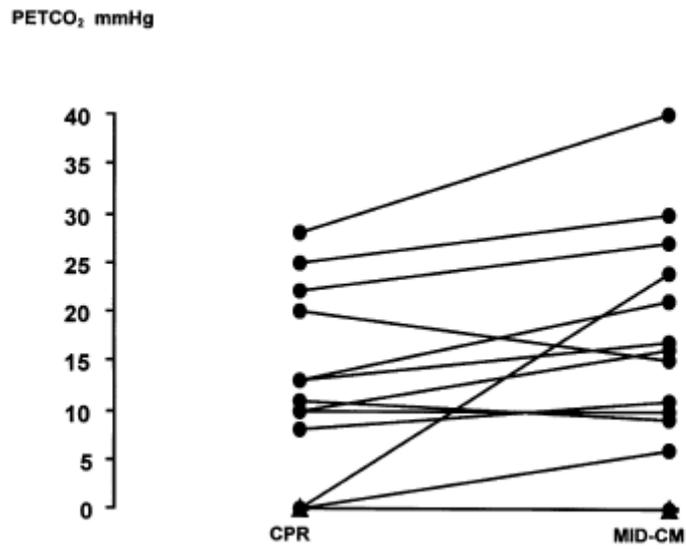
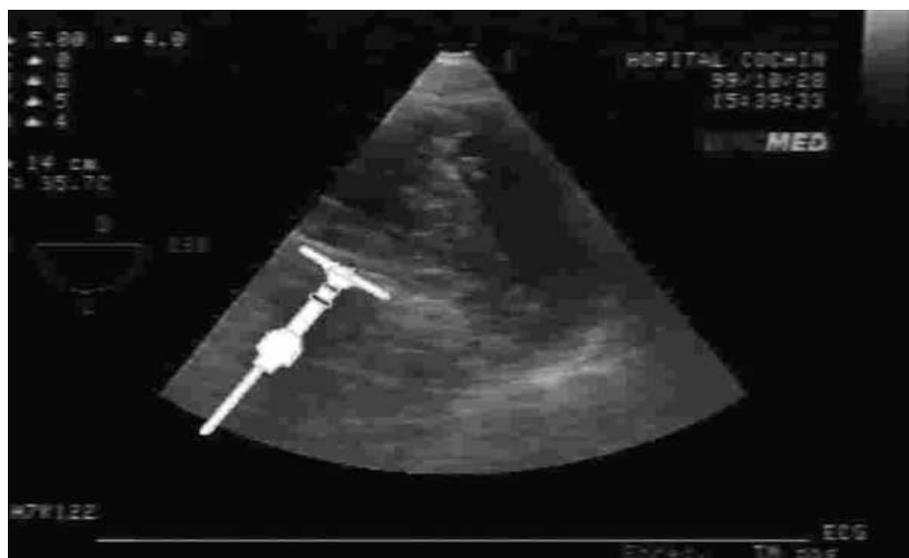
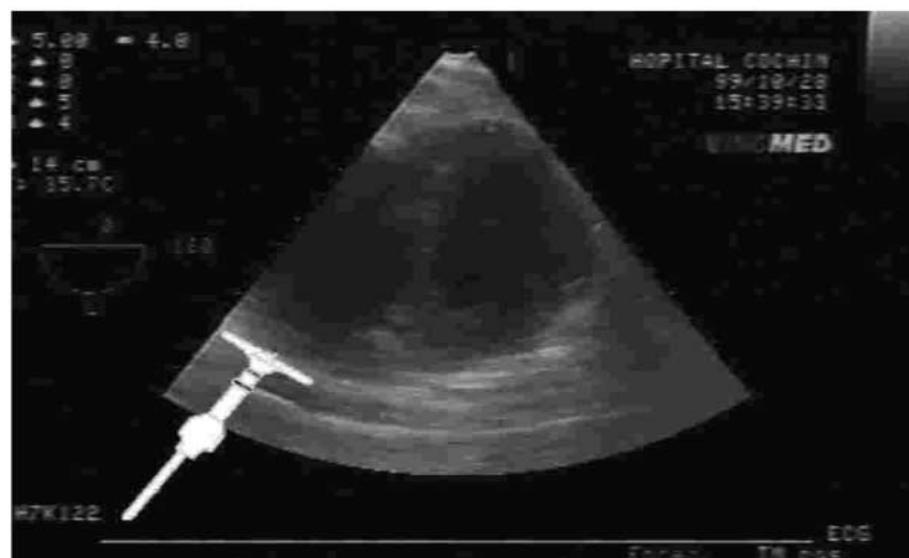


Figure 8 : Massage cardiaque à l'aide du dispositif MID-CM® pendant une échographie cardiaque : le MID-CM® comprime le ventricule droit qui en appuyant sur le septum permet une compression indirecte du ventricule gauche

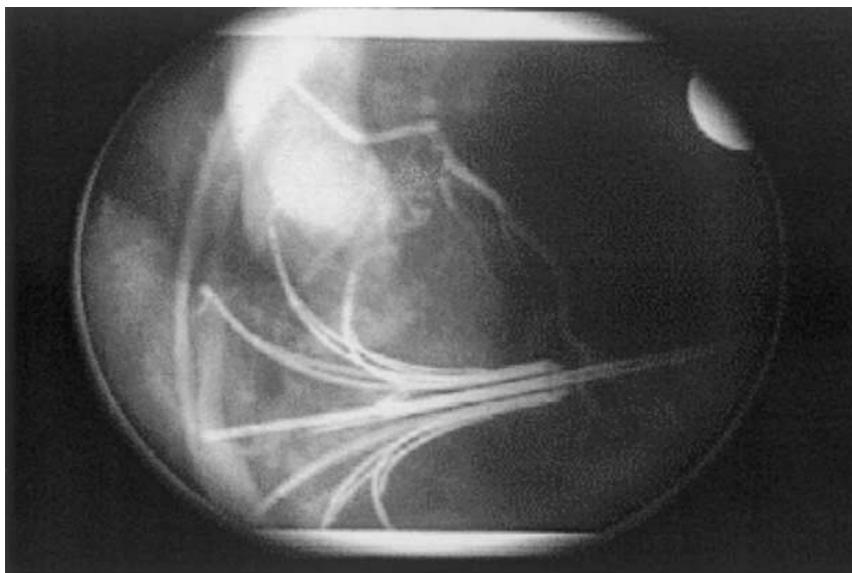


Compression

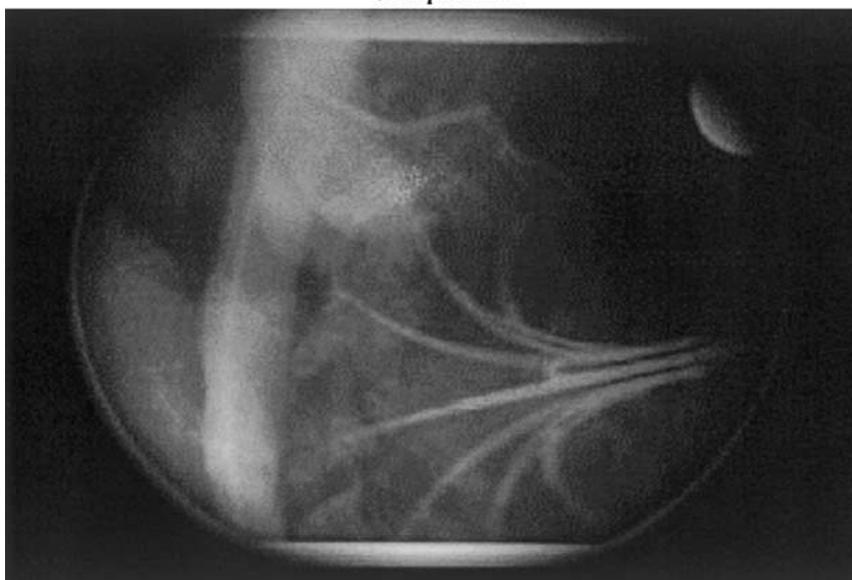


Decompression

Figure 9 : Coronarographie réalisée sous massage cardiaque par MID-CM ®



**Compression**



**Decompression**

Ces examens complémentaires réalisés pendant un massage cardiaque par MID-CM® ont permis de tirer de montrer que :

- les valves mitrales et aortiques restent compétentes pendant la phase de compression ;

- la phase de compression par le dispositif s'exerce dans un premier temps sur la face antérieure du ventricule droit avec dans un deuxième temps une déviation du septum inter ventriculaire entraînant une compression secondaire du ventricule gauche ;

- pendant la phase de compression, il existe une compression de l'aorte descendante bien observée sur la coronarographie.

#### *5-6-2-4 Récupération d'une activité circulatoire/survie*

Pendant la durée du protocole, une récupération d'activité circulatoire spontanée a été possible chez 7 des 24 patients (29%) ayant pu bénéficier d'un massage cardiaque par le dispositif MID-CM® et 4 de ces patients ont été admis vivant à l'hôpital. Parmi ces patients, un patient a survécu une journée et un autre patient a survécu cinq jours.

#### *5-6-2-5 Complications observées pendant le protocole*

Une complication majeure rapportée à la technique a été observée pour le deuxième patient de l'étude. Dix minutes après le début du massage cardiaque à l'aide du dispositif MID-CM® une hémorragie importante s'est extériorisée par l'orifice d'insertion du dispositif. Le débit cardiaque exprimé par la mesure de l'ETCO<sub>2</sub> est resté extrêmement bas pendant toute la durée du massage cardiaque et le patient est décédé sans jamais avoir récupéré une activité circulatoire spontanée. L'autopsie réalisée pour analyser les causes du décès a révélée une insertion trop latérale du dispositif MID-

CM® responsable de la rupture de 2 branches de l'ombrelle. Cette rupture a entraînée une plaie du péricarde puis du ventricule responsable de cette hémorragie majeure. A la suite de cet incident majeur, le dispositif a été modifié pour renforcer l'ombrelle et il a été précisé que l'insertion devait se faire au niveau 4<sup>ème</sup> espace intercostal gauche à 5 cm du centre du sternum. Le respect de la position anatomique d'insertion a permis de ne pas rencontrer d'autres problèmes hémorragiques graves durant le reste de l'étude. On a néanmoins observé des hémorragies mineures chez plusieurs patients. Enfin, dans un cas, une hémorragie majeure a pu être observée durant l'insertion du dispositif mais avant de débiter le massage cardiaque. Cette hémorragie n'était pas en relation avec un problème technique mais avec une rupture d'un anévrisme aortique qui était lui-même responsable de l'arrêt cardiaque.

### 5-6-3 Discussion

Les résultats de cette étude suggèrent que l'emploi du dispositif de massage cardiaque interne par mini thoracotomie MID-CM® est relativement simple à utiliser y compris dès la phase de prise en charge pré hospitalière de l'arrêt cardiaque. Les résultats hémodynamiques obtenus avec le dispositif MID-CM® sont particulièrement intéressants même s'ils ne sont évalués que sur la valeur de l'ETCO<sub>2</sub> qui reste néanmoins un bon reflet du débit cardiaque pendant le massage cardiaque. Dans cette étude, ce dispositif permet un massage cardiaque plus efficace que le massage cardiaque externe standard durant la phase de réanimation spécialisée de la prise en charge d'un arrêt cardiaque. Ceci n'est pas totalement surprenant l'on se rappelle les études pré cliniques comparant massage cardiaque externe au massage cardiaque interne [126,127]. Le fait qu'un massage cardiaque prolongé puisse rester performant sans effort est également très

intéressant car la fatigue et le nombre nécessaire de personnes pour réaliser un massage cardiaque externe efficace restent un handicap majeure de la pratique du massage cardiaque standard. De plus, un massage cardiaque par MID-CM® permet de ne jamais interrompre le massage ce qui est fondamental en terme d'efficacité hémodynamique du massage cardiaque et donc en terme de pression de perfusion cérébrale et coronaire. Un autre intérêt du MID-CM® est également de pouvoir effectuer facilement et efficacement le massage cardiaque externe pendant le transport des patients vers l'hôpital. Nous avons pu confirmé qu'un grand nombre de patients présentait un « Stone Heart » ce qui a probablement diminué la qualité et de l'efficacité du massage cardiaque. En effet, il est parfaitement connu que le « durcissement » du myocarde est corrélé avec la durée de la réanimation, l'ischémie myocardique et la quantité d'adrénaline injectée. Les critères d'inclusion dans l'étude expliquent probablement ce résultat. Cet inconvénient aurait probablement été atténué si les patients avaient été inclus plus précocement dans l'étude par rapport au début de l'arrêt cardiaque. Même si cette étude était très encourageante les limites en sont nombreuses : pas d'amélioration de la survie mais il s'agissait là seulement d'une étude de faisabilité, absence d'évaluation des lésions pouvant être engendrée par cette nouvelle technique par comparaison à celles retrouvées avec le massage cardiaque standard.

Cette étude montre que l'innovation thérapeutique en terme de massage cardiaque est toujours possible et même indispensable si on veut réussir à « sauver » du tissu myocardique et du tissu cérébral dès la phase initiale de la prise en charge pré hospitalière en améliorant la qualité et donc l'efficacité du massage cardiaque. Ce dispositif était innovant et permettait dès la phase pré hospitalière un massage cardiaque plus efficace sur le plan hémodynamique qu'avec un massage cardiaque standard et

donc d'améliorer la qualité de la perfusion cérébrale et de la perfusion myocardique. L'incorporation d'un système de défibrillation « basse énergie » au dispositif de massage cardiaque rendait encore ce matériel plus intéressant. Malheureusement, du fait l'arrêt prématuré de la fabrication du dispositif MID-CM® nous avons été dans l'obligation d'arrêter nos recherches.

#### **IV La protection tissulaire post arrêt circulatoire : rôle de la reperfusion coronaire et de l'hypothermie thérapeutique**

## **1/ La reperfusion coronaire**

Depuis plus de 20 ans, la reperfusion coronaire en phase aiguë est devenue la pierre angulaire du traitement de l'infarctus du myocarde. Lorsque celui-ci est associé à un arrêt cardiaque, l'angioplastie coronaire semble encore la technique de reperfusion coronaire la mieux adaptée. La thrombolyse ne trouve sa place dans la réanimation de l'arrêt cardiaque que dans des circonstances de sauvetage particulières.

### **1-1 La thrombolyse**

La thrombolyse ne fait pas partie jusqu'en 2001 des thérapeutiques envisageables au décours de la réanimation cardio-pulmonaire, le massage cardiaque externe représentant une contre-indication absolue à son utilisation. En 2001, une étude rétrospective [128] montre qu'en cas d'arrêt cardiaque par infarctus du myocarde la thrombolyse améliore la survie des patients sans pour autant majorer les complications hémorragiques graves. Les thrombolytiques ont également été étudiés par Böttiger et al dans la réanimation cardio-pulmonaire des arrêts cardiaques d'origine cardiaque [129]. Cette équipe a mis en évidence dans cette étude non randomisée une augmentation du nombre de patients récupérant une activité circulatoire spontanée et du nombre de patients admis vivants à l'hôpital lorsque les arrêts cardiaques réfractaires au traitement conventionnel sont thrombolysés par du rt-PA et anticoagulés par de l'héparine. Une autre étude rétrospective a de son côté montré une diminution des séquelles neurologiques après arrêt cardiaque lorsque les patients ont bénéficié d'une thrombolyse pendant la réanimation cardio-pulmonaire [130]. A contrario, en 2002, une étude randomisée sur 233 patients présentant un tableau d'activité électrique sans pouls n'a montré aucun bénéfice pour la thrombolyse : 21,4% de RACS dans le groupe thrombolysé versus

23,3% dans le groupe placebo ; un seul survivant dans le groupe thrombolysé et aucun dans le groupe placebo [131]. L'ensemble de ces résultats discordant ont justifié la réalisation d'études prospectives randomisées pour cerner les bonnes indications et le bon moment de la réalisation de la thrombolyse au décours de la réanimation de l'arrêt cardiaque. Les indications retenues sont essentiellement d'une part les arrêts cardiaques survenant dans un contexte clinique évident qui évoque une embolie pulmonaire et d'autre part en cas d'arrêt cardiaque avec forte suspicion d'infarctus loin d'un hôpital disposant d'un plateau technique de coronarographie.

### **1-2 Coronarographie avec angioplastie en urgence**

Le syndrome coronaire aigu étant la cause la plus fréquente d'arrêt cardiaque extra hospitalier, l'indication de coronarographie doit être évoqué en fonction du contexte clinique, dès la phase de prise en charge pré hospitalière. En effet, une lésion coronarienne instable (rupture de plaque ou thrombose coronaire) est présente dans environ 60% des cas autopsiés d'arrêt cardiaque extra hospitalier [132]. Une étude angiographique avec réalisation systématique d'une coronarographie dès l'arrivée chez tous les survivants d'un arrêt cardiaque extra-hospitalier a retrouvé une occlusion coronaire récente dans 49% des cas [133]. Dans cette étude la coexistence de symptômes cliniques évocateurs comme la douleur thoracique typique associée à un sus-décalage du segment ST sur l'électrocardiogramme après récupération d'une activité circulatoire spontanée augmentait très significativement la proportion de patients porteurs d'une lésion coronaire récente, qui atteignait alors presque 90%. L'existence d'un seul des deux paramètres améliorerait également la capacité de prédiction puisque 63% des patients étaient porteurs d'une lésion récente. Néanmoins, les auteurs ont également montré que 26% des patients présentaient également une

lésion coronaire aiguë sans signes cliniques ou électrocardiographiques évocateurs d'un infarctus du myocarde. La réalisation systématique d'une coronarographie immédiate en post arrêt cardiaque a donc été recommandée lorsqu'il existait un aspect électrique d'infarctus du myocarde (sus-décalage du segment ST) et devait être évoquée dans toutes les situations cliniques où une cause ischémique était suspectée [134]. Très récemment, dans une étude française menée sur un collectif de 435 patients explorés par une coronarographie immédiate post arrêt cardiaque extra-hospitalier, quel que soit l'aspect ECG pré hospitalier, la valeur prédictive négative du sus décalage du segment ST était de 51% [135] Ce résultat confirme que l'absence de sus décalage de ST sur un électrocardiogramme post arrêt cardiaque n'élimine en rien l'existence d'une lésion coronarienne aiguë et accessible à un geste de revascularisation. Il est également intéressant de noter que, dans cette étude, le taux de survie hospitalière global est de 39% et que ce taux est significativement plus élevé chez les patients qui ont bénéficié d'un geste de vascularisation coronaire par rapport aux patients qui n'ont pas eu de geste ou chez lesquels le geste a échoué (51% versus 31%,  $p < 0,001$ ), et ce quel que soit l'aspect électrocardiographique initial. Cette étude confirme le fait que toutes les victimes d'un arrêt cardiaque extra-hospitalier sans cause extracardiaque évidente doivent bénéficier lorsque cela est possible d'une exploration coronarographique quel que soit l'aspect de l'électrocardiogramme initial obtenu en post arrêt cardiaque.

## **2/ L'hypothermie thérapeutique induite.**

L'objectif prioritaire dans la réanimation de l'arrêt cardiaque réside dans l'obtention d'une survie s'accompagnant de peu ou pas de séquelles neurologiques post anoxiques. En dépit de nombreuses tentatives réalisées aucun des traitements médicamenteux testés à la phase aiguë de la réanimation n'a fait la preuve claire de sa capacité à diminuer les

conséquences de l'ischémie cérébrale globale induite par l'arrêt cardiaque. Les traitements pharmacologiques testés dans les années 1980 (thiopental, lidoflazine, nimodipine) n'ont pas montré de bénéfices malgré une administration précoce [136,137,138]. Actuellement seule l'hypothermie induite est recommandée comme thérapeutique systématique dans la prise en charge en post-arrêt cardiaque.

## **2-1 Définition**

L'hypothermie est définie comme une température corporelle inférieure à 35°C, elle est considérée comme modérée entre 32°C et 35°C et sévère en dessous de 32°C. L'hypothermie induite (HI), contrairement à l'hypothermie accidentelle est définie par une diminution contrôlée de la température corporelle dans un but thérapeutique. Un nombre important d'études expérimentales et cliniques ont été publiées ces dernières années sur le rôle thérapeutique potentiel de l'hypothermie induite en réanimation. Même si les publications concernent essentiellement les pathologies neurologiques (traumatisme crânien), il est important de rappeler que les mécanismes physiopathologiques mis en jeu dans l'ischémie reperfusion sont comparables que l'on s'intéresse au neurone ou à la cellule myocardique. Les processus à l'origine de la protection cellulaire (neuronale ou myocardique) se mettent en place dans les minutes qui suivent l'institution de l'hypothermie et peuvent durer plusieurs jours. L'hypothermie n'est pas une idée thérapeutique nouvelle. Dans les années cinquante, l'hypothermie induite avant l'arrêt du cœur a été appliquée en chirurgie cardiaque afin de protéger le cerveau de lésions due à l'absence du flux sanguin ou à sa diminution [139]. L'hypothermie profonde avec arrêt cardiaque a été également utilisée en neurochirurgie pour l'exclusion d'anévrismes cérébraux géants avec des complications importantes. Cette technique n'est actuellement utilisée que dans des indications

particulières de chirurgie cardiaque (remplacement crosse aortique). Dans les années quatre vingt, l'hypothermie thérapeutique a de nouveau attiré l'attention des cliniciens après que des travaux expérimentaux sur l'hypothermie modérée (32°C à 35°C) aient obtenu des résultats encourageants lors de lésions cérébrales chez l'animal, montrant un effet neuroprotecteur avec moins de complications par rapport à l'hypothermie profonde.

### **2-2 Effets métaboliques l'hypothermie**

Le premier niveau d'action de l'hypothermie est métabolique. En effet, il est établi depuis longtemps que la diminution de 1°C de la température cérébrale ou corporelle réduit les besoins métaboliques du cerveau, de l'organisme de 6 à 7% jusqu'à 28°C [140]. Une diminution globale des besoins métaboliques diminue d'une part le risque ischémique en particulier au niveau des zones de pénombres où les lésions neuronales sont réversibles et d'autre part elle participe à la diminution de la pression intracrânienne par réduction directe du volume du compartiment intravasculaire [141].

### **2-3 Effets cellulaires de l'hypothermie**

De nombreuses études expérimentales ont confirmé les effets bénéfiques de l'hypothermie induite en terme de limitation des lésions d'ischémie-reperfusion ainsi que de la préservation de la microcirculation et de la fonction endothéliale au niveau cérébral comme au niveau d'autres organes. Cet impact majeur de l'hypothermie induite sur la limitation des lésions post-ischémiques peut être mis en jeu par le biais d'effets cellulaires divers.

#### **2-4 Diminution de l'inflammation**

De multiples processus inflammatoires sont mis en jeu lors d'une atteinte cellulaire ischémique en particulier lors de la phase de reperfusion. Les médiateurs pro inflammatoires comme le  $TNF\alpha$  et l'interleukine 1 sont relargués en grande concentration par de nombreuses cellules au cours de la phase de reperfusion [144]. Ces médiateurs sont responsables d'une accumulation de cellules inflammatoires dans la zone infarctée, elles-mêmes responsables d'une aggravation des lésions cellulaires par leur action phagocytaire, la synthèse d'éléments toxiques ou la stimulation d'autres processus immunitaires. L'hypothermie induite réduit ce processus inflammatoire aussi bien dans les études expérimentales que les études cliniques [145].

#### **2-5 Diminution de la production de radicaux libres**

La production d'espèces activées de l'oxygène, notamment superoxydes et peroxydes est fortement amplifiée par l'ischémie. Ces substances sont neurotoxiques par altération des composants cellulaires membranaires. Elles continuent à être libérées pendant la phase de reperfusion et peuvent dépasser les mécanismes protecteurs enzymatiques et piègeurs de radicaux libres des cellules du système nerveux central. Dans ce cadre, l'intérêt de l'hypothermie thérapeutique est d'éviter une surproduction des espèces activées de l'oxygène par le biais d'une limitation des flux métaboliques (en particulier, une diminution de la respiration mitochondriale) et ainsi permettre aux mécanismes compensateurs de faire face [142,143].

## **2-6 Effet sur les canaux calciques**

Les phénomènes d'ischémie reperfusion diminuent de façon significative la fluidité et l'intégralité des membranes phospholipides cellulaires conduisant à l'apparition de lésions cellulaires et à leur mort. Le rôle du calcium dans la mort cellulaire est évoqué depuis longtemps dans la majorité des processus de mort cellulaire, quelque soit l'origine (nécrose myocardique, accident vasculaire cérébral, traumatisme crânien [146]). Lors de l'ischémie cellulaire, il existe un couplage net entre un flux important du calcium vers le cytosol, son accumulation au sein de la mitochondrie et du reticulum endoplasmique et la production de radicaux libres. Cette accumulation de calcium au sein de la mitochondrie semble être le facteur précédant les lésions et la mort cellulaire. L'entrée de calcium dans la cellule est sous la dépendance de canaux ioniques spécifiques, mais également par d'autres canaux moins spécifiques qui peuvent être ouverts par les radicaux libres [147]. L'hypothermie modérée semble susceptible de stabiliser la perméabilité membranaire, de limiter les phénomènes d'acidose intracellulaire délétères [148], ainsi que de limiter le passage de calcium impliqué dans la majorité des processus de mort cellulaire. L'augmentation de la stabilité membranaire au niveau de la barrière hémato-méningée ou de la paroi vasculaire en général est de plus susceptible de limiter la formation d'œdème [149]. Plusieurs études cliniques récentes ont confirmé le fait que l'hypothermie induite permettait de diminuer la pression intracrânienne de façon significative [150].

## **2-7 Place de l'hypothermie thérapeutique dans l'arrêt cardiaque**

Les lésions cérébrales survenant au décours d'un arrêt cardiaque sont liées d'une part à l'hypoxie durant la phase d'ischémie et mais également aux lésions de reperfusion. En

plus des dégâts d'ischémie reperfusion, on a également mis en évidence expérimentalement sur les neurones ischémiques une excitotoxicité potentiellement délétères après un arrêt cardiaque [151]. La libération massive de glutamate et d'autres acides aminés neuro-excitateurs induirait une souffrance cérébrale en cascade. L'agression cérébrale persiste de nombreuses heures après la reprise d'une activité cérébrale spontanée en l'absence de tout déficit d'oxygénation. Chez l'animal l'induction d'une hypothermie modérée permet d'inhiber complètement la libération de glutamate au décours d'une ischémie cérébrale globale [152]. Si le bénéfice neurologique est maximal lorsque l'hypothermie modérée est induite avant l'arrêt cardiaque, il reste également très significatif lorsque la baisse de la température est débutée précocement après la restauration d'une activité circulatoire spontanée [153].

Après ces constatations expérimentales, des études de faisabilité ont révélé que l'induction d'une hypothermie modérée (33°C-34°C) au décours d'un arrêt cardiaque chez l'homme ne s'accompagnait pas d'effets délétères [154]. Deux études prospectives randomisées sont venues renforcer l'impression expérimentale en démontrant l'intérêt de l'hypothermie thérapeutique en post arrêt cardiaque chez l'homme. La première étude, Australienne, a inclus soixante-dix-sept patients [155]. La température corporelle cible était de 33°C, le refroidissement étant débuté dès la prise en charge préhospitalière et maintenu pendant une durée de 12h. Si les auteurs n'objectivent pas de différence en terme de survie, la récupération neurologique était nettement supérieure chez les patients traités par hypothermie induite (43 vs 21% de récupération *ad integrum* ou déficit mineur ;  $p = 0.0046$ ). L'étude européenne publiée la même année a inclus 275 patients dans cinq pays européens [156]. La température corporelle cible était de 32-

34° C, le refroidissement étant débuté après une durée médiane de 105 minutes et maintenu pendant une durée de 24 h. Cinquante-cinq pour cent des patients traités avait un pronostic neurologique favorable à 6 mois contre 39% dans le groupe contrôle sans hypothermie (odds ratio : 1.40 [1.08-1.81], p=0.009). Dans le même temps, la mortalité est significativement moindre dans le groupe hypothermie (41% contre 55%, odds ratio : 0.74 [0.58-0.95], p=0.02). Les deux études proposent une technique de refroidissement externe, avec curarisation systémique permettant de contrôler le frisson. L'hypothermie est induite par une couverture refroidissant l'ensemble du corps (étude Européenne) ou par des packs de glace disposés autour de la tête, du thorax et des membres (étude Australienne). La surveillance continue de la température corporelle est assurée par une sonde vésicale thermométrique ou un cathéter artériel pulmonaire. Dans l'étude Européenne, l'induction de l'hypothermie est plus lente (en moyenne 8h) que dans l'étude Australienne (120 min), cette dernière débutant le traitement par hypothermie durant la phase pré hospitalière. En revanche, l'hypothermie est maintenue plus longtemps dans l'étude européenne (24h contre 12h). Le réchauffement est passif dans l'étude Européenne et actif dans l'étude Australienne. Aucun effet secondaire significatif n'a été mis en évidence dans les deux études malgré une tendance à une augmentation des risques hémorragiques et infectieux dans l'étude Européenne. L'hypothermie modérée s'est avérée bien tolérée dans les deux études tant sur le plan rythmique qu'hémodynamique mais les critères d'inclusion ont été limités aux patients hémodynamiquement stables réanimés d'une mort subite présumée d'origine cardiaque, en rapport avec une fibrillation ventriculaire documentée. Par extension, il est actuellement proposé d'induire une hypothermie chez tous les patients ayant récupérés un rythme spontané après un arrêt cardiaque qu'il soit intra ou extra hospitalier. Il existe

différentes méthodes pour induire une hypothermie. Elles comprennent la mise en place d'un casque réfrigérant [157], la perfusion rapide de 2 litres de sérum salé froid à 4°C [158] ou d'une solution de Ringer [159], la sédation et la curarisation des patients associé à une ventilation d'air en laissant le patient découvert [158], l'utilisation de couvertures réfrigérantes (Blanketrol ®) [158], ou de cathéter de refroidissement endovasculaire (Icy catheter et CoolGard 3000®) [160]. La perfusion d'une solution froide permet de faire baisser en moyenne la température de 1,2° à 1,4°C la température du patient en intra hospitalier comme en extra hospitalier [158]. Kim et al [161] ont également montré dans un travail récent que cette perfusion de 2 litres de sérum salé isotonique froid ne s'accompagnait pas d'effets secondaires notables à type d'œdème pulmonaire ou de modification de l'hémostase primaire.

**V/ La protection tissulaire post arrêt circulatoire : approche pharmacologique, exemple de l'érythropoïétine**

L'objectif d'une réanimation agressive pendant la période post-arrêt cardiaque réside dans l'obtention d'une survie s'accompagnant de peu ou pas de séquelles neurologiques post-anoxiques. Les résultats concernant l'hypothermie dans la prise en charge moderne de l'arrêt cardiaque ont été déterminants dans la mesure où c'est la première fois qu'un traitement à visée neuroprotectrice démontre son efficacité clinique dans les suites d'un arrêt cardiaque. Les traitements pharmacologiques testés dans les années 1980 (thiopental, lidoflazine, nimodipine) n'ont pas réussi à démontrer de bénéfices malgré une administration précoce après l'arrêt cardiaque [136,137,138]. Récemment, une meilleure compréhension des phénomènes d'ischémie reperfusion cérébrale a permis l'émergence de plus de dix nouvelles classes de neuroprotecteurs. Si certains résultats expérimentaux semblent prometteurs en cas d'ischémie focale, les résultats sont moins clairs en cas d'ischémie globale. La difficulté dans l'arrêt cardiaque résulte probablement de la multiplicité des mécanismes lésionnels impliqués avant, pendant et après la phase de réanimation de l'arrêt cardiaque. Certaines molécules pourraient néanmoins montrer une certaine efficacité dans le contexte de l'arrêt cardiaque. C'est le cas par exemple de l'ubiquinone (co-enzyme Q10), métabolite mitochondrial possédant des propriétés anti-oxydantes. Dans une étude prospective monocentrique, randomisée comparant placebo et traitement par ubiquinone, mais sur un faible effectif de patients, les auteurs ont montré des effets favorables sur la survie et les conséquences neurologiques en post arrêt cardiaque [162]. Une autre molécule pourrait également présenter un intérêt dans «l'organoprotection» contre les phénomènes d'ischémie reperfusion dans l'arrêt cardiaque: l'érythropoïétine.

## **1/ Pharmacologie de l'érythropoïétine**

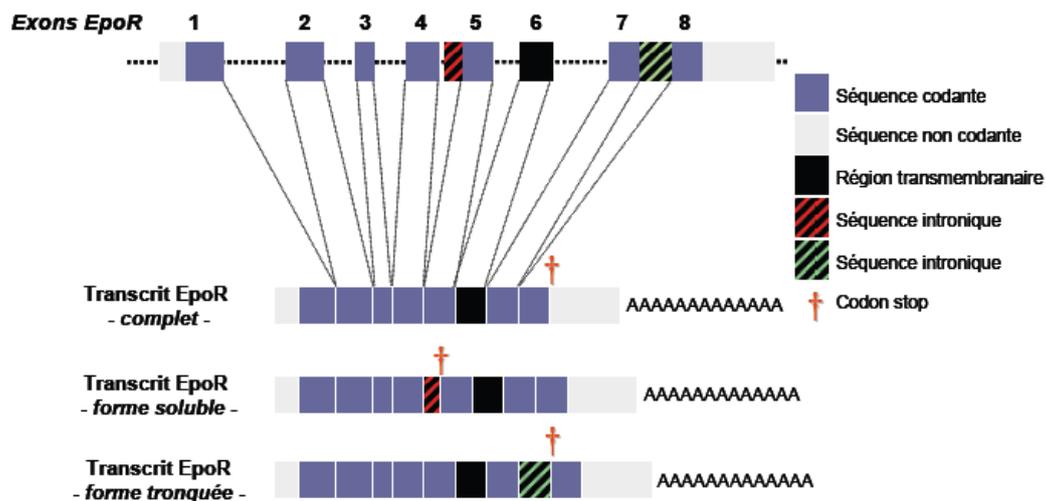
Cela fait plus de 100 ans que Carnot et Deflandre [163] ont postulé qu'un facteur huméral qu'ils ont appelé «hémopoïétine» régulaient la production des globules rouges. L'expérience princeps démontrant cette propriété a été réalisée sur des lapins. Après avoir soumis un lapin à un saignement, ils ont prélevé le plasma de ce lapin donneur et l'on réinjecté à un lapin receveur chez lequel ils ont pu montrer une activation de la production de réticulocytes. Par la suite, plusieurs travaux expérimentaux sont venus confirmer cette découverte [164]. Une des publications les plus importantes dans la recherche sur l'EPO est celle de Kurt Reissmann publiée dans Blood en 1950 mettant en évidence le fait que des rats mis en situation d'hypoxie augmentaient leur réticulocytose, leur taux d'hémoglobine et développaient une hyperplasie de la moelle osseuse [165]. Par la suite, plusieurs auteurs ont montré que le rein était le principal lieu de production de l'érythropoïétine [166] que les cellules impliquées dans la fabrication étaient les cellules péri-tubulaires rénales [167]. Le deuxième site de production de l'EPO est le foie chez l'adulte [168] tandis qu'il apparaît comme être le principal lieu de production de l'EPO chez le fœtus [169]. L'érythropoïétine a été purifiée grâce aux travaux de Miyake et Goldwasser à partir d'échantillon d'urine humaine [170]. Son gène a été cloné en 1985 (chromosome 7q21) par Lin FK et al [171], et c'est à partir de ce gène que très rapidement une protéine recombinante humaine (EPO-rh) a pu être reconstituée.

## 1-1 Le récepteur de l'érythropoïétine

### 1-1-1 Structure génique

La localisation chromosomique du gène EPO-R varie en fonction des espèces. La séquence nucléotidique du gène Epo R chez le rat présente 81.6% d'homologie avec celle de l'humain. Le gène EPO-R constitué de 6500 bases environ, est composé de 8 exons et 7 introns. La taille individuelle des exons et des introns ainsi que les jonctions intron-exon présentent une grande homologie entre les espèces [172]. Les cinq premiers exons (1-5) codent pour la partie extracellulaire de l'EPO-R, l'exon 6 pour la partie transmembranaire et les exons 7-8 pour le domaine intracytoplasmique. Lors de la transcription du gène les processus d'épissages alternatifs génèrent trois formes de transcrits : la forme complète, la forme soluble et la forme tronquée [173]

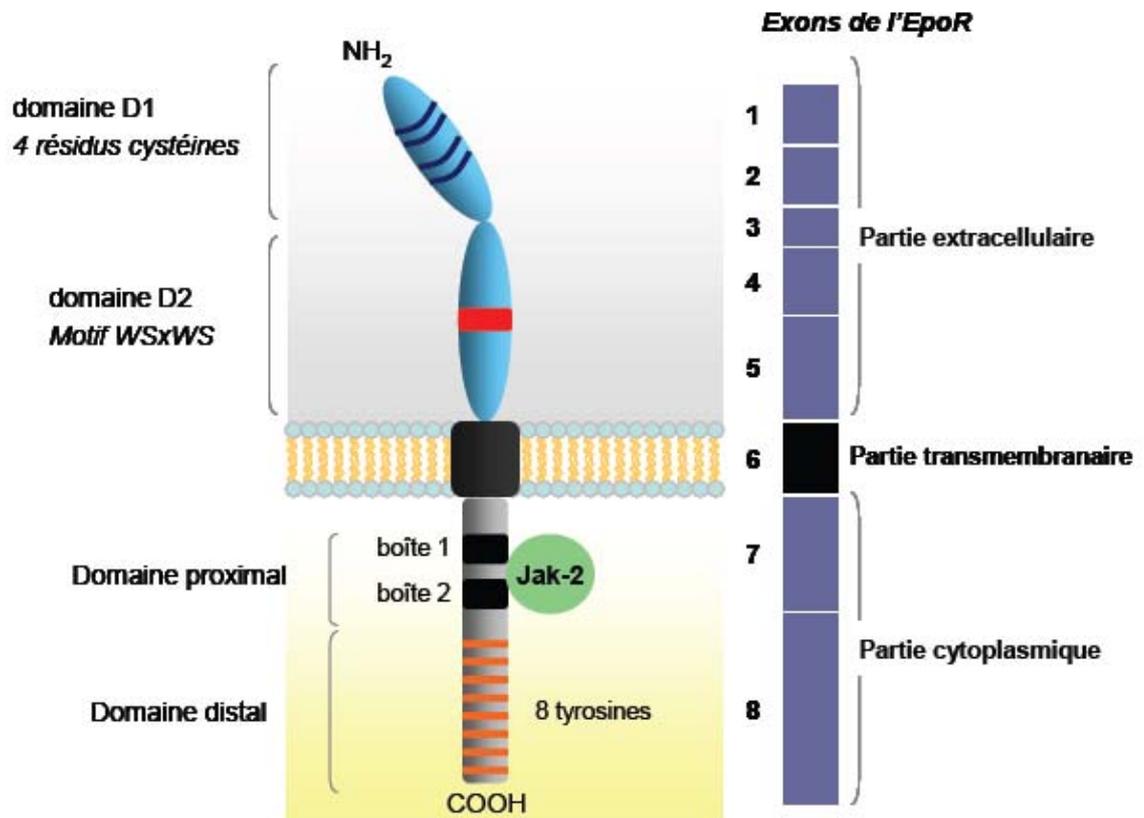
Figure 10: Séquence codante du gène EPO-R et les différentes formes de transcrits de l'EPO-R générées après épissage alternatif



### 1-1-2 Structure protéique

La masse moléculaire de la forme complète de l'EPO-R est de 66 Kda. Il est considéré que la forme complète de l'EPO-R représente le récepteur responsable de la transduction du signal induite par l'EPO. Les formes tronquées et les formes solubles de l'EpoR ne semblent pas impliquées dans la transduction du signal. L'EPO-R complet fait partie de la famille des récepteurs transmembranaires aux cytokines de type 1. Sa partie extracellulaire comprend 230 acides aminés environ, son segment transmembranaire 20 acides aminés et son domaine intracytoplasmique 230 aa (figure11). La partie intracellulaire de l'EPO-R est dépourvue d'activité enzymatique intrinsèque. La partie extracellulaire est composée de 2 sous-domaines fibronectine type III D1 et D2. Le sous-domaine D1 comporte une série de quatre résidus cystéines et le sous-domaine D2 comprend un motif de cinq résidus d'acide aminés tryptophane-sérine-x-tryptophane-sérine où x est un acide aminé quelconque impliqué dans le devenir de l'EpoR dans la cellule. La partie intracytoplasmique permet la transduction du signal cellulaire après fixation de l'EPO sur la partie extracellulaire du récepteur. Dans la région proximale, les boîtes 1 (acides aminés de 257 à 264) et 2 (acides aminés de 303 à 313) et la région entre ces deux boîtes (acides aminés de 265 à 302) sont impliqués dans l'association permanente des Janus Kinases 2 (Jak-2).

Figure 11 : Représentation de la structure protéique de l'EpoR et des séquences codantes correspondantes aux différentes parties de l'EpoR



### 1-1-3 Mécanismes des modifications transcriptionnelles et traductionnelles

Le gène EPO-R ne possède pas de boîte TATA, connue comme site d'initiation de la transcription. Néanmoins, la séquence promotrice située en amont de la séquence codante du gène présente deux boîtes de régulation GATA-1 et SP1, considérée comme activatrice [174]. D'autres facteurs de régulation pourraient également intervenir dans le contrôle de l'expression du gène EPO-R comme par exemple le facteur GATA-3.

Concernant la transduction, l'EPO-R se différencie des autres récepteurs aux cytokines par le fait que sa présence sur la membrane cytoplasmique est faible, contrastant avec sa forte concentration dans le reticulum endoplasmique [175]. Cette particularité de l'EPO-

R suggère qu'il existe des modifications post-traductionnelles dans le reticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi qui entraîneraient non seulement la maturation de l'EPO-R, mais aussi sa migration vers la membrane cytoplasmique. En outre, la liaison de JAK-2 avec l'EPO-R serait indispensable d'une part aux modifications opérées dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, et d'autre part dans le transport de l'EPO-R vers la surface de la cellule [175].

#### 1-1-4 Sites et mécanismes d'activation du récepteur à l'EPO

Les récepteurs à l'érythropoïétine ont d'abord été identifiés à la surface des progéniteurs érythroblastiques [172] mais on a également montré l'expression des récepteurs à l'EPO sur les cellules cardiaques adultes [176] et néonatales [177], sur les fibroblastes [178], sur les astrocytes, les neurones [179], sur les cellules endothéliales et au niveau de la microglie [180]. En l'absence d'EPO, l'EPO-R peut former à la surface cellulaire un homodimère symétrique inactif. Le fait que les monomères d'EPO-R soient en permanence liés à la surface de la cellule permettrait une transmission efficace après fixation de l'EPO et compenserait ainsi la faible concentration d'EPO-R sur la membrane plasmique [181]. La liaison de la glycoprotéine EPO aux deux domaines extracellulaires du récepteur dimérique modifie l'orientation des domaines transmembranaires et intracellulaires, activant ainsi le récepteur. Cette activation se poursuit par une auto et une trans-phosphorylation de la tyrosine kinase associée au récepteur, appelée Janus Kinase 2 (JAK<sub>2</sub>) puis par la phosphorylation des huit tyrosines cytoplasmiques du récepteur qui deviennent des sites de fixation pour les domaines SH2 de molécules de signalisation telles que les facteurs de transcription cytoplasmique STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription) STAT<sub>1</sub>, STAT<sub>3</sub> et STAT<sub>5</sub>.

Une fois phosphorylée, STAT<sub>5</sub> est dimérisée et active le gène de la transcription. Lorsque le cycle d'activation est terminé, EPO-R et JAK<sub>2</sub> sont déphosphorylés. D'autres protéines sont impliquées dans la transduction du signal par EPO-R comme celles appartenant à la cascade des MAP kinases (Mitogen-activated protein kinase) et de la PI<sub>3</sub> kinase de même que divers régulateurs négatifs comme les protéines SOCS ou CIS. Dans les cellules neuronales, lors de l'interaction de l'EPO avec son récepteur, une activation JAK<sub>2</sub>/STAT<sub>5</sub> et de la voie de signalisation du facteur nucléaire kappa B (NF-κB) est observée. Il existe donc plusieurs voies de signalisation. Les mécanismes par lesquels la cellule va déterminer quelles voies elle utilisera ne sont pas encore connus. Le type cellulaire, le statut métabolique de la cellule et la disponibilité du récepteur sont sans doute impliqués dans ce processus.

## **1-2 La molécule « érythropoïétine » (EPO)**

### 1-2-1 Structure génique

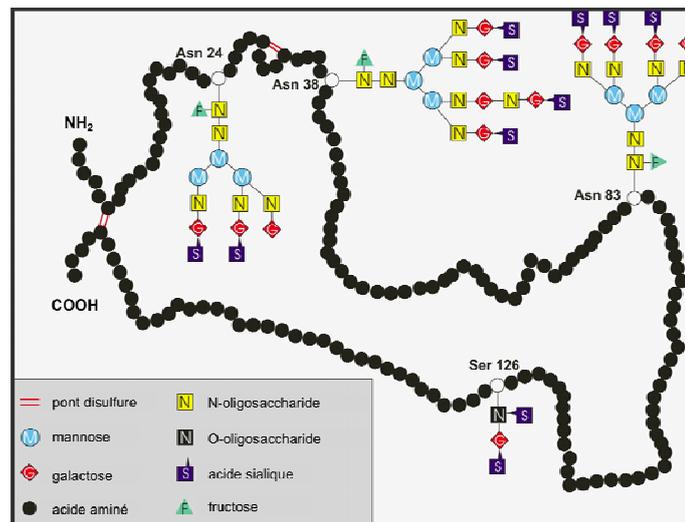
La localisation chromosomique du gène EPO varie en fonction de l'espèce. Ce gène existe sous la forme d'une seule copie et se compose de cinq exons et quatre introns. La séquence humaine du gène codant pour l'EPO présente une homologie de 92% avec celle du singe, de 80% avec celle de la souris ou du rat. Le séquençage du gène EPO humain a permis de produire la protéine recombinante correspondante à partir de cellules ovariennes d'hamster chinois [182].

### 1-2-2 Structure protéique

L'EPO est une glycoprotéine membre de la famille des cytokines de classe I. Alors que le gène EPO code pour une chaîne polypeptidique de 193 acides aminés, la forme

mature du peptide, capable de se lier à son récepteur spécifique, contient seulement 165 acides aminés, suggérant une régulation post-traductionnelle de l'EPO. Dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, le peptide subit une glycosylation sur 4 acides aminés différents. Au final, les 4 chaînes d'hydrate de carbone représentent 40% de la molécule et sont indispensables à la stabilisation de l'hormone. Ainsi la masse mature de l'EPO est de 30,4 kDa environ.

Figure 12 : structure protéique de l'EPO.



### 1-3 Principales voies de signalisation de l'érythropoïétine

La fixation de l'EPO sur l'EPO-R entraîne l'activation des Janus Kinases 2 et déclenche des voies de signalisation intracellulaire qui vont empêcher la mise en route des mécanismes de Mort Cellulaire Active (MCA). Ces voies protectrices agissent soit en bloquant l'activité des protéines pro-MCA, soit indirectement, en modifiant l'expression de certains gènes. De nombreux travaux se sont attachés à préciser les voies de

signalisation intracellulaire impliquées aussi bien dans la neuroprotection que dans la cardioprotection. L'EPO semble emprunter le même type de voies de signalisation intracellulaire que celles décrites lors du préconditionnement ischémique.

#### 1-3-1 L'activation de la protéine Kinase C

La voie de signalisation de la protéine Kinase C semble jouer un rôle important dans les effets protecteurs de l'EPO. L'administration d'inhibiteurs de la protéine kinase C (chelerythrine) entraîne l'abolition de l'ensemble des effets protecteurs de l'EPO dans un modèle d'ischémie reperfusion chez le lapin [183]. L'activation de la protéine kinase C par phosphorylation (fraction Epsilon) débute 5 minutes après l'administration de l'EPO et continue environ pendant 15 minutes.

#### 1-3-2 L'activation de la voie de signalisation JAK / STAT

L'administration par voie exogène d'EPO in vivo chez le lapin induit la phosphorylation et l'activation rapide de la tyrosine kinase JAK<sub>2</sub> (Janus-Activated Kinase). L'activation de ces kinases conduit à la tyrosine phosphorylation des facteurs de transcription de la famille des STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription), qui peuvent alors se dimériser, transloquer au noyau, se lier au SIEs (cis-inducing factor element) et stimuler la transcription de gènes précoces impliqués dans la croissance cellulaire comme c-fos et c-jun. L'EPO semble exercer son effet cardioprotecteur immédiat sur le cœur isolé de lapin par la phosphorylation et l'activation de JAK<sub>1/2</sub>, STAT<sub>3</sub> et STAT<sub>5A</sub> [184]. D'autres études in vivo montrent que les effets neuroprotecteurs de l'EPO exogène sont associés à une augmentation de la concentration cérébrale de STAT-5 chez le jeune raton et de STAT-5 phosphorylé chez le rat adulte [185]. Une seule étude a démontré l'implication directe de STAT-5 dans les

effets protecteurs de l'EPO sur les lignées neuronales [185]. In vitro, l'activation de l'EPO-R protège les neuroblastomes humains contre les effets pro-apoptotiques de la staurosporine, ces effets sont associés à une augmentation de la concentration intracellulaire de STAT5 phosphorylé. En revanche, lorsque la phosphorylation de STAT 5 est bloquée, l'activation de l'EPO-R n'a plus d'effet anti-apoptotique [186].

### 1-3-3 L'activation de la voie de signalisation Akt/ PI3 kinase

Cai et Semenza ont été les premiers auteurs à montrer que l'activation de la caspase 3 et la réduction de la mort par apoptose des cellules myocardiques après ischémie-reperfusion dépendait de la voie de signalisation de la PI3 kinase [187]. Ils ont montré qu'un inhibiteur de la PI3 kinase, la wortmannin, était capable de bloquer tous les effets protecteurs contre l'ischémie de l'EPO dans un modèle de cœur isolé perfusé de rat. L'induction de la phosphorylation de la séquence sérine/thréonine de Akt en réponse à l'administration in vivo d'EPO a été rapportée chez le rat [188] et chez le lapin [187]. L'effet anti-apoptotique de Akt a été bien documenté, reposant sur la phosphorylation et l'inactivation de multiples protéines pro-apoptotiques, incluant en particulier la caspase 9, un activateur de la caspase 3 [189]. La voie PI3 kinase/Akt semble donc jouer un rôle pivot dans les effets cardioprotecteurs induits par l'EPO mais également dans les effets neuroprotecteurs. En effet, dans plusieurs modèles de neurodégénérescence [190, 191]. Le blocage de l'activité de PI3K par les agents LY294002 et Wortmannin fait disparaître les effets protecteurs de l'activation de l'EPO-R dans des cultures de neurones et dans un modèle d'ischémie cérébrale chez le rat [190].

#### 1-3-4 Activation de la voie de signalisation des MAP kinases (Mitogen-activated protein kinases)

Les voies de signalisation impliquant les MAP kinases contrôlent les processus fondamentaux tels que la croissance cellulaire, la différenciation, la transformation ou l'apoptose. Elles consistent en l'activation, par une protéine G, d'un module de base constitué de trois kinases: MAPK-kinase kinase, qui active une MAPK kinase, qui à son tour active une MAPK. Les MAPK sont des kinases sérine/thréonine dont l'activation résulte de la phosphorylation par une MAPK-kinase de résidus-thréonine et -tyrosine. Plusieurs classes de MAPK ont été définies sur la base de leur motif de phosphorylation : ERK1/2 (*extracellular signal-regulated kinases 1 et 2*) et ERK5, JNK (c-Jun N-terminal protein-kinase) et p38MAPK. Les MAPK sont les derniers maillons de différentes cascades qui peuvent être activées indépendamment les unes des autres par des stimuli extracellulaires. Les MAPK et en particulier la p 38 MAP kinase semblent jouer un rôle dans l'effet cardioprotecteur induit par l'EPO. En effet l'administration d'un inhibiteur de la p 38 MAP kinase (SB203580) abolit l'effet protecteur de l'EPO dans un modèle de cœur isolé perfusé de lapin soumis à une séquence d'ischémie reperfusion [187,192]. De la même façon, p42/44 MAP kinase est également activée quelques minutes après l'administration d'EPO au niveau du cœur de lapin et encore 1 à 12h après l'administration d'EPO au niveau de cardiomyocytes ou de fibroblastes. Enfin, un inhibiteur de la p42/44 MAP kinase (PD98059) bloque la protection myocardique induite par l'EPO sur un modèle cœur isolé de lapin, confirmant le rôle de cette kinase dans le mécanisme de «préconditionnant» de l'EPO. Les MAPK seraient également impliquées dans la protection neuronale induite par l'EPO comme le suggère une étude sur un modèle de neurodégénérescence de la rétine

chez la souris ou la neuroprotection disparaît après le blocage de la voie des MAPK [193].

#### 1-3-5 Rôle de l'oxyde nitrique (NO) et des canaux potassiques

Le préconditionnement par l'EPO nécessite l'activation de protéines pour induire une cardioprotection. Le temps nécessaire pour développer une certaine résistance à l'ischémie demande selon les études 15 min [188,192], 2h [194], 12h [195] ou 24h [196]. Ces données suggèrent que le préconditionnement se fait en deux phases, l'une rapide induisant un préconditionnement précoce, l'autre plus tardive induisant un préconditionnement tardif. Il serait également possible que la protection induite par l'EPO puisse débuter quelques minutes après son administration et durer plusieurs heures à plusieurs jours maintenant le cœur dans un état constant de préconditionnement. D'autres études sont nécessaires pour déterminer les différents temps de préconditionnement par l'EPO. Bien que les mécanismes pouvant expliquer les effets cardioprotecteurs soient encore peu connus, des médiateurs pouvant être impliqués dans les effets cardioprotecteurs de l'EPO ont été identifiés.

##### 1-3-5-1 *Rôle de l'oxyde nitrique*

L'augmentation de la production d'oxyde nitrique (NO) en rapport avec une augmentation de l'activité de la NO synthase protège le cœur contre les lésions d'ischémie. La NO synthase est également connue pour médier les effets cellulaires de l'EPO [197]. L'équipe de Baker et al [198] ont étudié la relation entre inhibition de l'activité de la NO synthase et la cardioprotection. La perfusion de cœur de lapin avec des inhibiteurs de la NO synthase (L-NAME ou L-NMA) combinée avec l'administration d'EPO 15 minutes avant l'induction d'une ischémie ne modifie pas

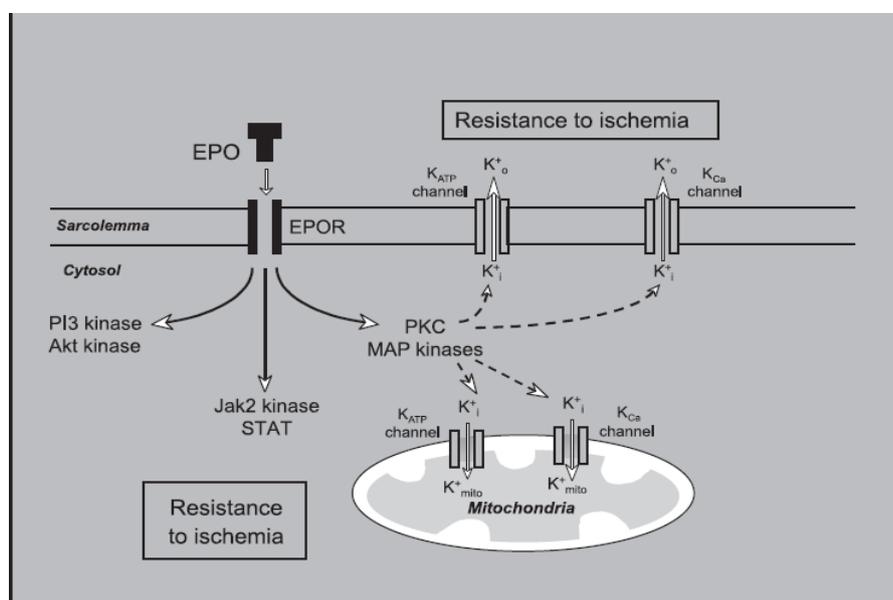
l'effet cardioprotecteur induit par l'EPO. Notre équipe s'est également intéressée au rôle potentiel de la NO synthase dans la cardioprotection induite par l'EPO [199]. Des rats mâles Wistar ont été divisés en 2 groupes traités soit par de l'EPO (5000 UI/Kg) soit par du sérum physiologique (groupe contrôle). Une heure après, les rats ont été anesthésiés et les cœurs ont été prélevés et montés selon un modèle de cœur isolé perfusé. Ils ont alors été soumis à une séquence d'ischémie (période de no flow de 30 minutes) puis à une séquence de reperfusion de 120 minutes. La fonction ventriculaire gauche (mesurée par la pression développée par le ventricule gauche (LVDP) à 30 minutes de reperfusion) est significativement meilleure dans le groupe EPO que dans le groupe contrôle. Cette cardioprotection disparaît lorsque l'on administre avant la période d'ischémie soit de la N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, un inhibiteur non spécifique de la NO synthase) soit de la N-3-aminométhyl-benzyl-acetamidine (1400W, un inducteur spécifique de la NO synthase inhibitrice). Le NO semble donc jouer un rôle particulier dans la cardioprotection induite par l'EPO.

#### 1-3-5- 2 Rôle des canaux potassiques $K_{ATP}$

Les canaux potassiques ATP-dépendants ( $K_{ATP}$ ) ont été découverts il y a 26 ans au niveau de la membrane sarcolemmale des cardiomyocytes (sarc- $K_{ATP}$ ) [200]. Ce sont des hétéro-octamères constitués de deux sous-unités dont il existe plusieurs types d'isoformes : quatre sous-unités Kir6.x, (K inward rectifier) sont situées au centre du canal, quatre sous-unités SUR qui porte un site de fixation pour les sulfonylurées sont situées autour des sous-unités Kir. Les sarc- $K_{ATP}$  situés exprimés à la surface des cardiomyocytes sont constitués d'un assemblage de sous-unités Kir 6.2 et SUR2A. Dans tous les cas, l'ouverture du sarc- $K_{ATP}$  induit une sortie de  $K^+$  vers le milieu extra-

cellulaire. Il en découle un raccourcissement du potentiel d'action, une hyperpolarisation cellulaire et un relâchement de la fibre musculaire. Il y a été proposé il y a plus de 10 ans que des  $K_{ATP}$  pouvaient exister au niveau de la membrane mitochondriale. Ces mito- $K_{ATP}$  seraient composés de sous unités Kir 6.1, Kir 6.2 et SUR2A. L'ouverture du canal provoque un flux d'ions  $K^+$  du cytosol vers la matrice mitochondriale. Il en découle une baisse du potentiel de membrane mitochondrial et un gonflement mitochondrial dû à la pénétration d'eau osmotiquement liée au potassium. Plusieurs régulateurs de ces canaux ont été identifiés. Le canal est fermé par l'ATP et ouvert par les nucléotides diphosphate. L'implication des  $K_{ATP}$  lors du préconditionnement ischémique a été initialement montrée par Gross et coll qui ont montré sur des cœurs de chiens, que le blocage des  $K_{ATP}$  par le glibenclamide bloquait les effets bénéfiques du préconditionnement [201]. Le glibenclamide bloque à la fois les  $K_{ATP}$  situés sur le sarc- $K_{ATP}$  et le mito- $K_{ATP}$ . Actuellement, il semble admis que le mito- $K_{ATP}$  est le principal acteur de la cardioprotection même si certains travaux laissent apparaître une participation du sarc- $K_{ATP}$ . Le mécanisme de cardioprotection de l'EPO serait également étroitement lié aux mito- $K_{ATP}$ . En effet, l'utilisation d'un inhibiteur des mito- $K_{ATP}$  (l'acide 5-hydroxydecanoic, 5HD) avant la séquence d'ischémie dans un modèle de cœur isolé perfusé de rats entraîne une abolition totale de l'effet cardioprotecteur de l'EPO [199]. L'EPO semble donc jouer le rôle d'activateur de l'ouverture des canaux mito- $K_{ATP}$  qui pourrait également entraîner l'activation de la protéine kinase C [202] par l'intermédiaire de l'activation des MAP kinases [203]. Il est intéressant de noter que, comme nous l'avons vu précédemment, ces kinases sont également activées par l'EPO [192].

Figure 13 : Représentation schématique des voies de signalisation pouvant expliquer les effets cardioprotecteurs de l'érythropoïétine (D'après M. Joyeux Faure [199]).



## 2/ Effets cardioprotecteurs et neuroprotecteurs de l'EPO

### 2-1 Effets cardioprotecteurs de l'érythropoïétine

#### 2-1-1 In vivo

Même il existe encore quelques controverses, il semble maintenant acquis que le récepteur à l'EPO est présent aussi bien au niveau de la cellule myocardique de la souris, du rat mais également de l'homme [204,205]. Des études immunohistochimiques ont par ailleurs mis en évidence une expression plus importante des récepteurs à l'EPO sur des myocytes néonataux ou sur des cultures cellulaires de myoblastes qu'au niveau de myocytes ventriculaires adultes. Dans une des toutes premières études sur les effets de l'EPO sur les myocytes cardiaques in vitro Calvillo et al [206] ont mis en évidence que l'EPO recombinante humaine protégeait des myocytes cardiaques de rats adultes maintenus en culture et soumis à une hypoxie prolongée (28h, concentration finale

d'oxygène à 5 mmHg). Lorsque de l'EPO est ajouté au milieu 30 minutes avant le début de l'hypoxie, il y a une diminution de 50% du nombre de cellules apoptotiques à la 28<sup>ème</sup> heure sans diminution du nombre de cellules nécrotiques. Tramontano et al [207] ont pré traités des myocytes ventriculaires de rats nouveau nés à de l'EPO et ont montré une diminution de la mort cellulaire par apoptose après 72 h d'exposition à une hypoxie modérée (25-30 mmHg). Parsa et al [195] ont également mis en évidence le fait que l'EPO permettait de diminuer la mort par apoptose de myoblastes cardiaques exposés soit à un stress oxydatif soit à une hypoxie pendant une durée de 12 à 22 heures. Le mécanisme de protection impliqué dans cette étude semble être la voie de signalisation PI 3/Akt puisque la Wortmannin (inhibiteur de la PI 3K) abolit les effets protecteurs de l'EPO.

#### 2-1-2 In vitro

De multiples études ont été publiées démontrant que l'érythropoïétine protège le cœur dans de plusieurs modèles animaux d'ischémie reperfusion. Dans l'étude de Cai [208], de l'EPO recombinante humaine est administrée par voie intrapéritonéale à la dose de 5000 UI/Kg à des rats adultes 24H avant de les sacrifier et d'analyser la fonction ventriculaire sur un modèle de cœur isolé perfusé (30 minutes d'ischémie suivit de 45 minutes de reperfusion). Les auteurs mettent en évidence une augmentation de la pression ventriculaire gauche dans le groupe EPO sans modification du débit coronaire, une diminution de l'apoptose et une diminution de l'activité de la caspase 3 qui est pro-apoptotique. Cette première étude permet d'objectiver un effet potentiellement « pré-conditionnant » de l'EPO. L'étude de Tramontano [207] toujours chez le rat adulte vient renforcer les résultats obtenus par Cai. L'EPO à la dose de 5000 UI/Kg est administrée

par voie intrapéritonéale immédiatement après l'occlusion par voie chirurgicale de l'artère coronaire gauche. Après 60 minutes d'occlusion coronaire, le cœur est examiné et les auteurs montrent une diminution significative du nombre de cellules apoptotiques par la méthode du TUNEL dans le groupe de rats traités par l'EPO. Cette protection concerne essentiellement les myocytes cardiaques mais également quelques cellules endothéliales et quelques leucocytes. Cette étude permet de mettre en évidence un effet protecteur de l'EPO même administrée après une lésion d'ischémie et en l'absence de tout pré traitement. Parsa et al [195] ont étudié l'EPO chez le lapin. Cinq mille unités d'EPO par kilo de poids sont administrées par voie intrapéritonéale au moment de la ligature chirurgicale d'une artère coronaire et les effets sont étudiés à 72 heures. La fonction myocardique est mesurée par micromanométrie à l'état basal et après une  $\beta$  stimulation. Même si l'EPO ne permet pas de récupérer une fonction cardiaque *ad integrum*, la fonction ventriculaire systolique et diastolique est améliorée dans le groupe EPO et on constate une diminution de la taille d'infarctus ainsi qu'une diminution du nombre de cellules apoptotiques. Calvillo [206] et Moon [209] se sont également intéressés aux effets à court, moyen et long terme de l'EPO dans une modèle animal d'infarctus du myocarde. Calvillo et al [210] administrent de l'EPO à la dose de 5000 UI/kg par voie intrapéritonéale 24 heures, 30 minutes avant l'occlusion coronaire ou au moment de la reperfusion. Dans les deux protocoles, les animaux reçoivent une dose journalière d'EPO pendant 7 jours. Ces études montrent dans le groupe EPO une diminution de l'apoptose des myocytes cardiaques, une hypertrophie ventriculaire et une amélioration de la fonction ventriculaire globale avec particulier une amélioration de la cinétique segmentaire. Dans toutes ces études, l'effet principal de l'EPO semble être une diminution de l'apoptose cellulaire contribuant à la diminution de la taille de la

zone d'infarctus et à la diminution de la dilatation ventriculaire. Enfin, Moon et al [209] ont montré qu'une faible dose d'EPO (150 U/kg) peut également diminuer la taille d'infarctus et favoriser le remodelage ventriculaire après 4 semaines (mesures échographiques) lorsque l'EPO est administrée 4h après le début de la reperfusion. De la même manière une dose de 3000 UI/kg semble également efficace lorsque l'EPO était administrés 12 heures après l'infarctus [209].

## **2-2 Effets neuroprotecteurs de l'érythropoïétine**

### 2-2-1 Erythropoïétine et développement embryonnaire

L'EPO et son récepteur sont présents au cours du développement du cerveau. L'expression de l'EPO et de son récepteur a été mise en évidence dans des régions spécifiques du cerveau embryonnaire et adulte chez le rat, le singe et l'homme. Elle varie au cours du développement. Chez l'homme, l'EPO-R est présent dans la zone germinale autour des ventricules dès la 5<sup>ème</sup> semaine du développement embryonnaire. A partir de la 10<sup>ème</sup> semaine, le récepteur est observé dans la zone sous ventriculaire d'où les cellules progénitrices pluripotentes se différencient en oligodendrocytes ou en astrocytes alors qu'en période postnatale, l'EPO-R est aussi présent dans d'autres cellules neurales telles que les neurones [211]. L'examen du schéma de distribution de l'EPO et de l'EPO-R montre que l'EPO est majoritairement exprimé par les astrocytes alors que l'EPO-R se retrouve surtout au niveau des neurones. Cela a permis de suspecter d'éventuelles fonctions neurotrophiques de l'EPO au cours du développement. Ainsi, il est intéressant de noter que les souris KO (Knock-out) pour EPO et EPO-R meurent au vers le 13<sup>ème</sup> jour de la vie embryonnaire en raison d'un défaut d'érythropoïèse mais aussi avec de graves lésions cérébrales. Ces embryons

montrent une prolifération ralentie et une augmentation de la sensibilité au stress hypoxique [212]. L'expression de l'EPO et de son récepteur persiste dans le cerveau de l'adolescent et de l'adulte mais à un degré moindre. Elle semble être modulée par le biais de l'hypoxie inductible facteur-1 (HIF-1), facteur libéré lors d'un stress hypoxique.

### 2-2-2 Erythropoïétine et barrière hémato-méningée (BHM)

Les travaux les plus anciens réalisés chez le nouveau-né suggèrent que l'EPO ne passe pas la barrière hématoencéphalique. Ces données sur l'imperméabilité de la barrière hémato-méningée à l'EPO ont ensuite été remises en cause par Brines et al [213]. Cette équipe a montré que l'utilisation d'une forme marquée de l'EPO permettait de visualiser la dynamique de franchissement de la barrière hématoencéphalique par l'EPO par une interaction EPO/EPO-R, assimilable à un mécanisme de transport par les cellules endothéliales constitutives de la BHM. Dans une autre étude, Juul et al ont permis de caractériser la pharmacocinétique de l'EPO dans le liquide céphalorachidien après administration périphérique [214]. Dans cette étude, après administration intra-veineuse d'une dose élevée d'EPO chez le singe, un pic d'EPO dans le LCR apparaît 4 heures après l'injection et les concentrations d'EPO sériques et du LCR sont significativement corrélées.

### 2-2-3 Travaux expérimentaux

Plusieurs travaux ont mis en évidence une production autocrine d'EPO non seulement par les astrocytes mais également par les neurones. Les travaux de Bernaudin ont montré que le stress hypoxique augmentait la production d'érythropoïétine par des cellules

neuronales en culture [180]. Il a été également rapporté que la mort de cellules exposées à la toxicité du glutamate pouvait être contrecarrée par un pré-traitement par de l'érythropoïétine [215] et que l'utilisation de l'EPO pouvait diminuer la toxicité cellulaire induite par un traitement par un analogue du glutamate, le N-méthyl -D-aspartate acid (NMDA) qui se fixe au niveau des récepteurs NMDA [216]. Toujours in vitro, il a été montré que, dans des conditions d'hypoxie prolongée, l'administration d'EPO réduit l'intensité des lésions cellulaires occasionnées [217-218]. De nombreux modèles expérimentaux in vivo ont confirmés le bénéfice potentiel d'un traitement par l'EPO recombinante humaine (EPO-rh) observé dans les études in vitro.

Les travaux de Spingborg ont montré que l'administration d'un bolus unique d'EPO chez le rat après une hémorragie cérébrale provoquée limite l'étendue des désordres vasculaires induits [219]. Dans un modèle expérimental d'ischémie cérébrale, Bernaudin et al ont mis en évidence que l'administration d'EPO-rh permettait de diminuer très significativement la taille de l'infarctus cérébral provoqué par une occlusion de taille de l'infarctus cérébral [220]. Une amélioration du score de récupération neurologique est également rapportée dans la littérature dans un modèle de lésion médullaire [221]. Dans le traumatisme crânien, l'administration d'EPO-rh avant ou 6h après un impact sur le cortex frontal chez la souris a entraîné une diminution du volume des lésions traumatiques [213] et a permis dans une autre étude de traumatisme crânien chez le rat de diminuer l'œdème cérébral [222]. On retrouve également un effet bénéfique de l'administration de l'EPO-rh dans des modèles de lésions cérébrales en période néonatale. Chez le rat et la souris nouveau-nés, l'EPO-rh injectée avant et/ou après après une atteinte cérébrale réduit le volume de tissu lésé après hypoxie-ischémie [223] ainsi qu'après une occlusion de l'artère cérébrale moyenne [224]. L'EPO-rh

diminue également les dommages cérébraux induit par l'iboténate injecté en intracérébral dans le modèle d'excitotoxicité cérébrale [225]. De nombreuses études montrent également une amélioration des aptitudes comportementales et cognitives des animaux ayant subi une atteinte cérébrale durant la période néonatale [226].

Tableau 5 : Principales études in vitro sur les effets neuroprotecteurs de l'EPO-rh

Types de cellule	Agents/ conditionnements toxiques	Références
Cultures primaires de neurones	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hypoxie, anoxie</li> <li>• Excitotoxicité: glutamate, AMPA, NMDA, oxyde nitrique, <math>\beta</math>-amyloïde, acide kaïnique</li> <li>• Privation de sérum</li> </ul>	Morishita 1997 Sakanaka 1998 Lewczuk 2000 Sinor 2000 Siren 2001 Digicaylioglu 2001 Chong 2003 Chong 2005
Lignée de cellule microgliale EOC2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Privation d'oxygène et de glucose</li> </ul>	Chong 2006
Lignée de cellule PC12	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Privation de sérum</li> <li>• MPP: 1-méthyl-4-phenylpyridium</li> </ul>	Koshimura 1999 Wu 2007
Lignée de cellule SH-SY5Y	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Staurosporine</li> </ul>	Um 2007

Tableau 6 : Principales études in vivo sur les effets neuroprotecteurs de l'EPO-rh

Modèles expérimentaux	Effets neuroprotecteurs observés	Références
Ischémie	<i>adulte</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Réduction des lésions tissulaires</li> <li>• Amélioration de la récupération des fonctions cognitives</li> </ul>	Sakanaka 1998 Sadamoto 1998 Bernaudin 1999 Calapai 2000 Brines 2000 Siren 2001 Celik 2002 Junk 2002 Wang 2004 Belayev 2005 Yu 2005 Zhang 2006 Zhang 2007 Wang 2007
	<i>jeune</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Réduction des lésions tissulaires</li> <li>• Amélioration de la récupération des fonctions cognitives</li> </ul>	Kumral 2003 Spandou 2004 Demers 2005 Sola 2005 Wen 2006 Kellerl 2007 Gonzalez 2008 Iwai 2008
Traumatismes crâniens	<ul style="list-style-type: none"> <li>• protection des axones et des neurones</li> <li>• stimulation de la neurogenèse</li> <li>• meilleur recouvrement des fonctions cognitives</li> </ul>	Brines 2000 Lu 2005 Yatsiv 2005 Siren 2006 Cherian 2007 Grasso 2007 Mahmood 2007 Shein 2008
Traumatismes de la moelle épinière	<ul style="list-style-type: none"> <li>• protection de la substance blanche</li> <li>• protection des neurones des ganglions spinaux</li> <li>• amélioration des performances motrices</li> </ul>	Gorio 2002 Campana 2003 Leist 2004
Épilepsie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• protection des neurones de l'hippocampe</li> <li>• réduction de la récurrence des crises spontanées</li> </ul>	Nadam 2007 Chu 2008
Parkinson	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Protection des neurones dopaminergiques</li> <li>• réduction des séquelles cognitives</li> </ul>	Kanaan 2006 Xue 2007
Encéphalo-myélite	<ul style="list-style-type: none"> <li>• réduction de la démyélinisation</li> <li>• diminution de la sévérité des symptômes</li> </ul>	Brines 2000 Li 2004 Zhang 2005
Sclérose	<ul style="list-style-type: none"> <li>• augmentation de la survie et du fonctionnement des neurones rétiniens</li> </ul>	Sattler 2004

#### 2-2-4 EPO et neuroprotection : les études cliniques

Les études cliniques chez le nouveau-né ou chez l'adulte avec l'EPO comme substance neuroprotectrice sont encore limitées. Chez le nouveau né, une étude récente suggère que le traitement de nouveaux nés à terme avec encéphalopathie ischémique par des doses d'EPO pendant les deux premières semaines de vie permettrait de diminuer le nombre de décès ou de handicap sévère [227]. Chez l'homme, l'équipe d'Ehrenreich a expérimenté pour la première fois l'effet neuroprotecteur de l'EPO chez des patients présentant un accident vasculaire cérébral [228]. Cette étude « the GÖTTINGEN EPO-STROKE TRIAL » a inclus uniquement des patients souffrant d'un AVC dans le territoire de l'artère cérébrale moyenne confirmé par IRM. Cinquante trois patients ont été inclus, 13 dans un groupe d'étude de toxicité et 40 en double aveugle. Aucun signe de toxicité n'a été observé. La concentration de LCR a augmenté de 60 à 100 fois le taux basal après l'administration intra-veineuse de l'EPO, ceci indiquant le passage de l'EPO de la barrière hémato-méningée au moins au moment de la phase aigüe d'un accident vasculaire cérébral. Les patients traités par EPO ont eu un pronostic significativement plus favorable que les patients témoins sans EPO. Un déficit neurologique moindre dans la période immédiatement post-AVC, meilleure récupération des fonctions cérébrales, évolution moindre de la taille des lésions, taux circulants du marqueur de lésion gliale S-100 $\beta$  significativement plus bas et retour plus rapide au taux de base.

### 2-2-5 Mécanismes d'action neuroprotectrices de l'EPO

Bien que les mécanismes moléculaires précis de l'EPO dans la neuroprotection ne soient pas encore complètement élucidés certains semblent être proches des mécanismes décrits dans la cardioprotection avec quelques spécificités. Plusieurs études ont révélé que les effets anti-apoptotiques de l'EPO sur des cellules non neuronales passeraient par l'activation de Jak<sub>2</sub> permettant la phosphorylation de Stat<sub>5</sub> et d'augmenter ainsi l'expression des gènes anti-apoptotiques [229]. JAK<sub>2</sub> et STAT<sub>5</sub> sont exprimés dans diverses régions du cerveau telles que le cortex, l'hippocampe et le striatum. La protection des neurones de l'hippocampe suite à une atteinte ischémique est possible par l'activation de JAK<sub>2</sub>. Cela empêche de la même manière la mort des neurones corticaux en ciblant l'interaction de JAK<sub>2</sub> et de NF-κB. Les mécanismes anti-apoptotiques passent donc par l'activation des voies de signalisation JAK<sub>2</sub> et PI3-K/Akt. Cela permet de maintenir le potentiel de membrane mitochondrial, d'empêcher la libération du cytochrome c ainsi que de diminuer l'activité des caspases 1, 3 et 8 [230]. En plus des mécanismes de protection, l'EPO réduit également l'atteinte neuronale en stimulant la régénération des neurones.

## **3/ Les EPO de synthèse (EPO-rh) et les dérivés non hématopoïétiques**

### **3-1 Les EPO de synthèse (EPO-rh)**

Il existe actuellement trois formes commercialisées de EPO-rh : l'EPO-α (Eprex®, Laboratoire Janssen Cilag), l'EPO-β (NéoRecormon®, Laboratoire Roche) et la darbépoétine-α (Aranesp®, Laboratoire Amgen). Celles-ci montrent de subtiles différences de structure protéique et des distinctions lus marquées au niveau de la glycosylation et du principe de stabilisation utilisé, permettant le maintien de l'activité

biologique et la prévention de l'agrégation ou de la dénaturation protéique lors de l'injection. Ces différences de glycosylation et de formulation conduisent à des propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques spécifiques. La darbépoétine- $\alpha$ , molécule la plus récente, est celle qui possède la demie-vie la plus longue, permettant des intervalles interdosages plus grands. L' EPO- $\beta$ , comparée à l'EPO- $\alpha$ , a une demie-vie d'élimination plus longue, avec une concentration maximale plus élevée et l'obtention d'une réponse réticulocytaire plus forte. L'administration de EPO-rh peut se faire chez l'homme par voie sous cutanée ou intraveineuse. Lors de l'injection de EPO-rh par voie IV, le volume de distribution étant faible, il apparaît un pic sérique immédiat important, dose dépendant, suivi d'une décroissance rapide du taux plasmatique, avec un retour au taux de base en 24h à 48 heures. La demi-vie de la EPO-rh par voie IV est de cinq à six heures après la première injection, et de quatre heures lors d'injections multiples. La voie sous cutanée permet un relargage plus lent des dépôts sous- cutanés de EPO-rh, avec un taux sérique maximal plus tardif (12-24h après l'injection) et moins élevé (d'environ 5%) par rapport à l'administration IV, ainsi qu'une décroissance plus lente et une demi-vie supérieure à 20 heures. Le retour au taux de base a lieu en 48 à 72 heures. La biodisponibilité de l'EPO par voie SC est très inférieure à la voie IV (environ 20%).

### **3-2 Les dérivés non hématopoïétiques de l'EPO-RH**

L'effet physiologique le plus connu de l'EPO-RH est la stimulation de l'hématopoïèse entraînant une augmentation de l'hématocrite en particulier dans les traitements au long cours. Plusieurs études cliniques ont été prématurément arrêtées car l'EPO-rh augmentait la mortalité et le risque de troubles cardio-vasculaires chez les patients anémiques. Plusieurs dérivés de l'EPO sont actuellement en voie de développement, le but étant de maintenir les effets potentiellement cardio et/ou neuro protecteur démontrés

in vivo en diminuant la stimulation de l'érythropoïèse afin de diminuer les effets secondaires en particuliers les effets thrombogènes. Deux molécules sont actuellement à l'étude. D'une part l'Asialo EPO [231] qui possède les mêmes récepteurs que l'EPO native mais une demi-vie plasmatique extrêmement courte ce qui permet de diminuer la réponse hématopoïétique. D'autre part la Carbamylated EPO (CEPO) qui possède une affinité moindre pour les récepteurs que l'EPO native et qui ne stimule pas l'érythropoïèse chez la souris [232].

### 3-2-1 Asialo-EPO

L'asialo-EPO est une molécule obtenue après une digestion enzymatique des acides sialiques de l'EPO-rh. Sa demi-vie plasmatique étant très faible en comparaison à la protéine native, l'asialo-EPO n'a pas d'effet hématopoïétique [231]. L'asialo-EPO se lie à l'homodimère EPO-R<sub>2</sub> avec la même affinité que l'EPO-rh. Trois études ont montré que le traitement par asialo-EPO était neuroprotecteur dans des modèles d'ischémie cérébrale [232-233] ainsi que dans des modèles de compression médullaire et du nerf sciatique [231].

### 3-2-2 L'EPO carbamylée (CEPO)

La carbamylation des lysines de l'EPO-rh en homocitrulline modifie la conformation et la fonction de la molécule. L'EPO-rh carbamylée est dépourvue d'effet hématopoïétique [234]. En effet, son injection à de fortes doses chez les rongeurs ne modifie ni la concentration en hémoglobine, ni l'hématocrite [235]. La perte de l'activité hématopoïétique de la CEPO s'expliquerait par son manque d'affinité pour l'homodimère EPO-R<sub>2</sub>, ce qui tendrait à prouver que la CEPO exercerait son action

neurobiologique en se fixant sur un site de liaison alternatif présent dans le SNC. Plusieurs études montrent que la CEPO possède des effets neuroprotecteurs comparable à l'EPO-rh. Des effets bénéfiques de la CEPO ont été observés dans des modèles in vivo d'ischémie cérébrale [236], de compression médullaire [232], d'irradiation cérébrale [237], de neuropathie diabétique [238] et d'encéphalite [232]. Les mécanismes d'action de la CEPO semblent être à la fois anti-apoptotiques et anti-inflammatoires [183]. La protection tissulaire observée chez les animaux traités à la CEPO s'accompagne d'une amélioration des capacités d'apprentissage ainsi des fonctions motrices [232-237].

#### **4/ ETUDE n° 2 : EPO et arrêt cardiaque : étude expérimentale chez le rat**

L'arrêt cardiaque constitue un modèle d'ischémie reperfusion globale. En dépit des nombreux travaux expérimentaux et cliniques, aucune stratégie pharmacologique de cardio et/ou neuroprotection n'est à ce jour efficace et susceptible d'améliorer la morbi-mortalité dans l'arrêt cardiaque. Nous venons de voir qu'il existe un faisceau d'arguments pour penser que l'administration d'érythropoïétine permet de réduire les dégâts cellulaires causés par la séquence d'ischémie reperfusion à la fois dans des modèles in vitro et in vivo expérimentaux. Il a également été bien démontré que l'application d'une forte dose d'érythropoïétine par voie intraveineuse chez l'homme (33000 UI/jour) semblait être sans effets secondaires [228]. L'étude de l'effet de l'administration de l'EPO dans le cadre de l'arrêt cardiaque semblait alors complètement pertinente.

#### **4-1 Choix du modèle d'arrêt cardiaque**

Les modèles d'ischémie reperfusion globale consistent à arrêter, de manière transitoire, l'ensemble de la circulation cérébrale. Elles peuvent induire des lésions ischémiques intéressant soit l'ensemble du cerveau (ischémie-reperfusion complète) soit uniquement certaines régions cérébrales les plus sensibles (ischémie-reperfusion incomplète) selon que l'occlusion vasculaire intéresse l'ensemble des gros troncs artériels vascularisant la partie supérieure du corps ou uniquement les artères cérébrales. Les expériences d'ischémie-reperfusion globales et complètes peuvent être induites par un arrêt cardiaque transitoire par fibrillation ventriculaire à l'aide d'une électrode oesophagienne en utilisant un courant alternatif de 12V/50Hz, par injection de potassium, par hyperpression médastinale, par occlusion pneumatique de l'aorte, par strangulation, par choc hémorragique ou encore par arrêt cardiaque hypoxique. Deux types d'arrêt cardiaque ont été élaborés au laboratoire (arrêt cardiaque par fibrillation ventriculaire et arrêt cardiaque par hypoxie) mais nous avons préféré retenir le modèle d'arrêt cardiaque par anoxie beaucoup plus reproductible. En effet dans notre modèle d'arrêt cardiaque par fibrillation ventriculaire, la reprise d'une activité cardiaque spontanée quelques secondes ou minutes après l'induction de la fibrillation interférait trop avec la stabilité du protocole et ne permettait pas la mise en place d'une méthodologie complètement invariable et reproductible.

#### **4-2 Matériel et méthode**

Les expériences sont réalisées par un seul expérimentateur après une période de 6 mois d'entraînement et d'élaboration du modèle. Les animaux sont randomisés pour recevoir soit une solution placebo, du sérum physiologique (groupe contrôle), soit de l'époïétine

béta (NeoRecormon®), une érythropoïétine humaine recombinante obtenue par la technique de l'ADN recombinant sur une lignée de cellules CHO (groupe EPO). La procédure de randomisation et la préparation des solutions sont réalisées par un intervenant extérieur au protocole afin de respecter la procédure de double aveugle. Le calcul du nombre d'animaux nécessaires est réalisé avant la procédure de randomisation : en supposant que la mortalité 48 heures après l'arrêt cardiaque soit de 50% dans le groupe contrôle et que l'érythropoïétine puisse diminuer la mortalité de 40% avec un risque  $\alpha$  de 0,05 et une puissance de 0,8 le nombre d'animaux nécessaire dans chaque groupe est de 17.

#### 4-2-1 Les animaux

Des rats mâles Wistar (élevage Janvier, France) pesant entre 380 et 550 g sont utilisés. Ces animaux sont maintenus dans des conditions standard de température ( $21\pm 1^\circ\text{C}$ ), d'humidité ( $60 \pm 10\%$ ) et d'éclairage (8h-20h). Ils reçoivent une alimentation standard normosodée et de l'eau à volonté. Tous les animaux sont traités en accord avec les recommandations publiées sur l'expérimentation animale.

#### 4-2-2 La préparation chirurgicale

Les rats sont anesthésiés par une injection intra-péritonéale de 50 mg/Kg de pentobarbital sodique (Sanofi santé animale, Libourne). Une voie veineuse périphérique est obtenue par cathétérisation de la veine pénienne à l'aide d'un cathéter de polyéthylène PE 50. Immédiatement après la pose de l'abord veineux les animaux reçoivent en fonction de la randomisation soit de l'EPO (3000 UI/Kg diluée dans 1,5 ml de sérum physiologique) soit la solution témoin (1,5 ml de sérum physiologique) par voie intraveineuse. Ils sont intubés par voie orotrachéale à l'aide d'un cathéter de voie

veineuse périphérique de 14G et ventilés mécaniquement en volume contrôlé à l'aide d'un respirateur pour rongeurs (SAR –830 series Small Animal Ventilators). La fréquence respiratoire est fixée à 60 cycles par minute, le volume courant est adapté au poids de l'animal (15ml/Kg), la FiO<sub>2</sub> est de 100%. L'artère carotide droite est cathétérisée à l'aide d'un cathéter de polyéthylène, PE 50 et reliée par connexion à un capteur de pression permettant de monitorer la pression artérielle (MacLab 4S, ADS instruments). La température centrale est mesurée et maintenue à 37°5 par un tapis chauffant (HARUARD, homéothermie blanket system).

#### 4-2-3 Protocole d'arrêt cardiaque

Après une période de stabilisation d'une durée de 10 minutes, les animaux étaient curarisés à l'aide de Vécuronium 2 mg/Kg (Bromure de Vecuronium, Organon). Deux minutes après la curarisation la ventilation mécanique est arrêtée. Conformément aux données de la littérature, les animaux sont estimés être en arrêt cardiaque lorsque la pression artérielle systolique est inférieure à 40 mmHg. L'arrêt cardiaque est maintenu pendant 6 minutes.

#### 4-2-4 Protocole de réanimation

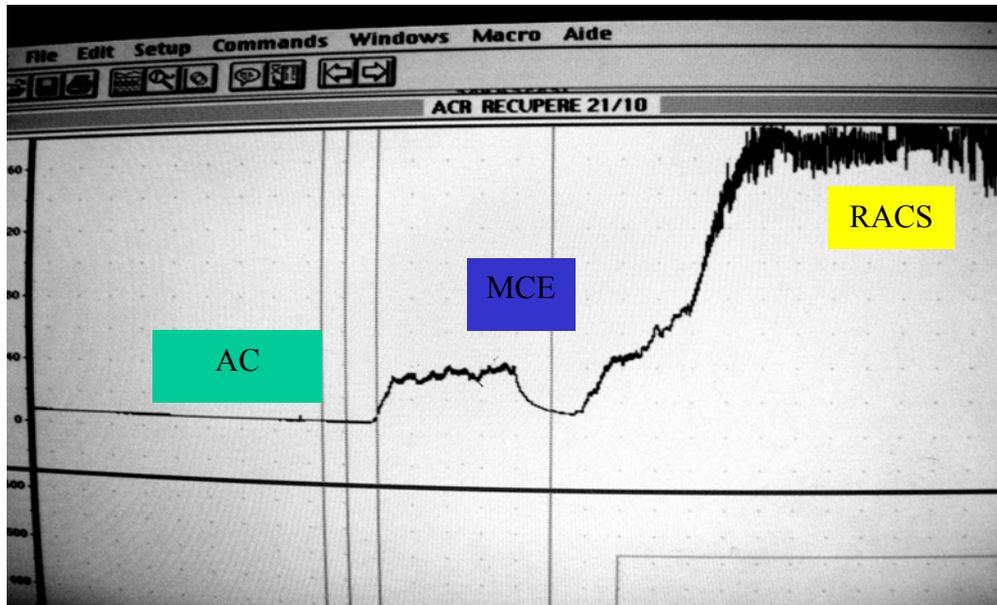
A la sixième minute, la réanimation est débutée par la reprise de la ventilation en oxygène pur à la fréquence de 60 min<sup>-1</sup> puis, 15 secondes après, par le début du massage cardiaque externe à la fréquence d'environ 200 min<sup>-1</sup>. Après 1 minute de massage cardiaque, une dose de 0,02 mg/Kg d'adrénaline est administrée par voie intra-veineuse renouvelée toute les minutes jusqu'à reprise d'une activité circulatoire spontanée définie par une pression artérielle systolique supérieure à 60 mmHg. Si après 6 minutes de réanimation, l'animal n'a pas récupéré une activité circulatoire spontanée,

les manœuvres de ressuscitation étaient arrêtées et l'animal déclaré décédé. Les animaux ayant repris une activité circulatoire sont ventilés jusqu'à la reprise d'une ventilation spontanée efficace. Les cathéters sont alors retirés, la peau refermée et l'animal extubé.

Photo 1 : préparation chirurgicale de l'animal



Figure 14 : Courbe de pression artérielle invasive montrant les trois étapes de l'arrêt cardiaque expérimental : arrêt cardiaque (AC), massage cardiaque externe (MCE), reprise d'une activité circulatoire spontanée (RACS).



#### 4-2-5 Paramètres analysés

Les principaux paramètres étudiés sont : le poids, la pression artérielle initiale, le délai entre l'anesthésie générale et l'injection de la solution (placebo ou EPO), le délai entre l'injection de la solution et l'arrêt de la ventilation mécanique, le délai entre l'arrêt de la ventilation mécanique et l'arrêt cardiaque, l'existence ou non d'une récupération d'activité circulatoire spontanée (RACS), le délai de cette récupération, la dose d'adrénaline injectée, la mesure de la pression artérielle à 1,2,3,4,5,10,15,30,45 et 60 minutes après la réanimation, la survie à H1, H24 et H48, la survie à la 48<sup>ème</sup> heure étant le critère principal de l'étude. Les effets secondaires et les séquelles sont répertoriés.

#### 4-2-6 Analyse statistique

Les tests statistiques utilisés sont un test de Mann-Whitney pour les variables quantitatives et un test de  $\chi$ -Square pour les variables qualitatives. Une différence est considérée comme significative si la valeur de p est inférieure à 0,05. Les résultats sont présentés en moyenne  $\pm$  déviation standard.

### **4-3 Résultats**

42 animaux sont étudiés. Huit animaux (six dans le groupe EPO et deux dans le groupe contrôle) ont été exclus en raison d'un décès précoce pendant la phase de préparation chirurgicale avant le début du protocole. 34 animaux ont été éligibles.

#### 4-3-1 Variables expérimentales avant arrêt cardiaque (tableau 7)

Il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les 2 groupes pour le poids des animaux ( $p = 0,24$ ), le délai entre l'anesthésie générale et l'injection de la solution tirée au sort ( $p = 0,24$ ), le délai entre l'injection de la solution et l'arrêt de la ventilation mécanique, le temps de préparation de l'animal défini par le temps entre l'anesthésie générale et la fin de la mise en place de la pression artérielle invasive ( $p = 0,74$ ), la pression artérielle systolique initiale avant induction de l'arrêt cardiaque par anoxie ( $p = 0,5$ ).

Tableau 7 : Récapitulatif des principaux paramètres expérimentaux avant arrêt cardiaque

	Groupe EPO	Groupe contrôle	<b>p</b>
Poids (g)	448 ± 44	464 ± 44	<b>0,24</b>
Delai AG-injection solution (min)	9.88 ± 2,73	8.82 ± 2,45	<b>0,24</b>
Délai injection solution-arrêt ventilation (min)	16,2 ± 2,53	15,8 ± 2,18	<b>0,61</b>
Temps de préparation (min)	18,82 ± 3,62	18,94 ± 4,08	<b>0,74</b>
Pression artérielle initiale (mmHg)	151 ± 20	146 ± 22	<b>0.5</b>

#### 4-3-2 EPO et reprise d'activité circulatoire spontanée (RASC)

Le délai entre le début de l'anoxie correspondant à l'arrêt de la ventilation et l'arrêt cardiaque défini par une pression artérielle systolique  $\leq 40$  mmHg est de  $156,5 \pm 44$  s dans le groupe EPO et de  $149 \pm 70$  s dans le groupe contrôle ( $p = 0,42$ ). Sur les 34 animaux mis en arrêt cardiaque par anoxie, 30 animaux ont récupéré une activité circulatoire spontanée (88%), 17/17 ont été réanimés dans le groupe EPO (100% de succès de la réanimation), 13/17 ont été réanimés dans le groupe contrôle (76% de succès de la réanimation). Deux rats sont décédés avant la première heure post ACR dans le groupe EPO (88,2% de survie à H1) et deux sont décédés dans le groupe témoin (64,7 % de survie à H1). Le délai entre le début de la réanimation et la reprise d'une activité circulatoire spontanée définie par une pression systolique  $\geq 60$  mmHg est de  $142 \pm 84$  s dans le groupe EPO et de  $187 \pm 110$  s dans le groupe témoin ( $p = 0,67$ ).

Tableau 8 : Récapitulatif des principaux paramètres expérimentaux après réanimation

	Groupe EPO	Groupe contrôle	p
Nombre de ROSC	17/17 (100%)	13/17 (76%)	<b>ns</b>
Délai reprise circulation (sec)	142 ± 84	187 ± 110	<b>ns</b>
Nombre de doses d'adrénaline	1,58 ± 1,22	2,76 ± 1,68	<b>0,03</b>
Vivant H1	15/17 (88,2%)	11/17 (64,7%)	<b>ns</b>
Vivant H24	15/17 (88,2%)	8/17 (47%)	<b>0,028</b>
<b>Vivant H 48</b>	<b>15/17 (88,2%)</b>	<b>7/17 (41,2%)</b>	<b>0,012</b>

#### 4-3-3 EPO et adrénaline

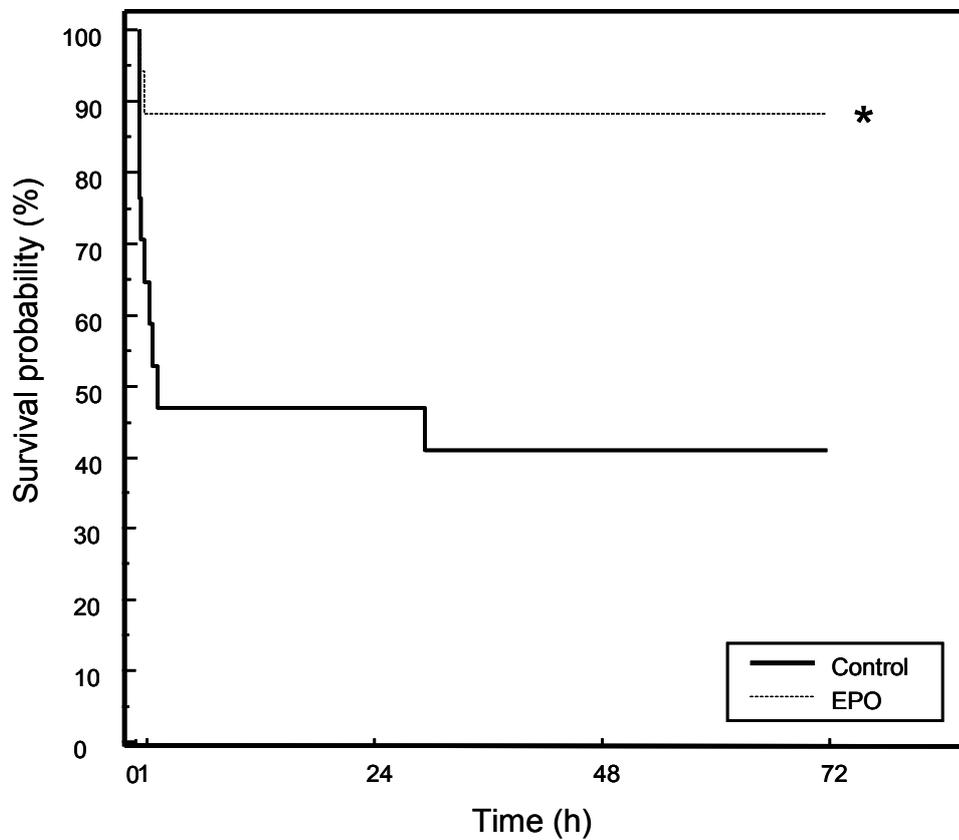
Le nombre de doses d'adrénaline (1 dose = 0,01 mg d'adrénaline) nécessaires pour récupérer une activité circulatoire spontanée est significativement plus bas dans le groupe EPO par rapport au groupe contrôle (1,58 ± 1,22 vs 2,76 ± 1,68, p = 0,03)

#### 4-3-4 EPO et survie

La survie après l'arrêt cardiaque a été étudiée pendant 48 heures. Le taux de survie est de 88,2% à H24 dans le groupe EPO (15 /17) versus 47% dans le groupe contrôle (7/17) (p= 0,028) et de 88,2% à H48 dans le groupe EPO (17 /17) versus 41,2% (7/17) dans le groupe contrôle (p = 0,012). Comme nous l'avons mentionné précédemment, la réanimation a été efficace chez 17/17 animaux dans le groupe EPO (100%) de succès et chez 12/17 dans le groupe contrôle. Cinq des 12 animaux réanimés dans le groupe contrôle (41,6%) sont décédés pendant la phase d'observation alors qu'aucun animal n'est mort durant la même période dans le groupe EPO. Tous les animaux survivants sauf un, ont un état neurologique leur permettant de boire et de s'alimenter seul. Cet animal a été euthanasié à la 48<sup>ème</sup> heure. Quatre rats du groupe EPO et un rat du groupe

contrôle, ont présenté une paralysie des membres inférieurs sans autre déficit neurologique apparent.

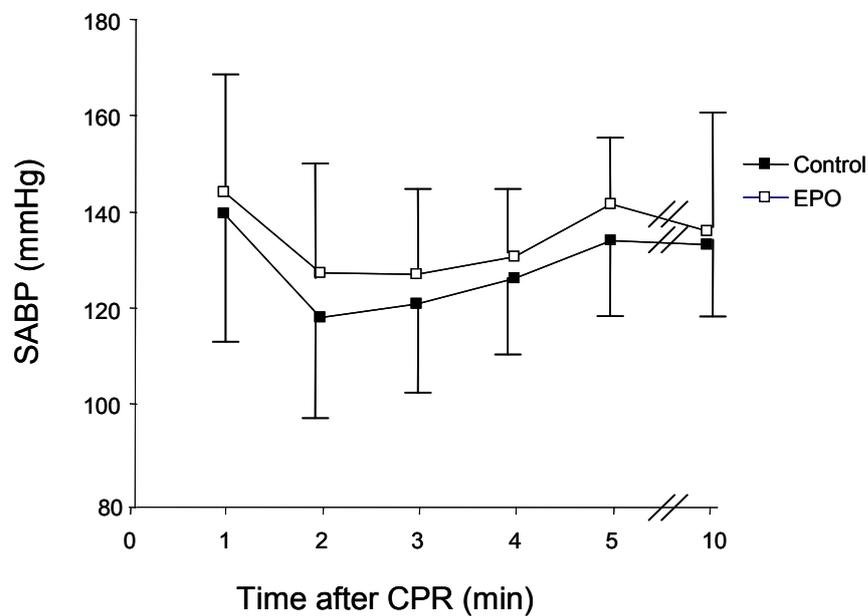
Figure 15 : Courbe de survie de Kaplan-Meier trois jours après un après arrêt cardiaque par 6 minutes d'asphyxie et mettant en évidence une différence de survie à 24, 48 et 72 h entre le groupe EPO et le groupe contrôle. \* $p < 0.05$ , by a Logrank test.



#### 4-3-5 Profil hémodynamique post arrêt cardiaque

Les mesures de la pression artérielle systolique effectuées après la récupération d'une activité circulatoire spontanée ne montrent de différence significative entre les 2 groupes (figure 16).

Figure 16.: Evolution de la pression artérielle systolique en fonction du temps après récupération d'une activité circulatoire spontanée (RACS).



#### **4-4 Limites de l'étude expérimentale**

Les résultats encourageant apportés par notre étude expérimentale doivent être tempérés par un certain nombre de limites. D'une part, l'érythropoïétine est injectée avant l'arrêt cardiaque ce qui est évidemment peu concevable dans la réalité clinique. Cependant il nous semblait nécessaire de montrer un effet bénéfique de l'EPO lors d'une injection précoce avant d'envisager une injection pendant la réanimation cardio-pulmonaire de base ou après récupération d'une activité cardiaque stable. D'autre part et contrairement à la majorité des études réalisées sur l'arrêt cardiaque chez le rat ou le modèle employé est un modèle d'arrêt cardiaque par fibrillation ventriculaire, nous avons préféré réaliser un modèle d'arrêt cardiaque par anoxie beaucoup plus reproductible. En effet dans un modèle par fibrillation ventriculaire, également développé dans notre laboratoire, la reprise d'une activité cardiaque spontanée quelques secondes ou minutes après l'induction de la fibrillation interférait avec la stabilité du protocole et ne permettait pas la mise en place d'une méthodologie complètement invariable et reproductible. Enfin, l'étude ne comporte aucune manipulation permettant d'approcher les mécanismes physiopathologiques qui pourraient expliquer ces résultats d'augmentation de la survie chez les animaux ayant reçu de l'EPO avant l'arrêt cardiaque. Le but n'était ici qu'une étude préliminaire de survie. Concernant les décès avant manipulation, six rats du groupe EPO sont décédés pendant la période de préparation chirurgicale, deux suite à une hémorragie, un immédiatement après l'administration du curare (œdème aiguë du poumon) et trois décès sont inexplicables. Dans le groupe contrôle, un rat est décédé suite à une hémorragie, un rat est décédé par défaut d'oxygène.

#### **4-5 Discussion et conclusion**

Cette étude expérimentale met en évidence un effet bénéfique de l'érythropoïétine sur la survie des animaux après un arrêt cardiaque hypoxique de 6 minutes chez le rat. Cet effet semble être bénéfique à toutes les étapes de la réanimation: plus grand pourcentage de ressuscitation (100% dans le groupe EPO versus 76% dans le groupe contrôle), diminution de la dose d'adrénaline nécessaire pour récupérer une activité circulatoire efficace ( $p = 0,03$ ). Ce bénéfice semble encore plus net dans la phase de post-réanimation avec un pourcentage de survie supérieur dans le groupe EPO à H1 (88% vs 70,5%) (ns), à H24 (88% vs 47%) ( $p = 0,028$ ) et à H48 (88% vs 41%) ( $p = 0,012$ ). Tous les animaux réanimés dans le groupe EPO ont survécus. Par contre, aucun bénéfice n'est noté dans la rapidité de récupération de l'activité circulatoire ou dans les variations de la pression artérielle systolique dans la première heure suivant la réanimation. Les résultats sont encourageant d'autant qu'en post arrêt cardiaque, la dysfonction myocardique et la dysfonction neurologique sont les principales causes de décès. Dans une étude expérimentale récente [239], où l'EPO était administrée 5 minutes avant l'arrêt cardiaque, 24 heures et 72 heures après l'ischémie cérébrale, aucun effet bénéfique n'a été démontré dans un modèle d'arrêt cardiaque différent du notre où l'arrêt cardiaque était induit par une fibrillation ventriculaire. La survie et l'évolution neurologique des animaux sont identiques dans le groupe traité par EPO et dans le groupe contrôle et l'activité de la caspase 3, reflet de l'apoptose, est identique dans les deux groupes. Les effets bénéfiques de l'EPO dans un modèle d'arrêt cardiaque par asphyxie sur la fonction myocardique et sur la survie ont seulement été rapportés dans une étude où l'EPO était administrée 3 minutes après le retour à une circulation spontanée [240]. Dans notre étude, nous observons que l'administration de l'EPO 15

minutes avant l'arrêt cardiaque améliore la survie et les paramètres de réanimation, montrant ainsi que l'EPO agit comme une molécule « préconditionnante ». Ces résultats sont concordants avec la littérature récente sur les effets cardioprotecteurs et neuroprotecteurs potentiels de l'érythropoïétine que nous avons développés dans les chapitres précédents. Même si aucun mécanisme de l'action de l'EPO n'est actuellement décrit dans l'arrêt cardiaque, en démontrant l'augmentation de la survie et l'amélioration des paramètres de réanimation dans l'arrêt cardiaque après un « préconditionnement » par l'EPO, c'est peut être là une nouvelle voie thérapeutique qui nous est offerte.

Pour tenter d'expliquer les effets bénéfiques de l'EPO dans ce modèle d'arrêt cardiaque expérimental nous avons mené dans un deuxième temps une étude clinique en chirurgie cardiaque, sous circulation extra-corporelle, celle-ci étant un modèle d'ischémie-reperfusion globale pouvant être responsable des mêmes lésions cellulaires d'ischémie-reperfusion que celles que l'on peut retrouver dans l'arrêt cardiaque même si les conditions cliniques ne sont évidemment pas les mêmes.

### **5/ ETUDE n° 3 : EPO et arrêt circulatoire en chirurgie cardiaque**

On sait depuis longtemps que la circulation extracorporelle (CEC) entraîne une réponse inflammatoire dont l'une des composantes essentielles est l'activation des polynucléaires neutrophiles, notamment sous l'influence du complément. Une fois activées, ces cellules adhèrent à l'endothélium et libèrent différentes substances cytotoxiques, en particulier enzymes protéolytiques et radicaux libres de l'oxygène. Ces médiateurs libérés dans le cadre de l'inflammation et notamment les cytokines ont un impact négatif sur la fonction myocardique en raison de leurs effets inotropes négatifs.

La contribution de cette réponse inflammatoire à la morbidité pulmonaire, neurologique et splanchnique est également bien documentée. En clinique cette relation entre réponse inflammatoire et fonction myocardique est reflétée par l'observation que la contractilité segmentaire, évaluée par échographie transoesophagienne après pontage aorto-coronaire, est inversement proportionnelle aux taux circulants d'interleukine-6 qui est l'une des principales cytokines libérées au cours de la CEC [241]. Sur le plan biologique, les lésions ischémiques cardiaques provoquées par la chirurgie cardiaque sont, elles, reflétées par l'augmentation significative des taux sanguins de différents marqueurs, surtout après cardioplégie. Par exemple, le peptide cérébral natriurétique (BNP), spécifique des ventricules cardiaques, voit son taux sanguin augmenter [242-243]. L'augmentation des taux sanguins de l'isoenzyme MB de la créatine kinase (CK-MB) et de la troponine T est observée après chirurgie cardiaque [244-245]. Les taux sanguins de ces différents marqueurs ont une valeur pronostique de la récupération post-opératoire des patients [246-247].

Cet état d'activation de l'inflammation par la chirurgie et par la CEC est également un facteur de risque de survenue de complications neurologiques en post-opératoire de chirurgie cardiaque. En effet, la protéine S100 $\beta$ , libérée par le cerveau, est un marqueur de lésion cérébrale reconnu. Lors d'une CEC, son taux sanguin augmente significativement [248-249]. Ces éléments ont conduits depuis de nombreuses années à l'idée, selon laquelle, diminuer l'inflammation induite par la CEC, c'est-à-dire améliorer la protection systémique est aussi un moyen d'améliorer la protection myocardique et la protection cérébrale. Dans le cadre de la limitation de la réponse inflammatoire systémique, nous avons voulu vérifier l'hypothèse selon laquelle les bons résultats obtenus avec l'EPO dans le modèle expérimental d'arrêt cardiaque pouvaient être liés

en partie aux propriétés anti-inflammatoire de l'EPO. Nous avons donc émis l'hypothèse que la cardioprotection induite par l'administration d'EPO-rh, observée chez l'animal, pourrait être transférable à l'homme dans ce contexte.

## **5-1 Matériel et méthode**

Il s'agit d'une étude monocentrique, randomisée, en double aveugle respectant l'ensemble des recommandations Françaises et Internationales sur la recherche clinique. Cette étude a été approuvée par un comité d'éthique indépendant (Comité de protection des personnes, Grenoble, France). Un consentement éclairé par écrit a été obtenu pour tous les patients inclus dans l'étude.

### **5-1-1 Les patients**

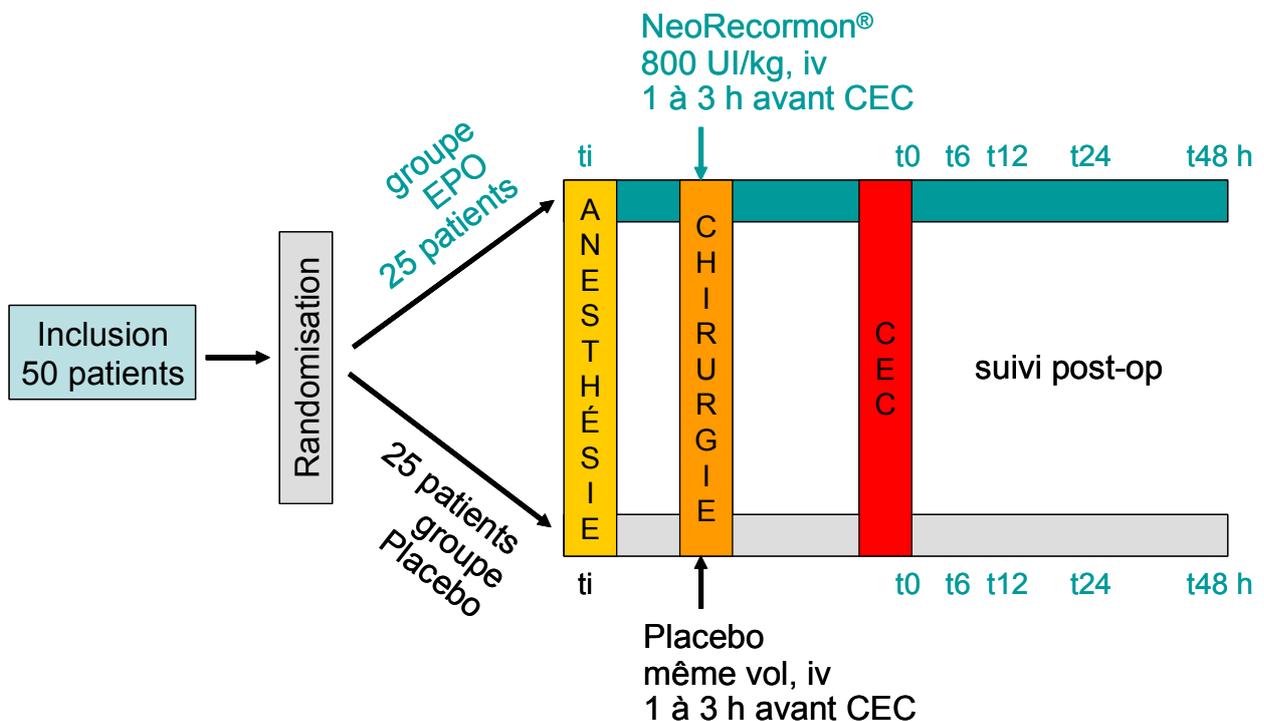
Les critères d'inclusion sont : patients âgés de plus de 18 ans et de moins de 80 ans dont la fraction d'éjection pré opératoire est supérieure à 40% et devant bénéficier d'une chirurgie programmée de pontage aorto-coronaire. Les critères d'exclusion sont : chirurgie coronaire en urgence, chirurgie valvulaire ou carotidienne associée au pontage aorto-coronaire, chirurgie à cœur battant, antécédent de chirurgie cardiaque, antécédent de cancer, infarctus de moins de 1 mois, hypertension non équilibrée, insuffisance rénale avec créatinine supérieure à 200  $\mu\text{mol. L}^{-1}$ , grossesse, allergie connue à l'érythropoïétine.

### **5-1-2 Le traitement**

Les patients sont randomisés de manière électronique pour recevoir soit de l'EPO, soit du placebo. La liste de randomisation est préparée par un statisticien indépendant. La

préparation de l'EPO et du placebo est réalisée par un pharmacien indépendant. Les investigateurs de l'étude et les intervenants médicaux et paramédicaux n'ont pas connaissance du produit administré. Les patients randomisés dans le groupe EPO reçoivent 800 UI. Kg<sup>-1</sup> d'époïétine beta (NeoRecormon®, Laboratoire Roche®, France) administrée par voie intraveineuse lente sur 30 minutes 1 à 3 heures avant le début de l'assistance circulatoire, au moment de l'induction anesthésique après avoir réalisé les prélèvements sanguins. La dose administrée d'EPO correspond à la dose maximale administrable en une seule injection chez l'homme. Le choix du moment de l'administration repose sur de précédentes études expérimentales où il apparaît que le moment optimal de l'administration de l'EPO se situe 1h avant la phase ischémique.

Figure 17 : Schéma expérimental de l'étude



### 5-1-3 Procédure pré, per et post -opératoire

Tous les patients reçoivent par voie orale une prémédication par 100 mg d'hydroxyzine (Atarax ®) 60 à 90 minutes avant l'induction anesthésique. Le monitoring du patient est un monitoring conventionnel pour la chirurgie cardiaque : ECG 12 dérives, SaO<sub>2</sub>, pression artérielle invasive, monitoring en continu du débit cardiaque par sonde de Swan Ganz, monitoring de la profondeur d'anesthésie par bispectral index, monitoring des gaz expirés. Le protocole d'anesthésie associe la perfusion de Propofol et de Rémifentanyl à objectif de concentration (AIVOC) pour l'induction et l'entretien de l'anesthésie. La curarisation est obtenue par l'injection intraveineuse d'Atracurium Les patients sont ventilés mécaniquement avec un mélange air/oxygène, les paramètres ventilatoires sont réglés dans le but d'obtenir une ETCO<sub>2</sub> entre 28 et 35 mmHg. Les patients randomisés dans le groupe EPO reçoivent 800 UI. Kg<sup>-1</sup> d'EPO par voie intraveineuse lente sur 30 minutes au moment de l'induction anesthésique. Les patients randomisés dans le groupe placebo reçoivent du sérum physiologique sur la même durée d'administration. La chirurgie aorto-coronaire est effectuée par le même opérateur pour l'ensemble des patients de l'étude selon la procédure chirurgicale en vigueur dans le service. A la fin de l'intervention, les patients sont transférés en réanimation cardiovasculaire sous sédation et ventilation mécanique. Ils sont réveillés et extubés entre 2 et 4 heures après la chirurgie et sont surveillés jusqu'au deuxième jour post opératoire.

### 5-1-4 Les objectifs de l'étude

L'objectif principal de l'étude est observer l'effet de l'administration d'érythropoïétine sur différents marqueurs sanguins de lésions ischémiques cardiaques induites par une

CEC avec comme critère de jugement principal l'aire sous la courbe et le taux sanguin maximal après la CEC de la troponine T, du NT-ProBNP et de la CK-MB. Les objectifs secondaires sont d'observer l'effet de l'administration d'érythropoïétine sur un marqueur sanguin de lésions ischémiques cérébrales et sur les paramètres de l'inflammation induite par la CEC. Les critères de jugements secondaires sont : l'aire sous la courbe et taux sanguin maximal après la CEC de la protéine S100 $\beta$ , le taux sanguin d'EPO lors de l'anesthésie et 6 h après la fin de la CEC, le taux sanguins de cytokines inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  et IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10) mesurés lors de l'anesthésie et 6 h après la fin de la CEC ainsi que l'hématocrite mesuré à chaque prélèvement. D'autres paramètres ont également été notés : mortalité hospitalière, saignement post-opératoire, nécessité de ré-intervention chirurgicale dans les quinze premiers jours post-opératoire, la nécessité d'administré un support pharmacologique inotrope positif dans les 48 heures suivant la chirurgie.

#### 5-1-5 Les prélèvements biologiques

Les prélèvements sanguins pour les dosages de Troponine T, NT-proBNP, CK-MB et de la protéine S100 $\beta$  sont réalisés lors de l'induction de l'anesthésie (Ti) avant administration de l'EPO ou du placebo, juste à la fin de la circulation extra-corporelle (T0) et 6h (T6), 12h (T12), 24h (T24) et 48h (T48) après la fin de la CEC. Le taux sanguin de la troponine T est mesuré par une méthode immunologique d'électrochimiluminescence, le taux sanguin du NT-ProBNP est mesuré par une méthode immunologique d'électrochimiluminescence, le taux sanguin créatine kinase MB sera mesuré par une technique UV immunologique, le taux sanguin de la protéine S100 $\beta$  est mesuré par une technique immunoradiométrique (RIA).

Les prélèvements pour les mesures de l'EPO et des paramètres de l'inflammation sont réalisés au moment de l'induction (Ti) et 6 heures après la fin de la CEC (T6). Le taux sanguin d'EPO est mesuré par une technique ELISA, le taux sanguin de TNF- $\alpha$ , d'IL-1 $\alpha$  et d'IL-1 $\beta$ , d'IL-6 et d'IL-10 seront mesurés par une technique ELISA. Toutes les mesures ont été réalisées par des kits des Laboratoires Roche®. L'hématocrite est mesuré par une technique calculée.

#### 5-1-6 Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel SAS® (version 8.2). Les tests statistiques utilisés sont une analyse de variance pour les variables quantitatives répétées et un test de Chi-2 ou un test de Fisher les variables qualitatives. Une différence est considérée comme significative si la valeur de p est inférieure à 0,05. Les résultats sont présentés en moyenne  $\pm$  déviation standard.

### **5-2 Résultats**

Cinquante patients ont été randomisés dans cette étude (25 dans le groupe EPO, 25 dans le groupe contrôle) entre le mois d'Avril 2007 et Juillet 2009. Un patient du groupe EPO n'a reçu que 80 UI.Kg<sup>-1</sup> (à la suite d'une erreur de calcul) mais n'a pas été exclu de l'étude compte tenu de l'inclusion en intention de traiter. Pour un autre patient l'intervention a été compliquée d'une embolie gazeuse au niveau d'un pontage saphène avec des modifications électrocardiographiques transitoires et une élévation anormale de troponine. Pour ces deux patients, appartenant au groupe EPO, les données post opératoire n'étaient pas complètes mais leur évolution a été normale. Les données pré opératoires étaient complètes pour les 25 patients de chaque groupe mais les données

per et post opératoire ne l'étaient que pour 23 patients dans le groupe EPO mais pour la totalité des patients dans le groupe placebo.

#### 5-2-1 Caractéristiques des patients

Il n'y avait pas de différence significative démographique entre les patients des deux groupes. L'EuroSCORE (European System for Cardiac Operative Risk Evaluation) était identique dans les deux groupes. La seule différence retrouvée était le nombre de pontages aorto-coronaires effectués dans chaque groupe. Plus de patients bénéficiaient d'un triple pontage dans le groupe EPO versus un double pontage dans le groupe contrôle (cf tableau 9). La durée du clampage aortique était équivalente dans les deux groupes. La durée de la ventilation mécanique post opératoire ainsi que la durée d'hospitalisation étaient comparable dans les deux groupes. Le nombre de patients présentant un ou plusieurs épisodes de fibrillation auriculaire post opératoire était différent mais de manière non significative (4/25 dans le groupe contrôle ; 3/23 dans le groupe EPO). Aucun patient n'est décédé durant l'étude.

Tableau 9 : Caractéristiques des patients

	Groupe contrôle (n=25)	Groupe EPO (n=25)	P value
<b>Données pré-opératoires</b>			
Sexe (M/F)	24/1	24/1	
Age (y)	61 ± 7	65 ± 8	0.13
Poids (kg)	80 ± 11	76 ± 10	0.18
Fraction d'éjection (%)	61 ± 9	64 ± 11	0.34
EuroSCORE (median/range)	1.8 ± 1.9 2 (0-8)	2.6 ± 2.0 3 (0-8)	0.19
Hypertension n (%)	17 (68%)	16 (64%)	0.77
Diabète n (%)	8 (32%)	7 (28%)	0.76
Artérite périphérique n (%)	4 (16%)	5 (20%)	0.71
Nombre de coronaires atteintes			0.03
Bitronculaire n (%)	8 (32%)	2 (8%)	
Tritronculaire n (%)	17 (68%)	23 (96%)	
Traitement pré-opératoire n (%)			
IEC n (%)	15 (60%)	11 (44%)	0.40
Beta-bloquant n (%)	19 (76%)	23 (92%)	0.25
Statine n (%)	22 (88%)	23 (92%)	1.00
Insuline n (%)	3 (12%)	3 (12%)	1.00
Anti-agrégant plaquettaire n (%)	25 (100%)	25 (100%)	1.00
<b>Données per-opératoires</b>			
	(n=25)	(n=23)	
Temps de CEC (min)	70 ± 22	72 ± 15	0.70
Temps de clampage aortique (min)	45 ± 14	49 ± 10	0.31
Température minimale durant CEC (°C)	33.0 ± 1.3	32.6 ± 1.0	0.24
Nombre de pontages (median/range)	3.4 ± 1.1 3 (2-6)	3.7 ± 0.6 4 (3-5)	0.26
<b>Données post-opératoires</b>			
	(n=25)	(n=23)	
Durée de ventilation mécanique (h)	3.6 ± 1.3	4.0 ± 1.1	0.26
Durée de séjour en réanimation (d)	1.4 ± 0.8	1.4 ± 0.8	0.84
Durée d'hospitalisation (d)	10.5 ± 4.9	9.0 ± 3.4	0.22
Drogues inotropes per opératoire	6 (24%)	4 (17%)	0.57
Drogues inotropes post opératoire	5 (20%)	4 (17%)	0.82
AC/FA post opératoire	4 (16%)	3 (13%)	0.77

IEC: inhibiteur enzyme de conversion, CEC: circulation extra-corporelle; EuroSCORE, European System for Cardiac Operative Risk Evaluation; Les résultats sont exprimés en moyenne moyenne ± écart type ou en pourcentage (%).

### 5-2-2 Données initiales

Les paramètres biologiques mesurés au moment de l'induction, avant l'administration du traitement et avant le début de la circulation extra corporelle sont représentés dans les tableaux 8 et 9. Les valeurs de base de Troponine T, NT- pro BNP, CK-MB, protéine S100 $\beta$  (tableau 10) et les valeurs de base des cytokines inflammatoires (tableau 9) ne sont pas significativement différentes entre les deux groupes. Les paramètres hématologiques (EPO endogène, hémoglobine et hématicrite) ne sont pas différents entre les deux groupes au temps initial (Ti).

### 5-2-3 Marqueurs de l'ischémie

Comme le montre la figure 18, la concentration plasmatique des marqueurs de l'ischémie myocardique (Troponine T, NT-proBNP, CK-MB) et la concentration plasmatique d'un des marqueurs de l'ischémie cérébrale (protéine S100 $\beta$ ) sont considérablement augmentés après circulation extra-corporelle comparativement aux valeurs initiales. L'EPO administrée 1 à 3 heures avant le début de la circulation extra corporelle ne permet pas de prévenir l'augmentation des marqueurs de l'ischémie myocardique ou cérébrale.

La valeur de Troponine T observée à T6 (6<sup>ème</sup> heure post CEC) était non significativement différente entre les deux groupes ( $0,59 \pm 0,54 \mu\text{g. L}^{-1}$  dans le groupe EPO versus  $0,41 \pm 0,45 \mu\text{g. L}^{-1}$  dans le groupe contrôle,  $p=0,21$ ). L'aire sous la courbe (entre T0 et T48) de la Troponine T n'était pas significativement différente entre les deux groupes ( $15,3 \pm 8,0 \text{ h.}\mu\text{g. L}^{-1}$  dans le groupe EPO versus  $11,7 \pm 6,6 \text{ h.}\mu\text{g. L}^{-1}$  dans le groupe contrôle,  $p=0,11$ ) (figure 18 A). La concentration maximale de NT-proBNP observée à T48 ne montre pas de différence significative entre les deux groupes (2506

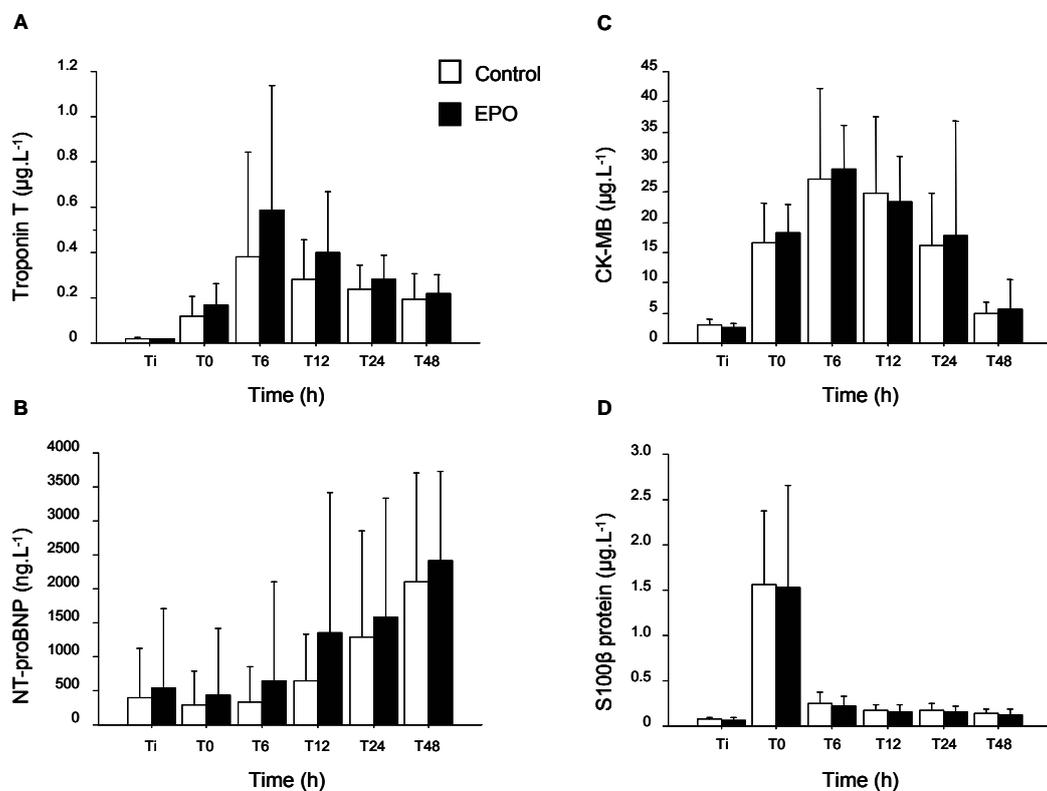
$\pm 1918 \text{ ng.L}^{-1}$  dans le groupe EPO versus  $2033 \pm 1599 \text{ ng.L}^{-1}$  dans le groupe contrôle,  $p = 0,37$ ) (figure 18B).

**Tableau 10** : Marqueurs de l'ischémie à l'état basal avant circulation extra-corporelle

	<b>Groupe contrôle (n=25)</b>	<b>Groupe EPO (n=23)</b>	<b>P value</b>
troponine T ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	$0.01 \pm 0.01$	$0.01 \pm 0.00$	0.34
NT-proBNP ( $\text{ng.L}^{-1}$ )	$378 \pm 701$	$512 \pm 1125$	0.62
CK-MB ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	$2.9 \pm 1.0$	$2.6 \pm 0.6$	0.18
S100 $\beta$ protein ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	$0.07 \pm 0.02$	$0.08 \pm 0.02$	0.45

NT-proBNP: N-terminal pro-brain natriuretic peptide; CK-MB, creatine kinase MB isoenzyme. Résultats exprimés en moyenne  $\pm$  écart type.

**Figure 18** : Evolution des concentrations plasmatiques après circulation extra-corporelle de la Troponine T, du NT-proBNP, des CK-MB et de la protéine S100 $\beta$



De la même manière, le traitement par l'EPO ne modifie ni la concentration maximale de CK-MB à T6 ( $31,8 \pm 14,9 \mu\text{g. L}^{-1}$  dans le groupe EPO versus  $29,4 \pm 14,9 \mu\text{g. L}^{-1}$  dans le groupe contrôle,  $p=0,58$ ) ni l'aire sous la courbe de CK-MB (de T0 à T48) ( $829 \pm 456 \text{ h.}\mu\text{g. L}^{-1}$  dans le groupe EPO versus  $786 \pm 330 \text{ h.}\mu\text{g. L}^{-1}$  dans le groupe contrôle,  $p=0,72$ ) (figure 18C). Enfin, la concentration maximale de la protéine S100 $\beta$ , observée immédiatement à la fin de la CEC (T0) n'est pas significativement différente dans les deux groupes ( $1,77 \pm 1,26 \mu\text{g. L}^{-1}$  dans le groupe EPO versus  $1,50 \pm 0,82 \mu\text{g. L}^{-1}$  dans le groupe contrôle,  $p=0,37$ ). L'aire sous la courbe (entre T0 et T48) de la protéine S100 $\beta$  n'est pas non plus significativement différente entre les deux groupes ( $9,7 \pm 4,5 \text{ h.}\mu\text{g. L}^{-1}$  dans le groupe EPO versus  $10,6 \pm 3,5 \text{ h.}\mu\text{g. L}^{-1}$  dans le groupe contrôle,  $p=0,42$ ) (figure 18D).

#### 5-2-4 Les marqueurs de l'inflammation

Six heures après la fin de la circulation extra corporelle, la concentration sanguine de TNF- $\alpha$  n'est pas significativement différente dans les deux groupes de la valeur initiale (Ti) (Tableau 9). Par, à T6, le taux sanguin d'IL-6 et d'IL-10 est beaucoup plus élevé que sa valeur de base au temps Ti. Le traitement par l'EPO ne modifie pas les taux d'IL-6 et d'IL-10 induit par la chirurgie cardiaque sous CEC (tableau 11).

#### 5-2-5 Les complications post-opératoires

Les complications post opératoires n'ont pas été différentes entre les deux groupes de patients. La mortalité durant l'hospitalisation, le volume du saignement post opératoire, le nombre de ré-intervention dans les 15 jours qui ont suivi le geste opératoire initial et

la nécessité de recourir à un support inotrope positif dans les 48 heures suivant l'intervention ont été identiques dans les deux groupes de patients.

**Tableau 11.** Paramètres hématologiques et inflammatoires mesurés avant et 6 heures après la fin de la Circulation Extra-Corporelle

Groupe (n)	Contrôle (n=25)	EPO (n=23)	Contrôle (n=25)	EPO (n=23)
	Valeurs de base		Valeurs à H6	
TNF- $\alpha$ (ng.L <sup>-1</sup> )	12.1 $\pm$ 3.6	14.5 $\pm$ 6.4	12.7 $\pm$ 4.5	19.9 $\pm$ 17.3
IL-6 (ng.L <sup>-1</sup> )	15.0 $\pm$ 7.8	15.3 $\pm$ 6.2	198.6 $\pm$ 89.7*	239.3 $\pm$ 163.9*
IL-10 (ng.L <sup>-1</sup> )	16.8 $\pm$ 10.1	19.9 $\pm$ 14.0	29.7 $\pm$ 14.4*	30.2 $\pm$ 18.0*
EPO (mIU.mL <sup>-1</sup> )	8 $\pm$ 4	7 $\pm$ 3	21 $\pm$ 17*	4945 $\pm$ 1567* <sup>s</sup>

T6: 6 heures près la fin de la CEC; TNF- $\alpha$ , tumor necrosis factor-alpha; IL-6, interleukin 6; IL-10, interleukin 10. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type. \*  $p < 0.05$  vs valeur de base du même groupe. <sup>s</sup>  $p < 0.05$  vs groupe contrôle au même temps.

### 5-3 Discussion de l'étude

Malgré les nombreux travaux expérimentaux démontrant l'efficacité de l'EPO sur les phénomènes d'ischémie reperfusion seulement quelques études se sont intéressées aux effets de l'EPO chez l'homme. Ehrenreich et al [228] ont été les premiers à montrer l'effet neuroprotecteur de l'EPO chez des patients victimes d'un accident cérébral ischémique. Ils ont observé une amélioration de l'état neurologique à J30, une diminution de la taille de l'infarctus cérébral et une diminution de la taux de protéine S100 $\beta$  chez les patients traités précocement par 33 000 UI d'EPO par jour pendant 3 jours après l'accident vasculaire cérébral. Dans notre travail, l'administration de 800 UI.kg<sup>-1</sup> d'EPO dans l'heure précédant le début de l'assistance circulatoire n' a pas permis de montrer une protection contre la réponse inflammatoire et les désordres ischémiques cérébraux et myocardiques induits par la circulation extra-corporelle au

cours d'une chirurgie de pontage aorto-coronaire. Ces résultats décevants peuvent avoir plusieurs explications :

- 1- La première est probablement le faible nombre de patients inclus dans l'étude. En effet, alors que l'incidence des complications neurologiques de type 2 (perturbations neuropsychologiques) peut atteindre jusqu'à 53% à la sortie de l'hôpital et 42% après 5 ans de suivi, [250], l'incidence des complications neurologiques graves de type 1 (accidents vasculaires cérébraux constitués, accidents ischémiques transitoires, coma) est comprise entre 1 et 2% dans la chirurgie de revascularisation myocardique sous circulation extra-corporelle lorsqu'elle n'est pas associée à une chirurgie d'endartériectomie carotidienne [251]. L'effectif de notre étude paraît donc trop faible pour pouvoir démontrer une efficacité de protection cérébrale de l'EPO dans ce contexte de chirurgie cardiaque.
- 2- La deuxième explication pourrait être l'absence de protection tissulaire de l'EPO dans la situation particulière d'ischémie reperfusion induite par la circulation extra-corporelle. Des résultats similaires ont été retrouvés dans une autre étude où une seule dose pré-opératoire de 40 000 UI d'EPO était administrée. Dans cette étude la troponine I et les CPK – MB n'étaient pas modifiés dans le groupe EPO [252]. Dans une autre étude, l'administration de deux doses de 500 UI.Kg<sup>-1</sup> 12 à 18 heures avant l'intervention et au moment de l'induction anesthésique n'a pas non plus permis de réduire la réponse inflammatoire engendrée par la circulation extra-corporelle lors de la chirurgie cardiaque [253].
- 3- Une autre explication réside peut être dans la dose et/ou le moment choisis pour l'injection de l'EPO qui ne sont peut être pas optimaux. En effet, même si les

études chez le rongeur suggèrent que le pré-traitement par l'EPO quelques minutes à quelques heures avant la phase d'ischémie est suffisant pour obtenir des effets protecteurs, les conditions pharmacocinétiques chez l'homme sont inconnues. De plus, les doses administrées chez le rongeur sont très supérieures à celles injectées chez l'homme, de l'ordre de 1000 à 5000 UI.kg<sup>-1</sup> [254]. Chez la souris, l'administration intra-péritonéale de 5000 UI.kg<sup>-1</sup> d'EPO permet d'obtenir après 4H un pic plasmatique de 25 000 mUI.mL<sup>-1</sup> avec un retour aux valeurs de bases en 20 à 30 heures [213]. Il est à noter qu'à la dose de 800 UI.kg<sup>-1</sup> d'EPO utilisée dans notre étude, le pic de concentration plasmatique obtenu était de 5000 mUI.mL<sup>-1</sup> sans aucun effet secondaire sur le plan hématologique. Il est possible que cette dose soit insuffisante pour induire une protection tissulaire contre les répercussions cellulaires induites par l'ischémie reperfusion lors de la circulation extra-corporelle. En effet, dans une autre étude, les auteurs ont obtenus avec des doses supérieures d'EPO (1500 UI.kg<sup>-1</sup>) une neuroprotection en post- chirurgie cardiaque avec une diminution des séquelles cognitives à 2 mois sans effets secondaires hématologiques [255].

- 4- Enfin, une dernière explication l'absence d'effet de l'EPO en terme de protection myocardique pourrait être liée à l'efficacité des autres techniques de protection myocardique (la qualité de la cardioplégie par exemple) comme en témoigne la faible augmentation des enzymes cardiaques dans les deux groupes.

#### **5-4 Conclusion de l'étude**

Dans cette étude, l'administration d'EPO avant le début de la chirurgie cardiaque n'a pas permis de diminuer les effets néfastes induits par l'ischémie reperfusion au cours

de la circulation extra-corporelle. D'autres études avec un collectif de patients plus important, avec des doses probablement plus élevées d'EPO seront nécessaire pour montrer d'une part une amélioration de la récupération neurologique et cardiaque et d'autre part pour réduire l'inflammation induite par la circulation extra corporelle.

## **6. l'EPO et arrêt cardiaque chez l'homme**

Nous avons vu que plusieurs études suggèrent un effet cardioprotecteur et un effet neuroprotecteur de l'EPO après souffrance cellulaire neuronale ou myocardique après des épisodes d'ischémie reperfusion. Dans l'étude expérimentale que nous avons menée, les résultats concernant l'augmentation de la survie chez les animaux et ceux concernant les modifications des caractéristiques de la réanimation sont encourageants. Chez l'homme, la seule étude réalisée jusqu'à maintenant avec administration d'EPO concernait le devenir de patients qui avait présenté un accident vasculaire ischémique [228] mais aucune tentative de traitement par l'EPO n'avait été réalisée chez l'homme dans un contexte d'arrêt cardiaque. Depuis 2008, deux études cliniques ont été publiées. La première étude a été publiée par une équipe Française [256]. Cariou et al ont étudié les effets de l'EPO-alpha en association avec une hypothermie modérée chez des patients présentant un coma dans les suites d'un arrêt cardiaque récupéré. Les critères d'inclusions dans cette étude était relativement strict : âge compris entre 18 et 75 ans, arrêt cardiaque présumé d'origine cardiaque devant témoin, période de « no flow » inférieure à 10 minutes, période de « low flow » inférieure à 50 minutes et un score de Glasgow inférieur à 7 après la récupération d'une activité circulatoire spontanée. Les patients inclus dans l'étude reçoivent la première dose d'Epo-alpha (40 000 UI) le plus précocement possible lorsque l'état hémodynamique des patients semble stabilisé. Ils

reçoivent une nouvelle dose d'EPO toutes les 12h pendant 48 heures. Les auteurs se sont intéressés au devenir des patients pendant 28 jours et aux effets secondaires potentiels de l'EPO durant cette période. La population étudiée est comparée à une population témoin appariée par paire sur les facteurs influençant le pronostic de ces patients (âge, durée de la réanimation initiale, trouble du rythme cardiaque initial, nombre de chocs électriques externes, dose totale d'adrénaline reçue pendant la réanimation). Tous les patients bénéficiaient d'une réanimation conventionnelle en post arrêt cardiaque incluant l'utilisation de l'hypothermie thérapeutique. Les résultats portant sur 18 patients inclus comparés à 40 patients appariés montrent un taux de survie à 28 jours supérieur dans le groupe EPO mais sans atteindre la significativité (55% vs 47,5%,  $p=0,17$ ) avec un taux de récupération neurologique complet également plus important dans le groupe EPO que dans le groupe contrôle (55% vs 37, 5%) mais n'atteignant pas non plus la significativité. Les effets secondaires principaux relevés sont une thrombocytose plus fréquemment retrouvée dans le groupe traité par l'EPO-alpha que dans le groupe contrôle (15% vs 5%) sans que cela ne soit significatif. Une thrombose artérielle est par ailleurs diagnostiquée chez un patient ayant reçu de l'EPO. Même si cette étude n'est pas randomisée, les résultats vont dans le même sens que la majorité des études expérimentales et conforte l'impression que nous avons eu lors de notre étude chez l'animal. Aucune hypothèse mécanistique n'est avancée dans cette étude. Une deuxième étude concernant l'utilisation de l'EPO dans l'arrêt cardiaque chez l'homme a également été publiée en 2009 [257]. Les auteurs se sont intéressés aux effets d'une seule dose de 90 000 UI d'époïétine bêta administrée pendant la réanimation cardiopulmonaire, dès la mise en place d'une voie veineuse chez 24 patients en arrêt cardiaque et ont comparé ce groupe, mais sans randomisation, à 30

patients ayant reçu un placebo. Ils ont observés dans le groupe traité par EPO une augmentation de la proportion de patients admis à l'hôpital (92% versus 50%,  $p=0,004$ ), une augmentation du nombre de patients ayant repris une activité circulatoire spontanée (92% versus 53%,  $p=0,006$ ), une augmentation de la survie à la 24<sup>ème</sup> heure et une augmentation de la survie globale hospitalière (54% versus 20%,  $p=0,011$ ). Ces deux études confirment l'impression expérimentale suggérant qu'un traitement précoce par forte dose d'époïétine pourrait améliorer l'évolution neurologique des patients en arrêt cardiaque par comparaison avec une prise en charge habituelle. Cette hypothèse est actuellement en cours d'évaluation dans une étude multicentrique randomisé et contrôlé conduite par l'équipe de A Cariou de l'hôpital cochin. Le critère de jugement principal est le nombre de patients atteignant un niveau 1 sur l'échelle Pittsburg CPC dans chaque groupe à distance de l'arrêt cardiaque. Dans le groupe « traitement », les patients reçoivent, en plus de la prise en charge habituelle, une administration intraveineuse d'une première dose de 40 000 UI d'EPO dès la reprise d'une activité circulatoire spontanée suivie de quatre injection supplémentaire à la même dose au cours des 48 heures suivantes. Les inclusions ont commencé en 2009 et la fin des inclusions est prévue pour 2012. Cette étude qui combine le savoir faire des équipes préhospitalières à celles des réanimations hospitalières devrait apporter une réponse concernant l'efficacité de l'EPO dans l'arrêt cardiaque chez l'homme.

**VI/ Protection tissulaire dans l'arrêt circulatoire : discussion  
et perspective d'avenir**

La recherche expérimentale et clinique pour augmenter les chances de survie d'un arrêt cardiaque qu'il soit hospitalier ou extra-hospitalier doit continuer. Les années qui ont suivi l'avènement du massage cardiaque externe décrit par Kouwenhoven ont été marquées par un grand enthousiasme des équipes hospitalières et pré-hospitalières, par de nombreuses innovations techniques et pharmacologiques mais aussi par des déceptions. En effet, malgré cinquante ans de pratique de réanimation cardio-pulmonaire la survie des patients après arrêt cardiaque reste faible. Depuis 1960, le massage cardiaque externe est apparu comme étant la pierre angulaire de la réanimation cardio-pulmonaire mais aucune technique n'a suffisamment été convaincante pour remplacer de manière définitive le massage cardiaque standard dès l'instant où celui-ci est correctement effectué. Parmi les nouvelles techniques que nous venons de décrire, la compression-décompression active a été la plus étudiée et les études ont montré qu'à partir du moment où un entraînement préalable était assuré, le massage cardiaque par compression-décompression active améliorait les survies à court et moyen terme. Le massage cardiaque par mini-thoracotomie que nous avons initié est resté à l'étape d'étude préliminaire malgré les résultats encourageant faute de moyens financiers. Les dispositifs automatiques récemment apparus qui permettent d'assurer en permanence un massage cardiaque externe efficace sur le plan hémodynamique sont peut être les techniques de massage cardiaque de l'avenir mais ils sont encore en cours d'évaluation. Il est nécessaire de préciser l'impact sur la survie, les complications potentielles et leur place exacte dans la prise en charge de l'arrêt cardiaque. Le massage cardiaque interne reste quant à lui anecdotique réservé à

des situations cliniques particulières et complexes et ne peut être actuellement entrepris que par quelques équipes extra hospitalières sur-spécialisées. Il apparaît évident qu'il n'existe pas une technique unique de massage cardiaque mais des techniques de massage cardiaque, chacune d'entre elle pouvant avoir un bénéfice à un moment précis dans la prise en charge d'un arrêt cardiaque : massage cardiaque standard par les témoins, utilisation de la compression-décompression active par les secouristes, massage cardiaque automatisé pour un transfert de longue durée. Le seul objectif est de maintenir une pression de perfusion coronaire et cérébrale la meilleure possible depuis le début de la prise en charge. Les critères d'évaluation nouvelle technique ou d'un nouveau dispositif de massage cardiaque sont donc clairement définis : amélioration de la pression de perfusion coronaire (conditionne le retour à une circulation spontanée), amélioration de la pression de perfusion cérébrale ( conditionne le devenir neurologique) et enfin survie à la sortie de l'hôpital. Les recherches futures devront impérativement tenir compte de ces paramètres.

Une des grandes avancées de ces dernières années concerne également la réanimation spécialisée en particulier la réanimation post arrêt cardiaque intra hospitalière et là encore les perspectives de recherche sont extrêmement nombreuses. L'ischémie-reperfusion a été identifiée comme étant un phénomène cardinal pour la réanimation des arrêts cardiaques. De nombreuses améliorations thérapeutiques se basent sur la lutte contre ses conséquences. Cette meilleure connaissance des phénomènes d'ischémie-reperfusion a transformé le dernier maillon de la chaîne de survie d'une attitude d'observation à une prise en charge hospitalière active, conditionnant en partie l'évolution du patient à long terme.

Au premier plan de cette prise en charge hospitalière est intervenue l'hypothermie thérapeutique car c'est la première fois qu'un traitement neuroprotecteur démontre son efficacité clinique en post arrêt cardiaque. En conséquence, il est recommandé de maintenir une hypothermie modérée pendant 24 heures après la reprise d'une activité cardiaque spontanée chez les victimes d'arrêt cardiaque par fibrillation ventriculaire. Cette recommandation a été étendue en pratique aux autres types d'arrêt cardiaque quelque soit le rythme initial sans que cela ne soit encore totalement démontré. Malgré l'évidence de cette recommandation, plusieurs questions restent encore en suspend : quel est le mécanisme d'action de l'hypothermie ? Est-il lié à une amélioration de l'ischémie reperfusion ? Quelle est la meilleure technique d'induction de l'hypothermie ? Quel est le meilleur monitoring de la température ? A quel moment doit-on induire l'hypothermie : phase hospitalière ? phase préhospitalière ? Il semble que plusieurs études soit en faveur d'une induction précoce pré hospitalière de l'hypothermie mais faut-il l'induire dès la phase précoce de réanimation préhospitalière où seulement après récupération d'une activité circulatoire spontanée ? Toutes ces questions n'ont encore que des réponses partielles qui devront être complétées. Que penser dans ce contexte de l'EPO ? Simple artifice expérimental où véritable molécule capable d'induire un véritable pré et/ou post-conditionnement ischémique ? Les nombreuses études expérimentales et les quelques études cliniques humaines concernant les potentiels effets cardio et/ou neurprotecteurs de l'EPO doivent nous encourager à poursuivre les recherches sur l'EPO mais également plus globalement sur la cardioprotection anti-ischémique en général. Les voies de recherches sont là

aussi nombreuses. La principale voie de recherche concerne probablement la poursuite des travaux concernant l'analyse des voies de signalisation de survie cellulaire. Aucune n'a encore été étudiée dans l'arrêt cardiaque mais plusieurs directions sont le sujet de recherches intenses comme les cascades de kinases impliquant en particulier PI3K ou Akt, la transition de perméabilité mitochondriale, les canaux  $mK^+ATP$ , les radicaux libres de l'oxygène ou encore les facteurs de croissance. La seconde voie de développement est liée à la mise en évidence d'un phénomène très original, baptisé « postconditionnement ». Alors que le préconditionnement ischémique est induit par la réalisation, avant une ischémie prolongée infarctoïde, d'épisodes brefs d'ischémie-reperfusion, Zhao et al [258] ont eu l'idée de réaliser ces épisodes non pas avant l'ischémie prolongée mais juste après au moment de la reperfusion du myocarde infarci. Ils ont montré que cette manœuvre permet une réduction de taille d'infarctus comparable à celle du préconditionnement et ont attribué cet effet à une limitation de la production de radicaux libres de l'oxygène lors de la phase de reperfusion. Cette observation présente évidemment des implications potentiellement majeures. En effet elle correspond en tout point à des situations cliniques quotidiennes que sont la reperfusion à la phase aiguë de l'infarctus où en post arrêt cardiaque immédiat. C'est précisément le moment où l'on souhaiterait disposer d'une thérapeutique efficace pour limiter les dégâts cellulaires liés à l'ischémie-reperfusion. Aujourd'hui, aucune thérapeutique adjuvante de la reperfusion n'a fait les preuves de son efficacité pour limiter la taille de l'infarctus. Si une intervention pharmacologique de type « postconditionnement » s'avérait être efficace chez l'homme, le bénéfice

clinique potentiel serait majeur. Dans l'arrêt cardiaque ce bénéfice pourrait intéresser aussi bien le tissu cérébral que le tissu cardiaque. Les données de la littérature concernant l'EPO prennent toute leur importance dans ce contexte. L'EPO n'est cependant pas la seule molécule à être prometteuse en matière de post-conditionnement. Alors que Griffiths et al ont montré il y a plusieurs années que le pore de transition de perméabilité, dont le rôle est déterminant dans le passage des lésions cellulaires d'un stade réversible à un stade irréversible, ne s'ouvre pas lors de l'ischémie mais lors de la reperfusion [259], M Ovize et al ont montré que le blocage du pore de transition de perméabilité par l'administration de Ciclosporine A au moment de la reperfusion avait un effet protecteur comparable à celui du préconditionnement [260]. Il reste évidemment beaucoup d'étape à franchir pour réussir à protéger mieux à la fois la cellule cérébrale et la cellule myocardique en post arrêt cardiaque mais ces travaux récents laissent entrevoir de très intéressantes possibilités dans ce domaine. La confirmation clinique du concept de post conditionnement ainsi que la possibilité d'identifier des cibles pharmacologiques de la reperfusion semble aujourd'hui envisageable et permettrait de disposer dans son arsenal thérapeutique d'une protection anti ischémique ce qui permettrait de franchir une étape supplémentaire dans la stratégie de prise en charge de l'arrêt cardiaque.

Il est difficile de parler de la recherche sur l'arrêt cardiaque sans évoquer en quelques lignes l'assistance circulatoire (CEC). Cette technique a été proposée au cours de la réanimation cardio-pulmonaire dès 1976 [261]. L'objectif physiologique de cette assistance cardio-circulatoire est de procurer aux organes vitaux un support circulatoire temporaire pour décharger le cœur en souffrance

jusqu'à la récupération myocardique ou le cas échéant comme un pont vers une alternative thérapeutique telle que la transplantation ou la mise en place d'un cœur artificiel. Les indications de l'assistance circulatoire dans la réanimation de l'arrêt cardiaque réfractaire (défini par l'absence de reprise d'une activité circulatoire spontanée après une période d'au moins 30 minutes de réanimation cardio-pulmonaire médicalisée en normothermie) restent encore à être clairement définies. Les indications sont restées limitées aux arrêts cardiaques hypothermiques [262] et aux arrêts cardiaques survenant dans le contexte de la chirurgie cardi thoracique. Très récemment, des résultats intéressants de l'utilisation de l'assistance circulatoire ont été publiés concernant surtout les arrêts cardiaques d'origine toxique ou cardiaque survenant essentiellement en intrahospitalier [263, 264, 265]. Dans ces études, des survies sans séquelles neurologiques importantes ont été rapportées dans 20% à 30% des cas. L'assistance circulatoire semble également pouvoir être efficace dans l'arrêt cardiaque extra-hospitalier comme l'on montré Nagao et al sur une série prospective de 52 patients [266]. Néanmoins, il est nécessaire de rester prudent car le contexte de l'arrêt cardiaque préhospitalier est évidemment complètement du contexte de l'arrêt cardiaque intra-hospitalier compte tenu de l'incertitude qui peut exister sur les principaux paramètres qui vont conditionner les chances de réussites de la réanimation. Ces paramètres sont :

- la durée de débit cardiaque nul avant la RCP (période de « *no-flow* ») qui est fonction de la présence ou non d'un témoin et du délai entre l'effondrement et la mise en route d'une RCP La durée du « *no-flow* » est évidemment primordiale

car elle va conditionner à la fois la rapidité de reprise d'une activité circulatoire spontanée mais également le pronostic neurologique du patient

- la durée de bas débit cardiaque pendant la RCP (période de « *low-flow* »), ce débit dépendant de manière très importante de la qualité de la réanimation et en particulier de la qualité du massage cardiaque externe. La durée de la période de « *low-flow* » va impacter sur le risque de la souffrance cérébrale et sur la possibilité de la survenue d'un syndrome de défaillance multiviscérale post arrêt cardiaque.

Il est également impératif de tenir compte du délai entre la survenue de l'arrêt cardiaque et le début de l'assistance circulatoire. Dans une étude multicentrique, Hill et al ont rapporté que le délai entre la survenue d'un arrêt cardiaque devant témoins et la CEC d'assistance avait une valeur prédictive modérée en ce qui concerne la mortalité [267]. En revanche Hartz et al ont discuté la légitimité de mettre en place une assistance circulatoire après 30 minutes de RCP [268]. Dans l'étude de Chen [265], il existe une relation inverse entre la durée de *low-flow* et la survie avec moins de 10% de survie au-delà de 100 minutes de RCP, chiffre comparable à la survie sans assistance circulatoire dans cette étude. Actuellement c'est ce délai de 100 minutes de *low-flow* qui a été retenu par le groupe d'expert chargé d'éclaircir les indications de l'assistance circulatoire dans le traitement des arrêts cardiaques réfractaires [269]. Ces recommandations ont été nécessaires pour préciser de manière scientifique les indications de cette thérapeutique d'exception. Elles constituent une base de travail pour la constitution d'essais cliniques et l'élaboration d'un registre qui vont être indispensables pour valider ou non l'intérêt de l'assistance circulatoire dans l'arrêt cardiaque réfractaire et en définir les

indications où les non indications. Il serait en effet dommage que des résultats décevants le soient du fait d'indications mal choisies. De nombreuses questions restent encore en effet en suspens : quelle durée de limite de *no-flow* et de *low-flow* peut-on accepter ? Comment mieux évaluer la qualité du débit cardiaque pendant la période de *low-flow* ? Peut-on s'aider de critères biologiques pour décider de la mise ou non d'un arrêt cardiaque réfractaire en assistance circulatoire comme cela est déjà possible pour les arrêts cardiaques hypothermiques (dosage de la kaliémie) ? L'assistance circulatoire est probablement une technique pertinente lors de la prise en charge de certains types d'arrêts cardiaques réfractaires au traitement conventionnel mais il ne s'agit pas non plus de mettre en assistance tous les arrêts cardiaques pris en charge par les équipes préhospitalières. A contrario, il ne s'agit pas non plus de rejeter cette technique pour des prétextes de coûts importants ou de lourdeur de mise en place. Il est donc impératif de l'évaluer et d'en définir les bonnes indications car elle constituera à l'avenir un apport thérapeutique supplémentaire dans notre arsenal thérapeutique de lutte contre la mort subite.

Enfin, il convient de rappeler que les méthodes les plus efficaces en termes d'amélioration de la survie sont celles qui permettent de réduire la phase de « *no-flow* ». Les avancées de la recherche ont été considérables ces dernières années. Le concept des 4 maillons de la chaîne de survie [270] adopté par l'American Heart Association depuis 1990 qui a permis de décrire les actions nécessaires pour améliorer la survie des arrêts cardiaques par fibrillation ventriculaire à l'extérieur de l'hôpital a considérablement évolué depuis sa description initiale et c'est dans le domaine de l'enseignement de la réalisation de la RCP au grand public que les changements ont été le plus marquant. Quatre idées principales ont été dégagées

pour l'enseignement de la RCP au grand public : la reconnaissance de l'arrêt cardiaque repose sur « l'absence de signes de vie », la ventilation par le bouche à bouche n'est plus nécessaire dans les premières minutes, le massage cardiaque doit être le plus précoce et le plus continu possible le public doit s'impliquer dans la défibrillation en utilisant un défibrillateur automatisé externe. Soixante dix pour cent des morts subites de l'adulte surviennent en fibrillation ventriculaire. Si la réanimation cardiopulmonaire est effectuée par un témoin en moins de quatre minutes et si la défibrillation est délivrée en moins de huit minutes, on peut espérer un taux de survie de 43%. Entre huit et 16 minutes, il n'y a plus que 7% de survivants [271]. Or on ne peut constater qu'aujourd'hui, moins de 5% des Français sont formés à la réanimation cardiopulmonaire de base. Or les premiers instants s'adressent à chacun d'entre nous. Les efforts doivent donc être amplifiés pour former le plus de personnes aux gestes qui sauvent et sur la notion de la chaîne de survie. La défibrillation précoce est de tous les maillons celui qui est le plus efficace pour améliorer la survie, l'idéal étant de délivrer le choc électrique sans délai et à défaut dans les trois minutes qui suivent l'effondrement [272]. A contrario, lorsque le délai entre l'effondrement et la possibilité de défibrillation est supérieure à 4 minutes, deux à trois minutes de RCP avant la défibrillation augmente la probabilité de retour à un rythme sinusal et la survie [273,274]. La défibrillation automatisée externe (DAE) par les témoins de l'arrêt cardiaque réduit encore le temps d'intervention et améliore le pronostic des arrêts cardiaques. Le développement de cette stratégie s'est déjà montré efficace dans de nombreux pays. Aux USA, la formation d'intervenants de proximité a permis de réduire les délais de défibrillation dans les avions, les gares, les casinos et l'implantation des défibrillateurs « en libre

service » est très développée. En France, le décret n°2007-705 du 4 mai 2007 autorise l'utilisation de la DAE par le public sans aucune restriction [275]. Ceci constitue une avancée considérable dans la lutte contre la mort subite. Le Conseil Français de Réanimation Cardiopulmonaire (CFRC) a émis des recommandations pour intégrer le DEA au sein de la chaîne des secours et des soins [276]. Les implantations de DAE dans les villes sont en cours. Reste le challenge que constitue la formation du public. Malgré toutes les campagnes d'information, lorsque l'on pose la question de la conduite à tenir en cas d'arrêt cardiaque dans une enquête téléphonique en 2010 sur un échantillon de 1007 personnes de 15 ans et plus, représentatif de la population française 97% des personnes interrogées citent l'alerte, 50% évoquent le massage cardiaque et seulement 23% la défibrillation précoce. Ces chiffres sont nettement en progrès par rapport à une enquête effectuée en 2007 où seulement 30% des français interrogés étaient conscients de l'intérêt du massage cardiaque et où seulement 1% évoquait la défibrillation. Le CFRC recommande qu'un apprentissage rapide de l'utilisation du matériel et de la réanimation cardiopulmonaire soit proposé à la population sous la forme de campagnes d'information, de formation. Il est maintenant admis qu'une formation très courte (inférieure à 1h) suffit pour utiliser un défibrillateur automatisé externe. Le CFRC recommande que la formation minimale destinée au public pour utiliser un défibrillateur automatisé externe se résume à 3 actions : donner l'alerte aux secours organisés par le 15, réaliser le massage cardiaque externe, brancher le défibrillateur et suivre les instructions de l'appareil jusqu'à l'arrivée des secours. Ce programme de DAE par le public doit s'accompagner d'une évaluation des résultats.

**L'avenir de la réanimation de l'arrêt cardiaque tient dans la formation du**

**public.** C'est seulement lorsque les premiers maillons de la chaîne de survie seront optimisés que le dernier, actuellement le plus performant en France pourra pleinement s'exprimer.

## **VII Annexes**



## Prehospital use of minimally invasive direct cardiac massage (MID-CM): a pilot study<sup>☆</sup>

Alain Rozenberg<sup>a,\*</sup>, Pascal Incagnoli<sup>a</sup>, Philippe Delpech<sup>a</sup>, Christian Spaulding<sup>b</sup>,  
Benoit Vivien<sup>c</sup>, Karl B. Kern<sup>d</sup>, Pierre Carli<sup>a</sup>

<sup>a</sup> SAMU de PARIS and Department of Anesthesiology, Necker-Enfants Malades Hospital, 149 rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France

<sup>b</sup> Department of Cardiology, Cochin Hospital, 27 rue du Faubourg-Saint Jacques, 75674 Paris Cedex 14, France

<sup>c</sup> Department of Anesthesiology, Pitié-Salpêtrière Hospital, 47-83 boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13, France

<sup>d</sup> University of Arizona Sarver Heart Center, University of Arizona College of Medicine, Tucson AZ 85724, USA

Accepted 29 March 2001

### Abstract

**Background:** Internal cardiac compressions are more efficient than closed chest compressions (CCC) in cardiac arrest (CA). **Aim of the study:** To evaluate the prehospital feasibility of performing a new method of minimally invasive direct cardiac massage (MID-CM<sup>®</sup> TheraCardia Inc.). **Methods:** Prospective non-randomized open study, after ethical committee approval. Inclusion of 18–85 years old patients in witnessed CA if BLS > 5 min and unsuccessful ACLS > 20 min after CA. The MID-CM is an atraumatic manual cardiac pumping system deployed in the thoracic cavity through a small incision. Evaluation of: ease of insertion and performing MID-CM, complications, end-tidal CO<sub>2</sub> (PETCO<sub>2</sub>), non invasive arterial blood pressure (NIBP) and return of spontaneous circulation (ROSC). Values are mean ± SD (min–max). **Results:** Twenty-five patients included. Mean age 59 ± 16 years (26–85); BLS started at 8 ± 5 min (0–20), compressions started at 47 ± 10 min (29–74) after CA. Dissection and insertion was fast and easy (< 1 min). Deployment of the MID-CM was difficult in two patients because of pericardium adhesions and cardiomegaly. In six patients compressions were more difficult because of a 'stone heart' phenomenon. Compressions were possible during ambulance transport of four patients. There was a good palpable carotid pulse in all patients receiving internal compressions. There was a trend in increase of PETCO<sub>2</sub> compared to CCC. NIBP could be measured during MID-CM compressions in 9 patients (systolic > 85 mmHg), never during CCC. Seven patients had a ROSC, but only four patients were admitted alive. There was no long term survival. One patient had a serious complication (heart rupture). **Discussion:** Prehospital use of MID-CM is possible, but it is not comparable to any other resuscitation technique. Training of medical teams is mandatory to obtain good skills and to avoid complications. Further studies are necessary to evaluate efficiency and survival compared to closed chest compressions. © 2001 Elsevier Science Ireland Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** Adult; Advanced life support; Cardiopulmonary resuscitation; Open-chest cardiac compression; Out-of-hospital cardiopulmonary resuscitation

### Resumo

**Pressuposto:** A massagem cardíaca interna é mais eficaz do que a compressão torácica externa em contexto de paragem cardíaca (PC). **Objectivo do estudo:** Avaliar a exequibilidade de um novo método de massagem cardíaca directa minimamente invasiva (MID-CM<sup>®</sup> TheraCardia Inc.). **Métodos:** Ensaio prospectivo aberto não randomizado, após aprovação pelo comité de ética. Inclusão de doentes com idades entre os 18 e 85 anos, vítimas de paragem cardíaca presenciada se o SBV durante mais de 5 minutos e o SAV durante mais de 20 minutos após paragem cardíaca fossem ineficazes. O MID-CM é um sistema manual e atraumático para massagem cardíaca que se introduz dentro do tórax por uma pequena incisão. Foi avaliada a facilidade de

**Abbreviations:** ALS: advanced life support; ACLS: advanced cardiac life support; BLS: basic life support; OCCM: open chest cardiac massage; MID-CM: minimally invasive direct cardiac massage; ROSC: return of spontaneous circulation; CPR: cardiopulmonary resuscitation; ET/CO<sub>2</sub>: end tidal CO<sub>2</sub>; TEE: transoesophageal echography.

<sup>☆</sup> Presented in part at Resuscitation 2000, 5th scientific meeting of the ERC, Antwerp Belgium, June 1–3, 2000

\* Corresponding author. Tel.: + 33-1-44492453; fax: + 33-1-44492325.

E-mail address: arozenberg.samu@invivo.edu (A. Rozenberg).

introdução e desempenho com o MID-CM, as complicações, o CO<sub>2</sub> tele-expiratório, a pressão arterial não invasiva e o retorno da circulação espontânea. Os valores apresentados são as médias  $\pm$  SD (min–max). **Resultados:** foram incluídos vinte e cinco doentes. A idade média era de  $59 \pm 16$  anos (26–85); o SBV foi iniciado aos  $8 \pm 5$  minutos (0–20), a compressão iniciou-se aos  $47 \pm 10$  min (29–74) após PC. A dissecação e inserção foi fácil e rápida ( $< 1$  min). A colocação do MID-CM foi difícil em dois casos por cardiomegalia e aderências pericárdicas. Em seis dos doentes as compressões foram mais difíceis pela ocorrência do fenómeno do “coração em pedra”. As compressões puderam ser feitas durante o transporte de ambulância em quatro doentes. O pulso carotídeo era bom e palpável em todos os doentes em massagem cardíaca interna. Verificou-se um tendência para que o CO<sub>2</sub> tele-expiratório fosse mais elevado do que nos doentes que fizeram compressões torácicas externas. Em nove dos doentes com MID-CM foi possível medir a pressão arterial não invasiva (sistólica  $> 85$  mmHg), o que nunca aconteceu nos doentes em compressões torácicas externas. Sete doentes recuperaram circulação espontânea mas só quatro foram hospitalizados vivos. Não houve sobrevida a longo prazo. Um dos doentes teve sérias complicações cardíacas (rotura do miocárdio). **Discussão:** a utilização do MID-CM em ambiente pré hospitalar é possível, mas não é comparável a nenhuma das outras técnicas de reanimação. Para obter bons resultados e minorar as complicações é mandatório o treino das equipas médicas. São necessário mais estudos para avaliar a eficácia e a sobrevida em comparação com a compressão torácica externa. © 2001 Elsevier Science Ireland Ltd. All rights reserved.

**Palavras chave:** Adulto; Suporte Avançado de Vida (SAV); Reanimação cardio pulmonar (RCP); Massagem cardíaca com tórax aberto; Reanimação cardio pulmonar extra-hospitalar

## 1. Introduction

Despite having a proven haemodynamic efficiency [1–4], and an improved long-term outcome in experimental studies [5], open chest cardiac massage (OCCM) is used far less often than closed chest cardiac compressions. The limiting factor of OCCM is the necessity to perform a thoracotomy to insert the hand and compress the heart. Such a thoracotomy requires surgical skill, is extremely invasive and may cause major complications. Consequently, personnel involved in prehospital cardiac arrest management are either not able, or not willing, to perform such a procedure. Recently an alternative form of OCCM has been developed. This technique, called Minimally Invasive Direct Cardiac Massage (MID-CM<sup>®</sup>, developed by TheraCardia, Inc) allows cardiac compression without thoracotomy. The MID-CM<sup>®</sup> technique uses a simple handheld device introduced through a small thoracostomy, which transmits manual cardiac compression within the thoracic cavity while remaining outside the pericardium. With a similar technique in a porcine model Buckman et al. [6,7] were able to produce good cardiac indices and satisfactory metabolic indicators of coronary and cerebral perfusion, which compared favorably with conventional direct cardiac massage. Preliminary tests on human cadavers with the MID-CM<sup>®</sup> device confirmed correct anatomical placement and device deployment.

Given that sudden cardiac death is frequently observed in the prehospital setting, and that providing more efficient CPR on scene is important, the purpose of this study was to evaluate the feasibility of MID-CM<sup>®</sup> during prehospital advanced life support (ALS) in patients with low chances of survival.

## 2. Patients and methods

After ethical committee approval, the study was performed by the Paris emergency medical system (SAMU de PARIS, France). This two-tiered system provides ALS on scene by a medical team including a physician trained in anesthesiology and critical care and/or emergency medicine. BLS (first tier) is provided by emergency medical technicians (firebrigade).

Adult patients aged between 18 and 85 years were included in the study after witnessed cardiac arrest, if they had received BLS for 5 min or more after the onset of cardiac arrest, and if return of spontaneous circulation (ROSC) did not occur after 20 min of ALS. According to the ERC guidelines [8], such patients are considered to have very low chances of survival. Patients with trauma, previous thoracic surgery, or under the influence of illicit drugs were excluded.

The MID-CM<sup>®</sup> device is shown in Fig. 1. It consists of an introducer of 40 French gauge external diameter and a flat umbrella-shaped device which is initially collapsed and retracted in the introducer. After inserting the introducer, the umbrella is deployed and expands to a diameter of 7.5 cm.

Only trained physicians were allowed to insert and to use the MID-CM<sup>®</sup>. They had received special training on a manikin and/or cadavers before performing insertion in a patient with cardiac arrest. The insertion technique was simple. First, the insertion point was located on the anterior left side of the chest at the fourth or fifth intercostal space, 5 cm from the midline on the sternum. Next, a thoracostomy of approximately 2–4 cm was performed using a surgical scalpel to penetrate skin, adipose tissue and pectoralis muscle. Then the physician's gloved index finger was used to

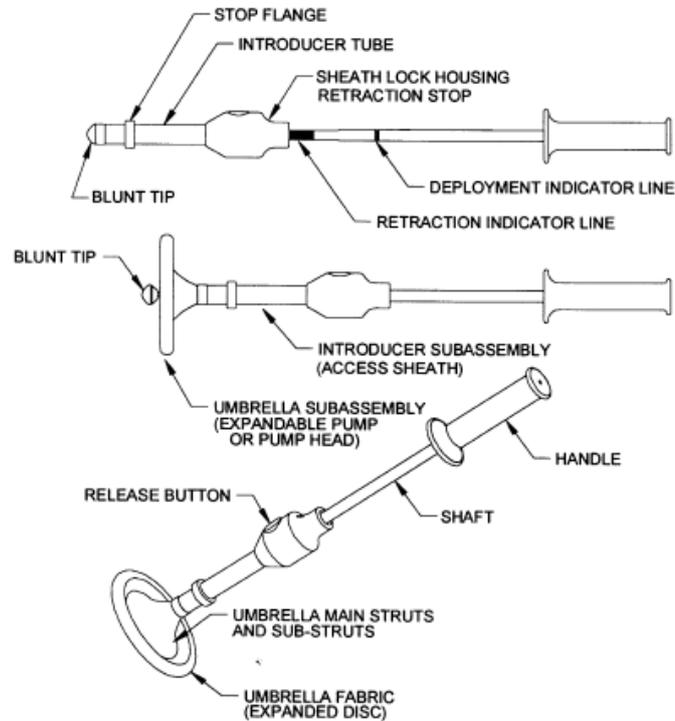


Fig. 1. The minimally invasive direct cardiac massage (MID-CM<sup>®</sup>) device (TheraCardia Inc.)

clear the point of entry and to check the area around the heart. The device was then inserted in the thoracostomy but remained external to the pericardium. The umbrella was deployed and manually advanced posteriorly and retracted anteriorly at a rhythm of 80–100 compressions per min. Device removal involved retracting the device inside the access sheath and then removing the access sheath and device from the patient. With the exception of cardiac massage, patient care during the protocol adhered to ALS guidelines of the ERC.

The following variables were recorded:

1. the ease of the insertion, deployment, and withdrawal of the device from the patient;
2. the exact location of insertion;
3. the optimal pumping technique;
4. complications during insertion and massage;
5. haemodynamic features: arterial pressure, massage rate, and  $\text{ETCO}_2$  were compared to values obtained after at least 1 min of baseline closed chest CPR;
6. occurrence of ROSC (defined as a palpable carotid pulse for at least 5 min);
7. ALS procedures performed on scene;
8. time intervals from cardiac arrest to ROSC or to the end of resuscitation.

Given that the patients selected for inclusion had almost no chance of survival, none of the conventional

features relating to survival (admission alive, survival at 24 h, discharge alive) were used as the primary end point. Results are shown as mean  $\pm$  SD (min–max).

### 3. Results

Twenty-five patients were included in the study between September 1999 and March 2000. Their characteristics are shown in Table 1. The insertion of the

Table 1  
Characteristics of the patients ( $n=25$ )<sup>a</sup>

Age (years)	59 $\pm$ 16 (26–85)
Sex ratio M/F	18/7
Initial cardiac rhythm	VF = 12 (48%) Asystole = 12 (48%) EMD/PEA = 1 (4%)
Collapse to BLS (min)	8 $\pm$ 5 (0–20)
Collapse to compressions (min)	47 $\pm$ 10 (29–74)
Duration of MID-CM <sup>®</sup> (min) <sup>b</sup>	21 $\pm$ 15 (1–57)
Number of ROSC	$n=7$
Admitted alive	$n=4$
Survival	1 day $n=1$ 5 days $n=1$

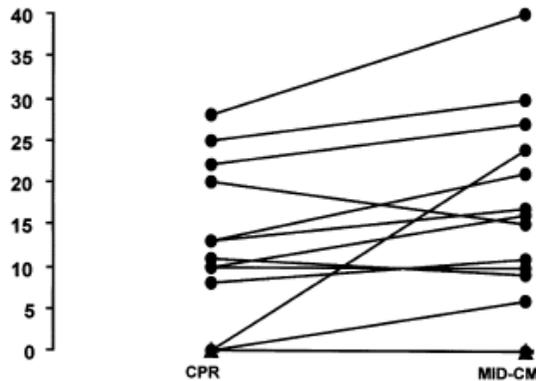
<sup>a</sup> Mean  $\pm$  SD (min–max).

<sup>b</sup> Of the 24 patients in whom MID-CM<sup>®</sup> was performed.

Table 2

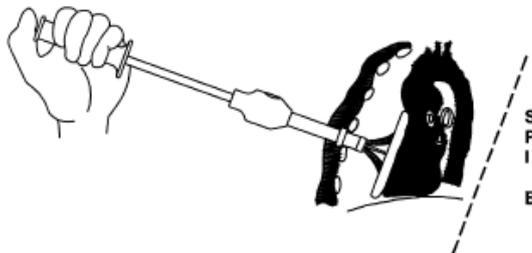
Ease of performing MID-CM<sup>®</sup> compared to standard CPR (number of patients)

n = 25	Extremely easy (no complications)	Easy	Moderate(several attempts)	Difficult	Extremely difficult(abandoned)
CPR	17	8	0	0	0
MID-CM <sup>®</sup>	12	10	1	1	1

PETCO<sub>2</sub>, mmHgFig. 2. Comparison of ETCO<sub>2</sub> between CPR and MID-CM<sup>®</sup>

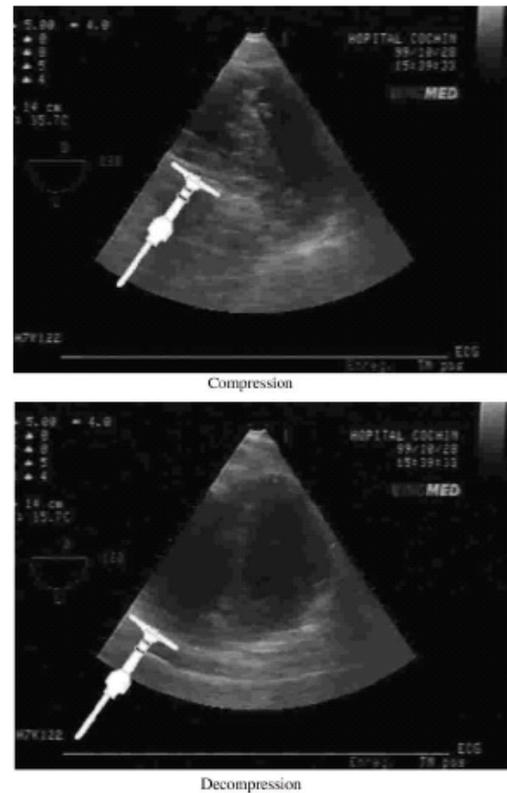
device was considered to be simple and easy by the physicians. During the three first attempts, slightly difficult insertions were noted, but after hands-on experience less than 1 min was needed to insert the device without difficulty. However, insertion and deployment were impossible in one patient because of cardiomegaly and pericardial adhesions. After this case, the procedure of insertion was modified to include exploration of the pericardial surface with a gloved index finger after incision to detect pericardial adhesion and abort the procedure, if any were found.

In two of the patients early in the study, the device was inserted too low (5th space) and too lateral (8 cm). The study confirmed that the optimal insertion site was the fourth intercostal space, 5 cm left from the sternal midline.

Fig. 3. Mechanism of compression and position of the MID-CM<sup>®</sup> device

Efficient cardiac massage at a rate of 80–100 was obtained with MID-CM<sup>®</sup>. In the majority of patients, a gentle and effortless cardiac compression was obtained with a 4 cm stroke (Table 2). However, in six patients who had received large doses of IV epinephrine and had sustained a prolonged cardiac arrest, compression was more difficult. This difficulty was not related to the device insertion or position but to the firm consistency of the myocardium that has been described as ‘stone heart’ in prolonged cardiac arrest with ischaemic myocardium [9].

In the 19 other cases MID-CM<sup>®</sup> CPR was so easy and effortless compared with standard CPR that in four patients the procedure was resumed during

Fig. 4. Mechanism of compression of the heart: the MID-CM<sup>®</sup> compresses the right ventricle that shifts the septum and indirectly compresses the left ventricle (TEE in patient no. 10).

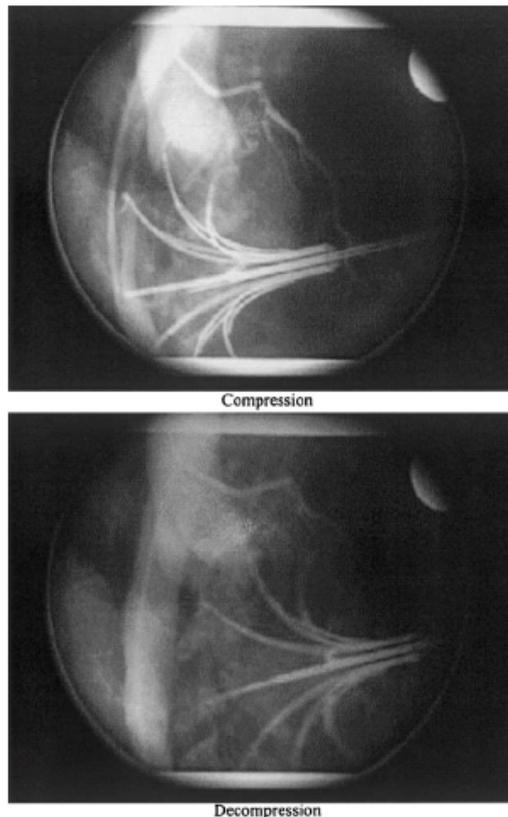


Fig. 5. Coronary angiography during MID-CM<sup>®</sup> in patient no. 12. Indirect compression of the aorta realizes an aortic clamp phenomenon.

transport of the patients to hospital in a moving ambulance.

Compared with standard CPR, MID-CM<sup>®</sup> showed an improvement of haemodynamic parameters. A strong palpable carotid pulse was obtained in all patients, and a non-invasive blood pressure (SBP > 85 mmHg) was recorded in nine patients as compared to none detected with standard CPR. In almost all patients where ETCO<sub>2</sub> was available, ETCO<sub>2</sub> showed a significant increase using MID-CM compared with standard CPR (Fig. 2).

Antero posterior compression perpendicular to the plane of the chest wall provided the best haemodynamic efficiency (Fig. 3). In two of the patients transported to hospital with continuing MID-CM<sup>®</sup>, information on the cardiac compression mechanism was obtained by performing TEE and/or coronary angiography on arrival. These investigations revealed the following:

1. the mitral and aortic valves are competent during compression;
2. the compression by the device is exerted primarily to

the anterior face of the right ventricle, shifting the septum to compress the left ventricle indirectly (Fig. 4);

3. during compression, occlusion of the descending aorta occurred and was observed during coronary angiography (Fig. 5).

During the procedure, ROSC was obtained in seven of the 24 patients that received MID-CM<sup>®</sup>, and four of these patients were admitted to hospital alive (one survived 1 day, one survived 5 days).

Retraction of the device was simple. Although device retraction has been recommended by the manufacturers when defibrillation was needed, several patients were defibrillated with the device left in place and no adverse effect was observed.

In all patients with ROSC, a small chest tube (8 French) was inserted through the thoracostomy after retraction of the device and the incision was sutured.

A major adverse effect related to the technique was observed in the second patient. During MID-CM<sup>®</sup> CPR, serious haemorrhage occurred through the incision 10 min after beginning compression. Cardiac output, assessed by ETCO<sub>2</sub>, remained extremely low in this patient during both standard CPR and MID-CM<sup>®</sup> CPR, and no ROSC was obtained. After autopsy and analysis of the pathological findings the source of the bleeding was found to be due to the MID-CM<sup>®</sup> device being inserted too laterally, causing a rupture of two umbrella struts. This resulted in a pericardial penetration by the ends of the broken struts, and in a cardiac tear with major haemorrhage. During the study, the design of the device was modified to avoid this type of strut damage, and the insertion site was strictly specified as the 4th left intercostal space, 5 cm from the mid sternum. Following this modification no further problems with haemorrhage were encountered. Only minor bleeding was observed in several other patients. In one case, bleeding and cardiac tamponade were observed during the insertion but before beginning compressions. They were related to a ruptured aortic aneurysm and not to the technique. However the procedure was stopped immediately.

#### 4. Discussion

The results of this study suggest that MID-CM<sup>®</sup> is simple and feasible in the prehospital setting when used by emergency medical teams trained in the use of the device. Several points require consideration:

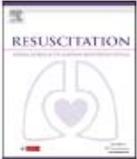
1. The physicians involved in the study have had a long hands-on experience of ALS and emergency insertion of a chest tube. However insertion of the MID-CM<sup>®</sup> by less skilled personnel may be more difficult and should require specific training.

2. The technique of insertion of the MID-CM<sup>®</sup> device is of primary importance to avoid hazards together with identification of patients where it is not feasible. The physician's gloved index finger must be used to clear the device entry point gently to prevent damage to the pericardium. It must also be used to explore the pericardial surface and check that there is no adhesion between pericardium and the chest wall. The exact position of the site of insertion and the correct direction of compression are very important. These factors may have played a role in the complication observed in the second patient. With other approaches than the one described, MID-CM<sup>®</sup> was less effective. All these manoeuvres must be performed perfectly and quickly on scene, and justify specific training.
3. The haemodynamic results of MID-CM<sup>®</sup> suggest that this technique is more efficient than standard CPR during prehospital ALS. This is not surprising considering the previous preclinical studies comparing closed-chest compressions and OCCM [10,11].
4. The fact that prolonged MID-CM<sup>®</sup> may be performed without major effort is therefore very interesting because this is a limitation of standard cardiac massage. The results suggest that patients may be transported to the hospital even if a ROSC is not achieved on scene, and may receive more aggressive haemodynamic support on arrival at the hospital. However the present study has not compared the injuries resulting from prolonged CPR with standard compressions or MID-CM<sup>®</sup>.
5. The relatively high number of patients with a "stone heart" interfering with the performance of direct cardiac compressions is not surprising considering the design of the study and the type of patients included. It was clearly associated with prolonged cardiac arrest, cardiac ischaemia and the use of large doses of epinephrine. This limiting factor of MID-CM<sup>®</sup> efficiency will probably be less frequent with patients with shorter intervals and better chance of survival.

This study indicates that MID-CM<sup>®</sup> can be performed in the prehospital setting, and suggests that better haemodynamic results can be obtained than with standard CPR. However, the impact of this technique on survival of cardiac arrest patients remains to be demonstrated in further large scale studies.

## References

- [1] Del Guercio L, Feins N, Cohn J. Comparison of blood flow during external and internal cardiac massage in man. *Circulation* 1965;1(Suppl.):1714–80.
- [2] Bircher N, Safar P, Stewart R. A comparison of standard, 'MAST-augmented', and open-chest CPR in dogs. A preliminary investigation. *Crit Care Med* 1980;8:147–52.
- [3] Bircher N, Safar P. Comparison of standard and new closed-chest CPR and open-chest CPR in dogs. *Crit Care Med* 1981;9:384–5.
- [4] Sanders AB, Kern KB, Ewy GA, Atlas M, Bailey L. Improved resuscitation from cardiac arrest with open-chest massage. *Ann Emerg Med* 1984;13:672–5.
- [5] Kern KB, Sanders AB, Badyak SF, et al. Long-term survival with open-chest cardiac massage after ineffective closed-chest compression in a canine preparation. *Circulation* 1987;75:498–503.
- [6] Buckman RF Jr, Badellino MM, Mauro LH, et al. Direct cardiac massage without major thoracotomy: feasibility and systemic blood flow. *Resuscitation* 1995;29:237–48.
- [7] Buckman RF Jr., Badellino MM, Eynon CA et al. Open-chest cardiac massage without major thoracotomy: metabolic indicators of coronary and cerebral perfusion. *Resuscitation* 1997;34:247–53.
- [8] Robertson C, Steen P, Adgey J, et al. The 1998 European Resuscitation Council guidelines for adult advanced life support: A statement from the Working Group on Advanced Life Support, and approved by the executive committee. *Resuscitation* 37;1998:81–90.
- [9] Takino M, Okada Y. Firm myocardium in cardiopulmonary resuscitation. *Resuscitation* 1996;33:101–6.
- [10] DeBehnke DJ, Angelos MG, Leasure JE. Comparison of standard external CPR, open-chest CPR, and cardiopulmonary bypass in a canine myocardial infarct model. *Ann Emerg Med* 1991;20:754–60.
- [11] Paradis NA, Martin GB, Rivers EP. Use of open chest cardiopulmonary resuscitation after failure of standard closed chest CPR: illustrative cases. *Resuscitation* 1992;24:61–71.



## Experimental paper

Erythropoietin improved initial resuscitation and increased survival after cardiac arrest in rats<sup>☆</sup>

Pascal Incagnoli<sup>a,b</sup>, Amandine Ramond<sup>b</sup>, Marie Joyeux-Faure<sup>b,\*</sup>, Jean-Louis Pépin<sup>b</sup>, Patrick Lévy<sup>b</sup>, Christophe Ribaut<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Service d'Anesthésie-Réanimation 2, CHU de Grenoble, BP 217, 38043 Grenoble cedex 09, France

<sup>b</sup> Laboratoire HP2, Hypoxie-Physio-Pathologie Respiratoire et Cardiovasculaire, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université Grenoble I, Domaine de la Merci, 38706 La Tronche, EA 3745, Inserm ERI 0017, France

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 5 December 2008

Received in revised form 17 March 2009

Accepted 24 March 2009

## Keywords:

Cardiac arrest

Cardiopulmonary resuscitation

Post-resuscitation myocardial dysfunction

Erythropoietin

Survival

Rats

## ABSTRACT

**Introduction:** Recent data have demonstrated potent cardioprotective and neuroprotective effects of the application of growth hormones like erythropoietin (EPO) after focal cardiac or cerebral ischemia. In order to assess possible benefits regarding survival and resuscitation conditions, EPO was tested against placebo in a model of cardiac arrest in the rat.

**Methods:** Thirty-four male Wistar rats were randomized into two groups (EPO versus control;  $n = 17$  per group). Under anesthesia, cardiac arrest was induced by asphyxia after neuromuscular blockade. After 6 min of global ischemia, animals were resuscitated by external chest compression combined with epinephrine administration. An intravenous bolus of recombinant human EPO (rhEPO, 3000 UI kg<sup>-1</sup> body weight, i.v.) or saline (in control group) was performed 15 min before cardiac arrest, by a blinded investigator. Restoration of spontaneous circulation (ROSC), survival at 1, 24, 48 and 72 h and hemodynamic changes after cardiac arrest were studied.

**Results:** Survival to 72 h was significantly improved in the EPO group ( $n = 15/17$ ) compared to the control group ( $n = 7/17$ ). All the EPO-treated rats were successfully resuscitated whereas only 13 of 17 control animals resuscitated. EPO-treated animals required a significantly smaller dose of epinephrine before resuscitation, compared to control rats. Time course of systolic arterial blood pressure after resuscitation revealed no significant differences between both groups.

**Conclusion:** EPO, when administrated before cardiac arrest, improved initial resuscitation and increased the duration of post-resuscitation survival.

© 2009 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

Sudden cardiac arrest claims approximately 350,000 lives annually in the United States. Although the initial success rate of cardiopulmonary resuscitation (CPR) is approximately 39%, only 2–12% of resuscitated patients are discharged from hospital in good neurological conditions.<sup>1</sup> Experimental and clinical investigations support the notion that deaths after initially successful resuscitation from cardiac arrest are caused by post-resuscitation impairment in myocardial function<sup>2</sup> and neurological dysfunction.<sup>3</sup> Up to now, despite extensive research, no specific pharmacological cardioprotective or neuroprotective therapy is available.<sup>4,5</sup> Several recent experimental studies suggest that administration of recom-

binant human erythropoietin (rhEPO) plays a neuroprotective<sup>6–9</sup> and cardioprotective<sup>10–13</sup> role in animal models of cerebral ischemia and cardiac ischemic injury due to its antiapoptotic properties.<sup>14–16</sup> One other report also suggests that the application of rhEPO reduces neurological dysfunction in humans suffering from stroke.<sup>17</sup> RhEPO is commonly known as a hematopoietic growth factor that has been in clinical use for the treatment of anemia and had been demonstrated to be safe in humans.<sup>17</sup> Expression of EPO is stimulated following hypoxemic-induced activation of hypoxia-inducible factor (HIF 1). Erythropoietin receptors (EPORs) have been identified in non-hematopoietic tissues, including myocardium, vascular endothelium, neurons and astrocytes.<sup>8,18</sup> These findings, which suggest that erythropoietin acts as a tissue-protective cytokine in the heart and brain, can be very interesting in cardiac arrest for the cell protection during the no-flow or low flow state of cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation (CPR). We hypothesized that the administration of rhEPO before cardiac arrest would improve initial resuscitation and outcomes after resuscitation in an experiment model of global cardiac and cerebral ischemia.

<sup>☆</sup> A Spanish translated version of the summary of this article appears as Appendix in the final online version at doi:10.1016/j.resuscitation.2009.03.024.

\* Corresponding author. Tel.: +33 4 76 63 74 75; fax: +33 4 76 63 71 78.  
E-mail address: [marie.faure@ujf-grenoble.fr](mailto:marie.faure@ujf-grenoble.fr) (M. Joyeux-Faure).

## 2. Materials and methods

The protocol was approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of our Institute. Human care was rendered to all animals in compliance with the "Principles of Laboratory Animal Care" formulated by the National Society for Medical Research and the "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" prepared by the Institute of Laboratory Animal Resources and published by the National Institutes of Health (NIH publication no. 86-32, revised 1985). All procedures conformed to the framework of the French legislation that control animal experimentation. This blinded, randomized study was performed on 34 male Wistar weighing 380–550 g. All animals were fasted overnight but allowed free access to water.

Rats were randomized into two groups receiving either rhEPO (3000 IU kg<sup>-1</sup>, EPO group) or vehicle (saline, control group) intravenously administered 15 min before the cardiac arrest induction, in an investigator blinded setting.

### 2.1. Animal preparation

The animals were anesthetized with the use of intraperitoneal injections of 45 mg kg<sup>-1</sup> pentobarbital. No additional dose was necessary during the 30 min before the induction of cardiac arrest. The animals were placed in a supine position on a surgical board and the extremities were immobilized. A conventional single lead electrocardiogram (ECG) was attached using subcutaneous needles. The trachea was orally intubated with a 14-gauge cannula mounted on a blunt-tipped needle (Abbocath-T; Abbott Hospital Inc., North Chicago, Ill) with 145° angled tip. Rats were ventilated with controlled intermittent positive pressure ventilation (IPPV) (Harvard Rodent Ventilator Model, Model 683, Harvard apparatus, Holliston, MA, United States) with a tidal volume of 6.5 ml kg<sup>-1</sup>, a respiratory rate of 100 min<sup>-1</sup> and a fractional inspired oxygen reading of 1.0. A 23-gauge polyethylene catheter (PE 50, Becton Dickinson, Sparks, MD) was advanced into the dorsal vein of the penis for drug administration. A 23-gauge polyethylene catheter (PE 50, Becton-Dickinson, Sparks, MD) was advanced in the right carotid artery for measurement of aortic pressure (monitor Mac Lab 4S, AD instruments, Mountain view, CA). The rectal temperature was monitored and maintained at 37.0 ± 0.5 °C with the aid of warmed blanket (Homeothermic Blanket System, Harvard Apparatus, Holliston, Massachusetts, United States) during the preparation period, the CPR and the early phase after restoration of spontaneous circulation (ROSC).

### 2.2. Experimental protocol

After 10 min of stabilization, muscular relaxation had been obtained by administering Vecuronium 2 mg kg<sup>-1</sup> (Norcuron®, Organon, Puteaux, France). Fifteen minutes before cardiac arrest, the study drug was administered intravenously. Cardiac arrest was induced by stopping intermittent positive pressure ventilation during 2 min and confirmed by the abrupt decrease in systolic arterial pressure to less than 10 mmHg. After 6 min of global ischemia, advanced cardiac life support including mechanical ventilation (100% O<sub>2</sub>, respiratory rate 60 min<sup>-1</sup> before cardiac massage), closed chest cardiac massage (200 times min<sup>-1</sup>) performed always by the same investigator and epinephrine (0.02 mg kg<sup>-1</sup> body weight) was performed. ROSC was confirmed by spontaneous cardiac rhythm in conjunction with a rise in mean arterial pressure to greater than 50 mmHg for at least 5 min. After 5 min of unsuccessful CPR, resuscitation was stopped and the animals were declared dead. Hemodynamic measurements were continued for 1 h after resuscitation. Ventricular tachycardia and/or fibrillation, defined according to the Lambeth Conventions guidelines,<sup>19</sup> were con-

**Table 1**  
Physiological variables before cardiac arrest.

Groups	Control	EPO
Body weight (g)	464 ± 44	448 ± 44
Preparation time (min)	19 ± 4	19 ± 4
Systolic blood pressure (mmHg)	146 ± 22	151 ± 20
Body temperature (°C)	36.8 ± 0.1	36.7 ± 0.1

Physiological variables in the EPO-treated and control animals during the steady state phase preceding the induction of cardiac arrest. No statistically significant differences were observed between both groups (mean ± S.D.). n = 17 per group.

sidered as severe arrhythmias and were recorded for 1 h after resuscitation. Mechanical ventilation was continued for a total of 2 h. The endotracheal tube and catheters were removed. After recovery from anesthesia, animals were returned to their cages and survival was recorded at 1, 24, 48 and 72 h. After 72 h, the animals were euthanized with an intraperitoneal injection of 100 mg kg<sup>-1</sup> of pentobarbital.

### 2.3. Statistical analysis

Sample size was calculated according to prior data on cardiac arrest. If we assumed that in our model of cardiac arrest the mortality after 72 h will be 50% in the control group and that erythropoietin could decrease the mortality of 40%, with an alpha risk of 0.05 and a power of 0.8, the number of animals needed to be analyzed per group will be 17. Data are presented as mean ± standard deviation (S.D.). Characteristics of animals were compared by using Mann-Whitney or Fisher exact test as appropriate. Blood pressure after resuscitation time was compared between groups by using analysis of variance. Survival between both groups was plotted using Kaplan-Meier curves and compared using log rank tests. These tests are realized in bilateral situation. We considered *p* values of less than 0.05 significant. We used Medcalc (Gant, Belgium) and SAS software for analysis.

## 3. Results

### 3.1. Cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation

Thirty-four rats were investigated. Before cardiac arrest, hemodynamic and physiologic variables were similar in both the EPO and control groups (Table 1). Time from the initiation of asphyxiation to cardiac arrest was similar between groups: 156 ± 44 s in the EPO group and 149 ± 70 s in the control group. No spontaneous ROSC were observed during the period of circulatory arrest. Cardiopulmonary resuscitation in term of ROSC was successful in all of the EPO-treated animals (17 of 17) and in 13 of 17 of the control animals (Table 2). In successfully resuscitated animals, there were no significant differences between the two groups with regard to the duration of cardiopulmonary resuscitation but there were

**Table 2**  
Outcome of cardiopulmonary resuscitation.

Groups	Control	EPO
Duration of asphyxia before cardiac arrest (s)	149 ± 70	156 ± 44
CPR time to ROSC (s)	187 ± 110	142 ± 84
Number of resuscitated animals	76%	100%
Dose of epinephrine for resuscitation (µg)	28 ± 17	16 ± 13*
Systolic arterial blood pressure at ROSC (mmHg)	140 ± 56	144 ± 50
Systolic arterial blood pressure 60 min after ROSC (mmHg)	115 ± 25	120 ± 25

The outcome of the resuscitation in the EPO-treated and control animals after the cardiac arrest. Data are expressed as mean ± S.D. or percentage. CPR: cardiopulmonary resuscitation, ROSC: restoration of spontaneous circulation. n = 17 per group. \* *p* < 0.05.

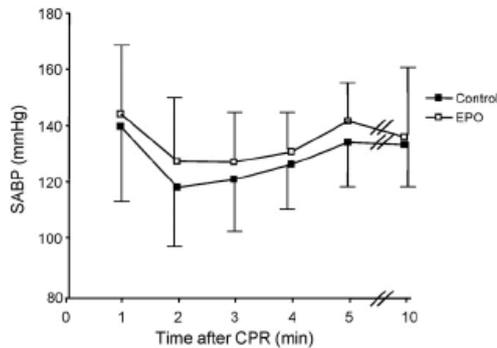


Fig. 1. Time course of systolic arterial blood pressure (SABP) after cardiopulmonary resuscitation (CPR), in EPO-treated or control rats subjected to 6 min of asphyxiation. Data are expressed as mean  $\pm$  S.D. No significant difference was seen between the two groups.

significant differences between the two groups with regard to the total epinephrine dose necessary to restore spontaneous circulation which was smaller in the EPO-treated animals.

### 3.2. Early reperfusion after cardiac arrest

After return of spontaneous cardiac function, there was a systolic peak of blood pressure during 1 min in the two groups. Then it returned to or below baseline, depending on the animal, but there were no major difference between the EPO and control groups (Fig. 1). Moreover in both groups, we did not observe severe arrhythmias at the phase of reperfusion.

### 3.3. Overall survival

Survival after cardiac arrest was monitored for 3 days. The survival rate was 88% in the EPO group (15 of 17) at 1, 24, 48 and 72 h versus 64% (11 of 17) at 1 h, 47% (8 of 17;  $p=0.028$ ) at 24 h, 41% (7 of 12;  $p=0.012$ ) at 48 and 72 h in the control group (Fig. 2).

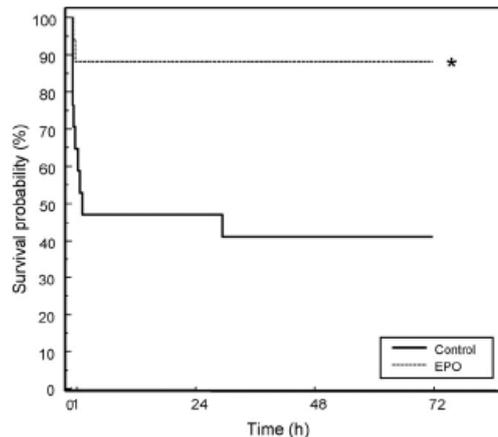


Fig. 2. Kaplan-Meier plot of cumulative survival following 3 days after cardiac arrest revealed significant difference in survival at 24, 48 and 72 h after 6 min of asphyxial cardiac arrest, between the EPO and control groups. \*  $p < 0.05$ , by a log rank test.

## 4. Discussion

In the present experimental study, a single dose of EPO administered before cardiac arrest shows for the first time beneficial effect on ROSC and survival. We also demonstrated that the total dose of epinephrine necessary to restore spontaneous circulation was lower in the EPO group compared to the control group and that EPO administration did not lead to difference in hemodynamic variables after ROSC. After successful resuscitation from cardiac arrest, post-resuscitation myocardial dysfunction or neuronal damage has been implicated in early post-resuscitation death. In a recent experimental study,<sup>20</sup> repeated high doses of EPO (5 min before cardiac arrest and 24 and 72 h after cerebral ischemia) show no beneficial effects on neuronal recovery after global cerebral ischemia due to cardiac arrest induced by ventricular fibrillation. Neurological deficit scoring and neuronal survival reveal no difference in the EPO-treated group compared to the control group and the caspase activity assay to determine anti-apoptotic properties of EPO reveals no difference between the two groups. Beneficial effect of EPO on post-resuscitation myocardial dysfunction and survival following an asphyxial cardiac arrest has only been observed when EPO was administered 3 min after return of spontaneous circulation.<sup>21</sup> Here, we observed that EPO administration 15 min before cardiac arrest improved survival and resuscitation conditions, showing that EPO could be considered as a preconditioning agent inducing cellular protection in this setting.

In our study, the improved initial resuscitation from cardiac arrest, the faster ROSC and the lower dose of epinephrine used to restore spontaneous circulation seen in EPO-treated animals could be related to cardiac effect of EPO. This fact is in accordance with recent studies about the protective effect of EPO against cardiac ischemic injury (for a review see Ref.<sup>22</sup>). First, an antiapoptotic effect of rEPO has been described in rat cardiac myocytes<sup>15,23</sup> and myoblasts<sup>11</sup> subjected to hypoxia. It has also been observed that brief exposure of isolated hearts to EPO improves myocardial functional recovery after ischemia probably due to preserved intracellular ATP levels.<sup>12</sup> Moreover, other studies have also shown that EPO administration (5000 UI  $\text{kg}^{-1}$ , i.p.) in the rat in vivo, prevents cellular apoptosis and necrosis and improves functional recovery in isolated hearts subjected to global ischemia-reperfusion, 1 h<sup>13</sup> or 24 h<sup>14</sup> later. A protective effect is also seen when EPO is administered directly to the isolated rat<sup>12,24</sup> and rabbit<sup>25,26</sup> hearts, 10–15 min before ischemia. In our study, EPO was administered 15 min before cardiac arrest. Thus, cardioprotective properties of EPO observed in the setting of ischemic injury could explain the beneficial effect of EPO administration against cardiac arrest seen in our study.

EPO administration just before reperfusion also reduces both lethal ventricular arrhythmias and infarct size after cardiac ischemia in the dog.<sup>27</sup> In our study, at the state of reperfusion, rats never presented ventricular arrhythmias. This endpoint is particularly interesting in cardiac arrest because ventricular arrhythmias are often observed in patients following reperfusion therapy and they can be life-threatening.

Mechanisms of EPO-induced cellular protection in a global ischemia-reperfusion model like cardiac arrest remain unknown but several hypotheses could be proposed. First, in our study, considering the short time period between EPO administration and the observed effect, it seems that a new protein synthesis is not implicated in cardioprotection. It seems that protective effects of EPO were due to a direct action of this molecule on cardiac cells, independently of its hematopoietic effect. Indeed, the binding of EPO to its receptor (EPOR), expressed in the heart<sup>28</sup> induces the homodimerization and phosphorylation of the receptor via the activation of the Janus kinase 2 (Jak 2),<sup>29,30</sup> leading

to activation of several protective pathways and then switching the phenotype of cardiomyocytes to a defensive one.<sup>22,31</sup> Signaling through the EPOR is promoted by tyrosine phosphorylation of the cytosolic domain and the recruitment of secondary signaling molecules such as the phosphatidylinositol-3 kinase (PI3 kinase). PI3 kinase then activates the antiapoptotic Akt pathway, which maintains the mitochondrial membrane potential, prevents the cellular release of cytochrome C and modulates caspase activity. Jak2 kinase is also able to phosphorylate and to activate the downstream antiapoptotic targets STAT3 and STAT5 or various kinases (p38 or p42/44 mitogen-activated protein kinases (MAPK) and protein kinase C) with antiapoptotic or antinecrotic properties. Indeed, Akt and p42/44 MAPK are involved in mechanisms underlying EPO-induced improvement of post-resuscitation myocardial dysfunction and survival following an asphyxial cardiac arrest.<sup>21</sup> Various mediators activated by these different pathways have been proposed. Among them, nitric oxide synthesis and ATP-sensitive potassium channel opening seem to mediate the EPO-induced cytoprotection.<sup>13,25</sup> In addition to preventing cellular death by apoptosis or necrosis, EPO also has been found to play a role in progenitor cell development through activation of nuclear factor- $\kappa$ B which is a key mediator of inflammatory response.<sup>32</sup> Finally, it has been suggested that the effect of EPO on cell survival might involve an interplay of growth factors and cytokines, e.g., transforming growth factor, tumor necrosis factor and interleukin-6.<sup>10</sup> Complementary studies are today needed to clarify the exact mechanisms underlying the cardioprotective effects conferred by EPO against ischemic injury, especially after cardiac arrest.

Finally, the animal model of asphyxia-induced cardiac arrest used in this study may not represent all pathophysiological changes caused by other mechanisms of cardiac arrest. If asphyxiation is more common in children, ventricular fibrillation is the leading cause of cardiac arrest in adults. Pathophysiological consequences differ between asphyxia- and arrhythmia-induced cardiac arrest. For example, the initial partial pressure of end-tidal CO<sub>2</sub> (correlated with cardiac output and CPR) is significantly higher in patients with asphyxial cardiac arrest than in patients with VT/VF cardiac arrest.<sup>33</sup> Moreover, in a rat model, asphyxial cardiac arrest results in lesser impairment of post-resuscitation myocardial function when compared with cardiac arrest caused by VF.<sup>34</sup> Thus, further investigations are needed to explore the effect of EPO in arrhythmia-induced cardiac arrest, allowing a better understanding of pathological changes associated with these both cardiac arrest models and their prevention.

In conclusion we showed in this study that EPO administration before ischemia is able to improve survival in a rat model of cardiac arrest by asphyxia. Despite extensive experimental and clinical research on cardiac arrest, only 2–12% of resuscitated patients are discharged from hospital in good neurological conditions. There is, therefore, a clear need for new therapies that improve survival after cardiac arrest. We can hope that EPO administration will represent pharmacological approach in upcoming years, leading to additional myocardial salvage of the reperfused myocardium.<sup>16</sup>

#### Conflict of interest statement

None to declare.

#### Acknowledgements

The authors thank Dr David Backer and Pr Bruno Riou for reviewing and constructive criticism of the manuscript and Pr Jean-François Timsit for his statistical support.

#### References

- Böttiger BW, Grabner C, Bauer H, et al. Long term outcome after out-of-hospital cardiac arrest with physician staffed emergency medical services: the Utstein style applied to a mid-sized urban/suburban area. *Heart* 1999;82:674–9.
- Gazmuri RJ, Weil MH, Bisera J, Tang W, Fukui M, McKee D. Myocardial dysfunction after successful resuscitation from cardiac arrest. *Crit Care Med* 1996;24:992–1000.
- Vogel P, Putten H, Popp E, et al. Improved resuscitation after cardiac arrest in rats expressing the baculovirus caspase inhibitor protein p35 in central neurons. *Anesthesiology* 2003;99:112–21.
- Brain Resuscitation Clinical Trial I Study Group. Randomized clinical study of thiopental loading in comatose survivors of cardiac arrest. *N Engl J Med* 1986;314:397–403.
- Brain Resuscitation Clinical Trial II Study Group. A randomized clinical study of a calcium-entry blocker (lidoflazine) in the treatment of comatose survivors of cardiac arrest. *N Engl J Med* 1991;324:1225–31.
- Sadamoto Y, Igase K, Sakanaka M, et al. Erythropoietin prevents plate navigation disability and cortical infarction in rats with permanent occlusion of the middle cerebral artery. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;253:26–32.
- Bernaudo M, Marti HH, Rousse IS, et al. A potential role for erythropoietin in focal permanent cerebral ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999;19:643–51.
- Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, et al. Erythropoietin crosses the blood–brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:10526–31.
- Siren AL, Knerlich F, Poser W, Gleiter CH, Bruck W, Ehrenreich H. Erythropoietin and erythropoietin receptor in human ischemic/hypoxic brain. *Acta Neuropathol* 2001;101:271–6.
- Moon C, Krawczyk M, Ahn D, et al. Erythropoietin reduces myocardial infarction and left ventricular functional decline after coronary artery ligation in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:11612–7.
- Parsa CJ, Matsumoto A, Kim J, et al. A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart. *J Clin Invest* 2003;112:999–1007.
- Wright GL, Hanlon P, Amin K, Steenbergen C, Murphy E, Arcasoy MO. Erythropoietin receptor expression in adult rat cardiomyocytes is associated with an acute cardioprotective effect for recombinant erythropoietin during ischemia-reperfusion injury. *FASEB J* 2004;18:1031–3.
- Joyeux-Faure M, Ramond A, Beguin PC, Belaidi E, Godin-Ribuot D, Ribuot C. Early pharmacological preconditioning by erythropoietin mediated by inducible NOS and mitochondrial ATP-dependent potassium channels in the rat heart. *Fundam Clin Pharmacol* 2006;20:51–6.
- Cai Z, Manalo DJ, Wei G, et al. Hearts from rodents exposed to intermittent hypoxia or erythropoietin are protected against ischemia-reperfusion injury. *Circulation* 2003;108:79–85.
- Calvillo L, Latini R, Kajstura J, et al. Recombinant human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury and promotes beneficial remodeling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:4802–6.
- Joyeux-Faure M. Cellular protection by erythropoietin: new therapeutic implications? *J Pharmacol Exp Ther* 2007;323:759–62.
- Ehrenreich H, Hasselblatt M, Dembowska C, et al. Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial. *Mol Med* 2002;8:495–505.
- Juul SE, Anderson DK, Li Y, Christensen RD. Erythropoietin and erythropoietin receptor in the developing human central nervous system. *Pediatr Res* 1998;43:40–9.
- Walker MJ, Curtis MJ, Hearse DJ, et al. The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia infarction, and reperfusion. *Cardiovasc Res* 1988;22:447–55.
- Popp E, Vogel P, Teschendorf P, Böttiger BW. Effects of the application of erythropoietin on cerebral recovery after cardiac arrest in rats. *Resuscitation* 2007;74:344–51.
- Huang CH, Hsu CY, Chen HW, et al. Erythropoietin improves the postresuscitation myocardial dysfunction and survival in the asphyxia-induced cardiac arrest model. *Shock* 2007;28:53–8.
- Joyeux-Faure M, Godin-Ribuot D, Ribuot C. Erythropoietin and myocardial protection: what's new? *Fundam Clin Pharmacol* 2005;19:439–46.
- Tramontano AF, Muniyappa R, Black AD, et al. Erythropoietin protects cardiac myocytes from hypoxia-induced apoptosis through an Akt-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;308:990–4.
- Cai Z, Semenza GL. Phosphatidylinositol-3-kinase signaling is required for erythropoietin-mediated acute protection against myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation* 2004;109:2050–3.
- Shi Y, Rafiee P, Su J, Pritchard Jr KA, Tweddell JS, Baker JE. Acute cardioprotective effects of erythropoietin in infant rabbits are mediated by activation of protein kinases and potassium channels. *Basic Res Cardiol* 2004;99:173–82.
- Rafiee P, Shi Y, Su J, Pritchard Jr KA, Tweddell JS, Baker JE. Erythropoietin protects the infant heart against ischemia-reperfusion injury by triggering multiple signaling pathways. *Basic Res Cardiol* 2005;100:187–97.
- Hirata A, Minamino T, Asanuma H, et al. Erythropoietin just before reperfusion reduces both lethal arrhythmias and infarct size via the phosphatidylinositol-3 kinase-dependent pathway in canine hearts. *Cardiovasc Drugs Ther* 2005;19:33–40.
- van der Meer P, Lipsic E, Henning RH, et al. Erythropoietin improves left ventricular function and coronary flow in an experimental model of ischemia-reperfusion injury. *Eur J Heart Fail* 2004;6:853–9.

**Evaluation of the effect one large dose of erythropoietin against cardiac and cerebral ischemic injury occurring during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: a randomized double-blind placebo-controlled pilot study**

Marie JOYEUX-FAURE,<sup>a,b</sup> Michel DURAND,<sup>c</sup> Damien BEDAGUE,<sup>c</sup> Daniel PROTAR,<sup>c</sup> Pascal INCAGNOLI,<sup>c</sup> Adeline PARIS,<sup>d</sup> Christophe RIBUOT,<sup>a,b</sup> Patrick LEVY,<sup>a,b</sup> Olivier CHAVANON,<sup>b,e</sup>

**Abstract**

**Objectives.** Cardiac surgery and cardiopulmonary bypass (CPB) induce ischemia-reperfusion and subsequent cellular injury with inflammatory reaction. Clinical and experimental studies suggest that recombinant human erythropoietin (EPO) independently of its erythropoietic effect may be used as a cytoprotective agent against cardiac and cerebral ischemic injury. We tested the hypothesis that one large dose of EPO administered shortly before CPB prevents the elevation of cardiac and cerebral ischemic blood markers as well as the systemic inflammatory response induced by cardiac surgery with CPB through this randomized double-blind placebo-controlled pilot trial.

**Methods.** Fifty patients scheduled for coronary artery bypass graft (CABG) surgery with CPB were randomly allocated to EPO or control groups. EPO (epoietin beta, 800 IU.kg<sup>-1</sup> intravenously, EPO group) or placebo (saline, control group) was administered before CPB, at the induction of anesthesia. The primary end-point was to study the effect of EPO administration on several blood markers of myocardial and cerebral ischemia in relation to CABG with CPB.

**Results.** In both groups, surgery increased plasma concentrations of cardiac (troponin T, NT-proBNP and creatine kinase-MB) and cerebral (S100 $\beta$  protein) markers ischemic as well as the pro-inflammatory marker interleukin-6. Compared with the placebo, EPO administration before CPB did not prevent an increase of all these markers following CPB ( $0.59 \pm 0.54 \mu\text{g.L}^{-1}$  vs  $0.41 \pm 0.45 \mu\text{g.L}^{-1}$  for the post-CPB maximum blood troponin T level;  $2506 \pm 1918 \text{ ng.L}^{-1}$  vs  $2033 \pm 1599 \text{ ng.L}^{-1}$  for the post-CPB peak value of NT-proBNP;  $31.8 \pm 14.9 \mu\text{g.L}^{-1}$  vs  $29.4 \pm 14.9 \mu\text{g.L}^{-1}$  for the post-CPB peak value of creatine kinase-MB;  $1.77 \pm 1.26 \mu\text{g.L}^{-1}$  vs  $1.50 \pm 0.82 \mu\text{g.L}^{-1}$  for the post-CPB peak value of S100 $\beta$  protein; in EPO group vs in control group respectively).

**Conclusion.** One large dose of EPO, given shortly before CPB, did not protect against cardiac and cerebral ischemia and inflammatory response occurring during CABG surgery with CPB. Although the long-term clinical implications remain unknown, the findings do not support use of EPO at this dose as a cytoprotective agent in patients undergoing cardiac surgery.

**Trial registration:** Clinicaltrials.gov registration number: NCT00273767

## **Introduction**

In regard to its hematopoietic effect, human recombinant erythropoietin (EPO) is today currently used to treat patients with anemia associated with renal failure, HIV infection, cancer or surgery [1-3]. However, EPO also possesses other properties, independent of its effects on the erythrocyte count, after binding to EPO receptors (EPOR) present outside the hematopoietic compartment [4]. Indeed, EPOR has been identified in endothelial cells, smooth muscle cells, cardiomyocytes, neurons and astrocytes [5,6]. In particular, EPO is able to induce neuroprotection by directly acting on the brain, as has been shown by many experimental studies. For example, in rats, an intraperitoneal injection of EPO (5 000 IU.kg<sup>-1</sup>) in the setting of regional cerebral ischemia prevents the development of cerebral death by necrosis and apoptosis, once the drug has crossed the blood-brain barrier [5,7]. Moreover, a clinical study on patients presenting with acute stroke shows that intravenous administration of 33,000 IU of EPO once daily on 3 consecutive days after stroke is associated with a trend in reduction of cerebral infarction and significantly improves follow-up and outcome scales [8]. More recently, the protective effect induced by EPO has been experimentally observed in the myocardium [9]. Indeed, EPO administration (from 1,000 to 5,000 IU.kg<sup>-1</sup>) protects the heart against ischemic injury, reducing cellular death by necrosis and apoptosis and improving cardiac functional recovery in several animal species (mouse, rat, rabbit) [6,10]. By a direct cellular action, independent of its hematological effect, EPO can thus immediately and specifically protect brain and cardiac cells against ischemia.

In the context of cardiac surgery such as coronary artery bypass graft (CABG), cardiac and cerebral ischemia induced by cardiopulmonary bypass (CPB) and cardioplegic arrest can adversely affect postoperative outcome. Indeed, cardiac ischemic injury is reflected by a significant increase in the serum level of several markers, such as the creatin kinase MB isoenzym (CK-MB) and the troponin T [11,12]. The level of the brain natriuretic peptide (BNP), which is specific to cardiac ventricles, is also enhanced [13,14]. Similarly, the S100 $\beta$  protein, released by the brain, is a marker of cerebral damage. Its serum level significantly increases after CPB [15,16]. The serum levels of these different markers could predict the postoperative outcome of patients [17,18].

Cardiac surgery with CPB also induces an inflammatory response, with concurrent release of both pro- and anti-inflammatory cytokines produced by activated monocytes, tissue macrophages, lymphocytes and endothelial cells [19-21]. Indeed, tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), perioperatively released, is considered to be a key pro-inflammatory mediator initiating the inflammatory cascade [19,20]. Release of other interleukins also occurs during cardiac surgery and CPB. Among them, interleukin-6 (IL-6) seems to be a nonspecific marker of ischemic injury [19] whereas interleukin-10 (IL-10) inhibits the production and release of TNF- $\alpha$  mediating the anti-inflammatory response [20].

Prevention of cardiac and cerebral ischemic injury during this type of operation could be particularly relevant. We hypothesized that cellular protection conferred by EPO administration could be of interest in this setting. Therefore, we planned a pilot study to observe the influence of one large dose of EPO, administered before the CPB beginning and without hematological effect, on several blood markers of cardiac and cerebral ischemia and inflammation.

## **Material and methods**

The study was conducted in accordance with the protocol and applicable good clinical practice requirements in Europe, French law and ICH E6 recommendations, ethical principles that have their origin in the Helsinki Declaration (South Africa 1996 and Edinburgh 2000). The study was approved by an independent ethics committee (Comité de Protection des Personnes, Grenoble, France) on the 4 January 2006 and registered on the ClinicalTrials.gov site (NCT00273767). Written informed consent was obtained

from all included patients. An external data quality control was performed systematically for some criteria (such as informed consent, complications, adverse events) and by a random selection of 10% of the case report form for other criteria.

#### *Patients:*

This trial was a pilot study and no data on the expected effect of EPO on ischemic markers studied here was available at its beginning. Therefore the determination of the patient number (25 patients per group) was based on a previous trial investigating the protective effect of EPO in the setting of stroke (with 20 patients per group [8]). Patients scheduled for elective non emergency CABG surgery at the department of cardiac surgery (Grenoble University Hospital, France), aged over 18 years and less than 80 years, with left ventricular ejection fraction > 40% and who gave a written informed consent, were eligible.

Patients presenting any one of the following criteria were excluded: non isolated coronary surgery such as valvular surgery or associated carotid graft surgery or surgery without CPB or with beating heart, history of prior stroke or infarction (of less than one month), history of cardiac surgery, renal failure (creatinin level > 200  $\mu\text{mol. L}^{-1}$ ), uncontrolled hypertension, unstable angina, risk of deep venous thrombosis, cancer, allergy to EPO, phenylketonuria, pregnant or lactating women, history of planned blood donation.

#### *Treatment:*

Patients were electronically randomized to receive placebo or EPO treatment. The randomization key was prepared by a statistician independent of the study and held by an independent pharmacist who prepared the administered treatment. Investigators, patients and the medical team were blinded to treatment allocation. Patients randomly allocated to the EPO group received 800  $\text{IU.kg}^{-1}$  epoietin beta (NeoRecormon<sup>®</sup>, Roche Laboratories<sup>®</sup>, France), slowly administered intravenously (in 60 mL, in 30 min) 1 to 3 hours before CPB beginning, at the anesthesia induction (after a blood collection for baseline data, Ti). Dosage of EPO was chosen as the highest NeoRecormon<sup>®</sup> dose recommended in humans for a single intravenous injection for autologous blood donation. Patients randomly allocated to the control group received placebo (60 mL saline) comparably administered. The timing of EPO administration was based on previous experimental studies on rodents suggesting that pretreatment with EPO is optimal when given 1 h before an ischemic injury [22].

#### *Peroperative procedure*

All patients received oral premedication with hydroxyzine 100 mg, 60 to 90 minutes prior to induction of anesthesia. Prior to CPB, anesthesia was maintained with a continuous target controlled infusion of propofol. Monitoring consisted of a radial fluid filled arterial line, 5 lead electrocardiogram, end-tidal  $\text{CO}_2$  and gas monitor, central venous pressure, and temperature. Patients were mechanically ventilated with a mixture of air/ $\text{O}_2$  ( $\geq 60\%$   $\text{O}_2$  according to the anesthesiologist's judgment). The tidal volume (approximately 8  $\text{mL.kg}^{-1}$ ) and the ventilatory rate (approximately 12-14  $\text{min}^{-1}$ ) were set to achieve a  $\text{PaCO}_2$  or an end tidal  $\text{CO}_2$  between 28 and 35 mmHg.

Median sternotomy was performed with harvesting of saphenous veins and internal thoracic or gastroepiploic arteries. After administration of heparin (300  $\text{IU.kg}^{-1}$ ), the ascending aorta and the right atrium were cannulated and standard CPB with a disposable hollow fiber oxygenator was started with a target output of 2.4  $\text{L.min}^{-1}.\text{m}^2$  body surface area. Activated coagulation time

was kept above 400 s throughout the CPB period. CPB was performed under mild hypothermia ( $> 32^{\circ}\text{C}$ ). Myocardial protection was achieved using a mixture of cold arterial blood ( $4^{\circ}\text{C}$ ) and Saint Thomas' Hospital crystalloid cardioplegic solution. The cardioplegic solution was injected into the aortic root immediately after aortic cross-clamping and a retrograde infusion was performed after cardiac arrest and reinfused between each graft. The CABG were performed by the same surgeon. At the end, a warm retrograde reinfusion was performed and the heart was defibrillated after aortic unclamping if sinus rhythm did not resume spontaneously. After the weaning of CPB, anesthesia was maintained with propofol and remifentanyl. The infusion of propofol was continued for intensive care unit (ICU) sedation purposes until central temperature was greater than  $35.5^{\circ}\text{C}$ , mediastinal bleeding was less than  $50 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$  and hemodynamic stability was achieved. Therefore the patients were extubated when pressure support ventilation was well tolerated during 30 minutes, usually between 2 and 4 hours after the arrival in the ICU.

Patients were evaluated during surgery until the second postoperative day.

#### *Outcomes*

The primary end point was the effect of EPO administration on postoperative serum level of different markers of cardiac ischemia, such as troponin T, N-terminal probrain natriuretic peptide (NT-proBNP) and CK-MB. For each marker, the maximal blood level (defined as the highest value observed between the end of CPB until 48 h after surgery) and the area under the curve (AUC) were determined.

The secondary objectives of the study were to determine the effect of EPO administration on postoperative serum level of the cerebral ischemic marker S100 $\beta$  protein (maximal blood level and AUC) and of circulating EPO and various inflammation markers (TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-10) at T6.

The following clinical safety parameters were also collected: mortality during hospitalization, the volume of post-operative bleeding, the need for surgical re-intervention in the 15 days following CABG, the need for positive inotropic drug administration in the 48 hours following the surgery.

#### *Biological measurements*

Blood samples for measurement of troponin T, NT-proBNP, CK-MB and S100 $\beta$  protein were collected at the induction of anesthesia (Ti for baseline), just after the end of CPB (T0) and 6 h (T6), 12 h (T12), 24 h (T24) and 48 h (T48) later. Troponin T was measured in plasma using an immunoassay with chemiluminescence of the specific troponin T isoform. NT-proBNP plasma level was measured using a specific immunoassay. CK-MB was measured in plasma using an ultraviolet immunoassay. Plasma levels of S100 $\beta$  protein were measured using an immunoradiometric assay. All the kits used for these dosages were from Roche Diagnostic Laboratories<sup>®</sup>.

Blood samples for measurement of EPO and inflammatory markers were collected at the anesthesia induction (Ti for baseline) and 6 h after the end of CPB (T6). Serum level of EPO measurement was performed using an ELISA kit (DiaSorin Laboratories<sup>®</sup>). Blood level of inflammatory markers (TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-10) was measured using an ELISA technique (Roche Diagnostic Laboratories<sup>®</sup>).

#### *Statistical analysis*

The *intention to treat* population includes all patients who signed the informed consent form. The *per protocol* population include

all patients who were randomized to the study and who followed the scheduled design.

Data were expressed as mean  $\pm$  SD. Statistical analysis was performed by using SAS<sup>®</sup> (8.2 version) software. An analysis of variance was performed for the quantitative data. In cases of data recorded at different times, a repeated measure analysis of variance was performed, followed by a Tukey *post hoc* test when necessary. For qualitative data, a Chi-2 test or a Fisher test was performed. All *p* values were two-tailed and a *p* value  $<0.05$  was considered significant.

For each cardiac and cerebral ischemic marker, values were compared at each measure point (Ti, T0, T6, T12, T24 and T48), at the maximal blood level (defined as the highest value observed between the end of CPB until 48 h after surgery) and for the AUC (from T0 to T48), between the EPO and control groups.

## **Results**

Fifty patients were included and randomized in this trial (n=25 in the EPO group, n=25 in the control group) between 23 April 2006 and 2 July 2009 (see the flow-chart presented in figure 1). One patient of the EPO group received only 80 IU.kg<sup>-1</sup> EPO (following an error of the dose calculation) but was not excluded because of the intent to treat study. One patient did not receive his treatment during surgery. Another patient had an air embolism in a saphenous graft, with transient ST-segment elevation followed by an abnormal increase of troponin. For both these patients, identified in the EPO group, per- and postoperative data were not taken into account, but their postoperative courses were normal. Therefore preoperative data were from 25 patients in both groups whereas per- and postoperative data were from 25 patients in the control group and from 23 patients in the EPO group.

### *Patient characteristics*

There was no significant difference regarding preoperative demographic data and predictive additive risk determined by EuroSCORE (European System for Cardiac Operative Risk Evaluation), which showed a low risk in both groups. The only difference in patient characteristics involved the number of vessel diseases. Indeed, the percentage of patients with 3 vessel disease was significantly higher in the EPO group compared to the control group which contained many more patients with 2 vessel disease (Table 1). The number of bypass grafts and the duration of aortic crossclamping were similar in the both groups (Table 1). Length of postoperative mechanical ventilation and stay in ICU, as well as length of hospital stay did not differ between the two groups (Table 1). The number of patients with one or more episodes of postoperative atrial fibrillation did not differ (control group: 4/25; EPO group: 3/23). None of patients died during the observation period.

### *Baseline data*

Biological parameters, measured at the induction of anesthesia (Ti, before treatment administration and CPB beginning), are presented in tables 2 and 3. Baseline values of troponin T, NT-proBNP, CK-MB, S100 $\beta$  protein (Table 2) and inflammatory cytokines (Table 3) did not differ significantly between the two groups. Hematological parameters (endogenous EPO, hemoglobin and hematocrit) did not differ between the two groups at Ti (Table 3).

### *Ischemic markers*

As shown in figure 2, CABG with CPB greatly increased post-CPB plasma concentrations of cardiac (troponin T, NT-proBNP, CK-MB) and cerebral (S100 $\beta$  protein) ischemic markers, compared with baseline data (at Ti). EPO administration before CPB did not prevent the increase of all these markers following CPB.

The post-CPB peak value of troponin T, observed at T6, was not significantly different in the two groups, (reaching to  $0.59 \pm 0.54 \mu\text{g.L}^{-1}$  in the EPO group vs  $0.41 \pm 0.45 \mu\text{g.L}^{-1}$  in the control group,  $p = 0.21$ ). The AUC (from T0 to T48) of troponin T did not differ between the two groups ( $15.3 \pm 8.0 \text{ h.}\mu\text{g.L}^{-1}$  for the EPO group vs  $11.7 \pm 6.6 \text{ h.}\mu\text{g.L}^{-1}$  for the control group,  $p = 0.11$ ) (Figure 2, panel A).

The maximal blood level of NT-proBNP observed at T48 did not significantly differ between groups, reaching to  $2506 \pm 1918 \text{ ng.L}^{-1}$  for the EPO group vs  $2033 \pm 1599 \text{ ng.L}^{-1}$  for the control group ( $p = 0.36$ ). Similarly, the AUC of NT-proBNP was not different in the two groups ( $74860 \pm 73337 \text{ h.}\text{ng.L}^{-1}$  for the EPO group vs  $57161 \pm 56477 \text{ h.}\text{ng.L}^{-1}$  for the control group,  $p = 0.37$ ) (Figure 2, panel B).

Similarly, EPO treatment did not modify either the post-CPB maximum blood CK-MB level observed at T6 ( $31.8 \pm 14.9 \mu\text{g.L}^{-1}$  in the EPO group vs  $29.4 \pm 14.9 \mu\text{g.L}^{-1}$  in the control group,  $p = 0.58$ ) nor the CK-MB AUC (from T0 to T48) ( $829 \pm 456 \text{ h.}\mu\text{g.L}^{-1}$  for the EPO group vs  $786 \pm 330 \text{ h.}\mu\text{g.L}^{-1}$  for the control group,  $p = 0.72$ ) (Figure 2, panel C).

Finally, the maximum blood level of S100 $\beta$  protein, observed immediately after CPB (at T0), was not significantly different between the two groups ( $1.77 \pm 1.26 \mu\text{g.L}^{-1}$  in the EPO group vs  $1.50 \pm 0.82 \mu\text{g.L}^{-1}$  in the control group,  $p = 0.37$ ). The AUC (from T0 to T48) of S100 $\beta$  protein was not different between the two groups ( $9.7 \pm 4.5 \text{ h.}\mu\text{g.L}^{-1}$  for the EPO group vs  $10.6 \pm 3.5 \text{ h.}\mu\text{g.L}^{-1}$  for the control group,  $p = 0.42$ ) (Figure 2, panel D).

### *Inflammatory markers*

Six hours after the end of CPB (at T6), blood concentration of TNF- $\alpha$ , was not significantly different from baseline data (at Ti) in the two groups (Table3).

However at T6, blood concentrations of IL-6 and IL-10 were significantly higher than their baseline level (at Ti). EPO treatment did not modify the increase in IL-6 and IL-10 induced by CABG with CPB, (Table 3).

### *Hematological parameters*

In the control group, the plasma level of endogenous EPO measured at T6 was significantly higher compared with the baseline value at Ti, reflecting the effect of CABG with CPB. Exogenous EPO ( $800 \text{ IU.kg}^{-1}$ ) administration before CPB significantly increased EPO plasma level measured at T6 (table 3).

Hemoglobinemia and hematocrit decreased significantly just after the end of CPB (at T0, Hg:  $104 \pm 12 \text{ g.L}^{-1}$  and Ht:  $30 \pm 1\%$ ) compared with their baseline data at Ti (Hg:  $132 \pm 11 \text{ g.L}^{-1}$  and Ht:  $38 \pm 3\%$ ), showing the hemodilution induced by the CPB. These effects were not modified by prior EPO treatment.

*Postoperative complications* did not differ between the both groups. Indeed, the clinical safety parameters observed, such as mortality during the hospitalization, the volume of post-operative bleeding, the need for surgical re-intervention in the 15 days following CABG (data not shown), and the need for positive inotropic drug administration in the 48 hours following the surgery (Table 1) did not differ between the two groups.

## **Discussion**

Despite the overwhelming evidence of the efficacy of EPO in preventing tissue injury from ischemia-reperfusion in experimental models [4], only a few studies investigating the effects in humans have emerged so far. Ehrenreich *et al* [8] were the first to show the neuroprotective potential of EPO in patients with ischemic stroke, observing that functional outcome on day 30, infarct size, and S100 $\beta$  protein levels were improved by the early administration of high-dose EPO (33,000 IU of EPO once daily on 3 consecutive days after stroke). Here we showed that one large dose of EPO, 800 IU.kg<sup>-1</sup> epoetin beta, given shortly before CPB, failed to induce protection against cardiac and cerebral ischemia and inflammatory response occurring during CABG surgery with CPB.

These results can be accounted for by several explanations.

- The first explanation could be simply the absence of EPO tissue protection in the specific setting of ischemia-reperfusion injury induced by cardiopulmonary bypass. This was also the case for another clinical trial investigating the effect of preoperative administration of a single bolus of 40,000 IU epoetin alpha on cardiac markers after CABG surgery with CPB [23]. Indeed in this study, post-surgical troponin I and CK-MB peak levels were not modified by prior EPO administration. Our results are also in accordance with another clinical study showing that two large preoperative doses of EPO (500 IU.kg<sup>-1</sup> epoetin alpha administered 12-18 h preoperatively and again at the induction of anesthesia) do not reduce the systemic inflammatory response to CABG surgery with CPB [21]. Finally, in patients presenting a first acute myocardial infarction, a different ischemia-reperfusion setting, early administration of a single dose of darbopoietin alpha is able to increase the number of endothelial progenitor cells but has no effect on left ventricular ejection fraction at four months follow-up [24].

- Another explanation may be that the timing and dosage of EPO administration may not have been optimal. Although experimental studies in rodents suggest that pretreatment within a few hours before an ischemic insult is optimal, the pharmacodynamic conditions in humans are unknown. Moreover in rodents most studies use higher EPO doses such as 1,000 or 5,000 IU.kg<sup>-1</sup> [4]. For example in mice, an intra-peritoneal administration of 5,000 IU.kg<sup>-1</sup> of EPO reaches a peak serum concentration of 25,000 mIU.mL<sup>-1</sup> after approximately 4 hours and subsequently decays slowly to baseline levels over the next 20–30 hours [7]. Notably, concerns about safety are still the main reason to refrain from testing the use of these very high doses in humans. In our study, we observed that exogenous EPO (800 IU.kg<sup>-1</sup>) administration before CPB significantly enhanced plasma EPO levels (around 5,000 mIU.mL<sup>-1</sup>) measured approximately 9 hours after (at T6), without any hematological effect. Thus, one possible hypothesis is that the dose of EPO used here was too low to induce tissue-protection against CABG injury. Another recent clinical study has demonstrated feasibility and safety of the use of a higher EPO dose (1,500 IU.kg<sup>-1</sup>) as a neuroprotectant in CABG surgery, showing a trend in the reduction of neurocognitive dysfunction at two months follow-up [25]. Thus other controlled trials using higher EPO doses and other administration times are warranted.

- In our study, it may be noted that the number of vessel diseases in patients was differed in the two groups. Indeed, the percentage of patients with 3 vessel disease was significantly higher in the EPO group than in the control group which contained many more patients with 2 vessel disease. This could explain why EPO treatment failed to protect against CABG surgery injury, since patients

in the EPO group presenting more severe vessel disease requiring a higher (but not statistically significant) bypass number than patients in the control group.

### **Conclusions**

In our population, EPO administration before CPB did not protect against cardiac and cerebral ischemia and inflammatory response occurring during cardiac surgery with CPB. Although the long-term clinical impact remains unknown, the findings do not support use of EPO as cytoprotective agent or as anti-inflammatory drug in patients undergoing cardiac surgery, at least at this dose regimen. Further larger-scale studies are warranted to test the efficacy of other higher EPO doses and administration times to improve cardiac and cerebral recovery and to prevent systemic inflammation following cardiac surgery.

### **List of abbreviations**

BNP	brain natriuretic peptide
CABG	coronary artery bypass graft
CK-MB	Creatine kinase MB isoenzyme
CPB	cardiopulmonary bypass
EPO	erythropoietin
EPOR	EPO receptor
EuroSCORE	European System for Cardiac Operative Risk Evaluation
ICU	intensive care unit
IL	interleukin
NT-proBNP	N-terminal pro-brain natriuretic peptide
TNF- $\alpha$	tumor necrosis factor-alpha

### **Acknowledgments**

This study was supported by a grant from the regional “Programme Hospitalier de Recherche Clinique” in Grenoble, France. We would like to thank Roche Laboratories who kindly provided the epoetin beta (NeoRecormon®) used in this study and its subsidiary company, Roche Diagnostics Laboratories®, which kindly provided all kit reagents used for the measurement of cardiac and cerebral ischemic and inflammatory markers. We also would like to thank the other investigators or correspondents from the Grenoble Hospital Center for their constant help: Pr. D. Blin, Dr. V. Bach, Dr. P. Porcu, Dr. V. Costache (of the Cardiac Surgery Department), Dr. M.-C. Berthet, Dr. M. Casez-Brasseur, Dr. G. Dessertaine, Dr. Y. Dubois, Dr. F. Gattaz, Pr. P. Girardet, Dr. M. Lefèvre, Dr. B. Maitrasse, Dr. L. Neron, Dr. D. Rhem and Dr. Y. Tessier (of the Anesthesia-ICU Department), Pr. J.-L. Cracowski and H. Iturzaeta (of the Clinical Research Center of Grenoble, France), Pr. P. Faure, Dr. J.-L. Lafond and Dr. J.-C. Renversez (of the Integrative Biology Department, University Hospital of Grenoble, France), and Dr. C. Barro and Pr. B. Polack (of the Hematology Department, University Hospital of Grenoble, France). Finally, we would like to thank Dr. L. Chorfa (of the Grenoble Hospital Pharmacy) for her precious help in EPO preparation and dispensation.

## References

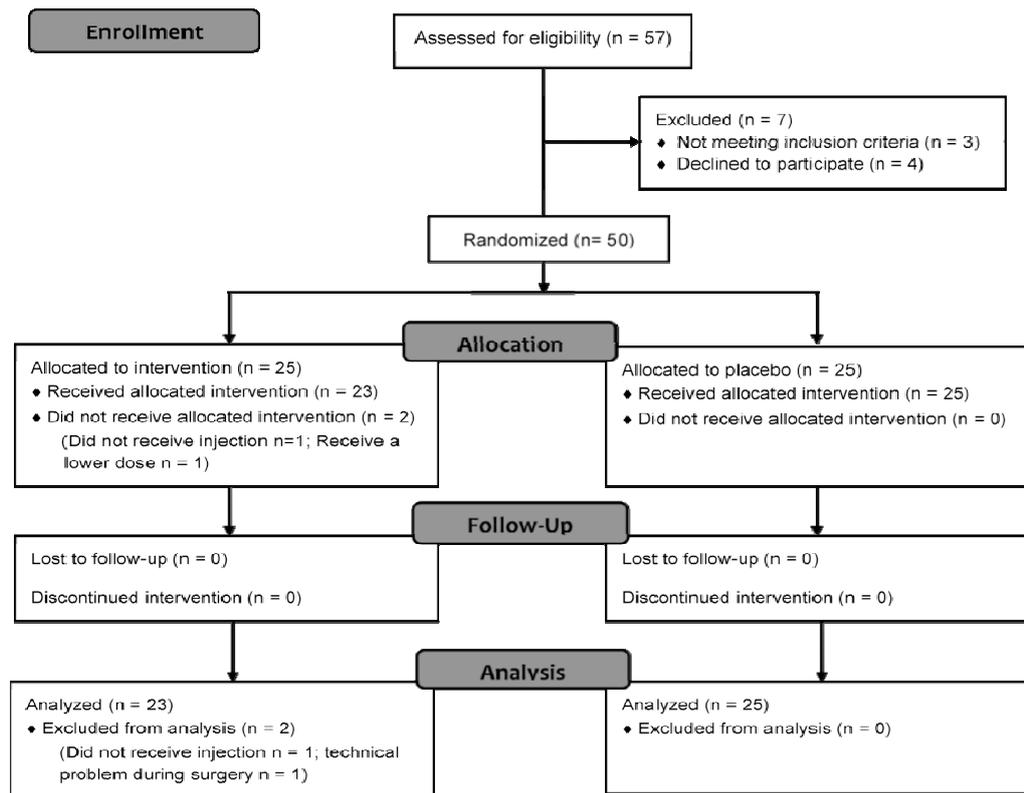
1. Dunn CJ, Markham A. Epoetin beta. A review of its pharmacological properties and clinical use in the management of anaemia associated with chronic renal failure. *Drugs* 1996; 51(2):299-318.[PubMed: 8808169]
2. Fisher JW. Erythropoietin: physiology and pharmacology update. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228(1):1-14.[PubMed: 12524467]
3. Ng T, Marx G, Littlewood T, Macdougall I. Recombinant erythropoietin in clinical practice. *Postgrad Med J* 2003; 79(933):367-76.[PubMed: 12897214]
4. Joyeux-Faure M. Cellular protection by erythropoietin: new therapeutic implications? *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 323(3):759-62.[PubMed: 17717190]
5. Siren AL, Knerlich F, Poser W, et al. Erythropoietin and erythropoietin receptor in human ischemic/hypoxic brain. *Acta Neuropathol* 2001; 101(3):271-6.[PubMed: 11307627]
6. Bogoyevitch MA. An update on the cardiac effects of erythropoietin cardioprotection by erythropoietin and the lessons learnt from studies in neuroprotection. *Cardiovasc Res* 2004; 63(2):208-16.[PubMed: 15249178]
7. Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, et al. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(19):10526-31.[PubMed: 10984541]
8. Ehrenreich H, Hasselblatt M, Dembowski C, et al. Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial. *Mol Med* 2002; 8(8):495-505.[PubMed: 12435860]
9. Joyeux-Faure M, Godin-Ribuot D, Ribuoat C. Erythropoietin and myocardial protection: what's new? *Fundam Clin Pharmacol* 2005; 19(4):439-46.[PubMed: 16011730]
10. Joyeux-Faure M, Ramond A, Beguin PC, et al. Early pharmacological preconditioning by erythropoietin mediated by inducible NOS and mitochondrial ATP-dependent potassium channels in the rat heart. *Fundam Clin Pharmacol* 2006; 20(1):51-6.[PubMed: 16448394]
11. Takeda S, Nakanishi K, Ikezaki H, et al. Cardiac marker responses to coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass and aortic cross-clamping. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2002; 16(4):421-5.[PubMed: 12154418]
12. Crescenzi G, Cedrati V, Landoni G, et al. Cardiac biomarker release after CABG with different surgical techniques. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2004; 18(1):34-7.[PubMed: 14973796]
13. Morimoto K, Mori T, Ishiguro S, et al. Perioperative changes in plasma brain natriuretic peptide concentrations in patients undergoing cardiac surgery. *Surg Today* 1998; 28(1):23-9.[PubMed: 9505313]
14. Avidan MS, Meehan N, Ponte J, et al. Changes in brain natriuretic peptide concentrations following open cardiac surgery with cardioplegic cardiac arrest. *Clin Chim Acta* 2001; 303(1-2):127-32.[PubMed: 11163032]
15. Westaby S, Johnsson P, Parry AJ, et al. Serum S100 protein: a potential marker for cerebral events during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1996; 61(1):88-92.[PubMed: 8561645]
16. Ali MS, Harmer M, Vaughan R. Serum S100 protein as a marker of cerebral damage during cardiac surgery. *Br J Anaesth* 2000; 85(2):287-98.[PubMed: 10992840]
17. Johnsson P, Backstrom M, Bergh C, et al. Increased S100B in blood after cardiac surgery is a powerful predictor of late mortality. *Ann Thorac Surg* 2003; 75(1):162-8.[PubMed: 12537211]
18. Kerbaul F, Collart F, Giorgi R, et al. Increased plasma levels of pro-brain natriuretic peptide in patients with cardiovascular complications following off-pump coronary artery surgery. *Intensive Care Med* 2004; 30(9):1799-806.[PubMed: 15138672]
19. Murphy GJ, Angelini GD. Side effects of cardiopulmonary bypass: what is the reality? *J Card Surg* 2004; 19(6):481-8.[PubMed: 15548178]
20. Laffey JG, Boylan JF, Cheng DC. The systemic inflammatory response to cardiac surgery: implications for the anesthesiologist. *Anesthesiology* 2002; 97(1):215-52.[PubMed: 12131125]
21. Poulsen TD, Andersen LW, Steinbruchel D, et al. Two large preoperative doses of erythropoietin do not reduce the systemic inflammatory response to cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009; 23(3):316-23.[PubMed: 18948032]
22. Lipsic E, van der Meer P, Henning RH, et al. Timing of erythropoietin treatment for cardioprotection in ischemia/reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004; 44(4):473-9.[PubMed: 15454856]

23. Mocini D, Muso P, Guendouz E, et al. Endogenous erythropoietin and a single bolus of 40,000 IU of epoetin alpha do not protect the heart from ischaemia-reperfusion injury during extracorporeal circulation for cardiac surgery. *Perfusion* 2008; 23(3):187-92.[PubMed: 19029270]
24. Lipsic E, van der Meer P, Voors AA, et al. A single bolus of a long-acting erythropoietin analogue darbepoetin alfa in patients with acute myocardial infarction: a randomized feasibility and safety study. *Cardiovasc Drugs Ther* 2006; 20(2):135-41.[PubMed: 16761193]
25. Haljan G, Maitland A, Buchan A, et al. The erythropoietin neuroprotective effect: assessment in CABG surgery (TENPEAKS): a randomized, double-blind, placebo controlled, proof-of-concept clinical trial. *Stroke* 2009; 40(8):2769-75.[PubMed: 19556536]

## Figure legends

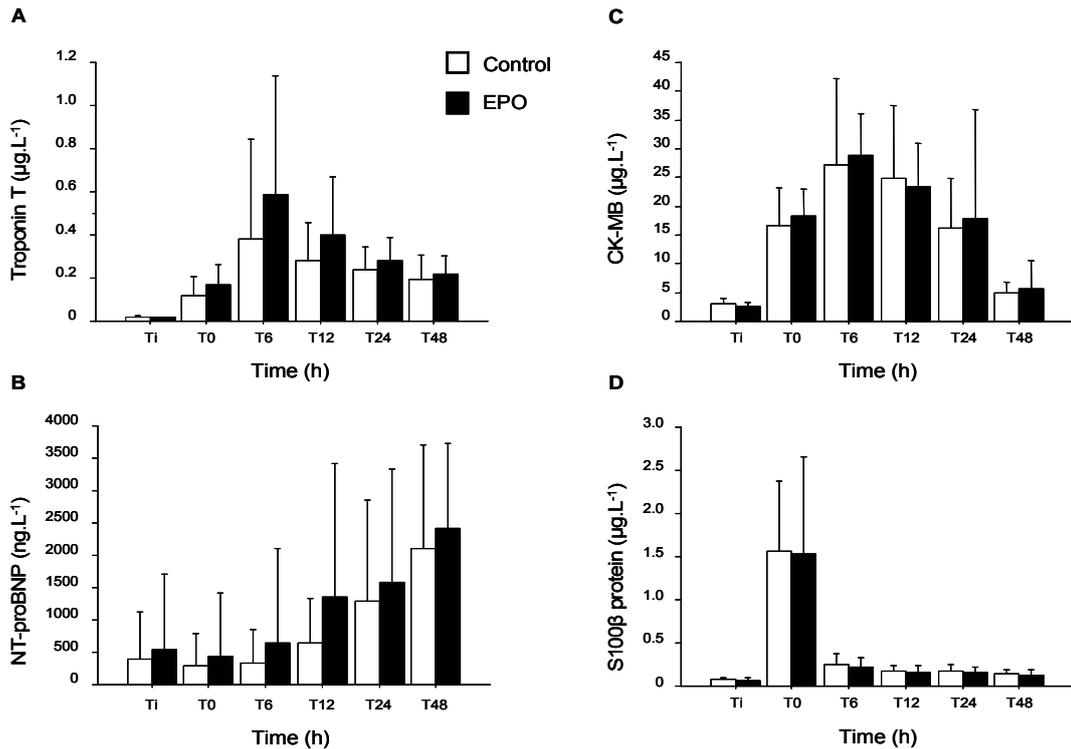
### Figure 1.

Flow-chart of the study with the recruitment, allocation, follow-up and applied analysis.



**Figure 2.**

Evolution of post-CPB plasma concentrations of cardiac (troponin T (panel A), NT-proBNP (panel B), CK-MB (panel C)) and cerebral (S100 $\beta$  protein (panel D)) ischemic markers, measured just after the end of CPB (T0), and 6 h (T6), 12 h (T12), 24 h (T24) and 48 h (T48) after. Open bar, control group of patient receiving vehicle; black bar, EPO group of patients treated with 800 IU.kg<sup>-1</sup> epoetin beta before CPB. Data are mean  $\pm$  SD.



**Table 1.** Patient characteristics.

	<b>Control group (n=25)</b>	<b>EPO group (n=25)</b>	<b>P value</b>
<b>Preoperative data</b>			
Sex (M/F)	24/1	24/1	
Age (y)	61 ± 7	65 ± 8	0.13
Weight (kg)	80 ± 11	76 ± 10	0.18
Ejection fraction (%)	61 ± 9	64 ± 11	0.34
EuroSCORE	1.8 ± 1.9	2.6 ± 2.0	0.19
(median/range)	2 (0-8)	3 (0-8)	
Hypertension (n (%))	17 (68%)	16 (64%)	0.77
Diabetes (n (%))	8 (32%)	7 (28%)	0.76
Peripheral arteriopathy (n (%))	4 (16%)	5 (20%)	0.71
Number of vessel diseases			0.03
2 vessel disease (n (%))	8 (32%)	2 (8%)	
3 vessel disease (n (%))	17 (68%)	23 (96%)	
Preoperative medication (n (%))			
ACE-inhibitor (n (%))	15 (60%)	11 (44%)	0.40
Betablocker (n (%))	19 (76%)	23 (92%)	0.25
Statin (n (%))	22 (88%)	23 (92%)	1.00
Insulin (n (%))	3 (12%)	3 (12%)	1.00
Platelet inhibitor (n (%))	25 (100%)	25 (100%)	1.00
<b>Peroperative data</b>			
	<b>(n=25)</b>	<b>(n=23)</b>	
CPB time (min)	70 ± 22	72 ± 15	0.70
Aortic crossclamping time (min)	45 ± 14	49 ± 10	0.31
Minimal temperature during CPB (°C)	33.0 ± 1.3	32.6 ± 1.0	0.24
Number of bypasses	3.4 ± 1.1	3.7 ± 0.6	0.26
(median/range)	3 (2-6)	4 (3-5)	
<b>Postoperative data</b>			
	<b>(n=25)</b>	<b>(n=23)</b>	
Duration of mechanical ventilation (h)	3.6 ± 1.3	4.0 ± 1.1	0.26
Duration of stay in ICU (d)	1.4 ± 0.8	1.4 ± 0.8	0.84
Duration of hospital stay (d)	10.5 ± 4.9	9.0 ± 3.4	0.22
Peroperative inotropic drug	6 (24%)	4 (17%)	0.57
Postoperative inotropic drug	5 (20%)	4 (17%)	0.82
Postoperative atrial fibrillation	4 (16%)	3 (13%)	0.77

ACE-inhibitors, inhibitors of angiotensin-converting enzyme; CPB, cardiopulmonary bypass; EuroSCORE, European System for Cardiac Operative Risk Evaluation; IUC, intensive care unit. Data are mean ± SD or number (%).

**Table 2.** Baseline data of ischemic markers, before treatment and CPB.

	<b>Control group (n=25)</b>	<b>EPO group (n=23)</b>	<b>P value</b>
troponin T ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	0.01 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.00	0.34
NT-proBNP ( $\text{ng.L}^{-1}$ )	378 $\pm$ 701	512 $\pm$ 1125	0.62
CK-MB ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	2.9 $\pm$ 1.0	2.6 $\pm$ 0.6	0.18
S100 $\beta$ protein ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	0.07 $\pm$ 0.02	0.08 $\pm$ 0.02	0.45

CPB, cardiopulmonary bypass; Ti, baseline time before treatment and CPB; NT-proBNP, N-terminal pro-brain natriuretic peptide; CK-MB, creatine kinase MB isoenzyme. Data are mean  $\pm$  SD.

**Table 3.** Inflammatory and hematological parameters, measured at baseline and 6 hours after CPB.

<b>Group (n)</b>	<b>Control (n=25)</b>	<b>EPO (n=23)</b>	<b>Control (n=25)</b>	<b>EPO (n=23)</b>
	<b>Baseline data at Ti</b>		<b>Data at T6</b>	
TNF- $\alpha$ ( $\text{ng.L}^{-1}$ )	12.1 $\pm$ 3.6	14.5 $\pm$ 6.4	12.7 $\pm$ 4.5	19.9 $\pm$ 17.3
IL-6 ( $\text{ng.L}^{-1}$ )	15.0 $\pm$ 7.8	15.3 $\pm$ 6.2	198.6 $\pm$ 89.7*	239.3 $\pm$ 163.9*
IL-10 ( $\text{ng.L}^{-1}$ )	16.8 $\pm$ 10.1	19.9 $\pm$ 14.0	29.7 $\pm$ 14.4*	30.2 $\pm$ 18.0*
EPO ( $\text{mIU.mL}^{-1}$ )	8 $\pm$ 4	7 $\pm$ 3	21 $\pm$ 17*	4945 $\pm$ 1567* <sup>s</sup>

CPB, cardiopulmonary bypass; Ti, baseline time before treatment and CPB; T6, 6 hours after the end of CPB; TNF- $\alpha$ , tumor necrosis factor-alpha; IL-6, interleukin 6; IL-10, interleukin 10. Data are mean  $\pm$  SD. \*  $p < 0.05$  vs Ti data from the same group. <sup>s</sup>  $p < 0.05$  vs the control group at the same time.

## **VIII Références bibliographiques**

1. Kouwenhoven WB, Jude JR, Knickerbocker GG. Close chest cardiac massage. *JAMA* 1960;173:1064-7.
2. Hachimi-Idrissi S, Leeman J, Hubloue Y et al. Open chest cardiopulmonary resuscitation in- out-of hospital cardiac arrest. *Resuscitation* 1997;35:151-6.
3. Zoll PM, Limenthal AJ, Norman LR et al. Treatment of unexpected cardiac arrest by external electric stimulation of the heart. *N Engl J Med* 1956; 254:541-6.
4. Grahalm N, Rumsfel J, Eigel B, et al. Essential features of designating out-of-hospital cardiac arrest as a reportable event. *Circulation* 2008; 117: 2299-2308.
5. Herlitz J, Engdahl J, Svensson L, et al. Changes in demographic factors and mortality after out-of-hospital cardiac arrest in Sweden. *Coron Artery Dis* 2005;16:51-7.
6. Pochmalicki G, Le Tarnec JY, Franchi JP, et al. Management of sudden death in a semi-rural district, Seine et Marne: the DEFI 77 study. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2007;100:838-44.
7. Herlitz J, Eek M, Engdahl J, et al. Factors at resuscitation and outcome among patients suffering from out-of-hospital cardiac arrest in relation to age. *Resuscitation* 2003;58:309-17.
8. Herlitz J, Eek M, Engdahl J, et al. Can we define patients with no chance of survival after out-of-hospital cardiac arrest? *Heart* 2004; 90:114-8.
9. Iwami T, Kawamura T, Hiraide A et al. Effectiveness of by-stander-initiated cardiac-only resuscitation for patients with out-of-hospital cardiac arrest. *Circulation* 2007;116: 2900-7.
10. Norris RM. Circumstances of out-of-hospital cardiac arrest in patient with ischaemic heart disease. *Heart* 2005;91:1537-40.
11. Bardy GH, Lee KL, Mark DB, et al. Home use of automated external defibrillators for sudden cardiac arrest. *N Engl J Med* 2008;358:1793-804.
12. Myerburg RJ, Kessler KM, Zaman L, et al. Survivors of prehospital cardiac arrest. *JAMA* 1982;247:1485-90.

13. Eisenberg MS, Cummins RO, Damon S, et al. Survival rates from out-of-hospital cardiac arrest : recommendation for uniform definitions and data to report. *Ann Emerg Med.* 1990;19:179-186.
14. Reimer KA, Jennings RB. The «Wavefront phenomenon» of myocardial ischemic cell death. Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size (myocardium at risk) and collateral flow. *Lab Invest* 1979 ;6:633-644.
15. Jennings RB, Sommers HM, Smyth GA, et al. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of the coronary artery in the dog. *Arch Pathol* 1960;70:68-78.
16. Hearse DJ, Bolli R. Reperfusion induced injury: manifestations, mechanisms and clinical relevance. *Cardiovasc Res* 1992;26:101-108.
17. Negovsky VA. The second step in resuscitation-the treatment of the « post-resuscitation disease ». *Resuscitation* 1972;1: 1-7.
18. Cerchiari EL, Safar P, Klein E, et al. Cardiovascular function and neurologic outcome after cardiac arrest in dogs. The cardiovascular post-resuscitation syndrome. *Resuscitation* 1993;25:9-33.
19. Cerchiari EL, Safar P, Klein E, Diwen W. Visceral, hematologic and bacteriologic changes and neurologic outcome after cardiac arrest dogs. The visceral post-resuscitation syndrome. *Resuscitation* 1993;25:119-36.
20. Negovsky VA, Gurvitch AM. Post-resuscitation disease: a new nosological entity. Its reality and significance. *Resuscitation* 1995;30: 23-7.
21. Grace PA. Ischemia reperfusion injury. *Br J Surg* 1994 ;81:637-47.
22. Geppert A, Zorn G, Delle-Karth G et al. Plasma concentrations of Von Willebrand and intracellular adhesion molecule-1 for prediction of outcome after successful cardiopulmonary resuscitation. *Crit Care Med* 2003;31:805-11.
23. Adrie C, Adib-Conquy M, Laurent I, et al. Successful cardiopulmonary resuscitation after cardiac arrest as a « sepsis-like » syndrome. *Circulation* 2002;106:562-8.
24. Gando S, Nanzaki S, Morimoto Y, Kobayashi S, Kemmotsu O. Alteration of soluble L- and P-selectins during cardiac arrest and CPR. *Intensive Care Med* 1999 ;25 :588-93.
25. Gando S, Nanzaki S, Morimoto Y, Kobayashi S, Kemmotsu O. Out-of-hospital cardiac arrest increase soluble vascular endothelial adhesion molecules and neutrophil elastase associated with endothelial injury. *Intensive Care Med* 2000;26: 38-44.

26. Geppert A, Zorn G, Karth GD et al. Soluble selectins and the systemic inflammatory response syndrome after successful cardiopulmonary resuscitation. *Crit care Med* 2000;28: 2360-65.
27. Laurent I, Monchi M, Chiche JD et al. Reversible myocardial dysfunction in survivors of out-of-hospital cardiac arrest. *J Am Coll Cardiol* 2002;40: 2110-6.
28. Gazmuri RJ, Weil MH, Bisera J et al. Myocardial dysfunction after successful resuscitation from cardiac arrest. *Crit Care Med* 1996 ;24 :992-1000.
29. Kern KB, Hilwig RW, Berg RA, et al. Post-resuscitation left ventricular systolic and diastolic dysfunction. Treatment with dobutamine. *Circulation* 1997;95:2610-3.
30. Kern KB, Hilwig RW, Rhee KH, Berg RA. Myocardial dysfunction after resuscitation from cardiac arrest: an example of global myocardial stunning. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:232-40.
31. Laurent I, Monchi M, Chiche JD et al. Reversible myocardial dysfunction in survivors of out-of-hospital cardiac arrest. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:2110-6.
32. Spaulding CM, Joly LM, Rosenberg A, et al. Immediate coronary angiography in survivors of out-of-hospital cardiac arrest. *N Engl J Med* 1997;336:1629-33.
33. Laver S, Farrow C, Turner D, et al. Mode of death after admission to an intensive care unit following cardiac arrest. *Intensive Care Med* 2004;30:2126-8.
34. Adrie C, Cariou A, Mourvillier B et al. Predicting survival with good neurological recovery at hospital admission after successful resuscitation of out-of-hospital cardiac arrest: the OHCA score. *Eur Heart J* 2006 ; 27 :2840-5.
35. Edgren E, Enblad P, Grenvik A, et al. Cerebral blood flow and metabolism after cardiopulmonary resuscitation. A pathophysiologic and prognostic positron emission tomographic pilot study. *Resuscitation* 2003;57:161-70.
36. Buunk G, van der Hoeven JG, Frolich M, et al. Cerebral vasoconstriction in comatose patients resuscitated from a cardiac arrest? *Intensive Care Med* 1996;22:1196-6.
37. Lemiale V, Huet O, Vigué B, et al. Changes in cerebral blood flow and oxygen extraction during post-resuscitation syndrome. *Resuscitation* 2008;76 :17-24.

38. Schultz CH, Rivers EP, Feldkamp CS et al. A characterisation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function during and after human cardiac arrest. *Crit Care Med* 1993;21:1339-47.
39. Hekimian G, Baugnon T, Thuong M et al. Cortisol levels and adrenal reserve after successful cardiac arrest resuscitation. *Shock* 2004;22:116-9.
40. Tsai MS, Huang CH, Chang WT et al. The effect of hydrocortisone on the outcome of out-of-hospital cardiac arrest patients:a pilot study. *Am J Med* 2007;25: 318-25.
41. Adrie C, Monchi M, Laurent I et al. Coagulopathy after successful cardiopulmonary resuscitation following cardiac arrest: implication of the protein C anticoagulant pathway. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:21-8.
42. Böttiger BW, Motsch J, Böhler H et al. Activation of blood coagulation after cardiac arrest is not balanced adequately by activation of endogenous fibrinolysis. *Circulation* 1995;92:2572-8.
43. SOS-Kanto study group. Cardiopulmonary resuscitation by bystanders with chest compression only (SOS-Kanto): an observational study. *Lancet* 2007;369:920-6.
44. Kern KB, Hilwig RW, Berg RA et al. Importance of continuous chest compressions during cardiopulmonary resuscitation: improved outcome during a simulated single lay-rescuer scenario. *Circulation* 2002; 105:645-9.
45. Yannopoulos D, Aufderheide TP, Gabrielli A, et al. Clinical and hemodynamic comparison of 15:2 and 30:2 compression-to-ventilation ratios for cardiopulmonary resuscitation. *Crit Care Med* 2006;34:1444-9.
46. Michael JR, Guerci AD, Koehler RC, et al. Mechanisms by which epinephrine augments cerebral and myocardial perfusion during cardiopulmonary resuscitation in dogs. *Circulation* 1984;78:822-835.
47. Weale FE, Rothwell-Jackson RL. The efficiency of cardiac massage. *Lancet* 1962;1:990-992.
48. Criley JM, Blaufuss AH, Kissel GL. Cough-induced cardiac compression. Self-administered form of cardiopulmonary resuscitation. *JAMA* 1976;236:1246-1250.
49. Shaw DP, Rutherford JS, Williams MJA. The mechanism of blood flow in cardiopulmonary resuscitation-introducing the lung pump. *Resuscitation* 1997; 35:255-58.

50. Karmiman K, Hempel FG, Jobsis FF. In vivo comparison of cytochrome a/a<sub>3</sub> redox state and tissue PO<sub>2</sub> in transient anoxia. *J Appl Physiol* 1983; 55:1057-63.
51. Rivers EP, Lozon J, Enriquez E, et al. Simultaneous radial, femoral and aortic arterial pressures during human cardiopulmonary resuscitation. *Crit Care Med* 1993;21:878-83.
52. Guerci AD, Shi AY, Levin H, et al. Transmission of intrathoracic pressure to the intracranial space during cardiopulmonary resuscitation in dogs. *Circ Res* 1985;56:20-30.
53. Sundgreen C, Larsen FS, Herzog TM, et al. Autoregulation of cerebral blood flow in patients resuscitated from cardiac arrest. *Stroke* 2001;32:128-132.
54. Paradis NA, Martin GB, Rivers EP et al. Coronary perfusion pressure and the return of spontaneous circulation in human cardiopulmonary resuscitation. *JAMA* 1990;263:1106-12.
55. Halperin HR, Tsitlik JE, Guerci AD, et al. Determinants of blood flow to vital organs during cardiopulmonary resuscitation. *Circulation* 1986;73:754-60.
56. Taylor RB, Brown CG, Bridges T, et al. A model for regional blood flow measurements during cardiopulmonary resuscitation in a swine model. *Resuscitation* 1988;16:107-18.
57. Hoffman JI. Determinants and prediction of transmural myocardial perfusion. *Circulation* 1978;58 :381-91.
58. Kern KB, de la Guardia B, Ewy GA. Myocardial perfusion during cardiopulmonary resuscitation (CPR): effects of 10, 25 and 50% coronary stenoses. *Resuscitation* 1998;38:107-11.
59. Harris LC Jr, Kirimli B, Safar P. Augmentation of artificial circulation during cardiopulmonary resuscitation. *Anesthesiology* 1967;28 :730-4.
60. Ohomoto T, Miura I, Konno SA. A new method of external cardiac massage to improve diastolic augmentation and prolong survival time. *Ann Thorac Surg* 1976; 21: 284-290.
61. Niemann JT, Rosborough JP, Ung S, Criley JM. Hemodynamic effects of continuous abdominal binding during cardiac arrest and resuscitation. *Am J Cardiol.* 1984;53:269-274.
62. Chandra N, Rudikoff M, Weisfeldt ML. Abdominal binding during cardiopulmonary resuscitation in man. *JAMA* 1981;246 :351-3.

63. Chandra N, Weisfeldt ML, Tsitlik J, et al. Augmentation of carotid flow during cardiopulmonary resuscitation by ventilation at high airway pressure simultaneous with chest compression. *Am. J. Cardiol* 1981;48:1053-1063.
64. Chandra N, Rudikoff M, Weisfeldt ML. Simultaneous chest compression and ventilation at high airway pressure during cardiopulmonary resuscitation. *Lancet* 1980;1(8161):175-8.
65. Martin GB, Carden DL, Nowak RM et al. Aortic and right atrial pressures during standard and simultaneous compression and ventilation CPR in human beings. *Ann. Emerg. Med.* 1986;15 :125-130.
66. Krischer JP, Fine EG, Weisfeldt ML, et al. Comparison of prehospital conventional and simultaneous compression-ventilation cardiopulmonary resuscitation. *Crit. Care Med.* 1989 ;17:1263-1269.
67. Kaplan BC, Civetta JM, Nagel EL, et al. The military anti-shock trouser in civilian pre hospital emergency care. *J Trauma* 1973;13(10):843-8.
68. Warren ET, Pass HI, Crawford FA Jr. External cardiopulmonary resuscitation augmented by the military antishock trousers. *Am Surg* 1983;49(12):651-4.
69. Bircher N, Safar P, Stewart R. A comparison of standard « MAST »-augmented, and open-chest CPR in dogs. A preliminary investigation. *Crit Care Med* 1980;8(3):147-52.
70. Mahoney BD, Mirick MJ. Efficacy of pneumatic trousers in refractory prehospital cardiopulmonary arrest. *Ann Emerg Med* 1983;12(1):8-12.
71. Luce JM, Ross BK, O'Quin RJ, et al. Regional blood flow during cardiopulmonary resuscitation in dogs using simultaneous and nonsimultaneous compression and ventilation. *Circulation* 1983;67:258-265.
72. Luce JM, Rizk NA, Niskanen RA. Regional blood flow during cardiopulmonary resuscitation in dogs. *Crit Care Med* 1984;12:874-878.
73. Niemann JT, Rosborough JP, Niskanen RA, Criley JM. Circulatory support during cardiac arrest using a pneumatic vest and abdominal binder with simultaneous high pressure airway inflation. *Ann Emerg Med* 1984;13:767-770.
74. Halperin H, Guerci AD, Chandra N et al. Vest inflation without simultaneous ventilation during cardiac arrest in dogs: improved survival from prolonged cardiopulmonary resuscitation. *Circulation* 1986;73:539-550.
75. Halperin HR, Tsitlik JE, Gelfand M et al. A preliminary study of cardiopulmonary resuscitation by circumferential compression of the chest with use of a pneumatic vest. *N. Engl. J. Med.* 1993;329:762-768.

76. Babbs CF, Tacker WA Jr. Cardiopulmonary resuscitation with interposed abdominal compression. *Circulation* 1986;74:IV37-41.
77. Ward KR, Sullivan RJ, Zelenak RR et al. A comparison of interposed abdominal compression CPR and standard CPR by monitoring end-tidal PCO<sub>2</sub>. *Ann Emerg Med* 1989;18(8):831-7.
78. Sack JB, Kesselbrenner MB, Bregman D. Survival from in-hospital cardiac arrest with interposed abdominal counterpulsation during cardiopulmonary resuscitation. *JAMA* 1992; 267(3):379-85.
79. Mateer JR, Stueven HA, Thompson BM et al. Prehospital IAC-CPR versus standard CPR: paramedic resuscitation of cardiac arrests. *Am J Med* 1985;3(2) :143-6.
80. Lurie KG, Lindo C, Chin J. The P Stands for plumber's Helper. *JAMA* 1990;264:1661.
81. Shultz JJ, Coffeen P, Sweeney M et al. Evaluation of standard and active compression-decompression CPR in acute model of ventricular fibrillation. *Circulation* 1994;88(2):684-693.
82. Paradis NA, Martin GB, Goetting MG, et al. Simultaneous aortic, jugular bulb and right atrial pressures during cardiopulmonary resuscitation of humans. *Circulation* 1989;80:361-368.
83. Lindner K, Pfenninger E, Lurie K, et al. Effects of active compression-decompression resuscitation on myocardial and cerebral blood flow in pigs. *Circulation* 1993;88:1254-1263.
84. Paradis NA, Martin G, Goetting MG, et al. Coronary perfusion pressure and the return of spontaneous circulation in human cardiopulmonary resuscitation. *J Am Med Assoc* 1990;263:1106-1113.
85. Plaisance P, Lurie KG, Payen D. Inspiratory impedance during active compression decompression cardiopulmonary resuscitation: a randomized evaluation in patients in cardiac arrest. *Circulation* 2000;10:989-994.
86. Chang MW, Coffeen P, Lurie KG, et al. Augmentation of late diastolic coronary flow velocity: the mechanism of improved myocardial perfusion during active compression-decompression cardiopulmonary resuscitation? *Circulation suppl.* 1993;88(4):1027. Abstract.
87. Tucker KJ, Redberg RF, Schiller NB, et al. *J Am Coll Cardiol* 1993;22 (5):1485-1493.

88. Orliaguet G, Carli P, Rozenberg A, et al. End-tidal carbon dioxide during out-of-hospital cardiac arrest resuscitation: comparison of active compression-decompression and standard CPR. *Ann Emerg Med* 1995;25:48-51.
89. Carli PA, De La Coussaye JE, Riou B, et al. Ventilatory effects of active compression-decompression in dogs. *Ann Emerg Med* 1994;24:890-894.
90. Tucker KJ, Khan JVH, Savitt MA. Active compression-decompression resuscitation: effects on pulmonary ventilation. *Resuscitation* 1993 ;26:125-131.
91. Cohen TJ, Goldner BG, Maccaro PC, et al. A comparison of active compression-decompression cardiopulmonary resuscitation with standard cardiopulmonary resuscitation for cardiac arrests occurring in the hospital. *N Engl J Med* 1993;329(26):1918-1921.
92. Tucker KJ, Galli F, Savitt MA, et al. Active compression-decompression resuscitation: effect on resuscitation success after in-hospital cardiac arrest. *J Am Coll Cardiol.* 1994;24(1):201-9.
93. Lurie KG, Shultz JJ, Callaham ML, et al. Evaluation of active compression-decompression CPR in victims of out-of-hospital cardiac arrest. *JAMA* 1994;271:1405-11.
94. Schwab TM, Callaham ML, Madsen CD, et al. A randomized clinical trial of active compression-decompression CPR vs standard CPR in out-of-hospital cardiac arrest in two cities. *JAMA* 1995;16:1261-8.
95. Plaisance P, Lurie KG, Vicaut E et al. A comparison of standard cardiopulmonary resuscitation and active compression-decompression resuscitation for out-of-hospital cardiac arrest. *N Engl J Med* 1999;341:569-575.
96. Plaisance P, Adnet F, Vicaut E, et al. Benefit of active compression-decompression cardiopulmonary resuscitation as a prehospital advanced cardiac life support. A randomized multicenter study. *Circulation* 1997 ;95:955-961.
97. Lafuente-Lafuente C, Melero-Bascones M. Active chest compression-decompression for cardiopulmonary resuscitation. *Cochrane Database Syst Rev* 2004(2)(CD002751).
98. Gueugniaud PY, Mols P, Goldstein P, et al. A comparison of repeated standard doses of epinephrine for cardiac arrest outside the hospital. European Epinephrine Study Group. *N Engl J Med* 1998;339:1595-601.
99. Lurie KG, Mulligan KA, McKnite S et al. Optimizing standard cardiopulmonary resuscitation with an inspiratory impedance threshold valve. *Chest* 1998;113:1084-1090 .

100. Lurie KG, Zielinski T, McKnite S et al. Use of an inspiratory impedance valve improves neurologically intact survival in a porcine model of ventricular fibrillation. *Circulation* 2002;105(1):124-9.
101. Lurie KG, Voelckel WG, Zielinski T et al. Improving standard cardiopulmonary resuscitation with an inspiratory impedance threshold valve in porcine model of cardiac arrest. *Anesth Analg* 2001;93(3):649-55.
102. Plaisance P, Soleil C, Lurie KG, et al. Use of an inspiratory impedance threshold device on a facemask and endotracheal tube to reduce intrathoracic pressures during the decompression phase of active compression-decompression cardiopulmonary resuscitation. *Crit Care Med* 2005;33:990-4.
103. Aufderheide T, Pirallo R, Provo T et al. Clinical evaluation of an inspiratory impedance threshold device during standard cardiopulmonary resuscitation in patients with out-of-hospital cardiac arrest. *Crit Care Med* 2005;33:734-40.
104. Plaisance P, Lurie KG, Payen D. Inspiratory impedance during active compression-decompression cardiopulmonary resuscitation: a randomized evaluation in patients in cardiac arrest. *Circulation* 2000;101:989-994.
105. Wolcke BB, Mauer DK, Schoefmann MF et al. Comparison of standard cardiopulmonary resuscitation versus the combination of active compression-decompression cardiopulmonary resuscitation and an inspiratory impedance threshold device for out-of-hospital cardiac arrest. *Circulation* 2003;108:2201-5.
106. Plaisance P, Lurie KG, Vicaut E, et al. Evaluation of an impedance threshold device in patients receiving active compression-decompression cardiopulmonary resuscitation for out-of-hospital cardiac arrest. *Resuscitation* 2004;61:265-271.
107. Tang W, Weill MH, Schock RB et al. Phased chest and abdominal compression-decompression. *Circulation* 1997 ;95 :1335-1340.
108. Arntz HR, Agrawal R, Richter H, et al. Phased chest and abdominal compression-decompression versus conventional cardiopulmonary resuscitation in out-of-hospital cardiac arrest. *Circulation* 2001;104:768-72.
109. Halperin HR, Paradis N, Ornato JP, et al. Cardiopulmonary resuscitation with a noel chest compression device in a porcine model of cardiac arrest: improved hemodynamics and mechanisms. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:2214-20.
110. Casner M, Anderson D et al. Preliminary report of the impact of a new CPR assist device on the rate of return of spontaneous circulation in out-of-hospital cardiac arrest. *Prehosp Emerg Med* 2005;9:61-7.

111. Hallstrom A, Rea TR, Sayre MR, et al. Manual chest compression vs use of an automated chest compression device during resuscitation following out-of-hospital cardiac arrest. A randomized trial. *JAMA* 2006;295:2629-37.
112. Eng Hock Ong M, Ornato JP, Edwards DP, et al. Use of an automated, load-distributing band chest compression device for out-of-hospital cardiac arrest resuscitation. *JAMA* 2006;295:2629-37.
113. Steen S, Liao Q, Pierre L, Paskevicius A, et al. Evaluation of LUCAS, a new device for automatic mechanical compression and active decompression resuscitation. *Resuscitation* 2002;55:285-289.
114. Rubertsson S, Karlsten R. Increased cortical cerebral blood flow with LUCAS®; a new device for mechanical chest compressions compared to standard external compression during experimental cardiopulmonary resuscitation. *Resuscitation* 2005;65:357-363.
115. Axelsson C, Nestin J, Svensson L et al. Clinical consequences of the introduction of mechanical chest compression in the EMS system for treatment of out-of-hospital cardiac arrest. A pilot study. *Resuscitation* 2006;71:47-55.
116. Smekal D, Johansson J, Huzevka T, Rubertsson S. No difference in autopsy detected injuries in cardiac arrest patients treated with manual chest compressions compared with mechanical compressions with the LUCAS device--a pilot study. *Resuscitation* 2009;80(10) :1104-7.
117. Hachimi-Idrissi S, Leeman J, Hubloue Y, et al. Open chest cardiopulmonary resuscitation in out-of-hospital cardiac arrest. *Resuscitation* 1997;35:151-6.
118. Lerman BB, Deale DC. Relation between transcardiac and transthoracic current during defibrillation in humans. *Circ Res* 1990;67: 1420-1426.
119. Kerber RE, Carter J, Klein S, et al. Open chest defibrillation during cardiac surgery: energy and current requirements. *Am J Cardiol* 1980;46:393-6.
120. Kern KB, Bardy GH, Buckman RF, Brenneman R. Minimally invasive direct cardiac massage in the field. *Aus J Emerg Care* 2000; 7:15-21.
121. Buckman RF, Badellino MM, Mauro LH, Eynon CA et al. Open chest cardiac massage without major thoracotomy : metabolic indicators of coronary and cerebral perfusion. *Resuscitation* 1997;34:246-53.
122. ]Buckman RF, Badellino MM, Mauro LH et al. Direct cardiac massage without major thoracotomy : feasibility and systemic blood flow. *Resuscitation* 1995;29:237-48.

123. Eynon CA, Brenneman RA, Breznock EM. Minimally invasive direct cardiac massage in pigs. *Resuscitation* 1996;31:S16.
124. Hanouz JL, Thuaudet S, Ramakers M, et al. Insertion of the minimally invasive direct cardiac massage device (MIDCM): training on human cadavers. *Resuscitation* 2002;52:49-53.
125. Buckman RF Jr, Badellino MM, Eynon CA et al. Open-chest cardiac massage without major thoracotomy: metabolic indicators of coronary and cerebral perfusion. *Resuscitation* 1997;34:247-53.
126. De Behnke DJ, Angelos MG, Leasure JE. Comparaison of standard external CPR, open chest CPR, and cardiopulmonary by-pass in a canine myocardial infarct model. *Ann Emerg Med* 1991;20:754-60.
127. Paradis NA, Martin GB, Rivers EP. Use of open chest cardiopulmonary resuscitation after failure of standard closed chest CPR: illustrative cases. *Resuscitation* 1992;24:61-71.
128. Ruiz-Bailèn M, Aguayo de Hoyos E, Serano-Corcoles MC, et al. Efficacy of thrombolysis in patients with acute myocardial infarction requiring cardiopulmonary resuscitation. *Intensive Care Med* 2001;27:1050-7.
129. Böttiger BW, Bode C, Kern S et al. Efficacy and safety of thrombolytic therapy after initially unsuccessful cardiopulmonary resuscitation : a prospective clinical trial. *Lancet* 2001;357:1583-5.
130. Schreiber W, Gabriel D, Sterz F et al. Thrombolytic therapy after cardiac arrest and its effects on neurological outcome. *Resuscitation* 2002;52: 63-9.
131. Abu-laban RB, Christenson JM, Innes GD et al. Tissue plasminogen activator in cardiac arrest with pulseless electrical activity. *N Eng J Med* 2002;346:1522-8.
132. Farb A, Tang AL, Burke AP et al. Sudden coronary death. Frequency of active coronary lésions, inactive coronary lésions and myocardial infarction. *Circulation* 1995 ;92 :1701-9
133. Spaulding CM, Joly LM, Rosenberg A et al. Immediate coronary angiography in survivors of out-of-hospital cardiac arrest. *N Engl J Med* 1997 ;336 :1629-33
134. Neumar RW, Nolan JP, Adrie et al. Post-cardiac arrest syndrome : epidemiology, pathophysiology, tratment and prognostication. A consensus statement from the international Liaison Committee on Resuscitation. *Circulation* 2008 ;118 :2452-83

135. Dumas F, Cariou A, Manzo-Silberman S et al. Immediate percutaneous coronary intervention is associated with better survival after out-of-hospital cardiac arrest :insights from the PROCAT (Parisian Region Out of hospital Cardiac Arrest) registry. *Circ Cardiovasc Interv* 2010 ;3 :200-7
136. Brain resuscitation clinical trial II study group. A randomized clinical trial of calcium entry blocker administration to comatose survivors of cardiac arrest. Design, methods and patients characteristics. *Control Clin Trials* 1991;12:525-45.
137. Roine RO, Kaste M, Kinnunen A et al . Nimodipine after resuscitation from out-of-hospital ventricular fibrillation. A placebo-controlled, double blind, randomized trial. *JAMA* 1990 ;264 :3171-7.
138. Brain resuscitation clinical trial I study group. Randomized clinical study of thiopental loading in comatose survivors of cardiac arrest. *N Engl J Med* 1986;314:397-403.
139. Bigelow W, Callaghan J, Hopps J. General hypothermia for experimental intracardiac surgery. *Ann Surg* 1950 ;132 :531-39.
140. Steen PA, Newberg L, Milde JH, et al. Hypothermia and barbiturates: individual and combined effects on canine cerebral oxygen consumption. *Anesthesiology* 1983;58:527-32.
141. Polderman KH, Tjong Tjin Joe R, Peerderman SM, et al. Effects of therapeutic hypothermia on intracranial pressure and outcome in patients with severe head injury. *Intensive Care Med* 2002;28:1563-73.
142. Phanithi PB, Yoshida Y, Santana A, et al. Mild hypothermia mitigates post ischemic neuronal death following focal cerebral ischemia in rat brain : immunohistochemical study of Fas, Caspase 3 and TUNEL. *Neuropathology* 2000;20:273-82.
143. Maier CM, Sun GH, Cheng D, et al. Effects of mild hypothermia on superoxide anion production, superoxyde dismutase expression and activity following transient focal cerebral ischemia. *Neurobiol Dis* 2002;11:28-42.
144. Adrie C, Laurent I, Monchi M, et al. Postresuscitation disease after cardiac arrest: a sepsis-like syndrome? *Curr Opin Crit Care* 2004;10:208-12.
145. Kimura A, Sakurada S, Ohkuni H et al. Moderate hypothermia delays pro-inflammatory cytokine production of human peripheral blood mononuclear cells. *Crit Care Med* 2002;30:1499-502.
146. Kristian T, Katsura K, Siesjo BK. Calcium in ischemic cell death. *Stroke* 1998;29:705-18.

147. Kristian T, Katsura K, Siesjo BK et al. The influence of moderate hypothermia on cellular calcium uptake in complete ischemia: implications for the excitotoxic hypothesis. *Acta Physiol Scand* 1992;146: 531-2.
148. Ding D, Moskowitz SI, Li R et al. Acidosis induces necrosis and apoptosis of cultured hippocampal neurons. *Exp Neurol* 2000;162:1-12.
149. Fisher S, Renz D, Wiesnet M, et al. Hypothermia abolishes hypoxia-induced hyperpermeability in brain microvessels endothelial cells. *Brain Res Mol Brain Res* 1999;74:135-144
150. Polderman KH, Tjong Tjin Joe R, Peerdeman SM, et al. Effects of therapeutic hypothermia on intracranial pressure and outcome in patients with severe head injury. *Intensive Care Med* 2002;28:1563-73.
151. Rothman SM, Olney JW. Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage. *Ann Neurol* 1986;19:105-11.
152. Busto R, Globus MYT, Dietrich D, et al. Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain. *Stroke* 1989;20:904-10.
153. Zeiner A, Holzer M, Sterz, et al. Mild hypothermic cardiopulmonary resuscitation improves outcome after prolonged cardiac arrest in dogs. *Crit Care Med* 1991;19:379-89.
154. Felberg RA, Krieger DW, Chuang R et al. Hypothermia after cardiac arrest. Feasibility and safety of an external cooling protocol. *Circulation* 2001;104: 1799-804.
155. Bernard SA, Gray TW, Buist MD, et al. *N Engl J Med* 2002;346:557-63.
156. The Hypothermia After Cardiac Arrest Study Group. Mild therapeutic hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest. *N Engl J Med* 2002;346:549-56.
157. Hachimi-Idrissi S, Corne L, Ebinger et al. Mild hypothermia induced by a helmet device: a clinical feasibility study. *Resuscitation* 2001; 51:275-81.
158. Kim F, Olsufka M, Carlbom D, et al. Pilot study of rapid infusion of 2l of 4°C normal saline for induction of mild hypothermia in hospitalized, comatose survivors of out-of-hospital cardiac arrest. *Circulation* 2005;112:715-9.
159. Virkkunen I, Yli-Hankala A, Silfvast T. Induction of therapeutic hypothermia after cardiac arrest in prehospital patients using ice-cold Ringer's solution: a pilot study. *Resuscitation* 2004;62:143-50.

160. Al-Senani FM, Graffagnino C, Grotta JC, et al. A prospective, multicenter pilot study to evaluate the feasibility and safety of using the CoolGard System and Icy catheter following cardiac arrest. *Resuscitation* 2004; 62:299-302.
161. Kim F, Olsufka M, Longstreth WT et al. Pilot randomized clinical trial of prehospital induction of mild hypothermia in out-of-hospital cardiac arrest patients with a rapid infusion of 4 degrees C normal saline. *Circulation* 2007; 115 (24):3064-70.
162. Damian MS, Ellenberg D, Gildemeister R et al. Coenzyme Q10 combined with mild hypothermia after cardiac arrest: a preliminary study. *Circulation* 2004 ;110 :3011-6
163. Carnot P, Deflandre C. Sur l'activité hémopoïétique de serum au cours de la régénération du sang. *C R Acad Sci (Paris)* 1906; 143:384-386.
164. Hjort E. Reticulocyte increase after injection of anemic serum. *Mag F Laegvidensk* 1936;97:270-277.
165. Reissmann KR. Studies on the mechanism of erythropoietin stimulation in parabiotic rats during hypoxia. *Blood* 1950;5:347-380.
166. Jacobson LO, Goldwasser E, Fried W, et al. Role of the kidney in erythropoiesis. *Nature* 1957;173:633.
167. Fisher JW, Koury S, Ducey T, et al. Erythropoietin production by interstitial cells of hypoxic monkey kidneys. *Br J Haematol* 1996;95:27-32.
168. Koury ST, Bondurant MS, Koury MJ. Localization of cells producing erythropoietin in murine liver by in situ hybridization. *Blood* 1991; 77:2497-2503.
169. Zanjani ED, Poster J, Burlington H, Mann LI, Wasserman LR. Liver as the primary site of erythropoietin production in the foetus. *J Lab Clin Med* 1977;89:640-64.
170. Miyake T, Kung CKH, Goldwasser E. Purification of human erythropoietin. *J Biol Chem* 1977; 252:5558-64.
171. Lin FK, Suggs S, Lin CH, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;92:7850-84.
172. Youssoufian H, Longmore G, Neumann D et al. Structure, function, and activation of the erythropoietin receptor. *Blood* 1993 ;81:2223-2226.

173. Sinclair AM. Erythropoietin receptor transcription is neither elevated nor predictive of surface expression in human tumour cells. *Br J Cancer* 2008;98:1059-1067.
174. Chin K, Oda N, Shen K et al. Regulation of transcription of the human erythropoietin receptor gene by proteins binding to GATA-1 and SP 1 motifs. *Nucleic Acids Research* 1995;23:3041-3049.
175. Huang LJ, Constantinescu SN, Lodish HF et al. The N-terminal domain of Janus Kinase 2 is required for Golgi processing and cell surface expression of erythropoietin receptor. *Mol Cell* 2001;8:1327-1338.
176. Wickrema A, Krantz SB, Winkelmann JC, et al. Differentiation and erythropoietin receptor gene expression in human erythroid progenitor cells. *Blood* 1992; 1940-49.
177. Tramontano AF, Muniyappa R, Black AD, and al. Erythropoietin protects cardiac myocytes from hypoxia induced apoptosis through an Akt-dependent pathway. *Biochem.Biophys.Res.Commun* 2003; 308 : 990-994.
178. Wright GL, Hanlon P, Amin K, et al. Erythropoietin receptor expression in adult rat cardiomyocytes is associated with an acute cardioprotective effect of recombinant erythropoietin during ischemia-reperfusion injury. *FASEB J* 2004;18:1031-33.
179. Parsa CJ, Kim J, Riel RU et al. A novel protective effect of erythropoietin in the reperfused ischemic heart: a potential role for cardiac fibroblasts. *J Biol. Chem.* 279: 20655-20662.
180. Bernaudin M, Bellail A, Marti HH et al. Neurons and astrocytes express mRNA: oxygen-sensing mechanisms that involve the redox state of the brain. *Glia* 2000;30:271-278.
181. Kubatzky KF et al. Structural requirements of the extracellular to transmembrane domain junction for erythropoietin receptor function. *J Biol Chem* 2005;280 :14844-14854.
182. Jelkmann W. Erythropoietin : structure, control of production and function. *Physiological Reviews* 1992 ;72 :449-489.
183. Villa P, Bigini P, Mennini T et al. Erythropoietin attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis. *J Exp Med* 2003;198:971-975.
184. Jordan JE, Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 1999;43:860-878.

185. Zhang F, Wang S, Cao G et al. Signal transducer and activators of transcription 5 contributes to erythropoietin-mediated neuroprotection against hippocampal neuronal death after transient global cerebral ischemia. *Neurobiology of Disease* 2007 ;25 :45-53
186. Um M, Lodish HF. Antiapoptotic effects of erythropoietin in differentiated neuroblastoma SH-SY5Y cells require activation of both STAT5 and AKT signaling pathways. *J Biol Chem* 2006 ;281 :5648-56.
187. Cai Z, Semenza GL. Phosphatidylinositol-3-kinase signaling is required for erythropoietin-mediated acute protection against myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation* 2004;109:2050-53.
188. Rafie P, Shi Y, Su J, et al. Erythropoietin protects the infant heart against ischemia reperfusion injury by triggering multiple signaling pathways. *Basic Res Cardiol.* 2005;100(3):187-97.
189. Datta SR, Brunet A, Greenberg ME. Cellular survival: a play in three Acts. *Genes Dev* 1999;13:2905-2927.
190. Zhang F et al. Erythropoietin protects CA1 neurons against global cerebral ischemia in rat: potential signaling mechanisms. *Journal of Neuroscience Research* 2006 ;83 :1241-1251.
191. Kilic E et al. Brain-derived erythropoietin protects from focal cerebral ischemia by dual activation of ERK -1 /-2 and Akt pathways. *FASEB Journal* 2005 ;19 :2026-2029.
192. Shi Y, Rafiee P, Su J et al. Acute cardioprotective effects of erythropoietin in infant rabbits are mediated by activation of protein kinases and potassium channels. *Basic Res Cardiol* 2004; 99:173-182.
193. Grimm C et al. Neuroprotection by hypoxic preconditioning : HIF-1 and erythropoietin protect from retinal dégénération. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 2005 ;16 :531-538.
194. Lipsic E, Van der Meer P, Henning RH et al. Timing of erythropoietin treatment for cardioprotection in ischemia/reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004; 44:473-479.
195. Parsa CJ, Matsumoto A, Kim J, et al. A novel protect effect of erythropoietin in the infarcted heart. *J Clin Invest* 2003;112:999-1007.
196. Cai Z, Manalo DJ, Wei G et al. Heart from rodents exposed to intermittent hypoxia or erythropoietin are protected against ischemia-reperfusion injury. *Circulation* 2003;108:79-85.

197. Walker BR, Resta TC, Nelin LD. Nitrite oxide-dependent pulmonary vasodilatation in polycythemic rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: H2382-2389.
198. Baker JE, Curry BD, Olinger GN, et al. Increased tolerance of the chronically hypoxic immature heart to ischemia. Contribution of the KATP channel. *Circulation* 1997; 95: 1278-1285.
199. M Joyeux-Faure, A Ramond, PC Béguin, et al. Early pharmacological preconditioning by erythropoietin mediated by inducible NOS and mitochondrial ATP-dependent potassium channels in the rat heart. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 2006;20:51-56.
200. Noma A. ATP regulated K-channels in cardiac muscle. *Nature* 1983;305:147-148.
201. Gross GJ, Auchampach JA. Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res* 1992;70:223-233.
202. Ito K, Sato T, Arita M. Protein kinase C isoform-dependent modulation of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels during reoxygenation in guinea-pig ventricular myocytes. *J Physiol* 2001;532:165-174.
203. Baines CP, Zhang J, Wang GW et al. Mitochondrial PKCepsilon and MAPK form signaling modules in the murine heart : enhanced mitochondrial PKCepsilon-induced cardioprotection. *Circ Res* 2002;90:390-397.
204. Depping R, Kawakami K, Ocker H et al. Expression of the erythropoietin receptor in human heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 130:877-78.
205. Wright GL, Hanlon P, Amin K, et al. Erythropoietin receptor expression in adult rat cardiomyocytes is associated with an acute cardioprotective effect for recombinant erythropoietin during ischemia reperfusion injury. *Faseb J* 2004;18:1031-1033.
206. Calvillo L, Latini R, Kajstura J, et al. Recombinant human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury and promotes beneficial remodeling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:4802-6.
207. Tramontano AF, Muniyappa R, Black AD, et al. Erythropoietin protects cardiac myocytes from hypoxia-induced apoptosis through an Akt-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 112:990-4.
208. Cai Z, Manalo DJ, Wei G et al. Hearts from rodents exposed to intermittent hypoxia or erythropoietin are protected against ischemia-reperfusion injury. *Circulation* 2003;108:79-85.

209. Moon C, Krawczyk M, Paik D et al. Cardioprotection by recombinant human erythropoietin following acute experimental infarction : dose response and therapeutic window. *Cardiovasc Drugs Ther* 2005 ;19 :243-250.
210. Calvillo L, Latini R, Kajstura et al. Recombinant human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury and promotes beneficial remodeling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:4802-4806.
211. Juul SE, Yachnis AT, Christensen RD. Tissue distribution of erythropoietin and erythropoietin receptor in the developing human fetus. *Early human development* 1998;52:235-249.
212. Yu X, Shacka JJ, Eells JB. Erythropoietin receptor signalling is required for normal brain development. *Development* 2002;129:505-516.
213. Brines ML, Ghezzi P, Keenan S et al. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci U.S.A* 2000 ;97 :10526-31.
214. Juul SE, McPherson RJ, Farrel FX et al. Erythropoietin concentrations in cerebrospinal fluid of nonhuman primates and fetal sheep following High-dose recombinant erythropoietin. *Biol Neonate* 2004 ;85 :138-44.
215. Morishita E, Narita H, Nishida M et al. Anti-erythropoietin receptor monoclonal antibody : epitope mapping, quantification of the soluble receptor, and detection of the solubilized transmembrane receptor and the receptor expressing cells. *Blood* 1996 ;88 :465-471.
216. Digicaylioglu M, Bichet S, Marti HH et al. Localization of specific erythropoietin binding sites in defined areas of the mouse brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995 ;92 :3717-3720.
217. Lewczuk P, Hasselblatt M, Kamrowski-Kruck et al. Survival of hippocampal neurons in culture upon hypoxia : effect of erythropoietin. *NeuroReport* 2000 ;11 :3485-3488.
218. Ruscher K, Freyer D, Karsch M et al. Erythropoietin is a paracrine mediator of ischemic tolerance in the brain : evidence from an in vitro model. *J. Neurosci* 2002 ;22 :10291-10301.
219. Springborg JB, Moller C, Gideon P et al. A single subcutaneous bolus of erythropoietin normalizes cerebral blood flow autorégulation after subarachnoid haemorrhage in rats. *Br J Pharmacol* 2002 ;135 :823-829.
220. Bernaudin M, Marti HH, Roussel S et al. A potential role for erythropoietin in focal permanent cerebral ischemia in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab* 1999 ;19 :643-651.

221. Celik M, Gokmen N, Erbayraktar S et al. Erythropoietin prevents motor neuron apoptosis and neurologic disability in experimental spinal cord injury. *Proc Natl Acad Sci U.S.A* 2002 ;99 :9450-9455.
222. Verdonck O, Lahrech H, Francony et al. Erythropoietin protects from post traumatic edema in the rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2007 ;27 :1369-1376.
223. Kumral A, Ozer E, Yilmaz O et al. Neuroprotective effect of erythropoietin on hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Biol Neonate* 2003 ;224-228.
224. Chang YS, Mu D, Wendland M et al. Erythropoietin improves functional and histological outcome in neonatal stroke. *Pediatr Res* 2005;58:106-11.
225. Keller M, Yang J, Griesmaier E et al. Erythropoietin is neuroprotective against NMDA-receptor-mediated excitotoxic brain injury in newborn mice. *Neurobiol Dis* 2006;24:357-66.
226. Demers EJ, McPherson RJ, Juul SE. Erythropoietin protects dopaminergic neurons and improves neurobehavioral outcomes in juvenile rats after neonatal hypoxia-ischemia. *Ped Res* 2005;58:297-301.
227. Zhu C, Kang W, Xu F et al. Erythropoietin improved neurologic outcomes in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics* 2009;124:e218-26.
228. Ehrenreich H, Hasselblatt M, Dembowski C et al. Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial. *Mol Med* 2002;8:495-505.
229. Cattaneo E, Conti L, De-Fraja C. Signalling through the JAK-STAT pathway in the developing brain. *Trends Neurosci* 1999;22:365-69.
230. Digicaylioglu M, Lipton SA. Erythropoietin mediated neuroprotection involves cross-talk between Jak2 and NF-KappaB signalling cascades. *Nature* 2001;412:641-647.
231. Erbayraktar S, Grasso G, Sfacteria A, et al. Asialoerythropoietin is a nonerythropoietic cytokine with broad neuroprotective activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:6741-46.
232. Leist M, Ghezzi P, Grasso G, et al. Derivatives of erythropoietin that are tissue protective but not erythropoietic. *Science* 2004;305:239-242.
233. Wang X et al. The non erythropoietic asialoerythropoietin protects against neonatal hypoxia-ischemia as potently as erythropoietin. *Journal of Neurochemistry* 2004;91:900-910.

234. Mun KC and Golper TA. Impaired biological activity of erythropoietin by cyanate carbamylation. *Blood purify* 2000;18:13-17.
235. Mahmood A et al. Treatment of traumatic brain injury in rats with erythropoietin and carbamylated erythropoietin. *J Neurosurg* 2007;107:392-397.
236. Wang Y, et al. Post ischemic treatment with erythropoietin or carbamylated erythropoietin reduces infarction and improves neurological outcome in a rat model of focal cerebral ischemia. *Br J Pharmacol* 2007;151:1377-1384.
237. Erbayraktar S et al. Carbamylated erythropoietin reduces radiosurgically-induced brain injury. *Molecular medicine* 2006;12:74-80.
238. Schmidt RE et al. Erythropoietin and its carbamylated derivative prevent the development of experimental diabetic autonomic neuropathy in STZ-induced diabetic NOD-SCID mice. *Experimental neurology* 2008;209:161-170.
239. Popp E, Vogel P, Teschendorf P, Bottiger BW. Effects of the application of erythropoietin on cerebral recovery after cardiac arrest in rats. *Resuscitation* 2007;74:344-351.
240. Huang CH, Hsu CY, Chen HW et al. Erythropoietin improves the post resuscitation myocardial dysfunction and survival in the asphyxia-induced cardiac arrest model. *Shock* 2007;28:53-8.
241. Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL et al. Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108: 626-35.
242. Morimoto K, Mori T, Ishiguro S et al. Perioperative changes in plasma brain natriuretic peptide concentration in patients undergoing cardiac surgery. *Surg Today* 1998;28(1):23-29.
243. Avidan MS, Meehan N, Ponte J et al. Changes in brain natriuretic peptide concentration following open cardiac surgery with cardioplegic cardiac arrest. *Clin Chim Acta* 2001;303:127-132.
244. Takeda S, Nakanishi K, Ikezaki H et al. Cardiac marker responses to coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass and aortic cross-clamping. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2002;16:421-425.
245. Crescenzi G, Cedrati V, Landoni G et al. Cardiac biomarker release after CABG with different surgical techniques. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2004;18:34-37.

246. Johnsson P, Backstrom M, Bergh C et al. Increased S100 $\beta$  in blood after cardiac surgery is a powerful predictor of late mortality. *Ann Thorac Surg* 2003;75:162-168.
247. Kerbaul F, Collart F, Giorgi R et al. Increased plasma levels of pro-brain natriuretic peptide in patients with cardiovascular complications following off-pump coronary artery surgery. *Intensive Care Med* 2004;30:1799-1806.
248. Westaby S, Johnsson P, Parry AJ et al. Serum S100 protein: a potential marker for cerebral events during cardiopulmonary bypass. *Ann thorac* 1996;61:88-92.
249. Ali MS, Harmer M, Vaughan R. Serum S100 protein as a marker of cerebral damage during cardiac surgery. *Br J Anaesth* 2000;85:287-298.
250. Ascione R, Reeves BC, Chamberlain MH et al. Predictors of stroke in the modern era of coronary artery bypass grafting : a case control study. *Ann Thorac Surgery* 2002 ;74 :474-80
251. Shroyer AL, Coombs LP, Peterson ED et al. The society thoracic surgeons : 30-day operative mortality and morbidity risk models. *Ann Thorac Surg* 2003 ;75 :1856-1864
252. Mocini D, Muso P, Guendouz E et al. Endogenous erythropoietin and a single bolus of 40 000 UI of epoetin alpha do not protect the heart from ischaemia-reperfusion injury during extracorporeal circulation for cardiac surgery. *Perfusion* 2008 ;23(3) :187-192
253. Poulsen TD, Andersen LW, Steinbruchel D et al. Two large preoperative doses of erythropoietin do not reduce the inflammatory response to cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009 ;23(3) :316-323
254. Joyeux-Faure M. Cellular protection by erythropoietin : new therapeutic implications ? *J Pharmacol Exp Ther* 2007 ;323(3) :759-762
255. Haljan G, Maitland A, Buchan A et al. The erythropoietin neuroprotective effect : assessment in CABG surgery (TENPEAKS) : a randomized, double-blind, placebo controlled, proof-of-concept clinical trial. *Stroke* 2009 ;40(8) : 2769-2775
256. Cariou A, Claessens YE, Pène F et al. Early high-dose erythropoietin therapy and hypothermia after out-of-hospital cardiac arrest : A matched control study. *Resuscitation* 2008;76:397-404
257. Grmec S, Strnad M, Kupnik D et al. Erythropoietin facilitates the return of spontaneous circulation and survival in victims of out-of-hospital cardiac arrest. *Resuscitation* 2009 ;80 :613-4

258. Zhao ZQ, Corvera JS, Hlakos ME et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion : comparaison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H579-88.
259. Griffiths EJ, Halestrap AP. Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischemia but open upon reperfusion. *Biochem J* 1995;307:93-8.
260. Argaud L, Gateau-Roesch O, Loufouat J, Ovize M. Cyclosporin delays calcium-induced permeability transition when administered at reperfusion. *Eur Heart J* 2003;2530.
261. Mattox KL, Beall AC. Resuscitation of the moribund patient using a portable cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1976;22:436-42.
262. Incagnoli P, Bourgeois B, Teboul A, Laborie JM. Resuscitation from accidental hypothermia of 22°C with circulatory arrest: importance of pre hospital management. *Ann Fr Anesth Réanim* 2006;5: 535-8.
263. Mégarbane B, Leprince P, Deye N et al. Emergency feasibility in medical intensive care unit of extracorporeal life support for refractory cardiac arrest. *Intensive Care Med* 2007;33:758-64.
264. Masseti M, Tasle M, Le Page O et al. Back from irreversibility : extracorporeal life support for prolonged cardiac arrest. *Ann Thorac Surg* 2005;79:178-84.
265. Chen JS, Ko WJ, Yu HY et al. Analysis of the outcome for experiencing myocardial infarction and cardiopulmonary resuscitation refractory to conventional therapies necessitating extracorporeal life support rescue. *Crit Care Med* 2006;34:950-7.
266. Nagao K, Hayashi N, Kanmatsuse K et al. Cardiopulmonary cerebral resuscitation using emergency cardiopulmonary bypass, coronary reperfusion therapy and mild hypothermia in patients with cardiac arrest outside the hospital. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:776-83.
267. Hill J, Bruhn P, Cohen S. Emergent applications of cardiopulmonary support: a multi-institutional experience. *Ann Thor Surg* 1992;54 :699-704.
268. Hartz R, LoCicero J, Sanders JH et al. Clinical experience with portable cardio-pulmonary bypass in cardiac patients. *Ann Thorac Surg* 1990;50:437-41.
269. Riou B, Adnet F, Baud F et al. Recommandations sur les indications de l'assistance circulatoire dans le traitement des arrêts cardiaques réfractaires. *Réanimation* 2009 ;18 :371-375.

270. Cummins RO, Ornato JP, Thies WH, Pepe PE. Improving survival from sudden cardiac arrest : the « chain of survival » concept. A statement for health professionals from the Advanced cardiac life support subcommittee and the emergency cardiac care committee, American Heart Association. *Circulation* 1991;83:1832-47.
271. Eisenberg MS, Harwood BT, Cummins R. Cardiac arrest and resuscitation. A tale of 29 cities. *Ann Emerg Med* 1990 ;19 :179-86.
272. Cummins R, Thies XH. Encouraging early defibrillation. The American Heart Association and automated external defibrillation. *Ann Emerg Med* 1990 ;19:1245-8.
273. Cobb LA, Fahrenbruch CE, Walsh TR et al. Influence of cardiopulmonary resuscitation prior to defibrillation in patients with out-of-hospital ventricular fibrillation. *JAMA* 1999 ;281 :1182-8.
274. Wik L, Hansen TB, Fylling F et al. Delaying defibrillation to give basic cardiopulmonary resuscitation to patients with out-of-hospital ventricular fibrillation: a randomized trial. *JAMA* 2003;289:1389-95.
275. Décret n°2007-705 du 4 mai 2007 relatif à l'utilisation des défibrillateurs automatisés externes par des personnes non médecins et modifiant le code de la santé publique (NOR :SANP0721586D).
276. Conseil français de réanimation cardio-pulmonaire.Recommandation pour l'organisation de programmes de défibrillation automatisée externe par le public. *Revue des Samu* 2008 ;1:45-47.

## **IX Résumé-Abstract**

## **Résumé**

Malgré de très nombreuses études expérimentales et cliniques dans le domaine de l'arrêt circulatoire, seulement 2% à 12% des patients quittent l'hôpital avec une bonne récupération neurologique. Il est donc nécessaire de proposer de nouvelles thérapeutiques pour tenter d'augmenter la survie après un arrêt circulatoire. Pour atteindre ce but il semble indispensable d'améliorer la qualité du massage cardiaque durant la réanimation et de protéger le myocarde et le cerveau contre les phénomènes d'ischémie-reperfusion. Dans la première partie de ce travail, nous avons évalués dans une étude pré hospitalière l'utilisation d'un dispositif innovant de massage cardiaque interne par minithoracotomie et montré une amélioration de l'hémodynamique en comparaison avec le massage cardiaque standard. Dans la deuxième partie, nous avons testés les possibles effets protecteurs de l'EPO (érythropoïétine) dans deux types d'arrêt circulatoire. Dans un modèle d'arrêt cardiaque expérimental chez le rat nous avons démontré que lorsque l'EPO était injectée avant l'arrêt cardiaque, la réanimation initiale était améliorée et la survie des animaux augmentée ce qui pourraient suggérer un effet cardio et/ou neuroprotecteur de l'EPO contre les effets délétères de l'ischémie reperfusion. Dans une étude clinique en chirurgie cardiaque sous circulation extra corporelle, nous n'avons pas pu démontré d'effet bénéfique de l'EPO ni sur l'ischémie myocardique, ni sur l'ischémie cérébrale ni sur les paramètres de l'inflammation. Sur la base de ces deux études, il est donc difficile de conclure sur le potentiel rôle bénéfique de l'EPO dans l'arrêt circulatoire. Néanmoins, sur la seule base des résultats expérimentaux, l'EPO pourrait faire partie de l'arsenal thérapeutique pour mieux protéger le myocarde et le crveau contre les effets délétères de l'ischémie reperfusion après un arrêt cardiaque.

## **Abstract**

Despite extensive experimental and clinical research on cardiac arrest, only 2-12% of resuscitated patients are discharged from hospital in good neurological conditions. There is, therefore, a dear need for new therapies that improve survival after cardiac arrest. It 's necessary to improve the quality of cardiac massage and to protect against cardiac and cerebral ischemia occurring during cardiac arrest. In a first part, we evaluated the prehospital feasibility of performing a new method of minimally invasive direct cardiac massage (MID-CM®) and we suggested that better haemodynamic results can be obtained than with standard cardiopulmonary resuscitation. In a second part, we tested erythropoietin (EPO) against placebo in two model of cardiac arrest. In an experimental model of cardiac arrest, we demonstrated that EPO, when administrated before cardiac arrest, improved initial resuscitation and increased the duration of post-resuscitation survival. In a second model of circulatory arrest during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass, EPO administration did not protect against cerebral ischemia and inflammatory response occurring during cardiac surgery with CPB. It is difficult to make definitive conclusion on the potential role of EPO in myocardial and cerebral protection after circulatory arrest. We can hope that EPO administration will represent pharmacological approach in upcoming years to additional myocardial salvage of the reperfused myocardium after cardiac arrest.

