



Implication de la vasopressine dans l'hypoperfusion tissulaire au cours du choc cardiogénique compliquant l'infarctus du myocarde

Philippe Gaudard

► To cite this version:

Philippe Gaudard. Implication de la vasopressine dans l'hypoperfusion tissulaire au cours du choc cardiogénique compliquant l'infarctus du myocarde. Médecine humaine et pathologie. Université Montpellier, 2020. Français. NNT : 2020MONTT004 . tel-02869670

HAL Id: tel-02869670

<https://theses.hal.science/tel-02869670>

Submitted on 16 Jun 2020

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 MONTPELLIER

En Biologie Santé

École doctorale Sciences Chimiques et Biologiques pour la Santé (CBS2)

PhyMedExp – Physiologie et Médecine Expérimentale du cœur et des Muscles
INSERM U1046 – CNRS UMR 9214

Implication de la vasopressine dans l'hypoperfusion tissulaire au cours du choc cardiogénique compliquant l'infarctus du myocarde

Présentée par Philippe GAUDARD
Le 03 mars 2020

Sous la direction de Anne VIRSOLVY et Pascal COLSON

Devant le jury composé de

Nathalie LALEVEE, CR, Université Aix Marseille
Marc LEONE, PUPH, Université Aix Marseille
Jacques DURANTEAU, PUPH, Université Paris Sud XI
Alexandre OUATTARA, PUPH, Université Bordeaux
Gilles GUILLON, DR, Université Montpellier
Sylvain RICHARD, DR, Université Montpellier
Anne VIRSOLVY, CR, Université Montpellier
Pascal COLSON, PUPH, Université Montpellier

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Invité
Invité
Directrice de Thèse
Co-Directeur de Thèse



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

Remerciements

Suite à ces 5 années passées, certes à temps partiel, au sein de l'équipe du Laboratoire PhyMedExp, je tiens à remercier chaleureusement l'ensemble des directeurs d'équipe, chercheurs, animaliers, ingénieurs, doctorants, étudiants en master, secrétaires et autres personnels que j'ai pu rencontrer pour leur accueil convivial, sérieux et bienveillant très appréciable.

En particulier, je remercie le Pr Jacques Mercier, Directeur de PhyMedExp, pour la confiance qu'il m'a accordée en m'acceptant comme Doctorant dans cette belle structure qui a su trouver un juste équilibre entre des cliniciens curieux de recherche et des chercheurs avides de compréhension des problématiques cliniques. Cette atmosphère unique m'incite à poursuivre dans cette collaboration.

Je remercie de la même manière le Dr Sylvain Richard, Directeur adjoint et chef de l'équipe 1, pour son enthousiasme entraînant, son écoute attentive et également sa confiance. Il a le souci permanent de la recherche dite translationnelle avec transposition des questionnements cliniques vers la recherche plus fondamentale et inversement des applications cliniques possibles des découvertes en laboratoire. Au travers lui, je remercie l'ensemble de l'équipe 1 pour son aide dans la réalisation de mon projet.

Je tiens à remercier particulièrement le Dr Anne Virsolvy, chargée de recherche de l'équipe 1, qui a accepté la difficile tâche d'encadrer le doctorat d'un clinicien. Elle a su faire preuve d'une grande patience et d'une flexibilité pour s'adapter à mes contraintes. Son expérience de la réactivité vasculaire, ses conseils pratiques, son calme et sa détermination m'ont été d'une grande utilité.

Je remercie également le Pr Pascal Colson, coordonnateur du département d'anesthésie et réanimation de l'hôpital Arnaud de Villeneuve, qui m'a accompagné sur ce projet et a accepté de co-diriger ce travail afin d'apporter son expérience clinique et sa connaissance du système vasopressinergique. Le travail que nous partageons au quotidien depuis de nombreuses années et sa confiance indéfectible ont pour moi une valeur inestimable.

Mes remerciements vont aussi au Dr Gilles Guillon, directeur de recherche à l'IGF, qui a largement collaborer sur ce projet et nous a apporté son expertise et sa connaissance inégalable de la vasopressine et de ces récepteurs.

Je remercie vivement le Dr Hélène David que j'ai eu le plaisir d'encadrer lors de son Master au sein du Laboratoire PhyMedExp. Son implication et son sérieux ont largement contribué au bon démarrage du projet de recherche. Je souhaite que notre collaboration fructueuse puisse se poursuivre auprès des patients comme au laboratoire.

Le Dr Pierre Sicard et sa plateforme d'imagerie du petit animal méritent aussi de vifs remerciements pour son aide précieuse et sa disponibilité pour les échographies et divers petits conseils et aides techniques.

Enfin, je remercie particulièrement Patrice Bideaux sans qui ce travail n'aurait pu aboutir. Spécialisé dans la chirurgie du petit animal, sans oublier le soin attentionné qu'il porte aux animaux dont il a la charge, il s'est fortement impliqué dans le projet en acceptant de fleurter en permanence avec les limites du possible pour obtenir des infarctus sévères mais vivants. Je ne le remercierai jamais assez !

Je remercie aussi mes collègues de travail en dehors du laboratoire qui ont accepté de me remplacer et d'augmenter leur charge de travail auprès des patients en réanimation ou en anesthésie au bloc opératoire. L'esprit d'équipe est un bien des plus précieux.

Par-dessus tout, je remercie du fond de mon cœur mon épouse Karine et mon fils Matthieu qui m'ont soutenu sans hésiter et sans faille malgré les sacrifices lourds imposés par mon investissement dans ce Doctorat. Leur amour m'a permis de surmonter les épreuves et les étapes difficiles. Je leur suis éternellement reconnaissant et j'espère qu'ils pourront être fier de mon travail même si je sais que ce n'est pas le plus important pour eux. Je remercie également ma mère qui m'a toujours soutenu et m'apporte aussi tout son amour maternel.

Ce travail est dédié à mon père, travailleur acharné et en quête perpétuelle de la qualité « zéro défaut ». Sa mémoire inspire à jamais mon parcours...

Implication de la vasopressine dans l'hypoperfusion tissulaire au cours du choc cardiogénique compliquant l'infarctus du myocarde

Table des matières

Abréviations

Liste des figures et tableaux

Avant-propos

INTRODUCTION

1. Infarctus du myocarde et choc cardiogénique
 - 1.1. Incidence et pronostic de l'infarctus du myocarde en santé humaine
 - 1.2. Physiopathologie du choc cardiogénique
 - 1.3. Conséquences microcirculatoires
 - 1.4. Principes thérapeutiques
2. Système vasopressinergique
 - 2.1. L'arginine vasopressine
 - 2.2. Les récepteurs
 - 2.3. Les principaux ligands des récepteurs vasopressinergiques
 - 2.4. Régulation
 - 2.5. Implications cliniques
 - 2.5.1. Pathologies associées à une dérégulation du système vasopressinergique
 - 2.5.2. Utilisation diagnostique (biomarqueur) : Copeptine
3. Choix du modèle animal
 - 3.1. Modèles animaux de choc cardiogénique
 - 3.2. Modèles d'infarctus du myocarde chez le rat
 - 3.3. Apport de l'échocardiographie du petit animal
 - 3.4. Transposition chez le rat de la NIRS (utilisée en clinique pour explorer la perfusion tissulaire)
4. Hypothèses de travail
 - 4.1. Réponse vasopressinergique à l'infarctus du myocarde
 - 4.2. Participation de la vasopressine dans l'hypoperfusion tissulaire au cours du choc cardiogénique

OBJECTIFS

MATERIEL ET METHODES

1. Protocole expérimental
 - 1.1. Procédure réglementaire
 - 1.2. Procédure chirurgicale
2. Evaluation hémodynamique
 - 2.1. Fréquence cardiaque et pression artérielle
 - 2.2. Evaluation échocardiographique
3. Evaluation de la perfusion tissulaire
 - 3.1. Mesure de la saturation de l'hémoglobine mésentérique en oxygène
 - 3.2. Lactatémie plasmatique
4. Evaluation de la stimulation du système vasopressinergique

5. Réactivité vasculaire
6. Manipulations de la réponse vasopressinergique
 - 6.1. Traitement par un antagoniste du récepteur V1a
 - 6.2. Traitement par un agoniste du récepteur V1a
7. Plan d'étude
8. Analyse statistique

RESULTATS

1. Etude 1 : Oxygénation mésentérique dans un modèle de choc cardiogénique
 - 1.1. Contexte
 - 1.2. Article 1
 - 1.3. Synthèse article 1
2. Etude 2 : Implication de la vasopressine dans l'hypoperfusion tissulaire au cours du choc cardiogénique ischémique
 - 2.1. Contexte
 - 2.2. Article 2
 - 2.3. Synthèse article 2

DISCUSSION GENERALE

BIBLIOGRAPHIE

Abréviations

ACG : Artère coronaire gauche

ACH : Acétylcholine

ACP : Angioplastie coronaire percutanée

ACTH : Adrenocorticotrophic hormone

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique

AVP : Arginine-vasopressine

CC : Choc cardiogénique

DC : Débit cardiaque

ECMO-VA : ECMO veno-artérielle (ECMO : extra-corporeal membrane oxygenation)

ECLS : Extra-Corporeal Life Support

ESC : European Society of Cardiology (société européenne de cardiologie)

FEVG : Fraction d'éjection ventriculaire gauche

ICA : Insuffisance cardiaque aiguë

IDF : Incident dark field

IDM : Infarctus du myocarde

ITV : Intégrale temps vitesse

KCL : Chlorure de potassium

HFmrEF : Heart failure with mid-range éjection fraction (insuffisance cardiaque à fraction d'éjection intermédiaire)

HFrfEF : Heart failure with reduced éjection fraction (insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite)

HFpEF : Heart failure with preserved éjection fraction (insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée)

LVP : Lysine-vasopressine

NIRS : Near-infrared spectroscopy (spectroscopie en proche infrarouge)

NO : Nitric Oxide

PAM : Pression artérielle moyenne

PE : Phényléphrine

SDF : Sidestream dark field

SIRS : Systemic inflammatory response syndrome (syndrome de réponse inflammatoire systémique)

SHR : Syndrome hépato-rénal

SmO₂ : Saturation de l'hémoglobine mésentérique en oxygène

TLP : Terlipressine

VG : Ventricule gauche

Liste des figures et tableaux

Figure 1 : Physiopathologie du choc cardiogénique	2
Figure 2 : Métabolisme du lactate et du glucose dans l'organisme	4
Figure 3 : Application de la spectrométrie proche infrarouge au niveau de l'éminence thénar pour monitoring de l'oxygénation tissulaire (StO₂)	5
Figure 4 : Valeur pronostique de la pente de reperfusion mesurée par la StO₂	6
Figure 5 : Valeur pronostique de la microcirculation sublinguale dans le choc cardiogénique	7
Figure 6 : Mode d'action des inotropes	9
Figure 7 : Les principaux dispositifs d'assistance circulatoire mécanique temporaire	11
Figure 8 : De la pré-prohormone à la vasopressine et copeptine	12
Figure 9 : Système vasopressinergique et sites d'action via les récepteurs V_{1a}, V₂ et V_{1b} ...	13
Figure 10 : Contributions de l'AVP et de ses récepteurs dans la régulation pour le maintien de la pression artérielle	15
Figure 11 : Coupes échocardiographiques transthoraciques chez le rat	22
Figure 12 : Observation anatomique du cœur à J1 après la ligature de l'ACG	28
Figure 13 : Evaluation de l'oxygénation mésentérique par la NIRS	30

Avant-propos

L'infarctus aigu du myocarde est un problème majeur de santé publique par son incidence relativement élevée y compris dans la population active et par le risque d'évolution vers l'insuffisance cardiaque chronique. La charge en soins et le coût pour l'assurance maladie sont très élevés aussi bien en aigu qu'en chronique.

La proportion d'infarctus aigu du myocarde évoluant vers le choc cardiogénique est plutôt faible, de 5 à 10%, mais du fait de la forte incidence de la pathologie coronaire cela concerne un grand nombre de patient. La prise en charge de ces patients requiert des ressources en soins très avancées avec un plateau technique pluridisciplinaire de cardiologie interventionnelle, de chirurgie cardiaque et d'anesthésie-réanimation spécialisée. Une organisation sanitaire du territoire est nécessaire pour mettre en réseau les structures de proximités, les centres intermédiaires proposant la coronarographie et les structures spécialisées de niveau 3 en tant que centres de références et/ou de recours. Malgré les avancées médicales, technologiques et organisationnelles, la mortalité du choc cardiogénique reste très élevée.

Les enjeux de la prise en charge du choc cardiogénique sont multiples. Tout d'abord la précocité du diagnostic est primordiale. L'existence d'un « pré-choc » est même recherchée pour anticiper la survenue du choc cardiogénique. Ensuite la revascularisation myocardique en urgence est essentielle pour la préservation du capital myocardique. En parallèle, le traitement doit permettre de restaurer un débit et une pression suffisante pour prévenir ou limiter la survenue de défaillance d'organes. La situation hémodynamique peut se dégrader en quelques minutes avec effondrement du débit cardiaque. La survenue d'un arrêt cardiaque est fréquente dans ce contexte. La mise en place immédiate d'une assistance circulatoire mécanique temporaire est la seule solution en cas de choc réfractaire ou d'arrêt cardiaque pour tenter d'éviter le décès. Enfin, une attention particulière devrait être portée à la protection myocardique dès que les fonctions vitales sont assurées afin de favoriser la récupération myocardique.

La transposition des problématiques cliniques observées au cours de la réanimation des chocs cardiogéniques vers la recherche fondamentale est essentielle pour comprendre les mécanismes impliqués et rechercher des pistes thérapeutiques nouvelles. La microcirculation est un élément essentiel à prendre en compte au cours de la réanimation des états de chocs avec une influence majeure sur le risque de défaillance d'organes et sur la mortalité. Cependant les moyens thérapeutiques agissant de façon favorable ou néfaste sur la microcirculation au cours du choc cardiogénique sont mal connus. La recherche d'un modèle animal de choc cardiogénique post-infarctus a été à l'origine de mon projet de Thèse.

INTRODUCTION

1. Infarctus du myocarde et choc cardiogénique

1.1. Incidence et pronostic de l'infarctus du myocarde en santé humaine

L'infarctus aigu du myocarde (IDM) demeure la principale cause d'insuffisance cardiaque et représente une cause majeure de décès dans le monde^{1,2}. Selon les recommandations de la Société européenne de cardiologie³, la fraction d'éjection ventriculaire gauche (FEVG) à 40% est considérée comme un seuil pour définir l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite (HFrEF) par rapport à l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection préservée (HFpEF) quand la FEVG est supérieure à 50% et l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection intermédiaire (HFmrEF). L'occlusion des artères coronaires principales a comme conséquence une réduction aiguë de la FEVG susceptible de mener au choc cardiogénique (CC). Chez l'homme, le CC se produit dans 5 à 8 % des syndromes coronariens aigus avec élévation du segment ST hospitalisés, mais elle est responsable de 40 à 50 % de mortalité et nécessite des ressources médicales élevées dans les unités de soins intensifs avec une lente amélioration de la survie au cours des dernières décennies⁴⁻⁶. La revascularisation myocardique précoce, dans les 6 heures suivant l'apparition des symptômes, est la seule thérapie ayant montré une réduction de la mortalité⁷. L'angioplastie coronaire percutanée est préférable quand celle-ci peut être réalisée dans les deux heures suivant le diagnostic d'infarctus du myocarde avec élévation du segment ST⁸. Cependant, en cas d'instabilité hémodynamique pouvant conduire rapidement au CC ou à l'arrêt cardiaque, la mise en place d'une assistance circulatoire mécanique préalable peut être discutée. En particulier, l'assistance mono-ventriculaire gauche par décharge directe du ventricule gauche (VG) avant revascularisation pourrait être bénéfique en réduisant la taille de l'infarctus^{9,10}.

1.2. Physiopathologie du choc cardiogénique

L'insuffisance cardiaque évolue vers un CC lorsqu'à la dysfonction cardiaque primaire s'associe une hypoperfusion tissulaire responsable d'une inadéquation entre les apports et les

besoins en oxygène³. Cette hypoperfusion tissulaire se traduit par l'apparition d'une acidose lactique à la suite du développement d'un métabolisme anaérobie pour tenter de maintenir l'approvisionnement énergétique des cellules. Les dysfonctions d'organe sont rapidement associées à cet état de choc entraînant des manifestations clinico-biologiques évocatrices et menaçant le pronostic vital. Les critères de CC en clinique humaine peuvent varier d'une publication à l'autre mais la signification globale reste assez proche. Le CC est défini par la Société Européenne de Cardiologie (ESC) par une hypotension persistante (pression artérielle systolique inférieure à 90 mmHg ou nécessité de vasopresseurs) avec un index cardiaque inférieur à 2,2 L/min/m² malgré une pression de remplissage adéquate ou élevée et par des symptômes d'hypoperfusion d'organes cibles (c.-à-d. altération de l'état mental, oligurie, vasoconstriction périphérique, augmentation du lactate)^{1,3,11}. Le CC est souvent associé à des dommages myocardiques étendus, mais il existe un chevauchement substantiel des tailles d'IDM entre les patients présentant un CC et ceux sans état de choc¹². Dans l'essai «SHOCK», la distribution de FEVG variait de 17 à 43 % pour les patients inclus avec un CC, mais de nombreux autres études sur l'IDM ont observé une réduction similaire de FEVG pour des patients sans CC^{1,7}. Néanmoins, une insuffisance cardiaque aiguë (ICA) avec FEVG inférieure à 40 % est plus souvent associée au CC.

Le choc cardiogénique évolue habituellement selon deux profils hémodynamiques plus ou moins intriqués (**Figure 1**). La réduction aiguë du débit cardiaque induit une réponse vasoconstrictrice impliquant le système sympathique et les hormones vasoactives (angiotensine II, vasopressine), afin de maintenir la pression de perfusion des organes à forte autorégulation mais en sacrifiant la perfusion de certains territoires. Inversement, l'IDM aigu et l'hypoperfusion tissulaire peuvent mener à un syndrome de réponse inflammatoire systémique (SIRS) et augmenter l'expression de la NO synthase inductible, qui sont tous deux responsables d'une vasodilatation inadéquate^{1,13,14}.

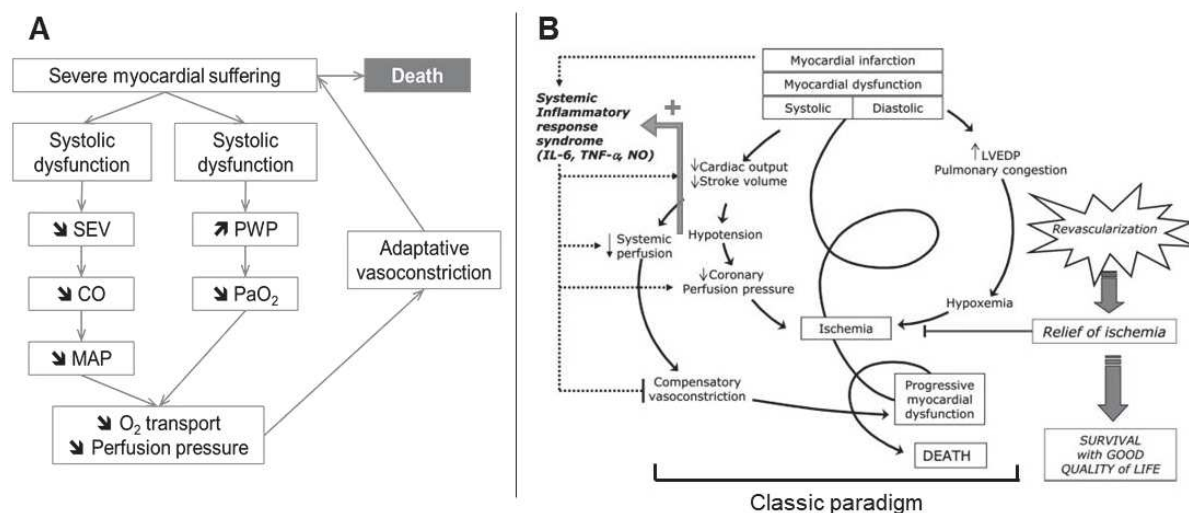


Figure 1 : Physiopathologie du choc cardiogénique.

(A) Approche physiopathologique classique du choc cardiogénique. (B) Nouveau paradigme du choc cardiogénique (modifié d'après Reynolds et al, 2008). SEV, systolic ejection volume ; CO, cardiac output ; MAP, mean arterial pressure ; PWP, pulmonary wedge pressure ; LVEDP, left ventricular end diastolic pressure.

1.3. Conséquences microcirculatoires

La microcirculation correspond à la circulation sanguine dans le réseau vasculaire distributif représenté par les artérioles terminales, les capillaires et les veinules, par opposition à la macrocirculation qui représente l'état hémodynamique observé dans les gros vaisseaux. L'altération de la microcirculation, conduisant à une baisse de la délivrance en oxygène aux tissus, peut être généralisée comme dans les états de choc septique avec un défaut majeur d'extraction en oxygène de l'hémoglobine vers le tissu interstitiel. L'atteinte microcirculatoire dans le CC est généralement d'abord localisée, touchant des territoires non prioritaires pour l'organisme tels que la peau, les muscles et le tractus digestif. La baisse de débit cardiaque et/ou de pression artérielle, bien que d'autres mécanismes (SIRS) puissent co-exister, sont souvent à l'origine de cette altération de la microcirculation dans le CC par suite d'une réponse vasoconstrictrice permettant de redistribuer le débit sanguin vers les organes nobles. La dysfonction microcirculatoire peut persister malgré la restauration d'un état macrocirculatoire satisfaisant, ce

qui traduit une perte de la cohérence entre micro et macrocirculation. Cependant, les mécanismes impliqués dans la défaillance multiviscérale chez les patients en CC restent largement méconnus. Une altération de la perfusion mésentérique au niveau microvasculaire, modulée par la sévérité de l'insuffisance cardiaque, par le degré de SIRS, et par l'administration d'agents vasoactifs, pourrait jouer un rôle important dans la pathogénèse de la défaillance multiviscérale et la persistance du choc¹⁴.

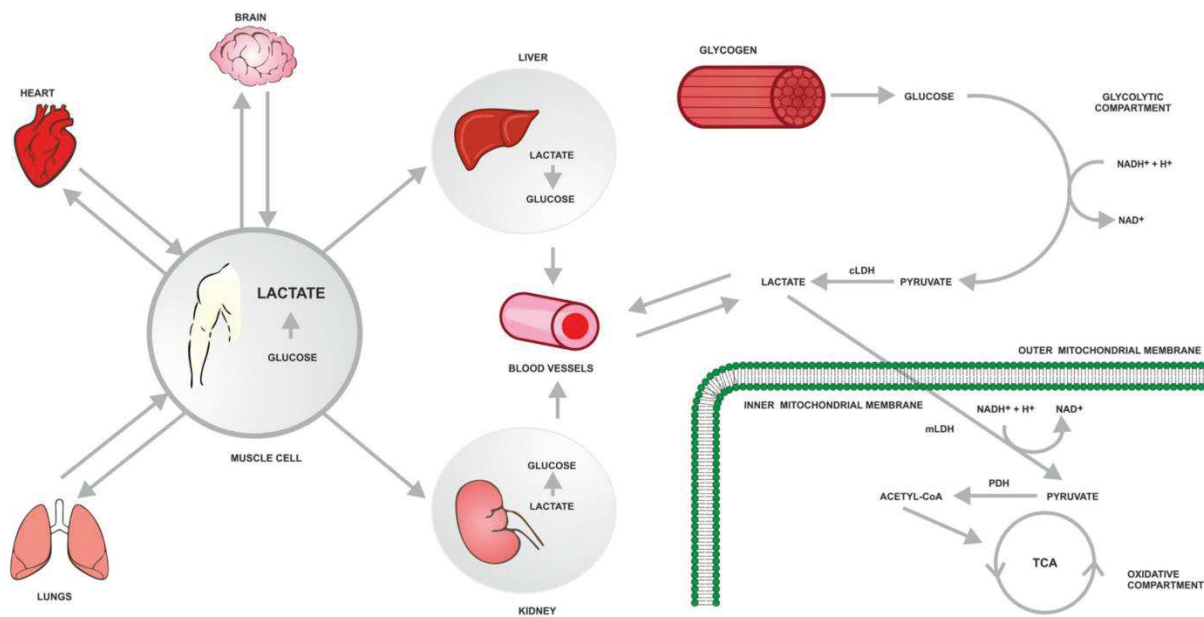


Figure 2 : Métabolisme du lactate et du glucose dans l'organisme.

D'après Kubiak et al, 2018. c/mLDH, cytosolic/mitochondrial lactate dehydrogenase ; PDH, pyruvate dehydrogenase; TCA, tricarboxylic acid cycle; NAD⁺, nicotinamide adenine dinucleotide.

Différents paramètres permettent d'évaluer l'hypoperfusion tissulaire. Parmi ceux-ci, l'augmentation du lactate sanguin, reflétant le métabolisme anaérobie mis en jeu (**Figure 2**)^{15,16}, est communément utilisé pour détecter l'hypoxie tissulaire et suivre son évolution. L'oxygénation tissulaire peut être mesurée directement par spectrométrie en proche infrarouge (NIRS) dans les tissus superficiels. L'analyse du contenu microvasculaire en oxygène par NIRS est fiable et facile à réaliser de façon non-invasive. La diminution du contenu microvasculaire en oxygène de ces tissus a une valeur pronostique intéressante au cours des différents états de choc, y compris le CC¹⁷⁻¹⁹.

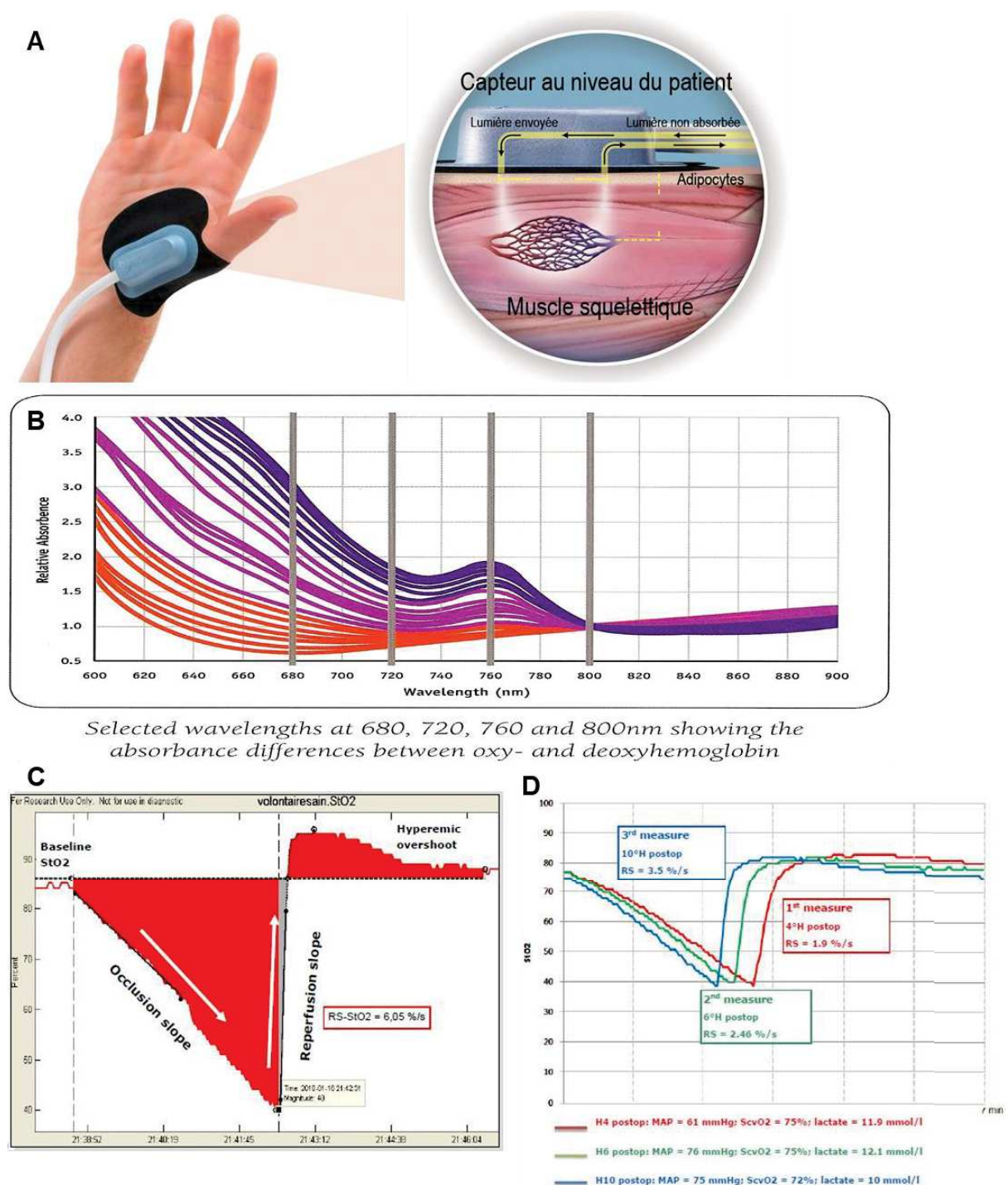


Figure 3 : Application de la spectrométrie proche infrarouge au niveau de l'éminence thénar pour monitoring de l'oxygénation tissulaire (StO₂).

(A) Capteur pour appareil Inspectra 650™ (Huchinson technology) et fenêtre d'échantillonnage tissulaire entre 1 et 1,5 cm de profondeur. (B) Différences d'absorption entre l'oxy- et désoxyhémoglobine en fonction des longueurs d'onde utilisées par le moniteur Inspectra 650™. (C) Variation de la StO₂ au cours d'un test d'occlusion vasculaire avec mesure de la pente de reperfusion (RS-StO₂). (D) Tests d'occlusion successifs chez un patient en postopératoire de transplantation cardiaque en choc cardiogénique (défaillance aiguë du greffon) traité par catécholamines et assistance circulatoire (ECMO-VA)

Au cours d'une étude clinique préliminaire, nous avons observé que les paramètres d'oxygénation de l'éminence thénar en réponse à un test d'ischémie-reperfusion (**Figure 3**) chez des patients en CC était fortement associée aux défaillances d'organe et permettait de prédire efficacement la mortalité hospitalière, en particulier lorsque la pente de re-saturation en oxygène post-ischémique restait inférieure à 3,5%/s après 12h d'optimisation thérapeutique (**Figure 4**)²⁰.

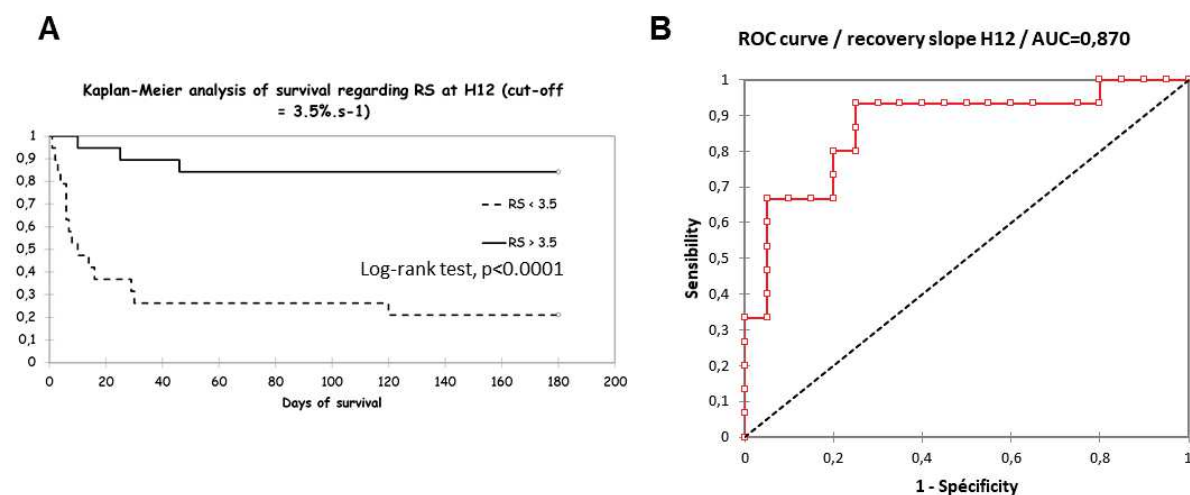


Figure 4 : Valeur pronostique de la pente de reperfusion mesurée par la StO₂.

Modifié d'après Gaudard et al, 2012 (abstract au congrès de l'ESICM 2012), série de 38 patients en choc cardiogénique. (A) Courbe actuarielle de survie de Kaplan-Meier, censurée à 6 mois, comparant les patients ayant une pente de reperfusion à H12 > ou < 3,5%/s. (B) Courbe ROC (Receiver Operating Characteristics) montrant la relation entre sensibilité et 1-spécificité de la pente de reperfusion à H12 pour prédire la mortalité.

D'autre part, une exploration anatomique de la microcirculation est possible grâce au développement de nouvelles techniques de visualisation directe comme la vidéo-microscopie intra-vitale « sidestream dark field » (SDF) ou « incident dark field » (IDF). En particulier, la microcirculation sublinguale est fréquemment évaluée en raison de sa bonne accessibilité et de sa corrélation étroite avec la perfusion splanchnique²¹. Dans le CC, les altérations de la microcirculation observées sont notamment une diminution de la densité des vaisseaux, de la proportion de capillaires perfusés et du débit microvasculaire²². Den Uil et collaborateurs ont rapporté qu'une diminution de la densité de capillaires perfusés sublinguale, à l'inclusion ou après

traitement était associée au développement d'une défaillance multiviscérale et qu'elle était un facteur prédictif d'évolution défavorable chez les patients atteints de CC post-IDM (**Figure 5**)²³.

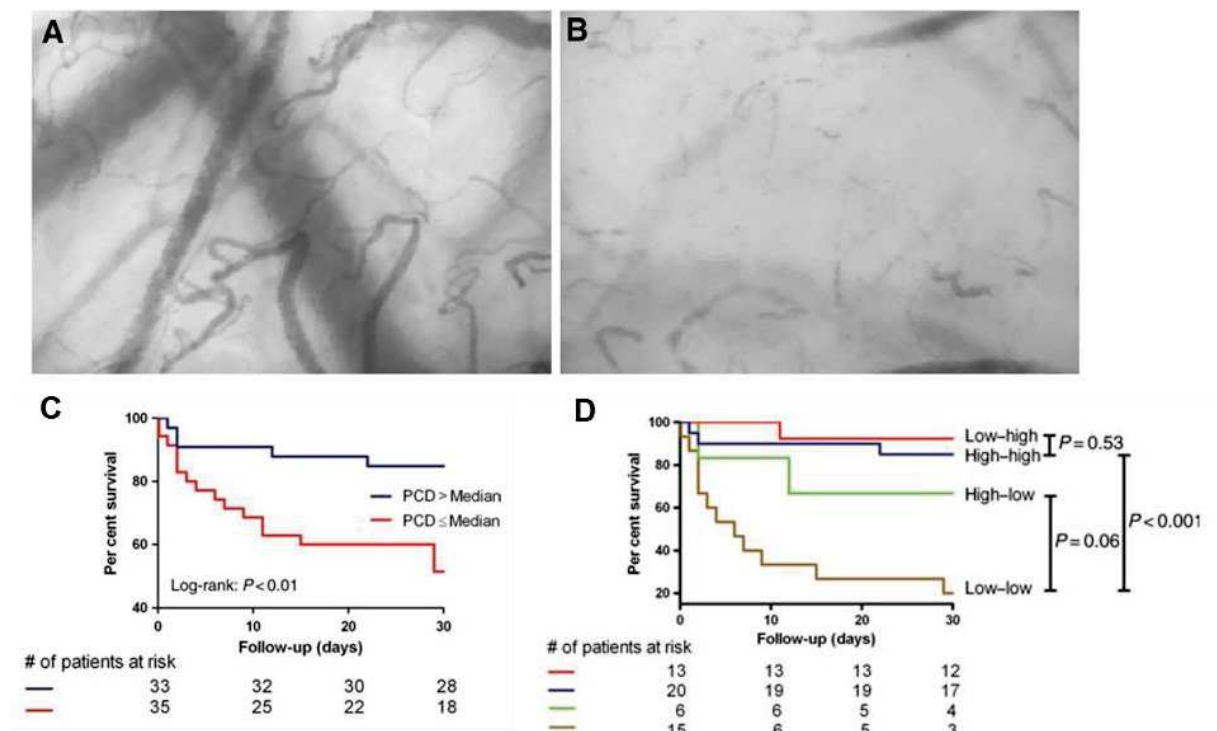


Figure 5: Valeur pronostique de la microcirculation sublinguale dans le choc cardiogénique.

Visualisation de la microcirculation sublinguale par microscopie intra-vitale SDF d'après Jung et al, 2015: (A) microcirculation normale, (B) microcirculation altérée. (C) Courbe de survie de Kaplan-Meier stratifiée selon la densité de capillaires perfusés à l'inclusion. (D) Courbe de survie de Kaplan-Meier stratifiée selon la densité de capillaires perfusés à l'inclusion et à 24h (low si ≤ médiane, high si > médiane). PCD, perfused capillary density.

1.4. Principes thérapeutiques

1.4.1. La revascularisation myocardique

En cas de CC, seule la revascularisation myocardique précoce, en particulier par angioplastie-stenting coronaire percutanée (ACP), a permis de réduire la mortalité du CC post-IDM ces 20 dernières années depuis l'étude SHOCK⁷. Les patients ayant une revascularisation dans les 6 heures par ACP ou par pontage coronaire chirurgical avaient une meilleure survie à 6 mois et à long terme que les patients ayant une stratégie de stabilisation initiale et revascularisation tardive²⁴. Plusieurs registres et métaanalyses ont confirmées ces résultats conduisant à une

recommandation des sociétés savantes, comme par exemple l'ESC, indiquant une stratégie de revascularisation dans les 12 heures en cas d'IDM avec élévation du segment ST quelle que soit la situation (classe I, niveau A) ou en cas de CC avec syndrome coronaire aigu sans élévation du segment ST (classe I, niveau C)⁸. En cas de lésions coronaires multiples, la revascularisation complète est encouragée (recommandation IIA C). Cependant une étude récente, CULPRIT-SHOCK, a montré un bénéfice à ne traiter immédiatement que la lésion coupable par rapport à une revascularisation multiple initiale²⁵. Mais cette stratégie reste débattue dans certains cas particuliers de lésions sub-occlusives d'artères coronaires principales avec réduction du flux, notamment si le patient est sous assistance circulatoire. En pratique courante, la revascularisation chirurgicale est réalisée en urgence dans moins de 5% des cas, bien qu'il n'y ait pas de preuve de différence d'efficacité par rapport à l'ACP⁴.

1.4.2. Les traitements pharmacologiques

La présentation hémodynamique du CC post-IDM comprend une dysfonction cardiaque avec ou sans baisse des résistances vasculaires systémiques¹⁴. Les traitements vasopresseurs et/ou inotropes sont utilisés à la dose minimale et le moins longtemps possible pour tenter de restaurer la perfusion systémique. Pour corriger rapidement la pression artérielle, la noradrénaline est le traitement de première intention^{3,26}. Elle est considérée comme un traitement ino-constricteur permettant d'augmenter également l'index cardiaque et l'index de puissance cardiaque, contrairement à la vasopressine qui n'augmente que la pression artérielle²⁷. Le traitement par noradrénaline seule a montré une amélioration de la pression artérielle, de la fonction cardiaque et de l'oxygénation tissulaire dans un modèle de CC ischémique chez le cochon²⁸. L'ajout d'un agent inotrope positif peut aider à améliorer le volume d'éjection systolique après stabilisation hémodynamique par le traitement ino-constricteur. Le traitement par de la dobutamine débutée à faible dose (2µg/kg/min) doit être considéré en cas de débit cardiaque bas^{3,4,26} mais est associé à un risque accru d'arythmies et entraîne une augmentation de la consommation en oxygène du myocarde (**Figure 6**). Les autres catécholamines (dopamine, adrénaline) ne sont pas recommandées en raison de leur moindre efficacité et/ou de leurs effets secondaires importants³.

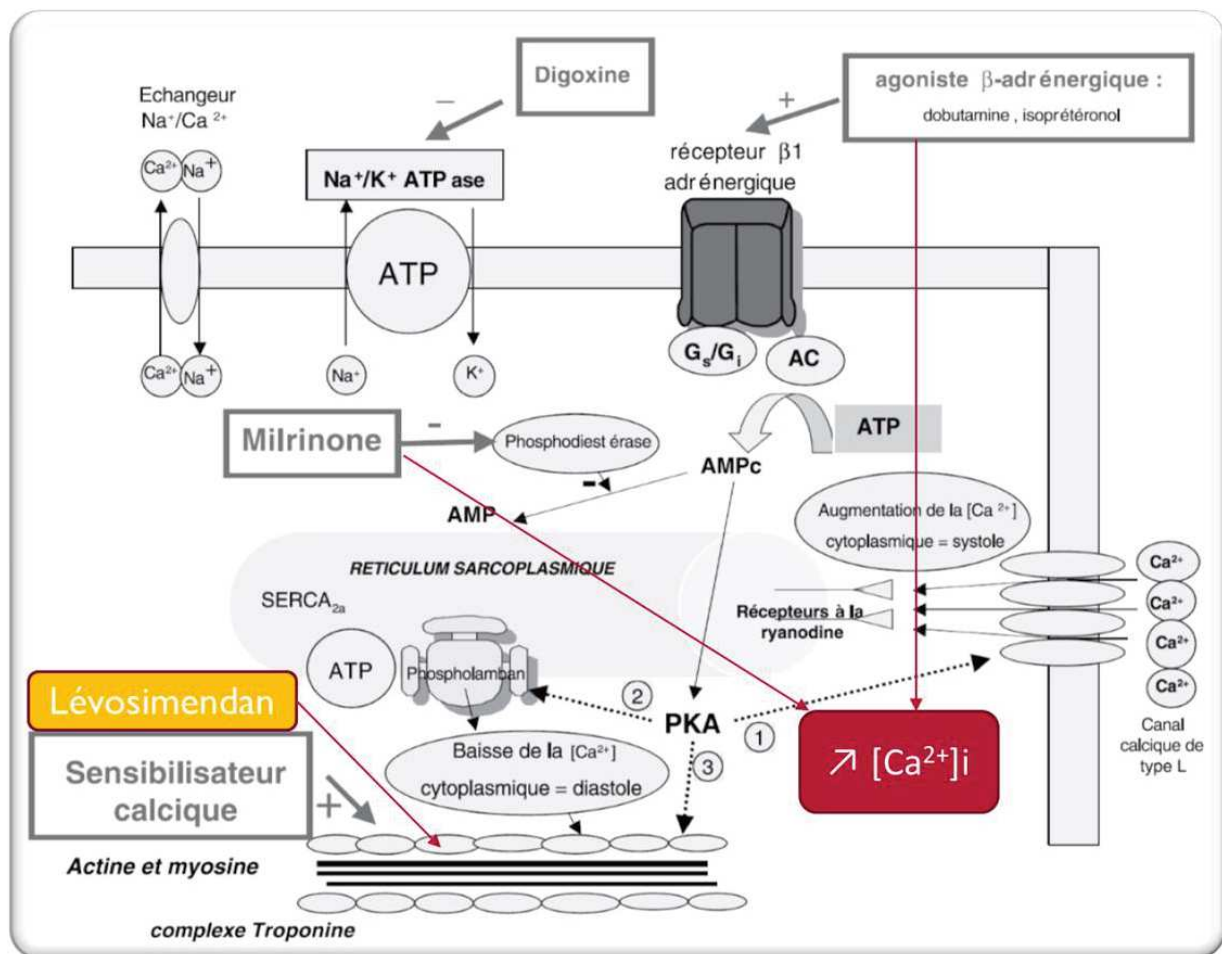


Figure 6 : Mode d'action des inotropes.

Modifié d'après Mebazaa dans « Anesthésie en chirurgie cardiaque », JL Fellahi, éditions Arnette 2006.

L'utilisation de l'adrénaline dans le CC post-IDM est associée à plus de chocs réfractaires et à un triplement du risque de décès^{29,30}. Parmi les agents ino-dilatateurs, le levosimendan a la particularité de ne pas augmenter la concentration cytosolique en calcium mais agit en augmentant la sensibilité des myofilaments au calcium, ce qui permet un effet inotrope sans majorer la consommation énergétique du myocarde, nécessaire aux mouvements calciques (**Figure 6**). Il n'y a pas de preuve suffisante pour recommander son utilisation en première intention dans le CC sauf dans le cas d'un traitement préalable par bêta-bloquants³. Les inhibiteurs de phosphodiesterase ne doivent pas être utilisés en première intention et semblent inférieurs au levosimendan en cas de choc réfractaire aux catécholamines²⁶.

1.4.3. Les assistances circulatoires mécaniques temporaires

En l'absence de contre-indication, il semble logique de considérer le recours aux assistances circulatoires mécaniques en cas de CC réfractaire aux catécholamines plutôt que d'augmenter le support pharmacologique (recommandation ESC IIb grade C)³. En effet, le traitement par catécholamines comprend de sérieuses limites telles que les troubles du rythme, l'augmentation de consommation en oxygène du myocarde et une efficacité insuffisante en tant que support circulatoire définissant un choc réfractaire³¹. Les dispositifs d'assistance circulatoire percutanés communément utilisés de nos jours sont l'ECMO veno-artérielle (ECMO-VA), pour « extra-corporeal membrane oxygenation », et les microturbines Impella™ (**Figure 7**). Le ballon de contre-pulsion intra-aortique n'est plus recommandé dans le CC depuis l'étude IAPB-Shock II^{3,32}. Le Tandem-Heart™, qui est une assistance mono-VG comprenant une canule trans-atrio-septale déchargeant les cavités gauches et une canule de réinjection artérielle fémorale, n'est pas distribué en France.

L'ECMO-VA est la technique de choix dans cette indication³³ car elle procure une assistance circulatoire globale jusqu'à 100% du débit cardiaque théorique, avec oxygénation et est rapidement mise en place par voie périphérique. Cependant cette circulation extracorporelle présente aussi des inconvénients en opposant une post-charge importante au VG défaillant et en réduisant, voire en abolissant, la circulation pulmonaire et le flux sanguin dans les cavités cardiaques. Le maintien d'un traitement inotrope sous ACMt est souvent nécessaire pour maintenir une éjection du VG. La pompe de type Impella est basée sur une micro-turbine montée sur cathéter et positionnée à travers la valve aortique. Elle procure un support circulatoire mono-VG via une décharge directe en volume du VG, ce qui améliore la balance énergétique du myocarde.

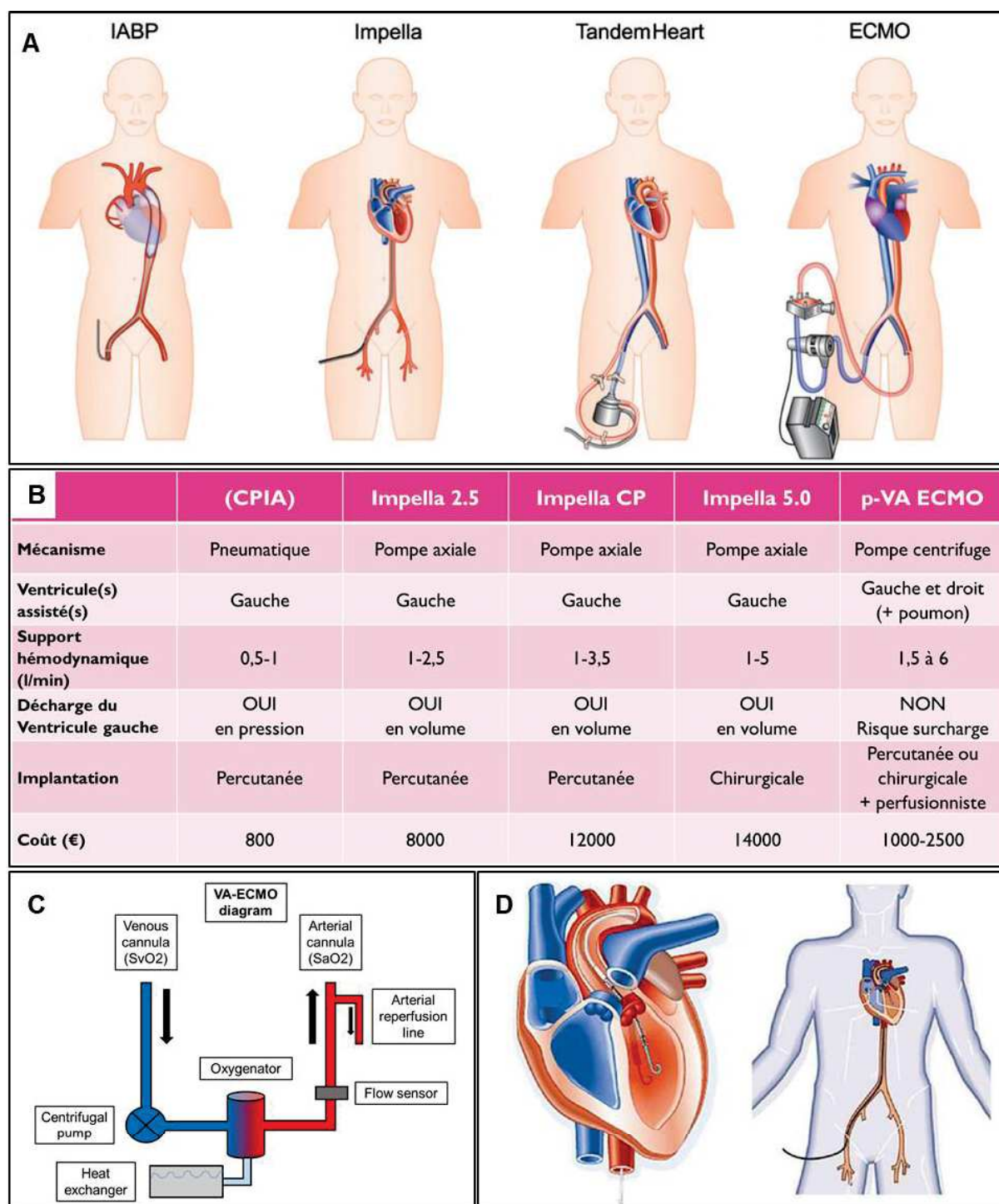


Figure 7 : Les principaux dispositifs d'assistance circulatoire mécanique temporaire.

(A) Les appareils d'assistance percutanés dans le choc cardiogénique d'après Werdan et al, 2014 (IABP, intra-aortic balloon pump). (B) Comparaison des dispositifs d'assistance circulatoire. A noter que le ballon de contre-pulsion intra-aortique (BCPIA) n'est plus considéré à proprement parlé comme une assistance circulatoire. p-VA ECMO, « extra-corporeal membrane oxygenation » veno-artérielle périphérique. (C) Schéma de fonctionnement d'une ECMO-VA. SvO₂, saturation veineuse en oxygène ; SaO₂, saturation artérielle en oxygène. (D) Trajet d'une pompe Impella insérée par l'artère fémorale droite et positionnée de part et d'autre de la valve aortique.

L'Impella CP™ permet un débit jusqu'à 3,5 l/min et peut être implantée par voie percutanée tandis que l'Impella 5.0™ peut atteindre 5l/min mais nécessite une mise en place chirurgicale. L'Impella peut être utilisée seule en cas de défaillance VG isolée ou combinée à une ECMO-VA pour assurer une décharge ventriculaire et éventuellement un relais d'assistance^{34,35}. Les contre-indications à l'utilisation de ces techniques d'assistance circulatoire plus ou moins couteuses sont l'âge supérieur à 65-70 ans, les comorbidités importantes (menaçant le pronostic vital à 6 mois), l'existence d'une limitation thérapeutique ou l'absence de perspective de récupération ou de projet thérapeutique à long terme.

2. Système vasopressinergique

2.1. L'arginine vasopressine

L'arginine-vasopressin (AVP), également connue sous le nom d'hormone anti-diurétique, est un nonapeptide (masse moléculaire 1084 Daltons) synthétisé dans l'hypothalamus et stocké dans la neuro-hypophyse.

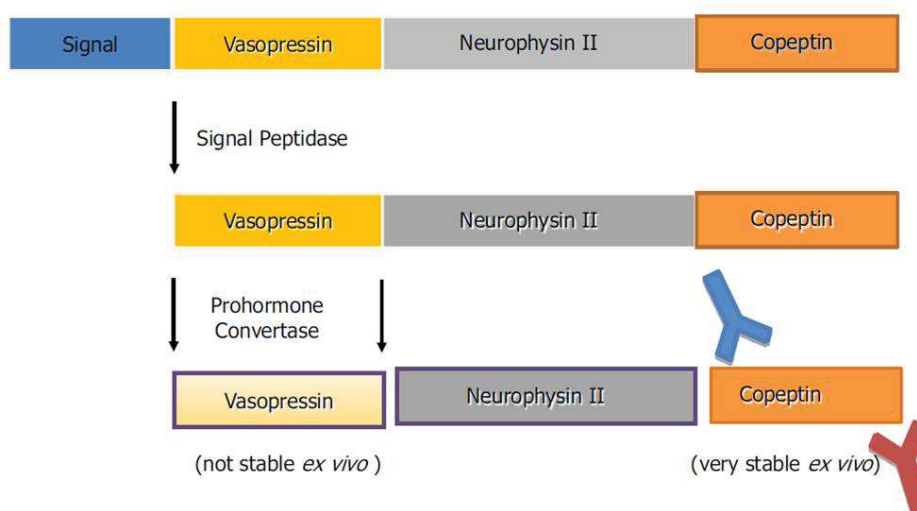


Figure 8 : De la pré-prohormone à la vasopressine et copeptine.

Le dosage immunologique en sandwich utilise 2 anticorps dirigés contre la séquence d'acides aminés de la portion C-terminale du précurseur. D'après Bankir et al, 2017.

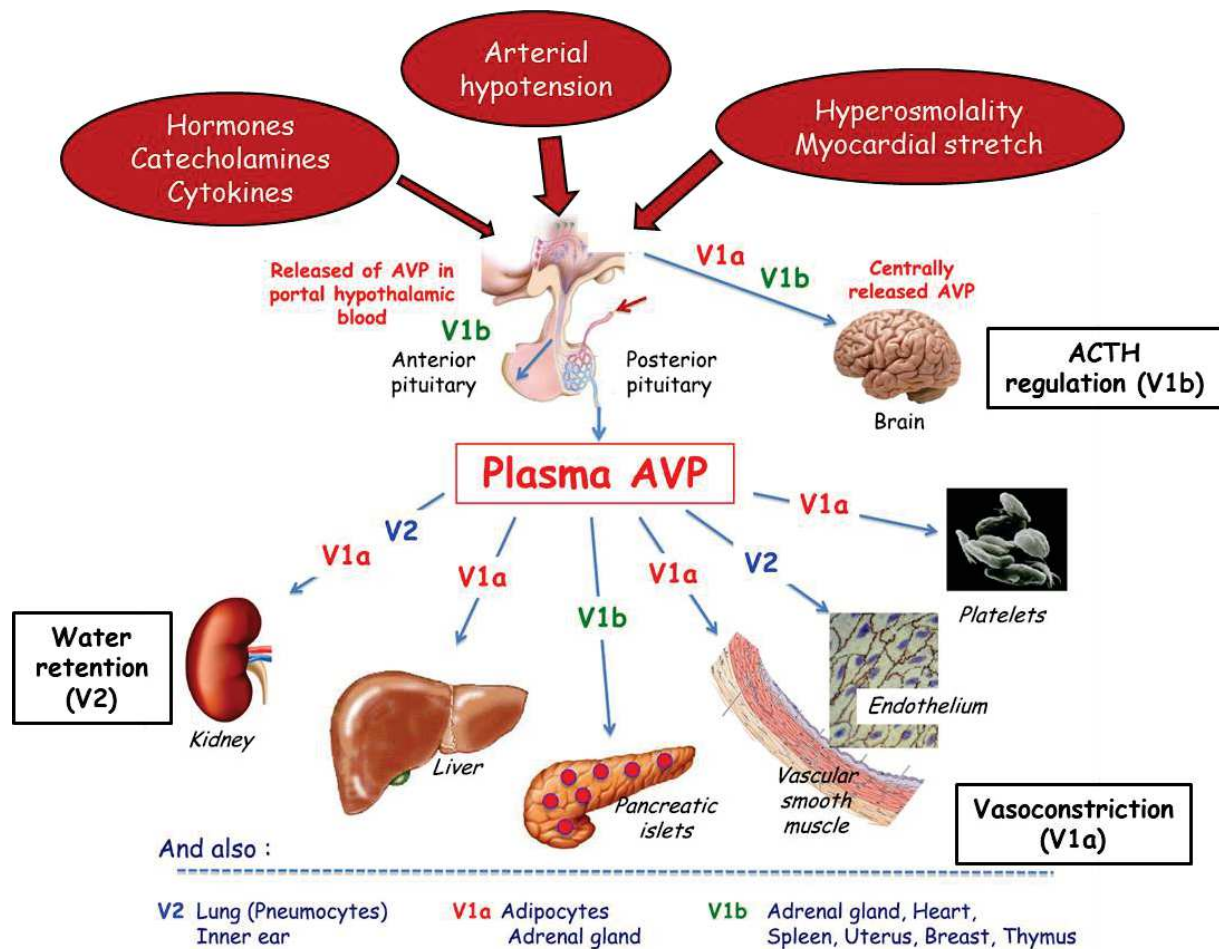


Figure 9 : Système vasopressinergique et sites d'action via les récepteurs V_{1a}, V₂ et V_{1b}.

La libération de vasopressine est stimulée par différents signaux régulés par l'hypothalamus. En plus des organes cible classiques (reins avec le récepteur V₂ et cellules musculaires lisses vasculaires avec le V_{1a}), de nombreux autres organes expriment des récepteurs pour la vasopressine. Parfois plusieurs types de récepteurs sont exprimés dans un même organe. Modifié d'après Bankir et al, 2017.

La pré-pro-vasopressine est la prohormone contenant l'AVP, la neurophysine II et la copeptine, qui sont scindées au cours de leur cheminement dans la tige pituitaire et libérées dans la circulation sanguine en quantité équimolaire³⁶ (**Figure 8**). Seulement 10 à 20% de l'AVP synthétisée est prête à être libérée immédiatement sous forme stockée dans les vésicules. Le processus de synthèse, transport et stockage prend 1 à 2 heures. La demi-vie plasmatique de la vasopressine est très courte, de l'ordre de 5 à 10 min. Elle est métabolisée par des vasopressinases hépatiques et rénales et est éliminée par filtration rénale. La concentration plasmatique physiologique de vasopressine est très basse (0 à 3 pg/ml soit environ $3 \cdot 10^{-12}$ M).

Le principal stimulus de libération de vasopressine est l'augmentation de l'osmolalité plasmatique et en particulier en cas d'hyponatrémie. Les autres stimuli sont l'hypovolémie efficace, l'hypotension artérielle sévère et les situations de stress³⁷ (**Figure 9**). De faibles augmentations d'osmolalité plasmatique entraînent une augmentation rapide de la sécrétion de vasopressine mais dans de faibles proportions (5 à 15 pg/ml). Les faibles changements de volume sanguin efficace et de pression artérielle ont peu d'effet sur la libération de vasopressine. Mais à partir de 20% de réduction du volume efficace ou de la pression artérielle, le taux plasmatique de vasopressine augmente fortement à plus de 20 ou 30 fois la normale³⁸.

2.2. Les récepteurs

L'action de l'AVP est médiée par trois récepteurs vasopressinergiques V_{1a} , V_{1b} (aussi appelé V_3) et V_2 , et le récepteur de l'ocytocine, qui appartiennent tous à la famille des récepteurs couplés à la protéine G et sont retrouvés dans de nombreux organes (**Figure 9**)^{36,39}. Les effets suivant l'activation du récepteur V_2 sont médiés par l'AMP cyclique, tandis que les effets médiés par l'activation des récepteurs V_{1a} ou V_{1b} sont médiés par le signal calcique. L'action hémodynamique de l'AVP est majoritairement assurée par le récepteur V_{1a} dans le muscle lisse vasculaire, induisant une vasoconstriction, et par le récepteur V_2 dans le tubule distal rénal et le tube collecteur stimulant l'absorption de l'eau. Le récepteur V_{1b} a également une action hémodynamique indirecte par son interaction avec le système catécholergique au niveau surrénalien et avec le système ACTH-glucocorticoïde au niveau de l'hypophyse antérieure, tandis que le récepteur V_{1a} interagit également avec le système rénine-angiotensine³⁹ (**Figure 10**). Des récepteurs V_{1a} sont ainsi présents dans le rein et des récepteurs V_2 sont exprimés dans l'endothélium vasculaire où ils jouent un rôle vasodilatateur par induction de la formation d'oxyde nitrique (NO). L'intensité de la vasoconstriction induite par l'activation du récepteur V_{1a} dans les cellules musculaires lisses vasculaires dépend du lit vasculaire concerné dans la circulation systémique (cutanée, musculaire, splanchnique, rénale, coronaire...) mais l'effet vasodilatateur prédomine dans la circulation pulmonaire où les récepteurs V_{1a} sont peu exprimés. L'AVP est également un agoniste partiel des

récepteurs de l'ocytocine, présents dans le myomètre, les cellules musculaires lisses mais aussi dans les cellules endothéliales et dans le cœur (où ils stimulent la libération du facteur atrial natriurétique)⁴⁰.

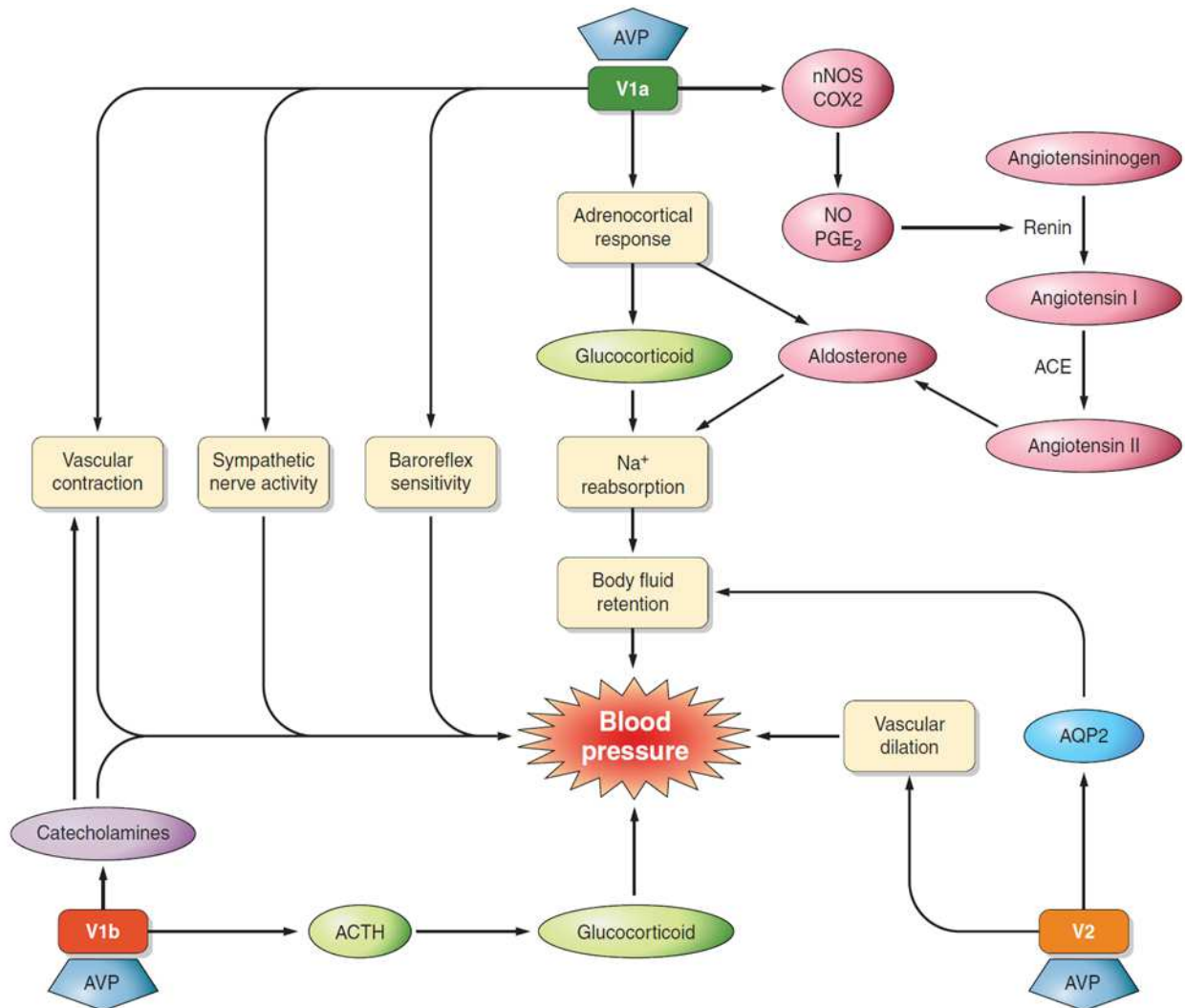


Figure 10 : Contributions de l'AVP et de ses récepteurs dans la régulation pour le maintien de la pression artérielle.

Les 3 types de récepteurs de l'AVP sont impliqués dans l'homéostasie de la pression artérielle. Par les récepteurs V_{1a} , l'AVP régule la vasoconstriction, la libération d'aldostérone et glucocorticoïdes à partir des glandes surrénales, la production rénale de rénine et l'activité nerveuse sympathique et le baroréflexe dans le système nerveux central. D'après Koshimizu et al, 2012. Via les récepteurs V_{1b} , l'AVP stimule la production d'ACTH et de catécholamines. De plus l'AVP joue un rôle crucial dans le contrôle de la pression artérielle en maintenant une rétention hydrique via le récepteur V_2 et la voie de l'aquaporine 2 (AQP2) tandis que l'AVP stimule une vasodilatation via le récepteur V_2 exprimé dans l'endothélium vasculaire.

2.3. Les principaux ligands des récepteurs vasopressinergiques

L'AVP et l'ocytocine sont les ligands natifs des récepteurs de la vasopressine et de l'ocytocine avec des affinités différentes. L'affinité de l'AVP pour les 3 sous-types de récepteurs vasopressinergiques humains et le récepteur humain de l'ocytocine est du même ordre de grandeur avec une valeur de K_i comprise entre 1 et 1,7 nM. L'affinité de l'ocytocine pour le récepteur V_{1a} est 10 à 100 fois plus faible que celle de l'AVP ou que celle pour le récepteur de l'ocytocine^{39,41}.

Parmi les nombreux ligands agonistes et antagonistes, peptidiques et non peptidiques, connus comme agissant sur les récepteurs vasopressinergiques^{41,42}, nous évoquerons seulement ceux intéressants cette étude. La terlipressine (TLP) est un peptide synthétique agissant comme une prodrogue après métabolisation par des exopeptidases en Lysine-Vasopressine (LVP) avec un effet biologique prolongé⁴³. La TLP est présentée comme un agoniste sélectif du récepteur V_{1a} via sa conversion en LVP. Cependant la TLP a une activité intrinsèque agoniste partielle sur le récepteur V_{1a} et agoniste complète sur les récepteurs V_2 et V_{1b} , avec cependant une affinité beaucoup plus faible que celle de la LVP⁴⁴. Le SR-49059, commercialisé sous le nom de relcovaptan, est un antagoniste non-peptidique du récepteur V_{1a} décrit pour la première fois en 1993⁴⁵. Le K_i du SR-49059 pour le récepteur V_{1a} humain est de 6 nM et pour le V_{1a} murin de 2 nM, tandis que l'affinité pour les autres récepteurs de la vasopressine est 50 à 100 fois plus faible⁴¹. Le relcovaptan a montré des effets bénéfiques dans des indications spécifiques comme la maladie de Raynaud et les dysménorrhées mais n'a pas été étudié dans l'insuffisance cardiaque⁴⁶.

2.4. Régulation

La régulation osmotique de la production et sécrétion de vasopressine est contrôlée par des osmorécepteurs périphériques (région de la veine porte hépatique) et centraux (région antérieure du 3° ventricule) qui détectent respectivement les effets précoces de l'alimentation sur l'osmolalité et les changements d'osmolalité systémique. De plus, les neurones magnocellulaires

hypothalamiques sont dépolarisés directement par les conditions hypotoniques, entraînant une baisse de la sécrétion de vasopressine. Il existe une relation linéaire entre l'augmentation d'osmolalité plasmatique et la concentration plasmatique de vasopressine. Ce système est capable de maintenir l'osmolalité plasmatique dans des limites étroites entre 284 et 295 mOsmol/kg où une faible variation de vasopressine plasmatique est suffisante pour modifier la concentration urinaire⁴⁷.

Dans les conditions physiologiques, la baro-régulation joue un rôle moins important que l'osmo-régulation. Cependant la baro-régulation entre en jeu quand la pression artérielle baisse de plus de 10 à 20%. Les barorécepteurs situés dans l'oreillette gauche et le ventricule gauche détectent des changements de volume sanguin, alors que les barorécepteurs de la crosse aortique et du sinus carotidien sont sensibles aux changements de pression artérielle. En cas d'hypotension artérielle aiguë, il existe une relation exponentielle inverse entre la concentration plasmatique de vasopressine et la baisse de pression artérielle moyenne, ce qui peut engendrer des taux beaucoup plus élevés de vasopressine que lors de la régulation osmotique. L'hypovolémie sévère n'influence la sécrétion de vasopressine que si elle est accompagnée d'une baisse de pression artérielle. Il est à noter que l'hypotension altère la relation entre osmolalité plasmatique et vasopressine de telle sorte que des concentrations plus élevées de vasopressine sont nécessaires pour maintenir l'osmolalité⁴⁸.

La synthèse et la sécrétion de vasopressine sont contrôlées par plusieurs boucles de rétrocontrôle. Outre la régulation précise de la sécrétion de vasopressine en fonction de l'osmolalité, l'augmentation du taux de glucocorticoïdes, induite par la stimulation des récepteurs V_{1b} et la production d'ACTH, inhibe la sécrétion de vasopressine⁴⁹. La sécrétion de vasopressine est inhibée par la stimulation positive des barorécepteurs en cas d'augmentation de la pression artérielle par l'activation de la voie inhibitrice GABAergique⁵⁰. La vasopressine elle-même induit la désensibilisation des récepteurs V_{1a} et V_2 par phosphorylation, inhibant l'interaction avec la protéine G. Cette désensibilisation est accompagnée par l'internalisation et la séquestration des récepteurs à l'intérieur de la cellule. Ce processus est rapide pour les récepteurs V_{1a} qui sont

également rapidement recyclés. La désensibilisation et le recyclage sont plus lents pour les récepteurs V_2 .

2.5. Implications cliniques

2.5.1. Pathologies associées à une dérégulation du système vasopressinergique

Le syndrome de sécrétion inappropriée d'hormone anti-diurétique est caractérisé par une hyponatrémie, une osmolalité urinaire augmentée par rapport au plasma, une natriurèse normale et une volémie normale ou basse. Les mécanismes de dérégulation de la sécrétion de vasopressine en fonction de l'osmolalité varient selon les étiologies (syndrome paranéoplasique de certaines tumeurs produisant de la vasopressine, pathologie pulmonaire, désordre neurologique). Le traitement comprend la restriction hydrique, des antagonistes du récepteur V_2 et l'entraînement d'une diurèse osmotique.

L'insuffisance cardiaque congestive est un syndrome complexe avec une physiopathologie combinant des désordres hémodynamiques et déséquilibre hormonal. Dans cette situation pathologique, les taux plasmatiques de vasopressine sont augmentés malgré la distension atriale, l'hyponatrémie et hypo-osmolalité qui auraient dues normalement inhiber la sécrétion de vasopressine. L'hyponatrémie et l'élévation de vasopressine sont associées à un mauvais pronostic dans l'insuffisance cardiaque⁵¹⁻⁵³. La stimulation des récepteurs V_{1a} aboutit à une augmentation des résistances vasculaires systémiques et de la postcharge VG. La stimulation des récepteurs V_2 contribue à la rétention hydrique. Cependant, les essais thérapeutiques avec des antagonistes spécifiques du récepteur V_2 ont échoué à améliorer le pronostic de ces patients⁵⁴. Les mécanismes expliquant la persistance de taux élevés de vasopressine plasmatique sont incertains. La baisse du débit cardiaque peut conduire à une baisse de la pression artérielle détectée par les barorécepteurs qui déclenchent la sécrétion de vasopressine. Cette situation de stimulation chronique du système vasopressinergique expose à un risque accru de vasoplégie liée à une insuffisance relative de réponse en vasopressine en cas de stimulation aiguë comme par exemple lors du sepsis ou de la circulation extracorporelle en chirurgie cardiaque⁵⁵⁻⁵⁷. Un essai randomisé

contrôlé portant sur des patients avec syndrome vasoplégique post-chirurgie cardiaque a montré l'effet bénéfique de faibles doses de vasopressine (0,01 à 0,06 UI/min) comparés à la noradrénaline sur la survenue de complications à de décès à 30 jours de la chirurgie⁵⁸.

Le syndrome hépato-rénal (SHR) au cours de la cirrhose décompensée est accompagné d'une rétention hydrique avec hyponatrémie malgré la persistance de taux élevés de vasopressine. Le SHR de type 1, avec insuffisance rénale aiguë fonctionnelle due à une vasodilatation splanchnique et systémique, est une indication reconnue de traitement par la TLP visant à réduire le flux sanguin splanchnique via l'activation des récepteurs V_{1a} . Cependant l'activité intrinsèque de la TLP sur les récepteurs V_2 pourrait potentiellement aggraver la rétention hydrique et l'hyponatrémie au cours de la cirrhose⁴⁴.

Le diabète insipide est caractérisé par la production d'une grande quantité d'urines diluées due à un déficit de vasopressine (origine centrale : tumeur hypothalamo-hypophysaire, accident vasculaire cérébral, neurochirurgie, mort cérébrale) ou à une réduction de ses effets rénaux (génétique : mutation récepteur V_2 , aquaporine-2 ; acquise : obstruction urinaire, désordres électrolytiques, toxique). L'administration de desmopressine (un analogue de la vasopressine) est efficace dans le diabète insipide central mais pas dans le diabète insipide néphrogénique.

Dans le choc septique aigu, les concentrations de vasopressine sont très fortement augmentées en réponse à l'hypotension et l'hypovolémie efficace⁵⁹. Cependant la réponse vasopressinergique à l'hypotension semble altérée suite à la stimulation prolongée avec plusieurs mécanismes possibles comme la baisse de synthèse de la vasopressine, la déplétion des stocks vésiculaires, l'inhibition de la sécrétion, l'altération du baro-réflexe et l'augmentation de la dégradation de la vasopressine circulante^{37,38,57,60}. La restauration de l'intégrité du système vasopressinergique par la perfusion de faibles doses de vasopressine permet d'augmenter la pression artérielle et de diminuer les besoins en catécholamines chez les patients en choc septique vasoplégique⁶¹. Une diminution de la réactivité à la vasopressine sur les artères mésentériques isolées a été décrite dans les conditions mimant le choc septique⁵⁶. A ce jour, aucun essai

randomisé n'a pu montré une différence de survie entre la vasopressine et la noradrénaline dans le choc septique^{62,63}. De même, un essai récent comparant la terlipressine à la noradrénaline, en première ligne de traitement de la vasoplégie du choc septique, n'a pas montré de différence de mortalité mais une incidence d'effets indésirables sévères plus important avec la terlipressine⁶⁴. Cependant, les effets de la vasopressine sur les récepteurs V_2 et V_{1b} ne sont pas utiles voire délétères dans le choc septique où la restriction hydrique améliore généralement le pronostic. Un nouvel analogue de la vasopressine de courte durée d'action, la sélépressine, agissant sélectivement sur le récepteur V_{1a} a été testé dans le choc septique avec des effets prometteurs sur la balance hydrique⁶⁵. Cependant, dans un essai multicentrique à large échelle, la sélépressine en association à la noradrénaline n'a pas montré de bénéfice par rapport à la noradrénaline seule⁶⁶. Mais il n'est pas exclu que ce traitement utilisé dans certaines conditions et sur des profils de patients sélectionnés puisse avoir un intérêt dans le choc septique compte tenu des données pharmacodynamiques.

2.5.2. Utilisation diagnostique (biomarqueur) : Copeptine

Le dosage de la vasopressine demeure de nos jours contraignant et complexe du fait de sa clairance rapide et de son instabilité *ex vivo*. Du fait de leur génération stœchiométrique à partir de la même prohormone, la quantité libérée du glycopeptide C-terminal, appelé copeptine, reflète celle de la vasopressine. Ce peptide étant plus stable, il est plus accessible à un dosage en routine par immunofluorescence en sandwich, approuvé pour l'utilisation clinique. Contrairement à la vasopressine, la copeptine est très stable *ex vivo*. La concentration médiane dans une population saine est de 4 pmol/l avec dans la plupart des études un 97,5° percentile à 13 pmol/l. Les hommes ont généralement une copeptinémie légèrement plus élevée que les femmes.

Le taux de copeptine à l'admission à l'hôpital pour IDM a une bonne valeur prédictive pour le développement d'une insuffisance cardiaque chronique et pour la mortalité à un an^{52,67}.

3. Choix du modèle animal

3.1. Modèles animaux de choc cardiogénique

La plupart des modèles animaux de choc cardiogénique sont développés sur de grands animaux tels que le cochon, le veau ou la brebis avec l'induction d'un infarctus par embolisation de microsphères ou alcoolisation coronaire. L'objectif est souvent l'étude des traitements symptomatiques visant à augmenter le débit cardiaque soit par des médicaments inotropes soit par des assistances circulatoires mécaniques telles que l'ECMO-VA ou l'Impella^{68,69}. Les atouts de ce type de modèle sont de se rapprocher des situations cliniques chez l'homme, de disposer de multiples échantillons sanguins et de pouvoir utiliser des outils de monitoring invasif tel que le cathéter de Swan-Ganz et les sondes de conductance pour les courbes de pression-volume ventriculaire gauche. Cependant, ce sont des modèles très coûteux avec une mortalité élevée et nécessitant un plateau technique important ce qui ne permet pas d'étudier un grand nombre d'animaux, ni de les garder en observation plus de quelques heures.

Très peu de modèles de choc cardiogénique induit par IDM sont décrits chez le petit animal même si le modèle d'IDM par ligature coronaire est bien décrit chez la souris et le rat. La difficulté principale de ce type de modèle est le diagnostic de l'état de choc et de la limitation des possibilités de monitoring hémodynamique et de dosages sanguins. Par contre, il est possible d'étudier un plus grand nombre d'animaux sur une période prolongée. Une équipe a même réussi à étudier la ressuscitation après arrêt cardiaque induit par fibrillation ventriculaire avec une ECLS chez le rat malgré les difficultés techniques⁷⁰.

3.2. Modèles d'infarctus du myocarde chez le rat

Chez le rat, l'IDM est habituellement induit par ligature chirurgicale de l'artère coronaire gauche (ACG). C'est un modèle intéressant pour suivre le remodelage myocardique et particulièrement les modifications morphologiques et hémodynamiques qui se rapprochent des situations cliniques de syndrome coronariens aigus⁷¹⁻⁷⁴. Cependant, la mortalité de cette

procédure, entre 30 et 50% lors des 48 premières heures, rend les études difficiles^{73,75}. De plus, la variabilité de la taille de l'infarctus obtenu par la ligature de l'ACG a été documentée comme allant de 4 à 65% dans différents modèles chez le rat^{71,76}. Les variations anatomiques du réseau coronaire et la localisation parfois intra-myocardique de l'ACG sont à l'origine de cette difficulté à standardiser la sévérité de l'IDM dans ce modèle chirurgical.

3.3. Apport de l'échocardiographie du petit animal

L'échocardiographie haute résolution du petit animal a fait des progrès considérables ces dernières années permettant une étude répétée et non invasive des paramètres cardiaques avec une bonne reproductibilité. La similitude des mesures effectuées chez le rat ou la souris avec celles utilisées en pratique clinique facilite la recherche translationnelle (**Figure 11**).

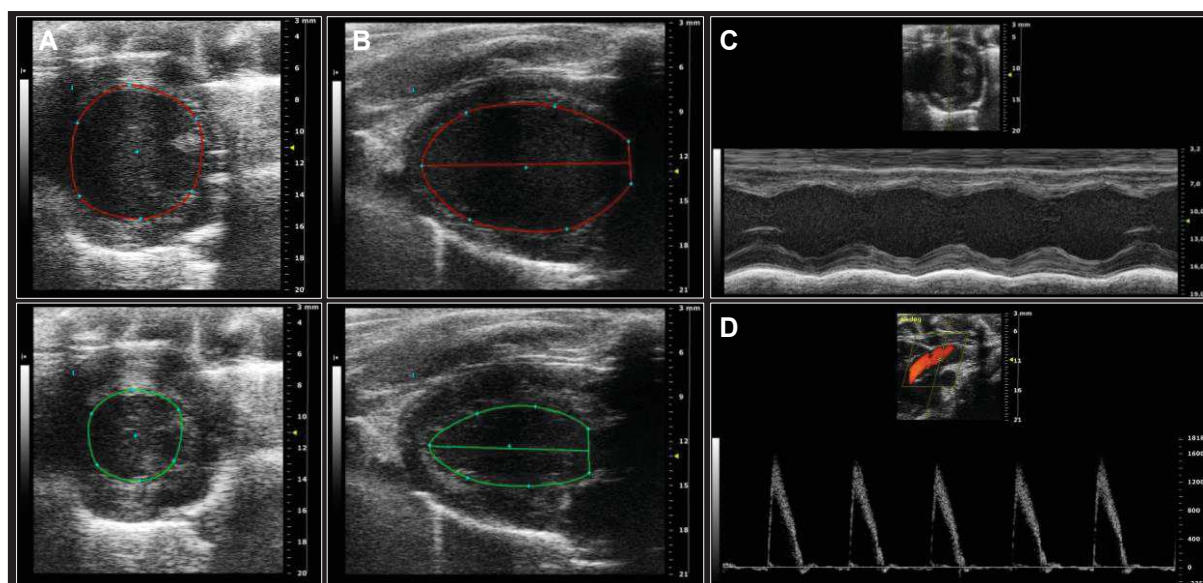


Figure 11 : Coupes échocardiographiques transthoraciques chez le rat.

Illustrations de (A) surfaces endocardiques du VG en fin de diastole (image du haut) et en fin de systole (image du bas) en vue parasternale petit axe en mode B ; (B) surfaces endocardiques du VG en fin de diastole (image du haut) et en fin de systole (image du bas) en vue parasternale grand axe en mode B ; (C) vue parasternale petit axe en mode M au niveau des muscles papillaires ; (D) Doppler pulsé du flux sanguin dans l'aorte ascendante.

3.4. Transposition chez le rat de la technique de spectrométrie en proche infra-rouge (NIRS)

L'utilisation de la NIRS est courante en pratique clinique pour mesurer l'oxygénation dans les tissus superficiels (1 à 1,5 cm de profondeur), tels que le cerveau et les muscles des membres, voire les reins en néonatalogie. Le caractère instantané et non invasif facilite son utilisation. La transposition de cette technique chez le petit animal n'est pas décrite et pose le problème de la profondeur d'analyse, trop importante pour la plupart des tissus, ou de la taille de la fenêtre d'échantillonnage trop large pour étudier un organe spécifiquement. Seule la régionale abdominale médiane semble accessible pour l'analyse de l'oxygénation mésentérique chez le rat (après rasage de la zone d'application de la sonde de NIRS).

4. Hypothèses de travail

4.1. Réponse vasopressinergique à l'infarctus du myocarde

L'IDM s'accompagne d'une libération de vasopressine aiguë visant à maintenir la volémie et à corriger l'hypotension artérielle. L'intensité de cette réponse peut avoir des effets délétères sur la performance myocardique en entraînant une augmentation de la précharge et de la postcharge pouvant faire augmenter la consommation en oxygène du myocarde en situation d'ischémie. Il pourrait en résulter une aggravation de la défaillance cardiaque.

4.2. Participation de la vasopressine dans l'hypoperfusion tissulaire au cours du choc cardiogénique

La vasopressine entraîne une vasoconstriction augmentant les résistances vasculaires systémiques. Outre le risque d'altération de la performance myocardique, un excès de vasoconstriction peut aboutir au sacrifice de la perfusion de certains territoires au bénéfice des organes nobles. L'activation de la réponse vasopressinergique au cours du CC pourrait participer à l'altération de la microcirculation et de la perfusion tissulaire, en particulier mésentérique.

OBJECTIFS

Le premier objectif de mon travail de Thèse a été de développer et de caractériser un modèle de choc cardiogénique post-IDM chez le rat en utilisant l'échocardiographie pour sélectionner les IDM les plus sévères. Dans cette première partie, le but était également de valider la mesure de la saturation en oxygène de l'hémoglobine mésentérique pour le diagnostic d'hypoperfusion mésentérique en comparaison au lactate artériel.

Le second et principal objectif était de documenter la participation de la vasopressine dans la phase précoce du choc cardiogénique post-IDM en utilisant le dosage de copeptine, les tests de réactivité vasculaire sur la contraction des anneaux aortiques en cuves isolées. La participation de la vasopressine sur les manifestations d'hypoperfusion tissulaire était également recherchée par des tests pharmacologiques de stimulation et d'inhibition des récepteurs V_{1a} *in vivo*.

MATERIELS ET METHODES

1. Protocole expérimental

1.1. Procédure réglementaire

Toutes les expérimentations animales ont été conduites en conformité selon la réglementation en vigueur de l'Union Européenne (European Union Laboratory Animal Care Rules 2010/63/EU Directive) et ont été approuvées par le comité de protection des animaux de l'Université de Montpellier (N° 2017050415341820).

1.2. Procédure chirurgicale

Des rats mâles de souche Wistar pesant de 350 à 400g étaient randomisés pour la réalisation d'une chirurgie sans ligature (groupe Sham) ou avec ligature de l'ACG (groupe AMI). Les animaux étaient anesthésiés par injection intrapéritonéale d'un mélange de kétamine à 130 mg/kg et de xylazine à 8,5 mg/kg puis intubés avec un cathéter de 14 Gauge. Ils étaient placés sous ventilation mécanique contrôlée avec un volume courant de 2,5 ml pour une fréquence respiratoire de 70 cycles par minute. Leur température corporelle était maintenue constante à 37°C par une table chauffante tout le long de la procédure. Le cœur était exposé pour la ligature coronaire après une thoracotomie parasternale gauche et ouverture du péricarde. L'IDM était provoqué par une ligature permanente de l'ACG à un niveau situé entre 1 et 2 mm sous le rebord de l'auricule gauche. L'efficacité immédiate de la ligature était jugée sur les changements électrocardiographiques et sur le changement de coloration du myocarde antérieur devenant pâle et blanchâtre (**Figure 12A**). A la fin de la chirurgie, l'air dans la cavité pleurale gauche était évacué par drainage aspiratif ponctuel, une analgésie était assurée par l'infiltration locale de 0,5 ml/kg de Ropivacaïne à 2 mg/ml, la fermeture cutanée était réalisée par points séparés non résorbables et 1ml de sérum salé isotonique était administré par voie intra-péritonéale pour compensation volémique des pertes peropératoires. Les rats Sham étaient opérés de la même manière en dehors de la fermeture de la ligature coronaire. Après la chirurgie, les rats étaient réveillés puis extubés et placés dans des cages individuelles. Ils étaient régulièrement observés et avaient un libre accès à la nourriture et à l'eau. Leur environnement était contrôlé pour assurer une température

ambiante de 22 à 24°C, une humidité de 45-50% et un cycle lumineux de 12 heures pour 12 heures d'obscurité. Le lendemain de la chirurgie (J1), une nouvelle anesthésie générale avec intubation suivant le même protocole était réalisée pour permettre l'évaluation hémodynamique complète puis le sacrifice de l'animal par exsanguination.

L'animal était ensuite autopsié pour prélèvement du cœur et de l'aorte. L'aorte était immédiatement placée dans un milieu de conservation pour les manipulations de réactivité vasculaire. Le cœur était ensuite rapidement découpé en 4 sections de 2 mm d'épaisseur perpendiculaires au grand axe du cœur. Les coupes étaient incubées dans du chlorure de triphenyltétrazolium à 37°C pendant 10 minutes puis ensuite scannées (**Figure 12B**). La taille de l'IDM était mesurée au moyen d'un logiciel dédié (ImageJ software) et exprimée en pourcentage de la surface myocardique du VG.

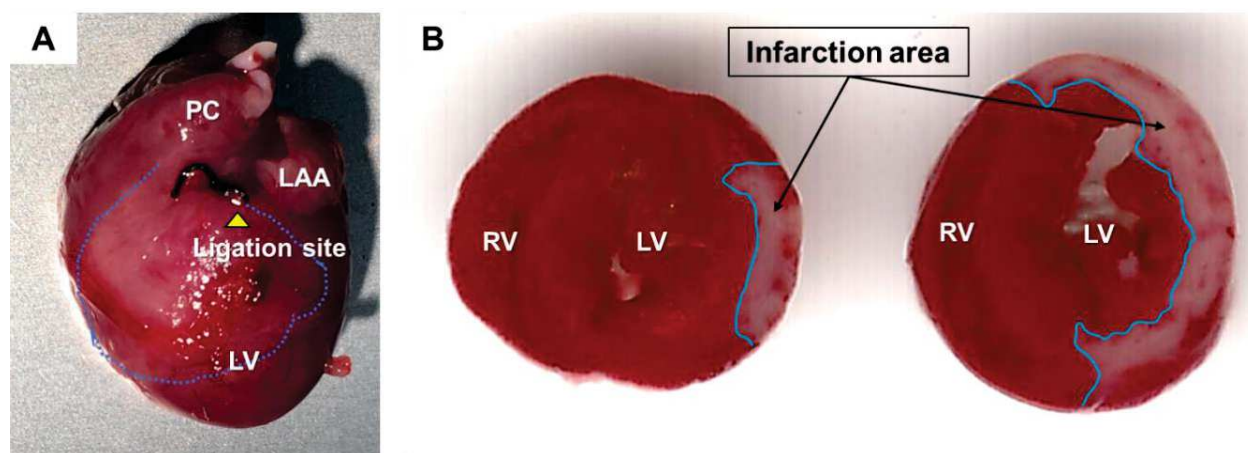


Figure 12 : Observation anatomique du cœur à J1 après la ligature de l'ACG.

Photographie montrant le site de ligature coronaire (flèche jaune) et la zone pâle d'IDM (ligne bleue continue) (A) ; Coupes transverses du cœur après incubation avec 1% de TTC pour la détermination de la taille de l'IDM, délimité par la ligne bleue continue (B). PC: pulmonary conus, LAA: left atrial appendage, LV: left ventricle, RV: right ventricle.

2. Evaluation hémodynamique

2.1. Fréquence cardiaque et pression artérielle

La fréquence cardiaque était déterminée par le monitoring électrocardiographique à J0 et J1 pendant l'anesthésie. La pression artérielle était mesurée de façon invasive par un cathéter artériel placé chirurgicalement dans la carotide interne droite et connectée au moniteur (ADInstruments, USA) via un capteur de pression mécanique calibré. Le signal de pression était analysé par un logiciel dédié (LabChart Reader 8.1.5, ADInstruments, USA) et la pression artérielle moyenne (PAM) était déterminée ($PAM = (PAS + 2 \times PAD) / 3$).

2.2. Evaluation échocardiographique

Une échocardiographie transthoracique haute résolution (VisualSonics Vevo® 2100) était réalisée avant la chirurgie à J0 et à J1 sous anesthésie générale et ventilation mécanique et relue par un expert indépendant pour évaluer la fonction VG et le débit cardiaque (**Figure 11**). Les coupes parasternales longitudinale et transverse en mode B étaient enregistrées pour déterminer la FEVG. Après avoir tracé les contours endocardiques du VG en fin de diastole et en fin de systole, les volumes VG étaient calculés selon la méthode des disques de Simpson et la FEVG était mesurée par la formule : $[(\text{Volume télédiastolique du VG} - \text{volume télésystolique du VG}) / \text{volume télédiastolique du VG}] \times 100$. A partir de la vue parasternale transverse médio-ventriculaire, le curseur en mode M était placé perpendiculairement aux parois antérieure et postérieure du VG permettant de mesurer les diamètres télédiastoliques et télésystoliques du VG. L'intégrale temps-vitesse (ITV) du flux aortique était mesurée à partir du signal en Doppler pulsé enregistré à la portion proximale de l'aorte ascendante en vue parasternale grand axe. Le diamètre aortique était mesuré au niveau de l'enregistrement de l'ITV. Le débit cardiaque (DC) était calculé selon la formule : $DC = (\text{diamètre aortique} / 2)^2 \times \pi \times \text{ITV aortique} \times \text{fréquence cardiaque}$. Toutes les mesures étaient triplées et les images analysées en post-traitement sur le logiciel dédié VisualSonics Vevolab 3.1.0.

3. Evaluation de la perfusion tissulaire

3.1. Mesure de la saturation de l'hémoglobine mésentérique en oxygène

Un des outils d'évaluation de l'oxygénation tissulaire était la mesure de la saturation de l'hémoglobine mésentérique en oxygène (SmO_2) par la technique de NIRS transcutanée (INVOS™ 5100C cerebral/somatic oximeter, Medtronic) reflétant le contenu microvasculaire en oxygène. Le système INVOS™ utilise la lumière infrarouge à des longueurs d'onde absorbées par l'hémoglobine (730 et 810 nm). La lumière part de la diode émettrice du capteur et est recaptée par un détecteur proximal et un détecteur distal, permettant un traitement séparé des données des signaux optiques superficiels et profonds. La profondeur maximale d'analyse est de 1,5 cm et le volume d'échantillonnage tissulaire est estimé à 1,5 ml. Le capteur (INVOS™ cerebral/somatic oximetry adult sensors) était appliqué sur la paroi abdominale entre l'appendice xyphoïde et la vessie après rasage de la zone d'application du capteur et nettoyage de la peau à l'alcool (**Figure 13A**).

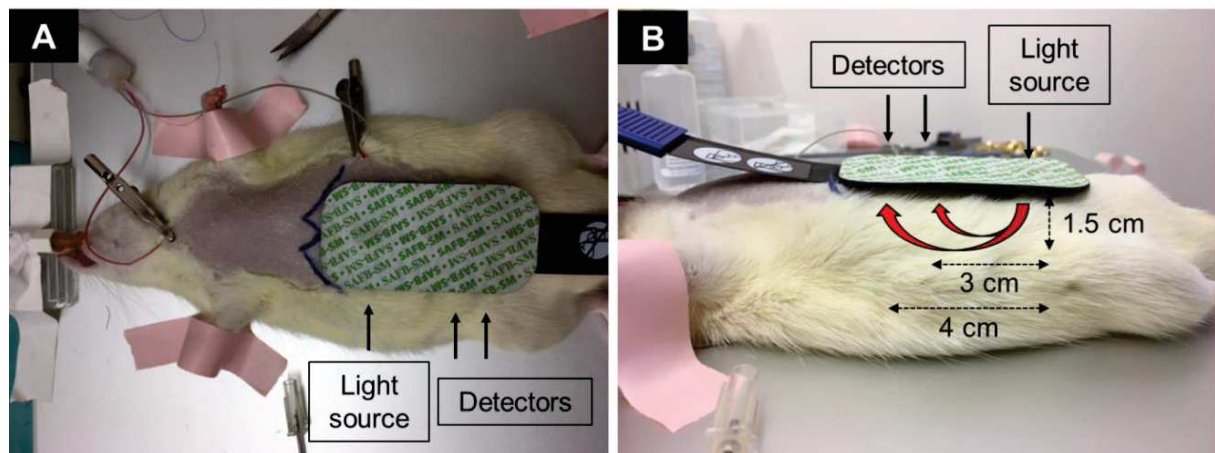


Figure 13 : Evaluation de l'oxygénation mésentérique par la NIRS.

Photographie montrant les 2 positions du capteur de NIRS placé en médio-abdominal sous le rebord costal inférieur avec la diode émettrice située en abdominal haut pour la première mesure dans le sens rostro-caudal (A) puis en abdominal bas pour la 2^e mesure dans le sens opposé (B).

Les données issues des tissus en surface sont directement soustraites par le moniteur de sorte que la mesure effectuée reflète uniquement la saturation dans les tissus plus profonds (**Figure 13B**). La détermination de la SmO_2 était réalisée à 3 temps au cours du protocole : à J0 avant la chirurgie, à J0 après la chirurgie (avant le réveil) et à J1. La SmO_2 était obtenue à partir de la moyenne des mesures effectuées à partir de 2 positions différentes du capteur comme indiqué dans la **Figure 13**. La première partie de l'étude devait permettre d'établir une valeur seuil de SmO_2 pour prédire la survenue d'une élévation du lactate. Ce seuil a ensuite été utilisé dans la seconde partie comme critère diagnostique d'hypoperfusion tissulaire.

3.2. Lactatémie plasmatique

Le prélèvement sanguin artériel (cathéter carotidien) était collecté dans un tube EDTA immédiatement centrifugé à 1300 g pendant 12 min à 4°C puis le plasma était congelé à -80°C pour dosage ultérieur de la concentration de lactate avec un analyseur Cobas 8000 (dosage colorimétrique, intervalle de référence [0.5-2.2] mmol/l, Roche Diagnostics, France). Une lactatémie > 2,2 mmol/l, indiquant un métabolisme anaérobie, était considéré comme un signe d'hypoperfusion tissulaire.

4. Evaluation de la stimulation du système vasopressinergique

La copeptine est considérée comme un biomarqueur de substitution fiable de la sécrétion de vasopressine. Dans le but d'évaluer la stimulation du système vasopressinergique, nous avons dosé la copeptine dans les échantillons de plasma collecté pour le dosage du lactate à J1. Dans les conditions physiologiques, les concentrations de vasopressine et copeptine circulantes sont faibles comme cela a pu être confirmé par un taux de copeptine à 40 ± 6 pmol/l mesuré chez des rats contrôles non opérés avec la même technique de dosage (n=3). Le dosage de copeptine était réalisé avec un kit ELISA selon les instructions du fabricant (Cusabio Technology, USA).

5. Réactivité vasculaire

Les expériences de réactivité vasculaire étaient réalisées sur des anneaux isolés d'aorte montés sur des supports minces en acier inoxydable et placés dans des cuves remplies de solution saline (PSS), maintenues à 37°C avec un bullage continu d'oxygène. Les changements de tension isométrique étaient mesurés par un transducteur de force (IT1-25) et enregistrés par un système informatique IOX (EMKA Technologies, Paris, France).

Après une période d'équilibration de 1 heure à une tension de repos de 2 g, l'intégrité fonctionnelle de chaque anneau artériel était testée par la réponse contractile à une dose unique de phényléphrine (PE, 10^{-5} M) et ensuite par l'effet de relaxation induit par l'acétylcholine (ACH, 10^{-6} M) qui validait l'intégrité de la fonction endothéliale. Après un lavage et une période de stabilisation de 20 min, la capacité contractile des cellules musculaires lisses vasculaires était évaluée par la réponse à des doses cumulatives de différents agonistes : AVP, chlorure de potassium (KCL) ou PE.

6. Manipulations de la réponse vasopressinergique

6.1. Traitement par un antagoniste du récepteur V_{1a}

Le SR-49059 (Relcovaptan) est un antagoniste sélectif du récepteur V_{1a}. Cette molécule a été obtenue auprès des Laboratoires Sanofi-Aventis (Sanofi-Aventis, Toulouse, France). Le protocole de traitement antagoniste prévoyait 3 injections intrapéritonéales de SR-49059 réalisées 1 heure avant l'anesthésie de J0 (4,5 mg/kg), puis environ 8 heures plus tard (6 mg/kg) et 1 heure avant l'anesthésie de J1 (4,5 mg/kg). Ce traitement était débuté avant l'anesthésie et la chirurgie pour bloquer les effets de la sécrétion aiguë de vasopressine en réponse au stress induit par l'anesthésie et la chirurgie. Le SR-49059 était dissout dans du DMSO (48 mg/ml) and émulsifié de façon extemporanée dans du Cremophor® RH40 (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) et dilué dans du chlorure de sodium à 9% avant injection.

6.2. Traitement par un agoniste du récepteur V1a

La terlipressine utilisée était la forme commerciale, Glypressine®, obtenue du Laboratoire Ferring GmbH (Kiel, Germany). Sa pureté avait été préalablement évaluée par spectrométrie de masse⁴⁴. Une dilution à 20 µg/ml de terlipressine dans du chlorure de sodium à 9% était préparée après solubilisation dans le solvant dédié. Les animaux recevaient 3 injections intrapéritonéales de 10 µg de terlipressine réalisées 1, 12 et 23 heures après la fermeture chirurgicale, représentant une dose totale de 80 µg/kg/24h. Afin de réduire le risque de saignement lié à l'augmentation de pression artérielle, la terlipressine n'était pas administrée en préopératoire ou immédiatement à la fin de la chirurgie.

7. Plan d'étude

Une partie de la cohorte de rats Sham et AMI a servi pour la mise au point du modèle et la validation de la NIRS transcutanée abdominale pour l'étude de l'hypoperfusion mésentérique. Dans ce but, les animaux avec un taux de lactate plasmatique élevé (supérieur à 2,2 mmol/l) à J1 sans dysfonction cardiaque sévère (FEVG > 40%) était exclus de l'analyse pour éliminer les facteurs confondants liés à d'autres causes non-cardiogéniques de dysoxie tissulaire. Les animaux avec FEVG post-IDM > 40% et lactate normal constituaient le groupe infarctus non choqué (« AMI-NS ») et les animaux avec FEVG ≤ 40% et lactate > 2,2 mmol/l représentaient le groupe choc cardiogénique (« AMI-CS »). Ils étaient comparés au groupe Sham à lactate normal.

Pour l'étude de l'implication de la vasopressine dans le choc cardiogénique (CC), nous avons sélectionné les animaux avec insuffisance cardiaque aiguë post-IDM définis par une FEVG ≤ 40% à J1 pour obtenir une forte proportion de sujets en CC. Six groupes de rats étaient étudiés : Sham sans traitement (« Sham »), IDM sans traitement (« AMI »), rats traités avec la terlipressine (« Sham-TLP » et « AMI-TLP »), rats traités avec le SR-49059 (« Sham-SR » et « AMI-SR »). Le CC était alors évalué dans cette population d'IDM avec ICA par la présence d'une hypoperfusion

tissulaire attestée soit par une lactatémie > 2,2 mmol/l soit par une hypoxie mésentérique avec $SmO_2 < 35\%$.

Le critère de jugement principal pour les groupes post-IDM était l'incidence de CC à J1. Les critères de jugement secondaire comprenaient la sécrétion de vasopressine évaluée par la copeptine plasmatique à J1 avant sacrifice et la réponse contractile *in vitro* des anneaux aortiques à la stimulation par l'AVP après sacrifice. La mortalité à J1 était évaluée parmi tous les animaux avec ligature de l'ACG, la FEVG post-IDM n'étant pas connue avant l'échocardiographie de J1.

8. Analyse statistique

Les analyses statistiques descriptives et comparatives sont décrites dans les 2 articles soumis et affichés dans la partie résultats. Les tests statistiques ont été réalisés sur les logiciels GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) et XLStat 18.06 (Addinsoft).

RESULTATS

1. Etude 1 : Oxygénation mésentérique dans un modèle de choc cardiogénique

1.1. Contexte

En l'absence de modèle clairement établi de choc cardiogénique après IDM chez le petit animal, nous avons développé un modèle chez le rat avec ligature chirurgicale de l'artère coronaire gauche dans le but d'induire un infarctus étendu. Les moyens de monitoring hémodynamique étant limités chez le petit animal, nous avons appliqué une technique de NIRS pour mesurer l'oxygénation mésentérique. Le but de ce premier travail était de vérifier si cette exploration non-invasive permettait de détecter correctement les animaux en choc cardiogénique et de déterminer la valeur seuil de saturation pour ce diagnostic.

1.2. Article 1

Ce premier travail a fait l'objet d'une soumission pour publication, en premier auteur, dans Critical Care. Ayant été refusé, il va être soumis pour publication dans Microcirculation.

Critical Care

Mesenteric hypoxia assessed by near infrared spectroscopy: application in cardiogenic shock following acute myocardial infarction in rat.

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Mesenteric hypoxia assessed by near infrared spectroscopy: application in cardiogenic shock following acute myocardial infarction in rat.
Article Type:	Research
Funding Information:	
Abstract:	Background Permanent left coronary artery ligation (LCA) is the most widely used model of heart failure in rat. Due to surgical and anatomical variations, the severity of acute myocardial infarction (AMI) is difficult to predict after LCA ligation. Wide AMI is likely to induce cardiogenic shock (CS). A shock state is characterized by an increase of lactate production, a marker of global tissue dysoxia to which mesenteric hypoperfusion may notably contribute. The aim of this study was to evaluate the relationship between CS and mesenteric perfusion assessed by near infrared spectroscopy (NIRS) in a rat model. Methods 54 male Wistar rats were randomly assigned to either sham surgery (n=21) or LCA ligation (AMI, n=33). Animals were sacrificed one day after surgery. Before sacrifice, left ventricular ejection fraction (LVEF), hemodynamic parameters were measured, as well as mesenteric oxygenation saturation (SmO₂) by percutaneous NIRS. Lactate was assayed in plasma. CS was defined by LVEF ≤ 40% and lactate above 2.2 mmol/l. Results After AMI, mortality rate was 45% and 9 animals had a LVEF ≤ 40%. According to CS criteria, 7 animals had CS (AMI-CS) after coronary ligation, 6 animals were without shock (AMI-NS). In Sham, 16 rats with lactate level below 2.2 mmol/l were included. After surgery, SmO₂ decreased notably in all groups. SmO₂ remained low at Day 1 only in AMI-CS, while it returned close to preoperative value in Sham and AMI-NS. The mean arterial pressure was lower, and the decrease of cardiac output was higher in AMI-CS compared to AMI-NS. SmO₂ determination had an excellent predictive value for CS (area under the receiver operating characteristic curve: 0.955, [95%CI: 0.854;1], p=0.003) with a 100% sensitivity and 88% specificity for a 35% SmO₂ threshold. Conclusions After LCA ligation, CS occurs likely when LVEF is below 40%. In this model, CS is associated with a significant decrease in mesenteric oxygenation, which may contribute to anaerobic condition and lactate production. Thus, combined to reduced LVEF, SmO₂ could allow a non-invasive assessment of shock at the bench side.
Corresponding Author:	Philippe Gaudard, M.D. PhyMedExp, Université Montpellier, INSERM, CNRS, CHU Montpellier MONTPELLIER, FRANCE
Corresponding Author E-Mail:	p-gaudard@chu-montpellier.fr
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	PhyMedExp, Université Montpellier, INSERM, CNRS, CHU Montpellier
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Philippe Gaudard, M.D.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Philippe Gaudard, M.D.

	Hélène David, M.D.
	Pierre Sicard, PhD.
	Patrice Bideaux
	Jean-Paul Cristol, M.D., PhD.
	Gilles Guillon, PhD.
	Sylvain Richard, PhD.
	Pascal Colson, M.D., PhD.
	Anne Virsolvy, PhD.
Order of Authors Secondary Information:	
Additional Information:	
Question	Response
Is this study a clinical trial? <i>A clinical trial is defined by the World Health Organisation as 'any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects on health outcomes'.</i>	No

**Mesenteric hypoxia assessed by near infrared spectroscopy: application in
cardiogenic shock following acute myocardial infarction in rat.**

Philippe Gaudard^{1,2*}, Hélène David^{1,2}, Pierre Sicard¹, Patrice Bideaux¹, Jean-Paul Cristol^{1,3}, Gilles
Guillon⁴, Sylvain Richard¹, Pascal Colson^{2,4§}, Anne Virsolvy^{1§}

¹PhyMedExp, Université Montpellier, INSERM, CNRS, Montpellier, France

²Département d'anesthésie-réanimation Arnaud de Villeneuve, Université Montpellier, CHU de
Montpellier, Montpellier, France

³Laboratoire de biochimie, Université Montpellier, CHU de Montpellier, Montpellier, France

⁴Institut de Génomique Fonctionnelle, Université Montpellier, INSERM, CNRS, Montpellier, France

[§] Equal contribution

*** Corresponding author.** DAR Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, 371 avenue du Doyen Gaston Giraud,
34295 MONTPELLIER, FRANCE. Tel: +33 (0)6 65 84 95 43; fax: +33 (0)4 67 33 58 12. E-mail: [p-gaudard@chu-
montpellier.fr](mailto:p-gaudard@chu-montpellier.fr)

No relevant conflict of interest

Short running title: Mesenteric oxygenation in a cardiogenic shock model

Abstract

Background

Permanent left coronary artery ligation (LCA) is the most widely used model of heart failure in rat. Due to surgical and anatomical variations, the severity of acute myocardial infarction (AMI) is difficult to predict after LCA ligation. Wide AMI is likely to induce cardiogenic shock (CS). A shock state is characterized by an increase of lactate production, a marker of global tissue dysoxia to which mesenteric hypoperfusion may notably contribute. The aim of this study was to evaluate the relationship between CS and mesenteric perfusion assessed by near infrared spectroscopy (NIRS) in a rat model.

Methods

54 male Wistar rats were randomly assigned to either sham surgery (n=21) or LCA ligation (AMI, n=33). Animals were sacrificed one day after surgery. Before sacrifice, left ventricular ejection fraction (LVEF), hemodynamic parameters were measured, as well as mesenteric oxygenation saturation (SmO₂) by percutaneous NIRS. Lactate was assayed in plasma. CS was defined by LVEF ≤ 40% and lactate above 2.2 mmol/l.

Results

After AMI, mortality rate was 45% and 9 animals had a LVEF ≤ 40%. According to CS criteria, 7 animals had CS (AMI-CS) after coronary ligation, 6 animals were without shock (AMI-NS). In Sham, 16 rats with lactate level below 2.2 mmol/l were included. After surgery, SmO₂ decreased notably in all groups. SmO₂ remained low at Day 1 only in AMI-CS, while it returned close to preoperative value in Sham and AMI-NS. The mean arterial pressure was lower, and the decrease of cardiac output was higher in AMI-CS compared to AMI-NS. SmO₂ determination had an excellent predictive value for CS (area under the receiver operating characteristic curve: 0.955, [95%CI: 0.854;1], p=0.003) with a 100% sensitivity and 88% specificity for a 35% SmO₂ threshold.

Conclusions

After LCA ligation, CS occurs likely when LVEF is below 40%. In this model, CS is associated with a significant decrease in mesenteric oxygenation, which may contribute to anaerobic condition and lactate production. Thus, combined to reduced LVEF, SmO₂ could allow a non-invasive assessment of shock at the bench side.

Keywords: Cardiogenic shock, myocardial infarction, tissue hypoperfusion, NIRS, mesenteric ischemia, microcirculation

Introduction

In humans, the main cause of heart failure and cardiogenic shock (CS) is acute myocardial infarction (AMI) [1]. In rats, AMI is commonly induced by surgical ligation of the left coronary artery (LCA). This experimental model is of interest to follow myocardial remodelling especially hemodynamic and morphological changes that are similar to human clinical situations of acute coronary syndromes [2–5]. There is no description of this LCA ligation model to study acute hemodynamic response and CS in rats. Actually, the high mortality rate (30 to 50% within the first 48 hours) associated with this procedure makes studies difficult [4,6].

Moreover, the variability of the size of myocardial infarction induced by the LCA ligation technique has been highlighted ranging from 4% to 65% in various rat models [2,7]. Anatomic variants of coronary branching patterns [7] and intramyocardial localization of the LCA are as many sources of variability. Thus, in surgical rat model, infarction severity is difficult to standardize.

CS is defined by persistent hypotension with severe reduction in cardiac index and adequate or elevated filling pressure leading to tissue hypoperfusion [1]. CS is associated with extensive myocardial

1 damage but there is a substantial overlap in infarct size between patients with or without shock [8].

2 Despite the absence of direct relationship between left ventricular ejection fraction (LVEF) and cardiac
3 output or tissue perfusion, a LVEF of 40% is considered as a threshold to define heart failure with
4 reduced ejection fraction according to the European Society of Cardiology guidelines [9]. In the
5 “SHOCK” trial, the distribution of LVEF ranged from 17 to 43%, but many other post-myocardial
6 infarction trials observed similar reduced LVEF without CS [1,10]. Nevertheless, LVEF below 40% is
7 more often associated with CS.

8 Various parameters are indicators of tissue hypoperfusion. Among them, the rise of plasma lactate
9 level, reflecting anaerobic metabolism, is the gold standard to detect tissue hypoxia. Moreover,
10 decreased microvascular oxygen content (MCO) in superficial tissue is relevant as prognosis value
11 during various shock conditions including CS [11–13]. MCO measurement and analysis by a Near
12 InfraRed Spectroscopy (NIRS) are reliable and easy to implement. We previously observed that the use
13 of NIRS to evaluate oxygenation parameters of the thenar eminence muscle in CS patients was efficient
14 to predict in-hospital mortality [14]. The measurement of mesenteric oxygen saturation (SmO_2) by
15 transcutaneous NIRS could help detecting CS promptly in comparison to lactate level.

16 The aims of this study were to develop a model of ischemic CS in rats and to investigate the
17 microcirculatory consequences of shock by assessing tissue hypoperfusion with a transcutaneous
18 measurement of mesenteric oxygen saturation using NIRS technology.

19 20 **Materials and Methods**

21 **Surgical procedure**

22 Male Wistar rats weighting 350-400 g were randomly assigned to either sham surgery (Sham) or LCA
23 ligation (AMI). Animals were anaesthetized by intraperitoneal injection of ketamine 130 mg/kg and
24 xylazine 8.5 mg/kg and intubated with a 14-gauge catheter. They were mechanically ventilated with

2.5 ml of tidal volume by 70 cycles per minute. The heart was exposed for ligation after a left parasternal thoracotomy and incision of the pericardium. AMI was induced by permanent ligation, at 1 to 2 mm from the left atrial appendage line, of the LCA and the efficacy of the ligation was assessed by changes in electrocardiography and in colour of anterior myocardium turning white (**Figure 1A**). At the end of surgery, pneumothorax was drained off, local analgesia was achieved with ropivacaine 2 mg/ml 0.5 ml/kg, skin was closed with Premio 5-0 stitches (Peters Surgical®) and 1 ml of isotonic saline solution was injected in peritoneum for volume compensation. Sham were operated using the same protocol except closing of the ligation. After surgery, rats were allowed to recover in individual cages. They were regularly checked and had free access to food and water. They were housed under conditions of controlled temperature (22-24°C), humidity (45-50%) and light cycle (12 light hours/12 dark hours). One day after surgery (D₁), full hemodynamic evaluation was performed under the same protocol of general anaesthesia and animals were then sacrificed by exsanguination.

Echocardiographic evaluation

Before surgery (D₀) and at D₁, transthoracic high-resolution echocardiography (VisualSonics Vevo® 2100) was performed under general anaesthesia and mechanical ventilation by an independent expert to assess left ventricular (LV) function and cardiac output (**Supplementary data, Figure S1**). A B-mode parasternal long axis and parasternal short-axis views were recorded to measure the LVEF. After tracing endocardial end-diastolic and end-systolic areas, LV volumes were calculated from Simpson's method of disks and LVEF was determined from the following formula: $[(LV \text{ end-diastolic volume} - LV \text{ end-systolic volume}) / LV \text{ end-diastolic volume}] \times 100$. From a parasternal short-axis view of the mid-left ventricle, an M-mode cursor was positioned perpendicular to myocardial walls of the left ventricle at the level of the papillary muscles. The left ventricular end diastolic diameter (LVEDD) and end systolic diameter (LVESD) were measured by M-mode tracing of internal diameters. Pulsed-wave Doppler was used to measure aortic flow velocity time integral (VTI) in the parasternal long axis view. The Doppler sample volume was centrally positioned within the ascending aorta, just distal from the aortic valve

with the beam oriented parallel to the flow and the aortic diameter was measured at the level of the VTI record. The cardiac output (CO) was calculated as follow: $CO = (Aortic\ diameter / 2)^2 \times \pi \times Aortic\ VTI \times Heart\ Rate$. All measurements were realized in triplicate and offline image analyses were performed using dedicated VisualSonics VevoLab 3.1.0 software.

Mesenteric oxygen saturation measurement

Tissue oxygenation was assessed by a regional measurement of mesenteric haemoglobin oxygen saturation (SmO₂) with the transcutaneous NIRS device (INVOS™ 5100C cerebral/somatic oximeter, Medtronic), reflecting the oxygen content in microcirculation. The INVOS™ system utilizes near-infrared light at wavelengths that are absorbed by haemoglobin (730 and 810 nm). Briefly, light travels from the sensor's light emitting diode to either a proximal or distal detector, permitting separate data processing of shallow and deep optical signals. The maximal depth of analysis is 1.5 cm and the tissue sample volume is estimated about 1.5 ml. INVOS™ system's ability to localize the area of measurement, called spatial resolution, has been empirically validated in human subjects [15]. The sensor (INVOS™ cerebral/somatic oximetry adult sensors) was applied on the abdominal area between xiphoid appendix and bladder after shaving the anterior abdominal wall and cleaning the skin with alcohol (Figure 2). Data from the surface tissue are subtracted and suppressed, the measurement reflecting tissue haemoglobin oxygen saturation in deeper tissues (Figure 2B). Determinations of SmO₂ were performed at D₀ before, at D₀ after the surgery and at D₁ by the average of the measurements obtained from the two positions of NIRS sensor as described on Figure 2.

Hemodynamic and biochemical variables

Heart rate was determined by continuous electrocardiography. Arterial pressure was measured invasively at D₁ via cannulation of the right carotid artery using a pressure transducer connected to a monitor (ADInstruments, France). The pressure signal was analysed by a data acquisition software (LabChart Reader 8.1.5, ADInstruments, USA) and the mean arterial pressure (MAP) was determined.

1 The cardiac power index (W/m^2) was calculated as $(MAP \times CO/body\ surface\ area)/451$, where body
2 surface (m^2) area was estimated by the following formula: $BSA = 9.8 \times weight\ (g)^{0.66} / 10000$ [16,17].

3 Animals were sacrificed by exsanguination through the pressure catheter. Blood sample was collected
4 in an EDTA tube immediately centrifuged for 12 min at 1300 g, 4°C and plasma was frozen at -80°C for
5 further determination of lactate concentration with Cobas 8000 analyser (colorimetric assay, reference
6 interval [0.5-2.2] mmol/l, Roche Diagnostics, France).

7 **Estimation of myocardial infarction size**

8 After sacrifice, the heart was quickly excised and sliced into four 2.0-mm-thick sections perpendicular
9 to the long axis. Sections were incubated in 1% triphenyltetrazolium chloride at 37°C for 10 min and
10 then scanned (**Figure 1B**). The infarct area was measured using ImageJ software. Myocardial infarct
11 sizes were expressed as a percentage of the LV myocardial area.

12 **Cardiogenic shock definition and selection criteria**

13 In the post-operative period, various conditions with or without hypotension may lead to a shock state
14 which can be defined by an increase of lactate level above 2.2 mmol/l (upper superior limit of the
15 normal range of the assay). We have considered that lactate elevation without severe LV dysfunction
16 (LVEF>40%) had other causes in addition or instead of heart failure following AMI. These animals were
17 excluded of the analysis. In order to fulfil our objective of studying post-AMI CS, the CS was defined by
18 a LVEF of 40% or less and a lactate level higher than 2.2 mmol/l. This AMI group with CS (AMI-CS) has
19 been compared to an AMI group without shock (AMI-NS) defined by LVEF > 40% and lactate ≤ 2.2
20 mmol/l and to a Sham group.

21 **Statistical analysis**

22 Continuous variables are summarized as medians with interquartile range or means with standard
23 error of the mean (SEM). They were compared between groups by an ordinary one-way analysis of
24 variance (ANOVA) or a Kruskal-Wallis test according to the variable distribution and an appropriate

multiple comparisons test was used to determine which groups are different. Paired t-test or Wilcoxon test were used for comparisons between D₀ and D₁. Correlations between variables were tested with Spearman's correlation coefficient (r). The predictive value of SmO₂, MAP and CO variation for the occurrence of a lactate increase up to 2.2 mmol/l was analysed by the receiver operating characteristic (ROC) curves. *P* < 0.05 was considered significant. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 6 software and XLStat 18.06 (Addinsoft).

Results

Outcome and group determination

A total of 54 rats were used for the study and divided into 21 sham and 33 AMI (**Figure 3**). After surgery, 1 and 15 individuals died in Sham and AMI groups representing 4.5% and 45.5% mortality rates, respectively (*p*=0.002). Thus, 20 rats in Sham group and 18 rats in AMI group were included in the protocol. According to our defined criteria for CS, LVEF ≤ 40% and lactate level > 2.2mmol/l, 7 animals were included in the AMI-CS group. They represented 39% of survivals after AMI and 78% of animals with LVEF ≤ 40%. AMI-NS group corresponded to AMI with lactate < 2.2mmol/l whatever LVEF value (*n*=6). In Sham group, all animals had a LVEF higher than 40%, and only animals with lactate lower than 2.2 mmol/l were selected (Sham, *n*=16). Another aetiology than heart failure was suspected when increased lactate level was observed in AMI with LVEF > 40% or in Sham and these animals were excluded (*n*=9).

Preoperative groups description and evolution at day 1

Physiological and functional parameters, evaluated by Doppler echocardiography, were compared in all groups at D₀ before surgery and at D₁ (**Table 1**). No difference was observed between all groups whatever the considered parameter at D₀. Likewise, no difference was observed between Sham and AMI-NS at D₁. In AMI-CS, only LVEF differed. It was lower than that of Sham (*p*=0.002) which

corresponded to our selection criteria ($LVEF \leq 40\%$). When comparing all parameters between D_0 and D_1 for each group, we observed (i) a loss of weight between Sham and AMI-CS and a trend in AMI-NS ($p=0.063$), (ii) an increase in heart rate in AMI-NS ($p=0.031$) and AMI-CS ($p=0.031$) and (iii) a decreased LVEDD in Sham ($p=0.012$). However, LVEF ($p=0.016$) and CO ($p=0.031$) decreased between D_0 and D_1 only in AMI-CS.

Cardiac and hemodynamic parameters

Figure 4 showed individual values collected from echocardiographic data and from biological parameters measured at D_1 for all groups. LVEF was lower in AMI-CS than in Sham (**Figure 4A**). In AMI-NS, we observed a wide range of LVEF from 29 to 72% that evidenced 2 sub-groups, $LVEF \leq 40\%$ and $LVEF > 40\%$, which corresponded to our selection criteria (referred to **Figure 3**). The myocardial infarct size ranged from 27 to 55% in the AMI-CS group (**Figure 4B**). In AMI-NS, 2 animals had an infarct size higher than 40%. They were those with $LVEF \leq 40\%$, whereas the other individuals in AMI-NS had less than 5% of infarcted myocardium. No differences were observed for LVEDD (**Figure 4C**) and heart rate (**Figure 4D**) and for both parameters there was a low value scattering. MAP was significantly different in AMI-CS when compared to AMI-NS (80 [72-91] versus 107 [103-115] mmHg, $p=0.015$) but not to Sham because of the low number of values available in this group (**Figure 4E**). At D_1 , CO was not significantly different between Sham, AMI-NS and AMI-CS (**Table 1**). Thus, considering CO variation between D_0 and D_1 (ΔCO), the decrease of CO was greater in AMI-CS compared to AMI-NS ($p=0.008$, **Figure 4F**). Additionally, the cardiac power index was lower in AMI-CS (0.42 [0.31;0.53] W/m²) than in AMI-NS and Sham (0.69 [0.54;0.89] and 0.58 [0.54;0.63] W/m² respectively, $p=0.021$). This variable is an indicator of cardiac contractile reserve. Associated to decreased MAP and CO in AMI-CS, it reflected a lower contractile reserve. Finally, according to our selection criteria, plasma lactate concentration was higher than 2.2 mmol/l in AMI-CS, ranging between 2.5 and 5.3 mmol/l (median 2.6 [2.6;4.2] mmol/l), and it was below this value in the other groups (**Figure 4G**).

Mesenteric haemoglobin oxygen saturation

The method to measure SmO₂ by NIRS was efficient. The acquisition of NIRS high quality signal failed in one case (in AMI-NS group), due to gastric interposition observed during autopsy. The averaged SmO₂ value for all animals at D₀ before surgery was 38.8 ± 1.0 % which distributed as 37.0 [32.5;43.5] % for Sham, 41.0 [39.3;42.3] % for AMI-NS and 38.0 [33.0;40.0] % for AMI-CS. No difference was detected between groups (p=0.232). At D₀ after surgery, SmO₂ fell sharply in all groups (p<0.0001, **Figure 5**) with an averaged value of 29.3 ± 0.8 % and no difference between groups. At D₁, SmO₂ recovered in Sham (40.0 [36.0;45.5] %) and AMI-NS (38.5 [34.3;42.8] %) with no difference evidenced when compared to values at D₀ before surgery (**Figure 5**). In contrast, in AMI-CS, SmO₂ remained low (31.5 [28.0;33.5] %) and was not different from value at D₀ after surgery but substantially different from values measured at D₁ in AMI-NS (p=0.046) and Sham (p=0.040).

Correlation between hemodynamic parameters and mesenteric oxygenation

We investigated possible correlations for SmO₂ and for LVEF at D₁ with some hemodynamic and metabolic parameters like MAP, ΔCO or lactate (**Figure 6**). As result, we observed that SmO₂ appeared positively correlated to MAP (**Figure 6B**) and negatively correlated to lactate level (**Figure 6D**). The correlation with MAP is stronger than that with lactate with respective Spearman coefficient of r=0.817 [IC95%: 0.469;0.945, p=0.001] and r=-0.660 [IC95%: -0.880;-0.206, p=0.009]. Similarly, significant correlations were obtained between LVEF and myocardial infarct size (r=-0.797 [IC95%: -0.943;-0.395], p=0.003, **Figure 6E**), MAP (r=0.669 [IC95%: 0.200;0.889], p=0.011, **Figure 6F**) and lactate level (r=-0.657 [IC95%: -0.842;-0.334], p<0.001, **Figure 6H**). No correlation existed with ΔCO either for SmO₂ (**Figure 6C**) or for LVEF (**Figure 6G**).

Prediction value of SmO₂ for cardiogenic shock

SmO₂, MAP and ΔCO were significantly different in CS group compared to controls. ROC curves analyses provided the predictive values of these three parameters for a high lactate level, meaning a cardiogenic shock when the LVEF was below 40% (**Figure 7**). The area under the ROC curve (AUC) for SmO₂ was 0.955 [95% IC: 0.854;1.000] which indicated an excellent predictive value. The best

likelihood ratio was for a SmO₂ threshold of 35% which had a 100% sensitivity and 88% specificity to predict elevated lactate, indicating a Youden index at 0.88. The positive predictive value for this threshold was 88% and the negative predictive value was 100% in our experimental design where animals with increased lactate level and no heart failure were excluded. The AUCs for MAP and CO variation were respectively 0.893 [0.691;1.000] and 0.854 [0.682;1.000], without significant difference with SmO₂ AUC.

Discussion

Using a transcutaneous abdominal NIRS approach to explore mesenteric perfusion, we demonstrate for the first time the relationship between mesenteric hypoperfusion and CS in this rat model of AMI. The SmO₂ at one day after LCA ligation was notably lower in the animals with CS than in the two control groups. We determined that SmO₂ value below 35% was closely associated with lactate concentrations up to 2.2 mmol/l. This threshold represents a strong predictive value for CS.

Exploring CS is challenging in animal studies and has not been reported in rats yet. The high mortality rate after LCA ligation partially explains it. In our study, 46% of animals did not survive. This mortality rate is similar to those previously reported [4,6] and close to that of CS complicating AMI in humans estimated at 40-50% despite widespread implementation of early revascularization and mechanical circulatory support [18]. The main difficulty is to identify CS, generally defined as a state of end-organ hypoperfusion and hypoxia due to primary cardiac disorders [19]. The determination of different experimental groups was established according to that definition. The primary mechanism of hyperlactatemia is tissue hypoxia with development of anaerobic metabolism [20] and this parameter was used widely as a symptom of shock. A high rate of animals after LCA ligation was considered with CS when LVEF was below 40%. Interestingly, all animals with CS had a SmO₂ lower than 35% which validated the predictive value of this parameter. However, some animals without severe impairment of ventricular function faced also complication of surgery and shock identified by increased lactate

1 level. Several factors such as hypovolemia, pericardial effusion, pneumothorax, respiratory failure or
2 increase of oxygen consumption may induce anaerobic conditions and increase lactate production in
3 the post-operative period after parasternal thoracotomy. It was not possible to rule out these
4 hypotheses in our severe surgical model. The severity of surgery was illustrated by the substantial
5 postoperative loss of weight in all groups.

6 The evolution of macrocirculatory parameters as increased heart rate and decreased CO, associated
7 to low MAP and low cardiac power index, indicated a profound change in hemodynamic state of AMI-
8 CS animals. Heart rate and LVEF were not discriminant but MAP, Δ CO and SmO₂ identified the typical
9 hemodynamic profile of CS in this group. Of note, the increase of heart rate seemed enough to
10 maintain the CO in the AMI-NS group but not in the AMI-CS. No difference was evidenced for CO
11 between groups after surgery, probably because initial CO at D₀ tended to be slightly higher in AMI-CS.
12 This may be explained by technical limitations to measure CO in intubated rats. To overcome this
13 limitation, we studied the variation of CO, known to be more accurate than absolute values obtained
14 by Doppler [21,22]. Thus, we observed a difference between AMI-NS and AMI-CS, indicating
15 hemodynamic impairment in the latter. To assess cardiac dysfunction, we determined the cardiac
16 power index, which is otherwise known to be strongly associated with mortality in CS [16,23]. This
17 index represents the rate of energy input sent by the heart in the systemic circulation at the level of
18 the aortic root and it reflects the contractile reserve of the left ventricle. No reference value exists in
19 rats but the normalization to body surface area may help comparison to human studies. Thus, in
20 human, cardiac power index below 0.5 W/m² was associated with 28-day mortality [24]. In this study,
21 we observed that only AMI-CS had an index lower than that threshold (not shown).

22 Non-invasive and easy measurement of tissue oxygenation by NIRS technology allowed to identify
23 animals with persistent mesenteric hypoperfusion when SmO₂ remained low at D₁. In human adults,
24 the use of this technology is not feasible because of the depth of mesenteric tissues but the
25 determination of tissue oxygenation by NIRS is widely used for the brain and superficial muscles

[12,25]. Interestingly, a strong association between 28-day mortality and microcirculatory alteration, assessed at D₁ by NIRS in response to a vascular occlusion test on the thenar eminence muscle, was observed in a prospective human cohort of CS following AMI in an intensive care unit [26]. The initial alteration of microcirculation is frequent in shock but only the absence of early improvement after few hours of treatment was associated to poor outcome [14,27–29]. We observed that low SmO₂ was strongly correlated to low MAP but not to LVEF illustrating the importance of pressure in large arteries for tissue perfusion, regardless of left ventricular systolic function. Microcirculatory alterations may lead to tissue hypoperfusion despite compensation of hemodynamic variables, illustrating micro and macro-circulation mismatch [30,31]. We also evidenced a slight but highly significant correlation between SmO₂ and lactate level. Indeed, we never observed high lactate level associated to SmO₂ higher than 35% and in only one animal we found a low lactate level of 1.8 mmol/l despite low SmO₂ value of 32%. Therefore, in the excluded population, some cases of elevated lactate without decrease of SmO₂ were observed indicating anaerobic metabolism with an aetiology probably different from tissue hypoperfusion. SmO₂ had a high predictive value for CS with a cut-off value at 35%. This predictive value was higher than macrocirculatory variables with the advantage of non-invasive and easier measurement than MAP and the variation of CO from baseline. This finding may help to characterize CS among heart failure animals at the bench-side.

This experimental study is limited by the number of animals due to the high mortality rate after the LCA ligation and the confounding factors related to the surgery and anaesthesia procedure. However, the strict selection of CS criteria (LVEF and lactate) allowed to overcome these limitations, with significant results related to the most relevant parameters (MAP, Δ CO, SmO₂).

Implementation of this tool to assess mesenteric perfusion in a rat model of CS gives the opportunity to select targeted individuals for further studies on mechanisms of shock, arterial pressure regulation, ventriculo-arterial coupling and microcirculation coherence with microcirculation. It may be of interest to investigate the effects of vasopressors or vasodilators on mesenteric perfusion during CS.

Conclusion

Surgical AMI generates very serious myocardial dysfunction, with high mortality (45%) and CS in 39% of survivors. A LVEF equal or below 40% after AMI induces a 78% incidence of CS as defined by lactate increase. In this model, CS is associated with a significant decrease in mesenteric oxygenation, which may contribute to anaerobic condition and lactate production. Thus, SmO₂ could allow a non-invasive assessment of shock at the bench side as a witness of regional hypoperfusion.

List of abbreviations

AMI: acute myocardial infarction; ANOVA: analysis of variance; AUC: area under the curve; CO: cardiac output; CS: cardiogenic shock; LCA: left coronary artery; LV: left ventricular; LVEDD: left ventricular end diastolic diameter; LVESD: left ventricular end systolic diameter; LVEF: left ventricular ejection fraction; MAP: mean arterial pressure; MCO: microvascular oxygen content; NIRS: near infra-red spectroscopy; ROC: receiver operating characteristic; SEM: standard error of the mean; SmO₂: mesenteric oxygen saturation; VTI: velocity time integral.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

All experimental procedures were conducted in accordance with the European Union Laboratory Animal Care Rules (2010/63/EU Directive) and were approved by the Animal Care and Use Committee of the University of Montpellier (N° 2017050415341820).

Consent for publication

Not applicable.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Funding

None.

Authors' contributions

PG was involved in the conception of the study and experimental plan, in data acquisition, analysis and interpretation, in drafting of the manuscript and contributed to its critical revision. HD was involved in study design, data acquisition and interpretation. PS was involved in echocardiographic data acquisition and validation and contributed in manuscript revision. PB was involved in surgery and care of animals and data acquisition. JPC contributed in biochemical dosages and data interpretation. GG, SR and PC were involved in conception and design of the study and contributed to data interpretation and revision of the manuscript. AV was involved in conception of the study, in analysis and interpretation of data, in critical revision of the manuscript. All authors read and approved the final version of the manuscript.

Acknowledgements

We thank the *small animal imaging platform of Montpellier* (IPAM; <http://www.ipam.cnrs.fr>) for facility access to high-resolution echocardiography.

References

1. Reynolds HR, Hochman JS. Cardiogenic shock: current concepts and improving outcomes. *Circulation*. 2008;117(5):686–97.

2. Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, et al. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res.* 1979;44(4):503–12.
3. Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR. Experimental myocardial infarction in the rat: qualitative and quantitative changes during pathologic evolution. *Am J Pathol.* 1978;90(1):57–70.
4. Samsamshariat SA, Samsamshariat ZA, Movahed M-R. A novel method for safe and accurate left anterior descending coronary artery ligation for research in rats. *Cardiovasc Revasc Med.* 2005;6(3):121–3.
5. Chen J, Ceholski DK, Turnbull IC, Liang L, Hajjar RJ. Ischemic Model of Heart Failure in Rats and Mice. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2018;1816:175–82.
6. Kompa AR, Summers RJ. Lidocaine and surgical modification reduces mortality in a rat model of cardiac failure induced by coronary artery ligation. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2000;43(3):199–203.
7. Kainuma S, Miyagawa S, Fukushima S, Tsuchimochi H, Sonobe T, Fujii Y, et al. Influence of coronary architecture on the variability in myocardial infarction induced by coronary ligation in rats. *PloS One.* 2017;12(8):e0183323.
8. Grande P, Christiansen C, Hansen BF. Myocardial infarct size and cardiogenic shock. *Eur Heart J.* 1983;4(5):289–94.
9. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J.* 2016;37(27):2129–200.
10. Hochman JS, Sleeper LA, Webb JG, Sanborn TA, White HD, Talley JD, et al. Early revascularization in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. SHOCK Investigators. Should We Emergently Revascularize Occluded Coronaries for Cardiogenic Shock. *N Engl J Med.* 1999;341(9):625–34.
11. Creteur J, Carollo T, Soldati G, Buchele G, De Backer D, Vincent J-L. The prognostic value of muscle StO₂ in septic patients. *Intensive Care Med.* 2007;33(9):1549–56.
12. Donati A, Damiani E, Domizi R, Scorcella C, Carsetti A, Tondi S, et al. Near-infrared spectroscopy for assessing tissue oxygenation and microvascular reactivity in critically ill patients: a prospective observational study. *Crit Care.* 2016;20(1):R311.
13. Orbegozo D, Su F, Xie K, Rahmania L, Taccone FS, De Backer D, et al. Peripheral Muscle Near-Infrared Spectroscopy Variables are Altered Early in Septic Shock. *Shock.* 2018;50(1):87–95.
14. Gaudard P, Saour AC, Eliet E, Culas G, Coves R, Colson P. Prognosis value of tissue oxygen saturation recovery slope during a vascular occlusion test in cardiogenic shock patients. *Intensive Care Med.* 2012;38 Suppl 1:S269.
15. Hongo K, Kobayashi S, Okudera H, Hokama M, Nakagawa F. Noninvasive cerebral optical spectroscopy: depth-resolved measurements of cerebral haemodynamics using indocyanine green. *Neurol Res.* 1995;17(2):89–93.

- 1 16. Fincke R, Hochman JS, Lowe AM, Menon V, Slater JN, Webb JG, et al. Cardiac power is the
2 strongest hemodynamic correlate of mortality in cardiogenic shock: a report from the SHOCK
3 trial registry. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(2):340–8.
- 4 17. Gouma E, Simos Y, Verginadis I, Lykoudis E, Evangelou A, Karkabounas S. A simple procedure for
5 estimation of total body surface area and determination of a new value of Meeh's constant in
6 rats. *Lab Anim.* 2012;46(1):40–5.
- 7 18. Thiele H, Ohman EM, de Waha-Thiele S, Zeymer U, Desch S. Management of cardiogenic shock
8 complicating myocardial infarction: an update 2019. *Eur Heart J.* 2019;40(32):2671–83.
- 9 19. van Diepen S, Katz JN, Albert NM, Henry TD, Jacobs AK, Kapur NK, et al. Contemporary
10 Management of Cardiogenic Shock: A Scientific Statement From the American Heart
11 Association. *Circulation.* 2017;136(16):e232–68.
- 12 20. Vincent J-L, De Backer D. Circulatory shock. *N Engl J Med.* 2013;369(18):1726–34.
- 13 21. Wetterslev M, Møller-Sørensen H, Johansen RR, Perner A. Systematic review of cardiac output
14 measurements by echocardiography vs. thermodilution: the techniques are not
15 interchangeable. *Intensive Care Med.* 2016;42(8):1223–33.
- 16 22. Mercado P, Maizel J, Beyls C, Titeca-Beauport D, Joris M, Kontar L, et al. Transthoracic
17 echocardiography: an accurate and precise method for estimating cardiac output in the
18 critically ill patient. *Crit Care.* 2017;21(1):R136.
- 19 23. Popovic B, Fay R, Cravoisy-Popovic A, Levy B. Cardiac power index, mean arterial pressure, and
20 Simplified Acute Physiology Score II are strong predictors of survival and response to
21 revascularization in cardiogenic shock. *Shock.* 2014;42(1):22–6.
- 22 24. Torgersen C, Schmittinger CA, Wagner S, Ulmer H, Takala J, Jakob SM, et al. Hemodynamic
23 variables and mortality in cardiogenic shock: a retrospective cohort study. *Crit Care.*
24 2009;13(5):R157.
- 25 25. Steppan J, Hogue CW. Cerebral and tissue oximetry. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.*
26 2014;28(4):429–39.
- 27 26. Jouitteau T, David H, Roubille F, Eliet J, Mourad M, Zeroual N, Colson P, Gaudard P.
28 Microvascular reactivity at the early stage of ischemic cardiogenic shock: a preliminary
29 observational study. *Intensive Care Med Exp.* 2018;6 Suppl 2:173–4.
- 30 27. on behalf of the NTUH Center of Microcirculation Medical Research (NCMMR), Yeh Y-C, Lee C-T,
31 Wang C-H, Tu Y-K, Lai C-H, et al. Investigation of microcirculation in patients with venoarterial
32 extracorporeal membrane oxygenation life support. *Crit Care.* 2018;22(1):R200.
- 33 28. den Uil CA, Lagrand WK, van der Ent M, Jewbali LSD, Cheng JM, Spronk PE, et al. Impaired
34 microcirculation predicts poor outcome of patients with acute myocardial infarction
35 complicated by cardiogenic shock. *Eur Heart J.* 2010;31(24):3032–9.
- 36 29. Mesquida J, Espinal C, Gruartmoner G, Masip J, Sabatier C, Baigorri F, et al. Prognostic
37 implications of tissue oxygen saturation in human septic shock. *Intensive Care Med.*
38 2012;38(4):592–7.

30. Ince C. Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation. Crit Care. 2015;19 Suppl 3:S8.
31. Tachon G, Harrois A, Tanaka S, Kato H, Huet O, Pottecher J, et al. Microcirculatory alterations in traumatic hemorrhagic shock. Crit Care Med. 2014;42(6):1433–41.

Figure legends

Figure 1. Anatomical examination of the ischemic heart at D₁ after left coronary artery ligation. **A:** Picture showing the site of coronary ligation (yellow arrow) and the pale area of myocardial ischemia (blue dashed line). **B:** Transversal cross-sections of the excised heart after incubation with 1% triphenyltetrazolium chloride for determination of myocardial infarction size delimited by the blue line. PC: pulmonary conus, LAA: left atrial appendage, LV: left ventricle, RV: right ventricle.

Figure 2. Assessment of mesenteric oxygenation at D₁ after left coronary artery ligation. A-B: Images showing the 2 positions of NIRS sensor, below anatomical delineation of the inferior edge of the sternum and ribs with light source located in the upper abdomen for the first measurement (A) and with the lower abdominal light source for the second measurement (B). C-D: Images showing laparotomy for intra-abdominal examination illustrating non-ischemic small bowel in a Sham (C) and small bowel ischemia in an animal with cardiogenic shock (D).

Figure 3. Flowchart of experimental design and of groups constitution. AMI was obtained after left coronary artery ligation and a LVEF equal or less than 40% was required to consider the origin of shock as cardiogenic. A lactate level higher than 2.2 mmol/l indicated a shock state with either heart failure aetiology or another origin. AMI, acute myocardial infarction; LCA, left coronary artery; LVEF, left ventricular ejection fraction; CS, cardiogenic shock; NS, no shock.

Figure 4. Evaluation of cardiac function and hemodynamic parameters at D1 for Sham, AMI-NS and AMI-CS. Data are presented as scatter plots showing individual values with median and interquartile range of LVEF (A), infarct size (B), LVEDD (C), heart rate (D), variation of CO (Δ CO) (E), mean arterial pressure (MAP) (F), plasma lactate concentration (G) and mesenteric oxygen saturation (SmO₂) (H). Data were analysed with ordinary one-way ANOVA followed by Holm Sidak's post-hoc test or Kruskal-Wallis test followed by Dunn's multiple comparison test according to variable distribution. * p<0.05; ** p<0.01; **** p<0.0001; ns: not significant. LVEF, left ventricular ejection fraction; LVEDD, left ventricular end diastolic diameter; CO, cardiac output; MAP, mean arterial pressure; SmO₂, mesenteric oxygen saturation.

Figure 5. Variations of mesenteric oxygen saturation (SmO₂). SmO₂ data are normalized to SmO₂ value at D0 before surgery and expressed as percentage. Values represent mean $\pm$ SEM for each group. Comparisons were performed between D0 before surgery and D1 with Wilcoxon test and between various groups at D1 with Kruskal-Wallis. * p<0.05 for paired measures. § p<0.05 AMI-CS vs Sham at D1; § p<0.05 AMI-CS vs AMI-NS at D1; ns: not significant. AMI-NS, acute myocardial infarction without shock; AMI-CS, acute myocardial infarction with cardiogenic shock.

Figure 6. Correlation tests for the SmO₂ and the LVEF. Spearman correlation for the SmO₂ at D1 with (A) LVEF, (B) MAP, (C) Δ CO = (D1 - D0)/D0 expressed as % of D0 value, (D) plasma lactate concentration and for the LVEF at D1 with (E) infarct size, (F) MAP, (G) Δ CO and (H) plasma lactate concentration. The black dashed line represents the 95% confidence interval band of the best-fit line (direct line). The red dashed lines indicate an arbitrary threshold for SmO₂, LVEF, MAP and lactate. LVEF, left ventricular ejection fraction; SmO₂ D1, mesenteric oxygen saturation at D1; MAP, mean arterial pressure; Δ CO, cardiac output variation.

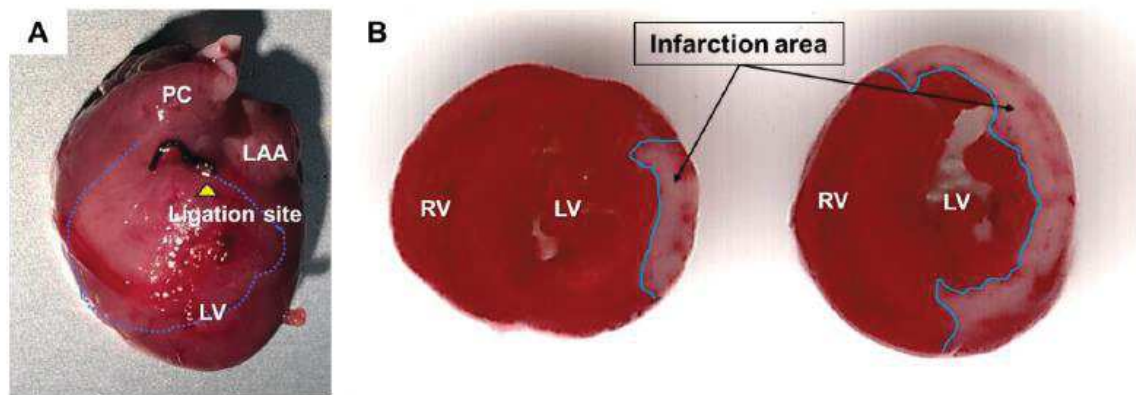
Figure 7. Receiver operating characteristic curves for prediction of serum lactate concentration above the upper superior limit of 2.2 mmol/l by mesenteric oxygen saturation (SmO₂), mean arterial pressure (MAP) and percentage of variation of cardiac output (Δ CO). AUC, area under the curve [95% confidence interval].

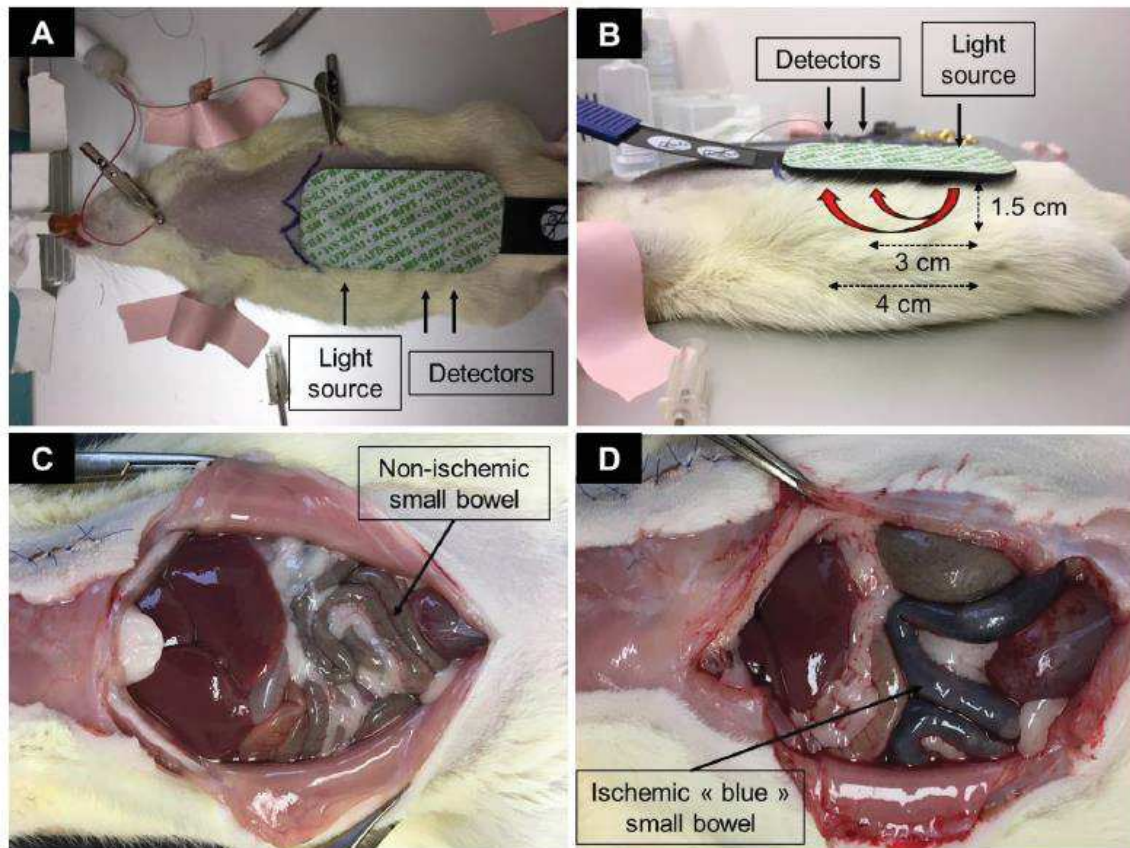
Figure Supplement 1. Transthoracic echocardiographic recordings. Illustrations of (A) left ventricular endocardial end-diastolic (top panel) and end-systolic areas (bottom panel) in B-mode parasternal short axis view; (B) left ventricular endocardial end-diastolic (top panel) and end-systolic areas (bottom panel) in B-mode parasternal long axis view; (C) M-mode of parasternal short axis view at the level of papillary muscles and (D) pulsed wave Doppler of blood flow in the ascending aorta.

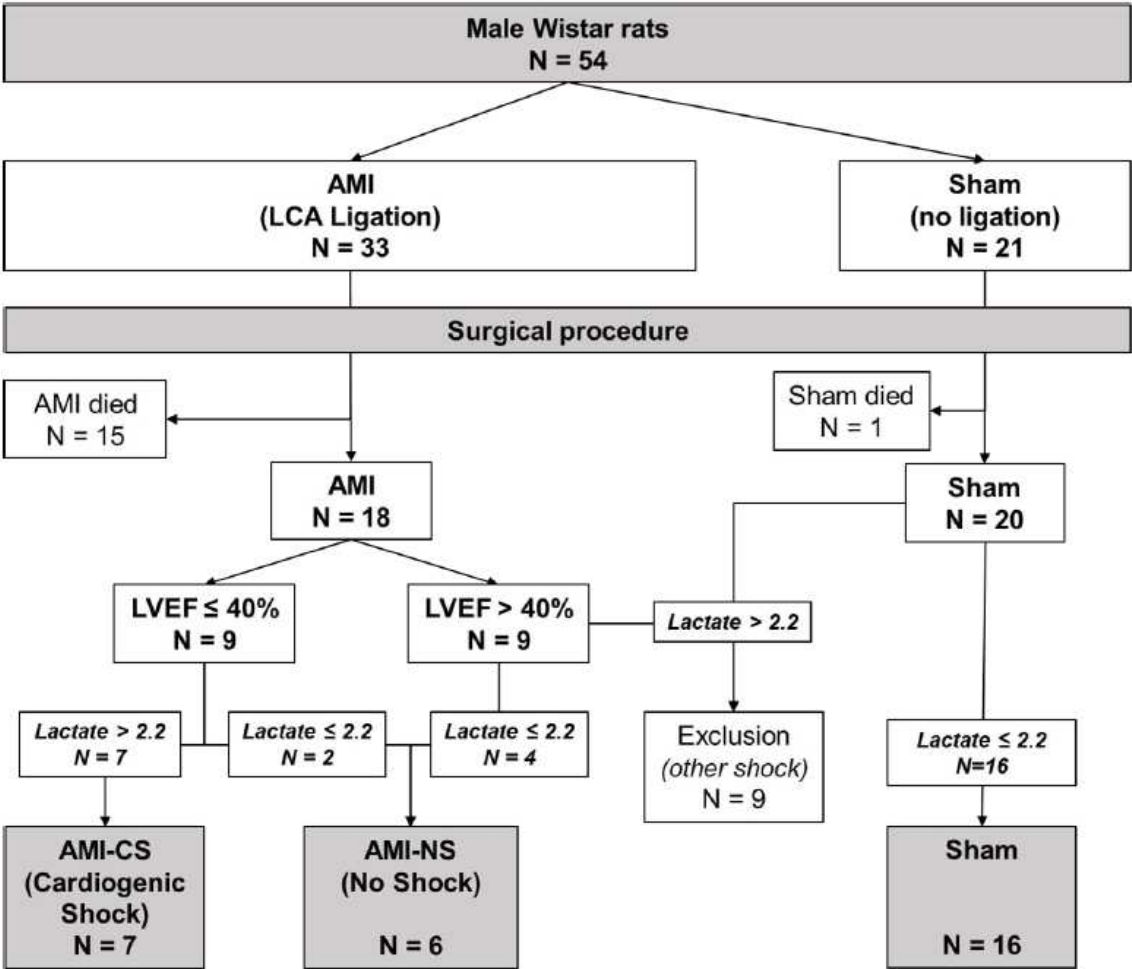
TABLE 1. Physiological and functional parameters measured at day 0 before surgery and at day 1 before sacrifice in various groups (Sham, AMI-NS and AMI-CS).

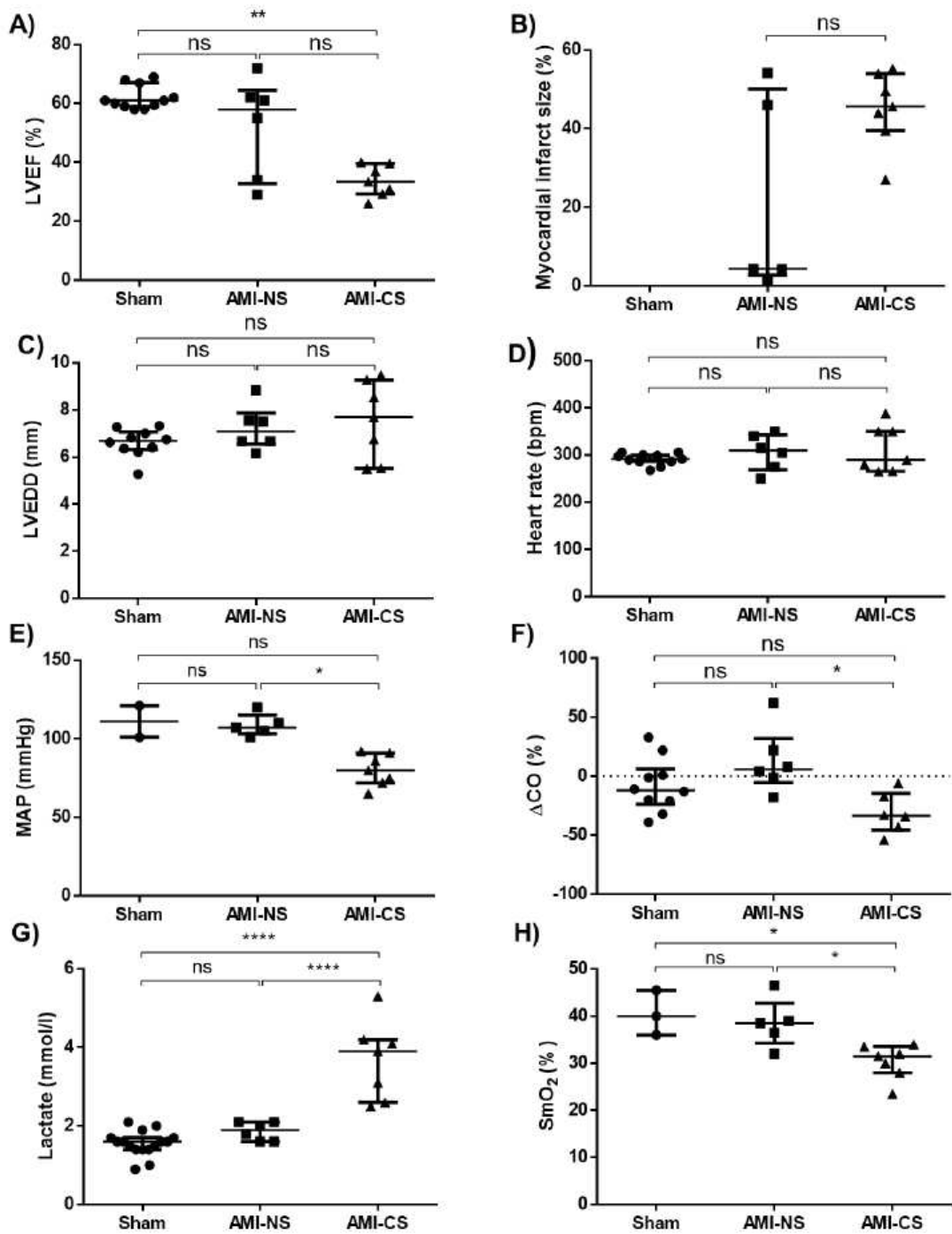
Parameters	Day	Sham (N = 16)	AMI-NS (N = 6)	AMI-CS (N = 7)	<i>p</i>
Weight, g	D ₀	368 [354;384]	372 [355;377]	374 [355;391]	0.961
	D ₁	358 [346;370] ^{aaa}	360 [342;365]	355 [348;361] ^a	0.860
Heart rate, bpm	D ₀	263 [260;306]	277 [244;286]	261 [240;281]	0.515
	D ₁	292 [287;300]	310 [269;343] ^a	290 [266;350] ^a	0.775
LVEDD, mm	D ₀	7.8 [7.1;8.0]	6.8 [6.5;7.7]	7.7 [7.2;8.3]	0.267
	D ₁	6.7 [6.3;7.1] ^a	7.1 [6.5;7.9]	7.7 [5.5;9.3]	0.312
CO, ml/min	D ₀	152 [138;174]	132 [101;162]	190 [167;229]	0.068
	D ₁	151 [111;174]	145 [120;172]	109 [103;153] ^a	0.220
LVEF, %	D ₀	68 [67;70]	69 [66;71]	64 [62;65]	0.138
	D ₁	61 [59;67]	58 [33;65]	34 [29;40] ^{**a}	0.003

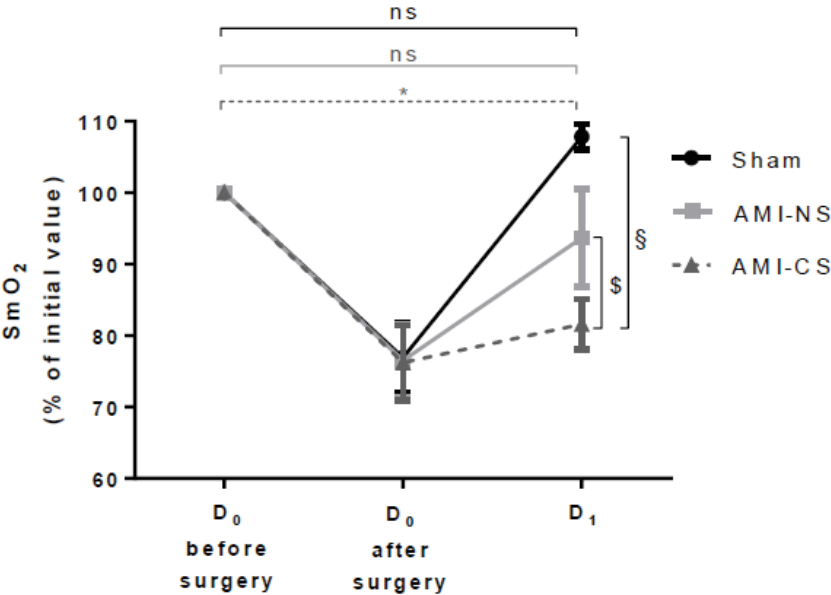
Data are expressed as median [25th;75th percentile], non-parametric ANOVA by Kruskal-Wallis test were used for comparison between groups and Wilcoxon t-test for repeated measures between D₀ and D₁. AMI-NS, acute myocardial infarction without shock; AMI-CS, AMI with cardiogenic shock; LVEF, left ventricular ejection fraction; bpm, beats per minute; LVEDD, left ventricular end-diastolic diameter; CO, cardiac output. ^a p<0.05 and ^{aaa} p<0.001 for D₀ vs D₁. ^{*} p<0.05 and ^{**} p<0.01 for comparison to Sham. [§] p<0.05 for comparison to AMI-NS.





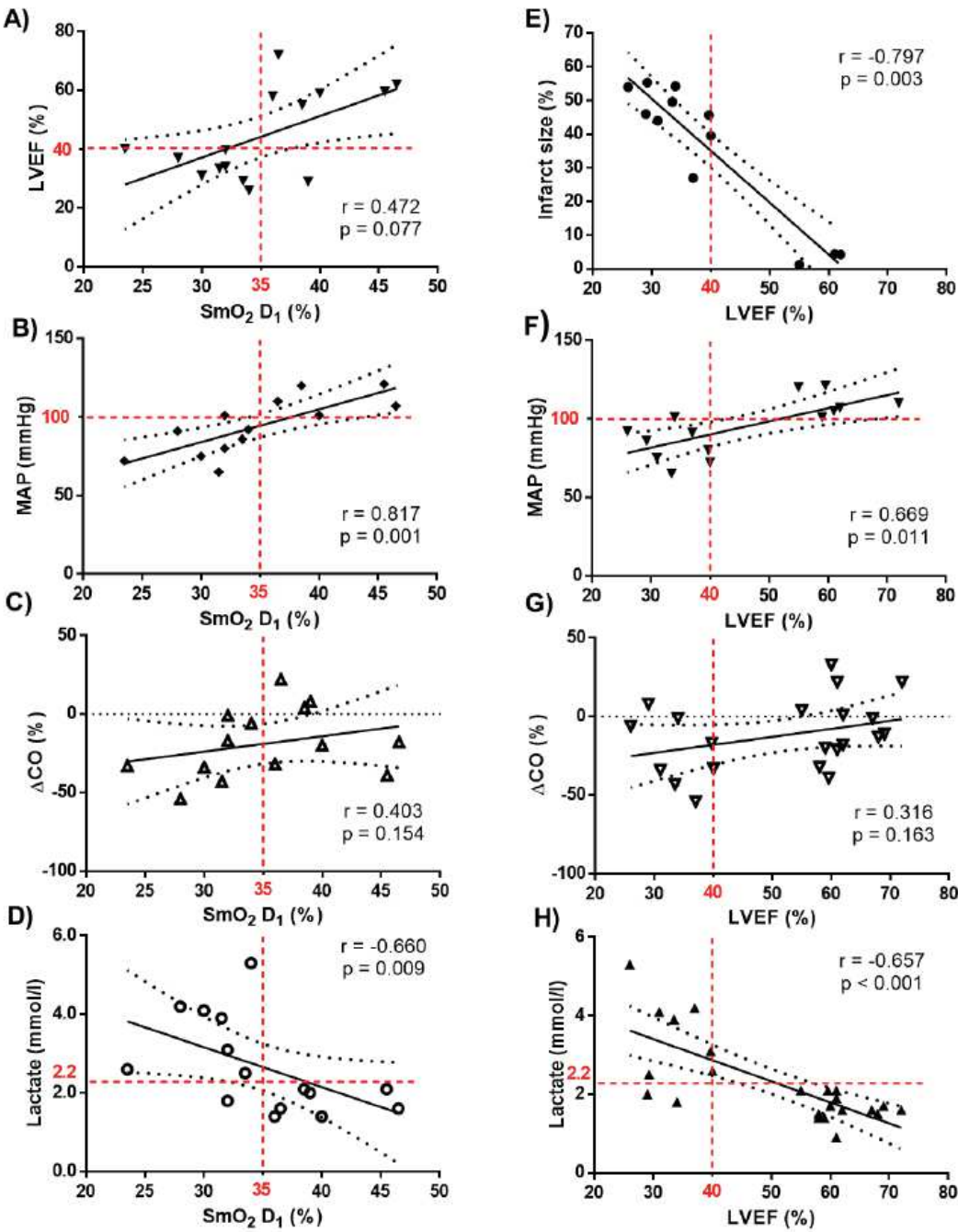


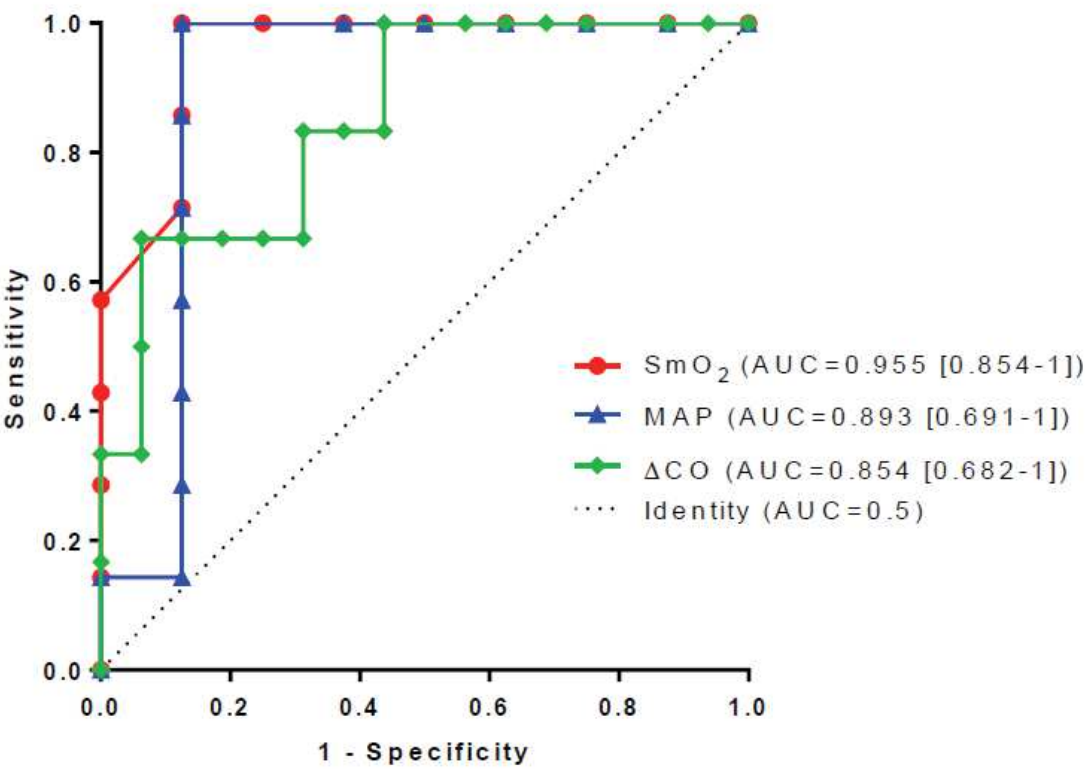




Figure

[Click here to access/download;Figure;Figure 6 \(M1\).docx](#)







1.3. Synthèse article 1

La ligature coronaire chirurgicale induit un IDM de taille variable mais souvent sévère avec dysfonction VG ou décès rapide dans une majorité de cas. La mortalité élevée à 45% illustre la difficulté à trouver la limite entre l'obtention d'un IDM suffisamment étendu pour aboutir à un choc cardiogénique et un IDM d'emblée léthal qui ne permet pas de poursuivre l'étude du cas. Une altération de la FEVG < 40% après IDM s'accompagne d'une élévation du lactate évoquant un choc cardiogénique dans 78% des cas. Dans ce modèle, le choc cardiogénique ainsi défini est associé à une baisse significative de l'oxygénation mésentérique. Cette souffrance mésentérique peut elle-même contribuer au développement d'un métabolisme anaérobie et à la production de lactate.

Ainsi la mesure de la SmO₂ par la NIRS apporte une évaluation non-invasive directe et en temps réel de l'état de choc étant le reflet d'une hypoperfusion régionale. Le seuil de SmO₂ inférieur à 35% permet d'identifier les animaux en choc avec une élévation du lactate avec d'excellentes valeurs prédictive positive (88%) et valeur prédictive négative (100%). Il peut être utile de disposer d'un autre marqueur d'hypoperfusion tissulaire que le dosage du lactate pour identifier les sujets en choc cardiogénique en présence d'une défaillance VG.

2. Etude 2 : Implication de la vasopressine dans l'hypoperfusion tissulaire au cours du choc cardiogénique ischémique

2.1. Contexte

Le choc cardiogénique survient dans 5 à 10 % des syndromes coronariens aigus mais l'IDM avec élévation du segment ST représente la principale étiologie de choc cardiogénique. Malgré les progrès de la cardiologie interventionnelle visant une revascularisation myocardique précoce et le développement des assistances circulatoires mécaniques temporaires, la mortalité du choc cardiogénique reste très élevée entre 40 et 50%.

Outre le pronostic myocardique en lui-même, les défaillances d'organes et la dysfonction microcirculatoire prolongée jouent un rôle pronostique crucial. Compte-tenu de l'activation marquée du système vasopressinergique dans l'IDM aigu, nous nous sommes intéressés à explorer les conséquences de cette stimulation vasopressinergique sur la défaillance VG et surtout sur l'altération de la perfusion tissulaire en particulier au niveau mésentérique.

2.2. Article 2

Une publication de ce second travail, en premier auteur, est en préparation pour une soumission au journal Cardiovascular Research.

Aims

Acute heart failure (AHF) due to acute myocardial infarction (AMI) is likely to involve cardiogenic shock (CS), with neuro-hormonal activation. A relationship between AHF, CS and vasopressin response is suspected. This study aimed to investigate the implication of vasopressin on hemodynamic and tissue perfusion at the early phase of CS complicating AMI.

Methods and results

The effects of AHF, defined by left ventricular ejection fraction $\leq 40\%$, induced by left coronary artery ligation, were compared to Sham in male Wistar rats. Six groups were studied: no treatment (Sham, AMI), treatment with a vasopressin antagonist (SR49059) (Sham-SR, AMI-SR) or a vasopressin agonist (terlipressin) (Sham-TLP, AMI-TLP). Among 103 operated rats, 67 were ligated and exhibited mortality of 40%, 0% and 33% respectively for AMI, AMI-SR and AMI-TLP ($p=0.057$). All animals were sacrificed at day 1 (D_1) after hemodynamic and biochemical assessments. CS was defined by AHF and evidence of tissue hypoperfusion at D_1 , identified by elevated lactate level or low mesenteric oxygen saturation (SmO_2). SmO_2 was notably decreased in AMI and TLP-treated groups and preserved in Sham and SR-treated groups. Incidence of CS was decreased to 25% in AMI-SR versus 72% in AMI or AMI-TLP ($p=0.038$). Plasma copeptin at D_1 was increased in AMI and AMI-SR but not in AMI-TLP. The maximal contractile response to vasopressin, evaluated *ex vivo* on aortic rings (sampled after sacrifice), was similarly decreased in AMI and TLP-treated rats compared to Sham but also severely altered in animals treated by the antagonist.

Conclusions

Increased vasopressin secretion seems involved in the early phase of AMI, which may result in mesenteric hypoperfusion and lactate production despite quick reduction in vascular reactivity to vasopressin. These results suggest that a VP antagonist should be given during the first hours of CS after AMI to improve tissue perfusion.

Keywords: Myocardial infarction, cardiogenic shock, vasopressin, coceptin, microcirculation

1. Introduction

Acute myocardial infarction (AMI) remains the main cause of heart failure and represents a major cause of death worldwide^{1,2}. According to the European Society of Cardiology guidelines, left ventricular ejection fraction (LVEF) of 40% is the threshold defining heart failure with reduced ejection fraction³. Occlusion of the main coronary arteries results in an acute reduction of LVEF likely to lead to cardiogenic shock (CS). In humans, CS occurs in 5 to 10% of acute coronary syndromes with ST-segment elevation but is responsible for a mortality of 40 to 50% and requires high medical resources in intensive care units^{4,5}. CS is defined by end-organ hypoperfusion due to primary cardiac dysfunction³. Diagnosis criteria in humans include persistent hypotension with cardiac index less than 2.2 L/min/m², despite adequate or elevated filling pressure, and symptoms of end-organ hypoperfusion (i.e. alteration of mental status, oliguria, peripheral vasoconstriction, increased lactate)^{1,6}. The course of cardiogenic shock usually includes two hemodynamic profiles more or less entangled. On one hand, the acute reduction of cardiac output (CO) induces vasoconstrictive response involving sympathetic system and vasoactive hormones (angiotensin II, vasopressin), attempting to maintain the perfusion pressure of organs. On the other hand, AMI and tissue hypoperfusion may lead to a systemic inflammatory response syndrome and an increased expression of inducible NO synthase, which are both responsible for inadequate vasodilation¹. The validity and prognosis value of microcirculatory impairment, as assessed by decreased microvascular oxygen content in superficial tissue and analysed by Near InfraRed Spectroscopy (NIRS), has been proven during various conditions of shock, including cardiogenic shock⁷⁻⁹. The persistence of microvascular alteration within the first 24 hours of CS is strongly associated with end-organ failure and in-hospital mortality^{10,11}. Therapeutic strategies aim to restore circulation and tissue perfusion. Thus, in addition to myocardial revascularization, pharmacological treatments consisting of vasopressors and/or inotropes⁴ are administered to support

coronary and organ perfusion. Norepinephrine is recommended as first-line therapy to restore quickly the blood pressure and eventually in addition to an inotropic agent if stroke volume is not adequately improved¹². Dopamine and epinephrine are associated with higher short-term mortality in CS^{12–14}. Vasopressin, which is increasingly used in distributive shock and vasoplegia following cardiac surgery, is not preferred in CS because of its absence of beneficial effect on cardiac output unlike norepinephrine¹⁵.

Vasopressin or arginine-vasopressin (AVP) is a nonapeptide synthesized in the hypothalamus from a prohormone, pre-pro-vasopressin, along with 2 other peptides: neurophysin II and copeptin, stored in the posterior pituitary and released after stimulation of baroreceptors. The hemodynamic action of AVP is mediated by the V_{1a} receptor in the vascular smooth muscle inducing vasoconstriction. With a better stability and a longer plasmatic half-life, copeptin can be used as a biomarker of AVP release^{16,17}. Copeptin level at the hospital admission for AMI has a good predictive value for chronic heart failure and one-year mortality^{17,18}. Vasopressin level increases in the setting of AMI and shock. This increase is thought to improve perfusion pressure at the cost of an increase in afterload, which may further impair myocardial function and favour ventriculoarterial uncoupling^{1,19}. In experimental conditions, AVP was unable to restore ventriculoarterial coupling unlike the association between dobutamine and norepinephrine²⁰. The effect of treatment with vasopressin on microcirculation was found neutral in distributive shock but not yet well documented in CS^{21–24}. High doses of AVP (> 0.06 IU/min) entail the risk of mesenteric and skin ischemia²⁵.

In animal studies, the model of choice of AMI in rats consists of the surgical left coronary artery ligation (LCA). Even if it is associated with a high mortality rate of 30 to 50%, CS is not particularly described^{26–28}. We previously developed a CS model in rat and found a CS incidence of 78% in animals with LVEF ≤ 40% after left LCA. We established that NIRS could be used to assess mesenteric desaturation and we demonstrated that, for a threshold of 35%, mesenteric saturation had a good predictive value for lactate elevation in this CS rat model²⁹.

In the present study we used the CS-rat model to investigate the implication of vasopressin release on acute hemodynamic changes including tissue perfusion, evaluated by NIRS and plasma lactate level, by using agonists and antagonists of V_{1a} receptors.

2. Methods

2.1. Drugs

SR-49059 (Relcovaptan) is a selective nonpeptidic V_{1a} receptor antagonist with demonstrated beneficial effects in specific indications (i.e. Raynaud's disease, dysmenorrhea) but not yet studied in heart failure^{30–33}. This antagonist was obtained from Sanofi-Aventis (Sanofi-Aventis, Toulouse, France). The protocol of antagonist treatment consisted of three intraperitoneal injections of SR-49059 performed at 1 hour before anaesthesia (4.5mg/kg), then at around 8 hours later (6mg/kg) and at 1 hour before second anaesthesia the day after (4.5mg/kg). The antagonist treatment was started before anaesthesia and surgery in order to overcome the effect of acute AVP release in response to stress related to anaesthesia and surgery. SR-49059 was dissolved in DMSO (48 mg/ml) and extemporaneously emulsified in Cremophor® RH40 (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) and diluted in 9% sodium chloride solution before injection.

Terlipressin is a well-documented vasopressin receptor agonist inducing intense and prolonged vasoconstriction. It is indicated in hepato-renal syndrome for its splanchnic vasoconstriction properties^{34,35}. Commercial terlipressin, Glypressine®, was obtained from Ferring GmbH (Kiel, Germany). Its purity has been previously evaluated by mass spectrometry³⁵. A dilution at 20µg/ml of terlipressin in 9% sodium chloride solution was prepared after solubilisation of in the dedicated solvent. Animals were treated by three intraperitoneal injections of 10µg performed at 1, 12 and 23 hours after chest closure and representing a total dose of 80µg/kg/24h. To reduce the risk of bleeding due to the increase of blood pressure, terlipressin was not administered preoperatively or immediately after surgery.

2.2. Experimental protocol

All experimental procedures were conducted in accordance with the European Union Laboratory Animal Care Rules (2010/63/EU Directive) and were approved by the Animal Care and Use Committee of the University of Montpellier (N° 2017050415341820).

Male Wistar rats, weighting 350-400 g, were prospectively randomly assigned for LCA ligation (AMI) or not (Sham) during surgery. The surgical procedure has been described in a previous work and detailed in supplemental material online, Methods M1. Briefly, rats were anaesthetized by intraperitoneal injection of ketamine and xylazine and a permanent LCA ligation was achieved through a left parasternal thoracotomy. Sham-operated rats were treated using the same method except closing of the ligation.

Animals were awakened and extubated just after the surgery and then sacrificed by exsanguination at the postoperative day 1 (D₁, 24 hours after the end of surgery) after full hemodynamic evaluation under the same anaesthesia protocol.

Infarct size was determined after sacrifice. The heart was quickly excised and sliced into four 2.0-mm-thick sections perpendicular to the long axis. Sections were incubated in 1% triphenyltetrazolium chloride at 37°C for 10 min and then scanned. The infarct area was measured using ImageJ software. Myocardial infarction size was expressed as a percentage of the LV myocardial area.

2.3. Hemodynamic assessment

2.3.1. Heart rate and blood pressure measurement

The heart rate was determined by electrocardiography monitoring at D₀ and D₁ during anaesthesia. The arterial pressure was measured invasively at D₁ via cannulation of the right carotid artery using a pressure transducer connected to a monitor (ADInstruments, France). The pressure signal was analysed by a data acquisition software (LabChart Reader 8.1.5, ADInstruments, USA) and the mean arterial pressure (MAP) was determined.

2.3.2. Echocardiography

Before surgery (D_0) and at D_1 , transthoracic high-resolution echocardiography and echo-Doppler (VisualSonics, Vevo® 2100) were performed under general anaesthesia and mechanical ventilation by an independent expert to assess LVEF, left ventricular end diastolic diameter (LVEDD) and cardiac output (CO). The velocity time integral of blood flow in the ascending aorta was used to calculate CO.

2.4. Tissue perfusion assessment

2.4.1. Mesenteric haemoglobin oxygen saturation

Tissue oxygenation was assessed by a regional measurement of mesenteric haemoglobin oxygen saturation (SmO_2) with a transcutaneous NIRS device (INVOS™ 5100C cerebral/somatic oximeter, Medtronic), reflecting the oxygen content in microcirculation (vessels diameter < 1 mm) through a sensor applied on the abdominal area between the xiphoid appendix and bladder, analysing the tissue at a depth of 1.5 cm. Determinations of SmO_2 were performed at D_0 just before and immediately after the surgery and at D_1 by the average of the acquisitions obtained from two positions of the NIRS sensor. Mesenteric hypoxia was evidenced when SmO_2 was < 35%.

2.4.2. Plasma lactate

Blood sample was collected in an EDTA tube (8ml) immediately centrifuged for 12 min at 1300 g at 4°C and plasma was frozen at -80°C for further determination of lactate concentration with Cobas 8000 analyser (colorimetric assay, reference interval [0.5-2.2] mmol/l, Roche Diagnostics, France). Tissue hypoperfusion was evidenced by lactate > 2.2 mmol/l, indicating for anaerobic metabolism.

2.5. Vasopressin system stimulation assessment

Copeptin is considered as a reliable surrogate marker of AVP secretion. Thus, in order to evaluate AVP system stimulation, we assayed copeptin in plasma samples collected for lactate dosage. Under physiological conditions, vasopressin and copeptin circulating levels are low as confirmed by the copeptin concentration of 40 ± 6 pmol/l measured in control non operated rats (n=3, data not shown).

Copeptin assay consisted in ELISA kit according to manufacturer instructions (Cusabio Technology, USA).

2.6. Vascular reactivity

Experiments were performed as previously described on isolated aortic rings mounted onto thin stainless-steel holders and placed in organ chambers filled with a saline solution (PSS) maintained at 37°C and continuously bubbled with O₂. Changes in isometric tension were measured using a force transducer (IT1-25) and recorded by an IOX computerized system (EMKA Technologies, Paris, France).

After an equilibration period of 1 hour at a resting tension of 2 g, functional integrity of each arterial segment was evaluated by the contractile response to a single dose of phenylephrine (PE, 10⁻⁵M) and then by the relaxant effect of acetylcholine (ACH, 10⁻⁶M) which validated endothelium function. After a wash-out and stabilization period of 20 minutes, the contractile capacity of vascular smooth muscle cells was evaluated with cumulative dose responses to the different agonists: AVP, KCL, or PE.

2.7. Study plan

In order to study AMI-induced AHF, a LVEF ≤ 40% was prerequisite for the selection of animals in AMI groups. Six groups of rats were studied: Sham without treatment, AMI without treatment (AMI), rats treated with terlipressin (Sham-TLP and AMI-TLP) or SR-49059 (Sham-SR and AMI-SR). To assess cardiogenic shock, a tissue hypoperfusion as evidenced by lactate > 2.2 mmol/L or mesenteric hypoxia (SmO₂ < 35%) was required.

The primary endpoint for AMI-groups was the incidence of CS at D₁. Secondary endpoints included vasopressin release (copeptin) at D₁ before sacrifice and *in vitro* contractile response of aortic rings after sacrifice. The D₁-mortality rate was assessed among all animals with LCA ligation.

2.8. Statistical analysis

Results, expressed as mean and standard error of the mean (SEM), were compared between non treated groups (Sham and AMI), antagonist treated groups (Sham-SR and AMI-SR) and agonist treated

groups (Sham-TP and AMI-TP) by an ordinary one-way ANOVA or a Kruskal-Wallis test according to the variable distribution. An appropriate *post-hoc* multiple comparisons test was used to determine which groups are different. Paired t-test or Wilcoxon test were used for comparisons between D₀ and D₁ within each group. Distribution of outcome endpoints were compared by a Fisher's exact test. All probability values are 2-sided, and values of $p < 0.05$ were considered to be significant. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA).

3. Results

3.1. Groups determination and mortality rates

The study included 103 rats spread out into 6 groups (Figure 1), depending on AMI and on treatment with a vasopressin receptor antagonist (SR-49059, SR) or agonist (terlipressin, TLP). Among rats with LCA ligation, 19 over 47 died at D₁ after surgery in AMI without treatment (40.4%), 3 over 12 in AMI-TLP (32.8%) and none in AMI-SR ($p=0.057$). According to our definition criteria of AHF, animals with LVEF > 40% after LCA ligation at D₁ were excluded from the study. Thus, 60 animals were finally analysed as specified in Figure 1. The outcome of the whole population of LCA ligation, without selection on LVEF, is described in Supplementary material online, Table S1.

3.2. Preoperative effect of SR-49059

Among analysed animals, 16 were treated with SR before surgery and 44 received no preoperative treatment defining two groups that were compared to evaluate the intrinsic effects of SR (Table 1). No change was observed in all non-invasive parameters recorded, either weight, heart rate, cardiac function or mesenteric oxygenation.

3.3. Hemodynamic changes induced by myocardial infarction

Coronary ligation induced a similar myocardial infarction size in all AMI groups (table2).

As compared to Sham, AMI resulted in decrease in CO and increase in LVEDD (table 2). MAP was significantly lower at D₁ in AMI rats than in Sham. These characteristics are consistent with AHF.

At D₁, variations between groups were observed for LVEDD, LVEF, CO and MAP, while no difference was found for body weight or heart rate (table 2). Taken together AMI groups, whatever the treatment, had higher LVEDD (7.4 ± 0.2 to 6.5 ± 0.1 mm, $p=0.0008$), lower CO (109 ± 7 to 137 ± 7 ml/min, $p=0.007$) and lower MAP (92 ± 5 to 123 ± 7 mmHg, $p=0.0004$) compared to Sham groups.

3.4. Assessment of tissue perfusion

SmO₂ at D₀ under anaesthesia and before surgery was identical in all groups with an average value of $39.0 \pm 0.6\%$ ($p=0.368$). Immediately after surgery, we observed a drop in SmO₂ similarly in all groups ($p=0.141$) with an averaged value of $30.0 \pm 0.5\%$, different from D₀ value before surgery ($p<0.0001$) (Figure 2A).

At D₁, SmO₂ increased and recovered in Sham, Sham-SR and AMI-SR while it remained low in AMI and in TLP-treated animals (Figure 2A). Thus, SmO₂ was lower at D₁ in AMI compared to Sham ($p=0.032$), in Sham-TLP compared to Sham ($p=0.005$) and to Sham-SR ($p=0.009$), and in AMI-TLP compared to AMI-SR ($p=0.003$), (Figure 2B). No difference in SmO₂ was noticed between Sham-SR and AMI-SR, with values in these groups similar to that of Sham.

Plasma lactate level measured at D₁ are reported on Figure 2C. High lactate levels were observed in AMI, Sham-TLP and AMI-TLP, greater than that of Sham. In Sham-SR and in AMI-SR a moderate lactate elevation was noticed.

Taken together, high lactate level and low SmO₂ gave incidence of tissue hypoperfusion as displayed on Figure 2D with a distribution notably different between groups ($p=0.001$). A CS was then observed in 9 (69%) AMI, 2 (25%) AMI-SR and 4 (80%) AMI-TLP animals ($p=0.098$), while tissue hypoperfusion was found in 4 (19%) Sham, 2 (25%) Sham-SR and 5 (100%) Sham-TLP ($p=0.003$).

The incidence of mesenteric hypoxia ($\text{SmO}_2 < 35\%$) was reduced in AMI-SR compared to AMI and to AMI-TLP (respectively 13%, 90% and 80%, $p=0.003$).

3.5. Vasopressin system stimulation: Copeptin

In all operated Sham animals, we observed at D₁ plasma copeptin concentrations higher than the physiological basal value of controls with an average value of 361 ± 42 pmol/l (Figure 3). No difference was detected in Sham between treated or not treated groups. Overall, copeptin level in AMI groups was higher than in Sham groups with significant differences between AMI and Sham ($p=0.034$) and between AMI-SR and Sham-SR ($p=0.006$). In AMI-SR, copeptin level even tended to be more important than in AMI ($p=0.057$). In contrast, no difference was observed between Sham-TLP and AMI-TLP with a copeptin concentration in AMI-TLP lower than in AMI-SR ($p=0.002$) and in AMI ($p=0.054$). Of note, the increase of copeptin was absent in the AMI-TLP group.

3.6. Effect of myocardial infarction on vascular reactivity

The contractile responses to cumulative doses of AVP were performed on rat aorta to evaluate AVP sensitivity and efficiency and were normalized to the effect of a maximally active KCl concentration (60 mM). In all groups, AVP induced a dose-dependent contraction (Figure 4). In AMI, the maximal contractile response and the sensitivity to AVP were decreased when compared to Sham with a 32% lowering of contraction ($p=0.011$) and an EC_{50} value which tended to increase (Table 3). In SR-treated animals, and similarly in Sham-SR and in AMI-SR, both contractile response and sensitivity were substantially decreased when compared to either Sham or AMI. In contrast in TLP-treated animals, and similarly in Sham-TLP and in AMI-TLP, only a decrease of maximal contraction to AVP was observed, but with no change of EC_{50} value. Of note, KCl-induced contraction and vasorelaxant effect of acetylcholine were identical in all groups. Only the response to PE differed with an increased contraction in TLP treated animals either Sham-TLP or AMI-TLP (Table 3).

4. Discussion

In this study, we showed that increased AVP blood level is involved in mesenteric hypoperfusion in a rat model of CS. Treatment with the AVP antagonist SR-49059 prevented tissue hypoperfusion and improved prognosis of CS while in contrast, with the agonist terlipressin, hypoperfusion was worsened. This suggested a critical role of vasopressinergic system in AMI-induced CS.

AMI with AHF represented a high-risk for CS (69%) in the non-treated population. The CS was characterized by an evidence of tissue hypoperfusion, either elevated lactate level or low SmO₂, in the context of AHF (LVEF < 40%) after AMI. A previous study showed the diagnostic value of a SmO₂ below 35% to identify animals with CS at D₁ after AMI²⁸. This non-invasive tool to detect hypoperfusion at the bench-side or at the bed-side is interesting to improve hemodynamic support very early. We observed improvement of mesenteric oxygenation with antagonization of vasopressin receptors and worsening after administration of terlipressin.

To date, the effect of vasopressin receptor antagonists has not been described in the setting of CS. Several antagonists (vaptan) have been studied mainly focusing on chronic heart failure or on renal effect via V₂ receptor inhibition^{32,36}. To investigate the effect of vasopressin on hemodynamic state and tissue perfusion during CS, treatment with a V_{1a} receptor antagonist was tested in this study. The preoperative administration of SR-49059 had no effect on cardiac function and mesenteric oxygenation. Nevertheless, a slight decrease of MAP at D₁ in the Sham-SR group compared to Sham (mean difference -17 ± 9 mmHg) may suggest a light vasodilation under SR 49059. Indeed, the copeptin level was high in the Sham groups when compared to control rats in physiological condition, an effect possibly related to vasopressin secretion in response to the anaesthesia and surgery induced stress.

In the AMI groups, all cardiac and macrocirculatory parameters at D₁ were identical whatever the treatment, except MAP which was more elevated in terlipressin treated animals. In the non-treated AMI group, MAP was decreased compared to Sham. These observations need to be interpreted with respect to the copeptin level and the *in vitro* vascular reactivity. The high copeptin level at D₁ indicates

a substantial vasopressin release in response to myocardial infarction or AHF, documented in AMI and AMI-SR groups. If the vasoconstrictive action of AVP is logically inhibited by the SR-49059, the hypotension in the AMI group appears paradoxical with respect of copeptin level. Due to a longer half-life than vasopressin, copeptin reflected vasopressin secretion during the past 24 hours and may have failed to recognize a secondary drop in vasopressin secretion. Furthermore, the lower *in vitro* contractile response to AVP in this group suggests a reduction of functional vasopressin receptors in the membrane of vascular smooth muscular cells, as a consequence of previous stimulation. The treatment with the antagonist *in vivo* didn't show a MAP decrease at D₁ in AMI-SR group compared to AMI, suggesting that vasopressin was no more involved in vasoconstriction at this time. The impairment of vascular receptor response to vasopressin and possible secondary relative deficiency in vasopressin secretion may have contributed to the hypotension observed 24 hours after AMI. A relative deficiency of vasopressin is documented in various conditions of prolonged shock after initial increase and should be implicated in secondary vasoplegia and distributive shock^{16,19,37}. In the group treated with terlipressin, the relatively high MAP in a context of decreased contractile response should indicate that the doses of terlipressin were enough to induce vascular contraction, despite the decrease of receptor availability. The vasopressin release was inhibited by baroreceptors stimulation following terlipressin treatment, as shown by relatively low copeptin level in this group. This physiological regulation has been described from decades as a negative feedback through the GABAergic pathway³⁸. At the opposite, antagonization by SR-49059 induced a relative increase in copeptin level. After treatment with this antagonist, a competitive profile with AVP was observed during *in vitro* reactivity experiments. This is in line with the high affinity of SR-49059 for the V_{1a} receptor³⁰. The potential clinical implications of these findings are to assess vasopressinergic system stimulation by measurement of plasmatic copeptin level within the first hours after AMI and to find a way to prevent excessive vasopressin release. In the context of quick reduction of maximal contractile response to AVP, the agonist treatment appears unsound to restore arterial pressure.

Interestingly, the assessment of tissue perfusion by plasma lactate level and mesenteric oxygenation demonstrated striking differences between AMI treated with SR-49059 and AMI without antagonization of vasopressin receptors (AMI and AMI-TLP). The incidence of CS was reduced when animals were treated before and after AMI by the vasopressin antagonist. Nevertheless, lactate level, although lowered, did not return to normal value in this group probably due to hypotension or other reasons of increasing lactate production or decreasing lactate clearance. The most relevant effect was observed on mesenteric oxygenation, which was well restored with antagonist treatment and severely impaired with agonist treatment. This finding may indicate a deleterious effect of endogenous vasopressin release following AMI, involving prolonged mesenteric ischemia and anaerobic metabolism. This is in line with a recently published study of gastric microcirculatory oxygenation in dogs, which was increased by ultra-low dose of exogenous vasopressin but strongly reduced by high dose of AVP and completely abolished by V1a receptor inhibition³⁹. The reduction of mesenteric perfusion induced by acute vasopressinergic response persisted 24 hours later in the context of AHF. At D₁, the vasoconstriction induced by vasopressin is probably decreased as suggested by low MAP, identical in AMI and AMI-SR groups, and the reduction in vascular reactivity to vasopressin observed *in vitro*. Nevertheless, the tissue hypoperfusion and microcirculatory disorder induced by vasopressin in the first hours after CS were persistent at least at D₁. Of note, the response of microcirculation to treatment is often dissociated from systemic hemodynamic improvement⁴⁰. The microcirculatory effects of low dose vasopressin were not found deleterious in vasodilatory or septic shock²¹⁻²³. This is the first description of vasopressin implication in microcirculation alteration in the context of post-ischemic CS. These findings are consistent with a preliminary prospective human cohort of patients with CS complicating AMI¹¹. In this short series, patients had both severe impairment of microvascular reactivity and high copeptin level and reversal of microcirculation impairment in response to treatment was associated with survival.

The mortality rate of 40% after LCA ligation in this study corresponded to mortality already described in rat models of AMI^{26,27} and was close to the mortality rate of CS complicating AMI in humans

estimated at 40-50%⁴¹. We observed less mortality in the group treated with the antagonist SR-49059 suggesting a deleterious effect of AVP release during the early phase of post-infarction CS. Since mortality was not an objective of this study, this finding needs to be confirmed with adequate sample size and experimental design. This potential protective effect of vasopressin antagonist treatment might not be transposable to clinical practice because the treatment should be started before AMI.

In summary, these experimental results highlight the critical role of vasopressinergic response in the very early phase of ischemic AHF and its potential impact on time course of CS. Indeed, the acute release of vasopressin participates in the vasoconstrictive response of CS which induces redistribution of blood flow to autoregulated organs, as a salvage response, but which is also responsible for side effects especially mesenteric ischemia. This tissue damage may lead to organ dysfunction and contribute to severe complications, like bacteria translocation from the gut, and to the secondary systemic inflammatory response observed in CS⁵.

This study has some limitations. The number of study groups had a negative impact on statistical power but was required by the need to have a Sham group for each treatment. The measurement of AVP concentration, which is technically challenging, was not obtained. A continuous monitoring of arterial pressure was not possible in this model. The assessment of the effect of vasopressin stimulation on renal function and natriuremia is lacking, but it is unlikely to observe modifications in one day. The deceased rats were not autopsied since most of death occurred without witness. The evolution of hemodynamic, cardiac and biological parameters was not studied after 24 hours. Further experimentations are needed to study after 24 hours this secondary vasodilatory syndrome under close monitoring of microcirculation and to explore the possible prevention of vasopressin deleterious effects.

5. Conclusions

CS after AMI was characterized by a sustained decrease in mesenteric oxygenation and by lactate production. Increased vasopressin secretion seems involved in the early phase of AHF, which may result in worsening mesenteric hypoperfusion despite quick reduction in vascular reactivity to vasopressin. High vasopressin or agonist stimulation following AHF may explain the alteration of arterial contractile response to vasopressin and the implication of this mechanism in secondary vasodilation syndrome needs to be further investigated.

Supplementary material

Supplementary material is available at *Cardiovascular Research* online.

Funding

This work was conducted in the French Institute for Health and Medical Research (INSERM) but without specific grant from this institution.

Acknowledgements

We thank the *small animal imaging platform of Montpellier* (IPAM; <http://www.ipam.cnrs.fr>) for access to the echocardiography.

Conflict of interest: none declared

References

1. Reynolds HR, Hochman JS. Cardiogenic shock: current concepts and improving outcomes. *Circulation* 2008;**117**:686–697.
2. Delmas C, Puymirat E, Leurent G, Elbaz M, Manzo-Silberman S, Bonello L, Gerbaud E, Bataille V, Levy B, Lamblin N, Bonnefoy E, Henry P, Roubille F, FRENSHOCK investigators. Design and preliminary results of FRENSHOCK 2016: A prospective nationwide multicentre registry on cardiogenic shock. *Arch Cardiovasc Dis* 2019;**112**:343–353.
3. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola V-P, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GMC, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, Meer P van der, ESC Scientific Document Group. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J* 2016;**37**:2129–2200.
4. Mebazaa A, Combes A, Diepen S van, Hollinger A, Katz JN, Landoni G, Hajjar LA, Lassus J, Lebreton G, Montalescot G, Park JJ, Price S, Sionis A, Yannopolos D, Harjola V-P, Levy B, Thiele H. Management of cardiogenic shock complicating myocardial infarction. *Intensive Care Med* 2018;**44**:760–773.
5. Vahdatpour C, Collins D, Goldberg S. Cardiogenic Shock. *J Am Heart Assoc* 2019;**8**:e011991.
6. Hochman JS, Buller CE, Sleeper LA, Boland J, Dzavik V, Sanborn TA, Godfrey E, White HD, Lim J, LeJemtel T. Cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction--etiologies, management and outcome: a report from the SHOCK Trial Registry. Should we emergently revascularize Occluded Coronaries for cardiogenic shock? *J Am Coll Cardiol* 2000;**36**:1063–1070.
7. Creteur J, Carollo T, Soldati G, Buchele G, De Backer D, Vincent J-L. The prognostic value of muscle StO₂ in septic patients. *Intensive Care Med* 2007;**33**:1549–1556.
8. Donati A, Damiani E, Domizi R, Scorcella C, Carsetti A, Tondi S, Monaldi V, Adrario E, Romano R, Pelaia P, Singer M. Near-infrared spectroscopy for assessing tissue oxygenation and microvascular reactivity in critically ill patients: a prospective observational study. *Crit Care Lond Engl* 2016;**20**:311.
9. Orbegozo D, Su F, Xie K, Rahmania L, Taccone FS, De Backer D, Vincent J-L, Creteur J. Peripheral Muscle Near-Infrared Spectroscopy Variables are Altered Early in Septic Shock. *Shock Augusta Ga* 2018;**50**:87–95.
10. Gaudard P, Saour AC, Eliet E, Culas G, Coves R, Colson P. Prognosis value of tissue oxygen saturation recovery slope during a vascular occlusion test in cardiogenic shock patients. *Intensive Care Med* 2012;**38** Suppl 1:S269.
11. Jouitteau T, David H, Roubille F, Eliet J, Mourad M, Zeroual N, Colson P, Gaudard P. Microvascular reactivity at the early stage of ischemic cardiogenic shock: a preliminary observational study. *Intensive Care Med Exp* 2018;**6** Suppl 2:173–4.

12. Levy B, Bastien O, Karim B, Benjelid K, Cariou A, Chouihed T, Combes A, Mebazaa A, Megarbane B, Plaisance P, Ouattara A, Spaulding C, Splaulding C, Teboul J-L, Vanhuyse F, Boulain T, Kuteifan K. Experts' recommendations for the management of adult patients with cardiogenic shock. *Ann Intensive Care* 2015;**5**:52.
13. Levy B, Clere-Jehl R, Legras A, Morichau-Beauchant T, Leone M, Frederique G, Quenot J-P, Kimmoun A, Cariou A, Lassus J, Harjola V-P, Meziani F, Louis G, Rossignol P, Duarte K, Girerd N, Mebazaa A, Vignon P, Collaborators. Epinephrine Versus Norepinephrine for Cardiogenic Shock After Acute Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* 2018;**72**:173–182.
14. Léopold V, Gayat E, Pirracchio R, Spinar J, Parenica J, Tarvasmäki T, Lassus J, Harjola V-P, Champion S, Zannad F, Valente S, Urban P, Chua H-R, Bellomo R, Popovic B, Ouweneel DM, Henriques JPS, Simonis G, Lévy B, Kimmoun A, Gaudard P, Basir MB, Markota A, Adler C, Reuter H, Mebazaa A, Chouihed T. Epinephrine and short-term survival in cardiogenic shock: an individual data meta-analysis of 2583 patients. *Intensive Care Med* 2018;**44**:847–856.
15. Jolly S, Newton G, Horlick E, Seidelin PH, Ross HJ, Husain M, Dzavik V. Effect of vasopressin on hemodynamics in patients with refractory cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2005;**96**:1617–1620.
16. Colson PH, Bernard C, Struck J, Morgenthaler NG, Albat B, Guillon G. Post cardiac surgery vasoplegia is associated with high preoperative copeptin plasma concentration. *Crit Care Lond Engl* 2011;**15**:R255.
17. Khan SQ, Dhillon OS, O'Brien RJ, Struck J, Quinn PA, Morgenthaler NG, Squire IB, Davies JE, Bergmann A, Ng LL. C-terminal provasopressin (copeptin) as a novel and prognostic marker in acute myocardial infarction: Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide (LAMP) study. *Circulation* 2007;**115**:2103–2110.
18. Lattuca B, Sy V, Nguyen LS, Bernard M, Zeitouni M, Overtchouk P, Yan Y, Hammoudi N, Ceccaldi A, Collet J-P, Kerneis M, Diallo A, Montalescot G, Silvain J. Copeptin as a prognostic biomarker in acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2019;**274**:337–341.
19. Levy B, Fritz C, Tahon E, Jacquot A, Auchet T, Kimmoun A. Vasoplegia treatments: the past, the present, and the future. *Crit Care Lond Engl* 2018;**22**:52.
20. How O-J, Røsner A, Kildal AB, Stenberg TA, Gjessing PF, Hermansen SE, Myrmet T. Dobutamine-norepinephrine, but not vasopressin, restores the ventriculoarterial matching in experimental cardiogenic shock. *Transl Res J Lab Clin Med* 2010;**156**:273–281.
21. Loon LM van, Stolk RF, Hoeven JG van der, Veltink PH, Pickkers P, Lemson J, Kox M. Effect of Vasopressors on The Macro- and Microcirculation During Systemic Inflammation In Humans in vivo. *Shock Augusta Ga* 2019;
22. Nakajima Y, Baudry N, Duranteau J, Vicaut E. Effects of vasopressin, norepinephrine, and L-arginine on intestinal microcirculation in endotoxemia. *Crit Care Med* 2006;**34**:1752–1757.
23. Morelli A, Donati A, Ertmer C, Rehberg S, Kampmeier T, Orecchioni A, Di Russo A, D'Egidio A, Landoni G, Lombrano MR, Botticelli L, Valentini A, Zangrillo A,

- Pietropaoli P, Westphal M. Effects of vasopressinergic receptor agonists on sublingual microcirculation in norepinephrine-dependent septic shock. *Crit Care Lond Engl* 2011;**15**:R217.
24. Dubois MJ, De Backer D, Creteur J, Anane S, Vincent J-L. Effect of vasopressin on sublingual microcirculation in a patient with distributive shock. *Intensive Care Med* 2003;**29**:1020–1023.
 25. Nygren A, Thorén A, Ricksten S-E. Vasopressin decreases intestinal mucosal perfusion: a clinical study on cardiac surgery patients in vasodilatory shock. *Acta Anaesthesiol Scand* 2009;**53**:581–588.
 26. Samsamshariat SA, Samsamshariat ZA, Movahed M-R. A novel method for safe and accurate left anterior descending coronary artery ligation for research in rats. *Cardiovasc Revasc Med* 2005;**6**:121–123.
 27. Kompa AR, Summers RJ. Lidocaine and surgical modification reduces mortality in a rat model of cardiac failure induced by coronary artery ligation. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2000;**43**:199–203.
 28. Patten RD, Hall-Porter MR. Small animal models of heart failure: development of novel therapies, past and present. *Circ Heart Fail* 2009;**2**:138–144.
 29. Gaudard P, David H, Sicard P, Bideau P, Cristol JP, Guillon G, Richard S, Colson P, Virsolvy A. Mesenteric hypoxia assessed by near infrared spectroscopy: application in cardiogenic shock following acute myocardial infarction in rat. *Microcirculation* **In Submission**.
 30. Serradeil-Le Gal C, Wagnon J, Garcia C, Lacour C, Guiraudou P, Christophe B, Villanova G, Nisato D, Maffrand JP, Le Fur G. Biochemical and pharmacological properties of SR 49059, a new, potent, nonpeptide antagonist of rat and human vasopressin V1a receptors. *J Clin Invest* 1993;**92**:224–231.
 31. Manning M, Misicka A, Olma A, Bankowski K, Stoev S, Chini B, Durroux T, Mouillac B, Corbani M, Guillon G. Oxytocin and vasopressin agonists and antagonists as research tools and potential therapeutics. *J Neuroendocrinol* 2012;**24**:609–628.
 32. Izumi Y, Miura K, Iwao H. Therapeutic potential of vasopressin-receptor antagonists in heart failure. *J Pharmacol Sci* 2014;**124**:1–6.
 33. Lemmens-Gruber R, Kamyar M. Vasopressin antagonists. *Cell Mol Life Sci CMLS* 2006;**63**:1766–1779.
 34. Ryckwaert F, Virsolvy A, Fort A, Murat B, Richard S, Guillon G, Colson PH. Terlipressin, a provasopressin drug exhibits direct vasoconstrictor properties: consequences on heart perfusion and performance. *Crit Care Med* 2009;**37**:876–881.
 35. Colson PH, Virsolvy A, Gaudard P, Charrabi A, Corbani M, Manière MJ, Richard S, Guillon G. Terlipressin, a vasoactive prodrug recommended in hepatorenal syndrome, is an agonist of human V1, V2 and V1B receptors: Implications for its safety profile. *Pharmacol Res* 2016;**113**:257–264.

36. Gilotra NA, Russell SD. Arginine vasopressin as a target in the treatment of acute heart failure. *World J Cardiol* 2014;**6**:1252–1261.
37. Leone M, Boyle WA. Decreased vasopressin responsiveness in vasodilatory septic shock-like conditions. *Crit Care Med* 2006;**34**:1126–1130.
38. Renaud LP. CNS pathways mediating cardiovascular regulation of vasopressin. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1996;**23**:157–160.
39. Truse R, Grewe S, Herminghaus A, Schulz J, Weber APM, Mettler-Altmann T, Bauer I, Picker O, Vollmer C. Exogenous vasopressin dose-dependently modulates gastric microcirculatory oxygenation in dogs via V1A receptor. *Crit Care Lond Engl* 2019;**23**:353.
40. De Backer D, Ortiz JA, Salgado D. Coupling microcirculation to systemic hemodynamics. *Curr Opin Crit Care* 2010;**16**:250–254.
41. Thiele H, Ohman EM, Waha-Thiele S de, Zeymer U, Desch S. Management of cardiogenic shock complicating myocardial infarction: an update 2019. *Eur Heart J* 2019;**40**:2671–2683.

Figure legends

FIGURE 1. Experimental design and group selection for analysis at postoperative day 1 (D1). AMI, acute myocardial infarction; SR-49059, vasopressin receptor antagonist; LVEF, left ventricular ejection fraction; TLP, Terlipressin; SmO₂, mesenteric haemoglobin oxygen saturation. aFisher exact test between the 3 AMI groups: $p=0,057$. §Chi-2 test between preoperatively non-treated AMI vs SR-treated AMI groups: $p=0.035$.

FIGURE 2. Tissue hypoperfusion assessment by mesenteric oxygenation saturation (SmO₂) and lactate level. A- Variation of SmO₂ measured for all groups at D0 before surgery, at D0 immediately after surgery and at D1. Values were normalized to the initial value at D0 and data are mean $\pm$ SEM. £ $p<0.05$, ££ $p<0.01$ for paired measures D1 vs D0 after surgery in each group. B- Box and whisker plots of SmO₂ values at D1 (Kruskal-Wallis test, $p<0.0001$). * $p<0.05$ for AMI versus Sham with the same treatment. §§ $p<0.01$ for treated versus non-treated group for the same coronary intervention. \$\$\$ $p<0.01$ AMI-SR vs AMI-TLP and Sham-SR vs Sham-TLP. C- Box and whisker plots of plasma lactate level at D1 (Kruskal-Wallis test, $p=0.034$). * $p<0.05$ for AMI versus Sham with the same treatment. § $p<0.05$ for treated versus non-treated group for the same coronary intervention. D- Distribution of animals with tissue hypoperfusion, defined as lactate > 2.2 mmol/l or SmO₂ $< 35\%$ at D1, and expressed as percentage (Chi-square: $p=0.001$). No, no hypoperfusion; Yes, with hypoperfusion.

FIGURE 3. Copeptin levels measured at D1 before sacrifice in all groups. Data are presented as box and whisker plots. Analysis were performed using an ordinary one-way ANOVA ($p=0.001$) followed by Holm-Sidak's multiple comparisons test. * $p<0.05$, ** $p<0.01$ for AMI versus Sham with the same treatment; §§ $p<0.01$ for the effect of treatment in the same coronary intervention.

FIGURE 4. Vascular reactivity: ex vivo vasopressin-induced contractile responses of rat aortic rings. A- Representative recordings of isometric tension variations induced by cumulative doses of AVP ranging from 0.1 nM to 1 or 10 μ M followed by a maximally active dose of KCl (60mM) for Sham, AMI, AMI-SR and AMI-TLP. B, C- Dose-response curves to AVP normalized to the maximal response induced by KCl (60mM) in the non-treated groups (B) and in the SR-49059 and Terlipressin treated groups (C). The thick and fine dashed lines indicate the maximal AVP-induced contraction in Sham and AMI, respectively. Data are mean $\pm$ SEM. * $p < 0.05$ for AMI versus Sham (Student's t-test).

TABLE 1. Initial characteristics of animals after general anaesthesia and before surgery without (non-treated and post-operative Terlipressin groups) and with pre-operative treatment with SR-49059 (administered 1 hour before anaesthesia).

Baseline characteristics	Without preoperative treatment (N = 44)	SR-49059 preoperative treatment (N = 16)	<i>p</i>
Weight, g	369.1 ± 3.0	361.6 ± 3.6	0.174
Heart rate, bpm	270 ± 5	292 ± 19	0.431
LVEDD, mm	7.4 ± 0.1	7.1 ± 0.2	0.176
Cardiac output, ml/min	159.1 ± 9.2	143.1 ± 14.2	0.348
LVEF, %	65.5 ± 0.8	66.3 ± 2.0	0.648
SmO ₂ at baseline, %	38.7 ± 0.8	39.6 ± 0.8	0.368

Data are expressed as mean ± SEM, Student's t-test or Mann-Whitney test used as appropriate for comparison between groups. SR-49059, vasopressin receptor antagonist; LVEF, left ventricular ejection fraction; bpm, beats per minute; LVEDD, left ventricular end-diastolic diameter; SmO₂, mesenteric haemoglobin oxygen saturation (baseline is the first measurement at day 0 after general anaesthesia and before surgery).

TABLE 2. Cardiac and hemodynamic parameters evaluated before (D₀) and 1 day after surgery (D₁) in all groups submitted or not to coronary artery ligation and treated or not with SR-49059 or Terlipressin.

Parameters	Sham (N = 21)	AMI (N = 13)	Sham-SR (N=8)	AMI-SR (N = 8)	Sham-TLP (N = 5)	AMI-TLP (N = 5)	<i>p</i>
Weight D ₀ , g	369.6 ± 4.6	368.5 ± 4.9	360.6 ± 4.5	362.6 ± 5.9	380.2 ± 9.9	357.2 ± 6.4	0.429
Weight D ₁ , g	358.2 ± 3.9 ^a	354.9 ± 4.8 ^a	345.9 ± 4.7 ^a	346.7 ± 5.3 ^a	365.8 ± 9.8	339.6 ± 7.0	0.132
HR D ₀ , bpm	273 ± 7	263 ± 11	310 ± 36	274 ± 14	278 ± 26	274 ± 12	0.889
HR D ₁ , bpm	306 ± 10 ^a	308 ± 11 ^a	299 ± 11	333 ± 17	312 ± 9	345 ± 25	0.382
LVEDD D ₀ , mm	7.4 ± 0.2	7.7 ± 0.1	6.6 ± 0.2	7.8 ± 0.2	7.5 ± 0.5	7.1 ± 0.3	0.079
LVEDD D ₁ , mm	6.5 ± 0.1 ^a	7.6 ± 0.4 [*]	6.3 ± 0.3	7.2 ± 0.4	6.8 ± 0.2	7.2 ± 0.3	0.038
LVEF D ₀ , %	66.1 ± 1.4	64.6 ± 1.0	64.2 ± 2.5	68.4 ± 2.9	67.0	65.3 ± 3.0	0.700
LVEF D ₁ , %	60.3 ± 1.7	34.4 ± 1.3 ^{a,*}	58.5 ± 2.2	35.9 ± 1.6 ^{a,*}	64.7 ± 5.4	33.2 ± 3.5 [*]	<0.001
CO D ₀ , ml/min	149.8 ± 9.0	186.9 ± 19.7	140.0 ± 22.4	146.2 ± 20.2	145.5 ± 28.5	113.0 ± 13.0	0.225
CO D ₁ , ml/min	144.1 ± 8.9	112.6 ± 9.9 ^a	122.6 ± 15.3	104.6 ± 8.3	130.0 ± 19.3	106.8 ± 21.3	0.082
Δ CO, %	0.1 ± 6.2	-28.1 ± 6.7 [*]	-12.2 ± 11.6	-15.6 ± 11.6	¹	¹	0.048
MAP D ₁ , mmHg	118 ± 6	81 ± 4 [*]	101 ± 6	87 ± 7	160 ± 5	123 ± 4 [§]	<0.001
MI size, % of LV		45.5 ± 2.7		44.6 ± 1.5		44.2 ± 2.9	0.812

Data are expressed as mean ± SEM, one-way ANOVA or Kruskal-Wallis test were used as appropriate to compare all groups with a multiple comparisons test to compare Sham vs AMI in the same category of treatment and Sham or AMI non-treated groups vs SR and TLP treated groups. AMI, acute myocardial infarction; SR, vasopressin receptor antagonist SR-49059; TLP, Terlipressin; LVEF, left ventricular ejection fraction; HR, heart rate; bpm, beats per minute; MAP, mean arterial pressure; CO, cardiac output; Δ CO, variation of CO from baseline (D₀) expressed as percentage of D₀ value. ^{*}p<0.05 compared to Sham within the same treatment category (none, SR or TLP). [§]p<0.05 compared to non-treated groups for the same coronary intervention (Sham or AMI). ^ap<0.05 for paired measures D₁ vs D₀. ¹missing paired values for variation calculation.

TABLE 3. Summary of *ex vivo* contractile response of aortic rings to various agonists vasopressin (AVP), potassium chloride (KCl) or phenylephrine (PE) and to the antagonist acetylcholine (Ach).

Parameters	Sham (N = 20)	AMI (N = 13)	Sham-SR (N=8)	AMI-SR (N = 8)	Sham-TLP (N = 5)	AMI-TLP (N = 5)	<i>p</i>
AVP max, % of KCl _{60mM}	76.7 ± 5.7	51.8 ± 6.3 *	26.3 ± 6.5 §	34.4 ± 7.7	50.4 ± 9.4 §	56.2 ± 10.1	<0.0001
AVP EC ₅₀ , nM	12 ± 2	59 ± 25	215 ± 50 §	221 ± 45 §	12 ± 3	11 ± 2	<0.0001
KCl max, g	2.2 ± 0.2	2.7 ± 0.2	2.6 ± 0.2	3.2 ± 0.1	2.8 ± 0.3	2.6 ± 0.1	0.061
PE max, g	2.4 ± 0.1	2.8 ± 0.2	3.2 ± 0.3	3.3 ± 0.2	3.7 ± 0.6 §	3.9 ± 0.2 §	0.001
Ach relax, % of PE max	68.3 ± 3.8	68.8 ± 3.4	75.7 ± 5.0	73.8 ± 5.3	62.1 ± 6.4	68.7 ± 3.6	0.439

Values represent mean ± SEM. EC₅₀ values are determined from dose-response curves to AVP expressed as the percentage of maximal contraction induced by 60mM of KCl. Ordinary one-way ANOVA or Kruskal-Wallis test were performed to compare all groups. **p*<0.05 for AMI versus Sham within the same treatment category (none, SR or TLP). §*p*<0.05, §§*p*<0.01, §§§*p*<0.001 and §§§§*p*<0.0001 for treated versus non-treated groups for the same coronary intervention (Sham or AMI). AVP, arginine vasopressin; KCl, potassium chloride; PE, phenylephrine; Ach, acetylcholine; AMI, acute myocardial infarction; SR, SR-49059; TLP, terlipressin.

Figure 1

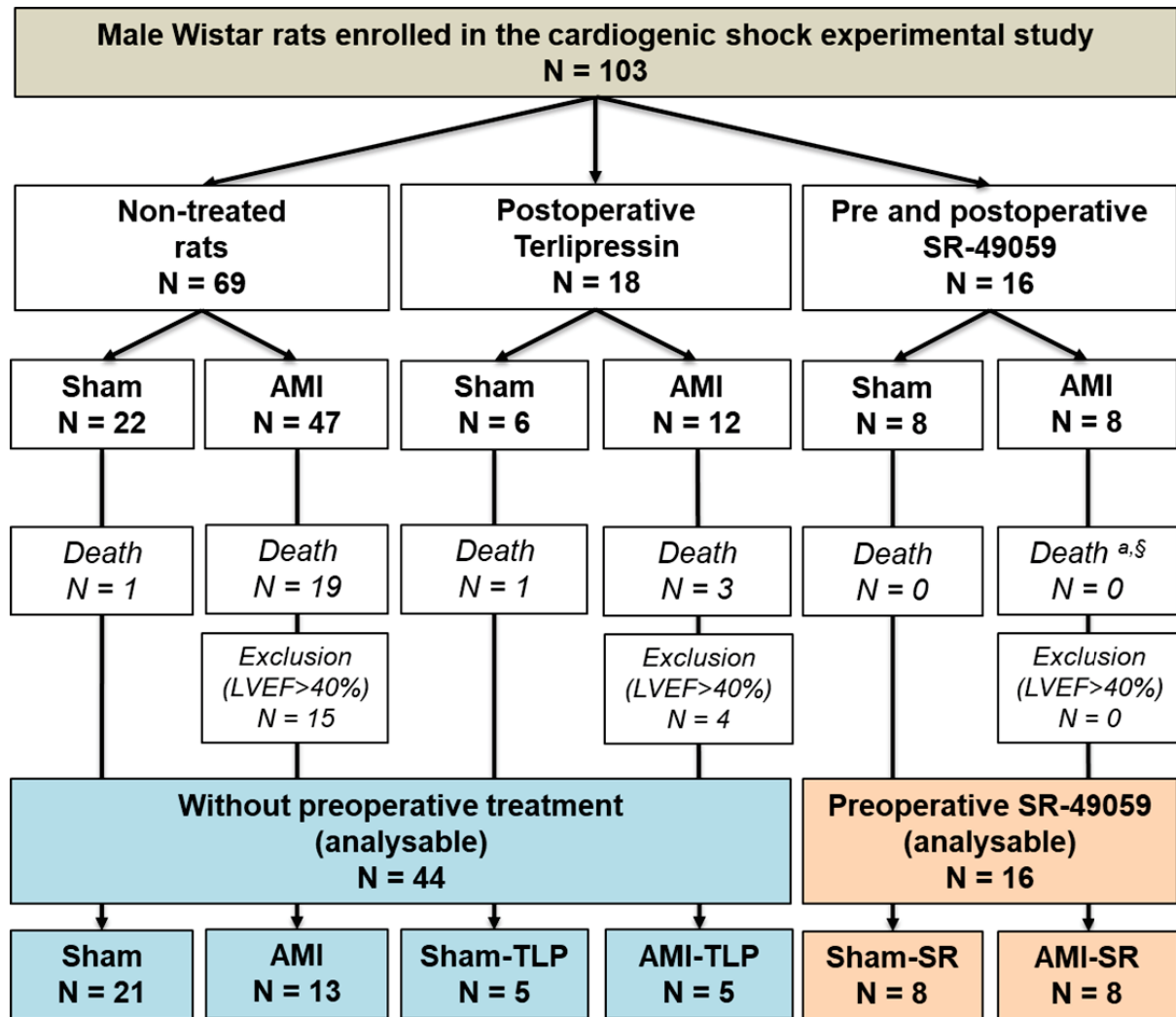


Figure 2

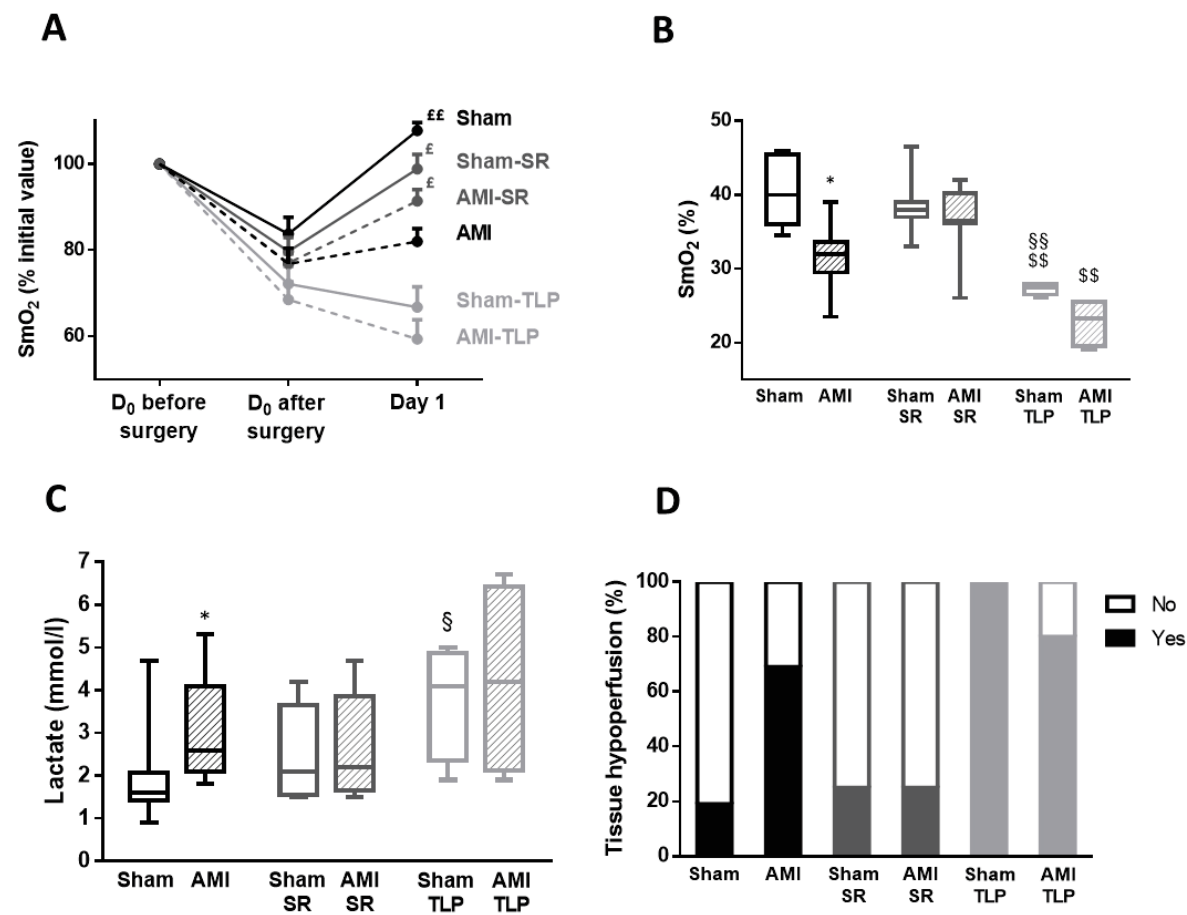


Figure 3

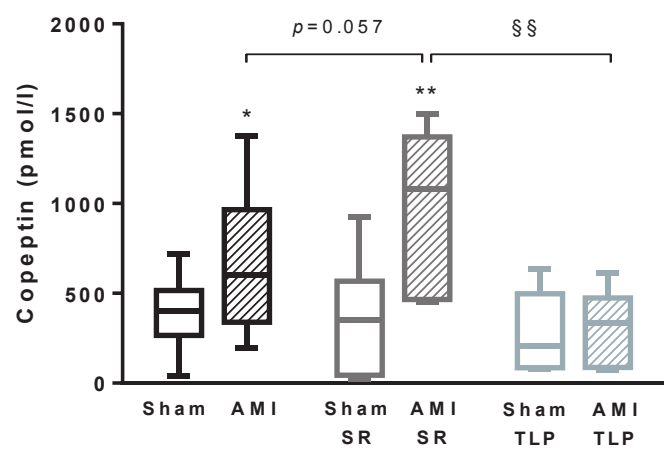
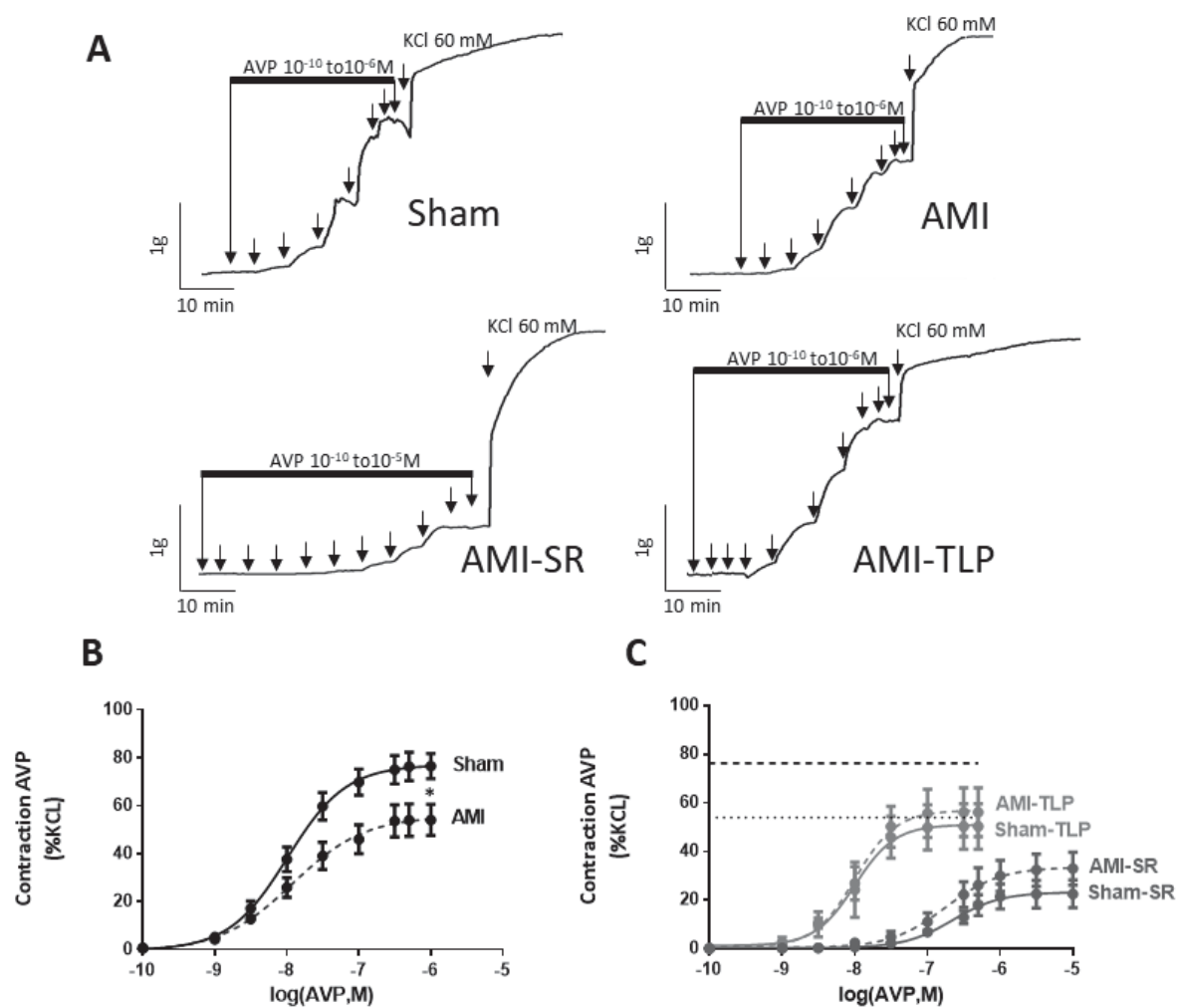
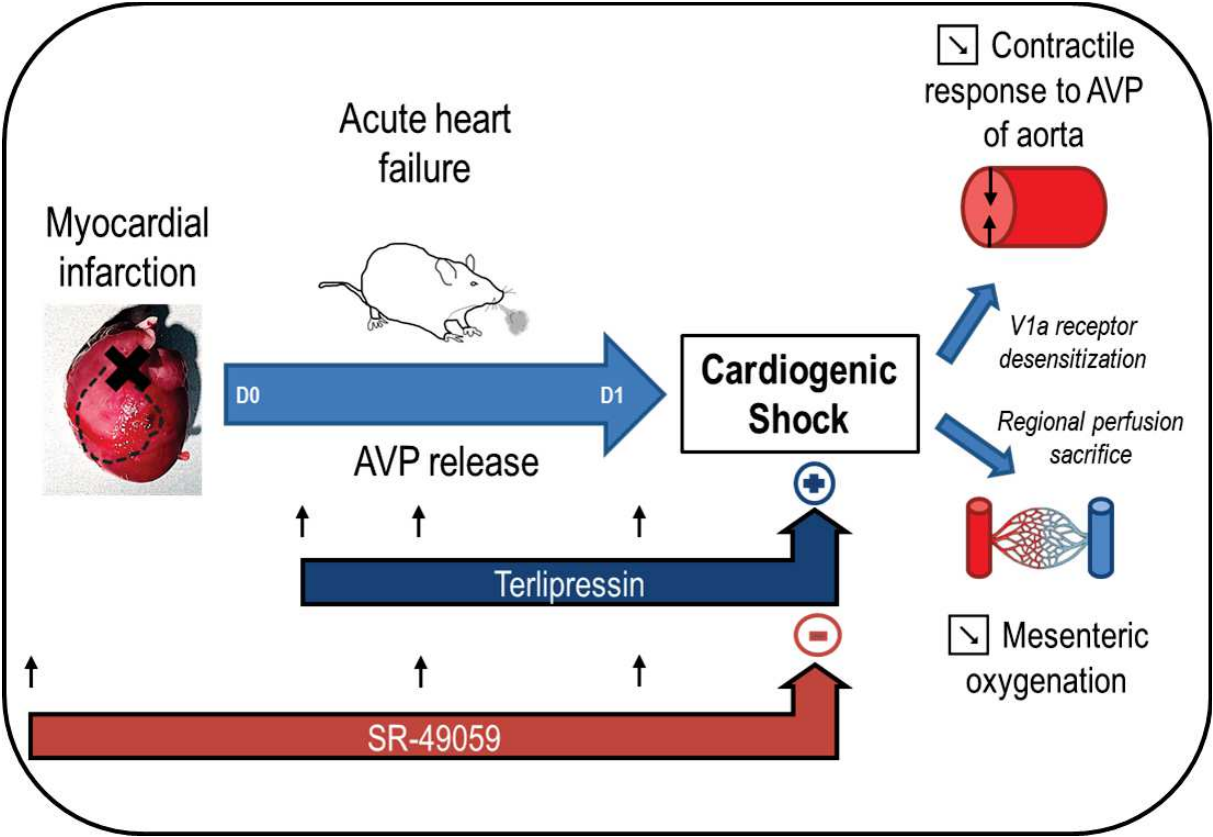


Figure 4





2.3. Synthèse article 2

Ce travail a permis de montrer que l'augmentation de vasopressine circulante est impliquée dans l'hypoperfusion mésentérique au cours du choc cardiogénique post-IDM chez le rat. Le traitement par l'antagoniste du récepteur V_{1a} , le SR-49059, administré préalablement, prévenait la survenue d'une hypoperfusion tissulaire significative et améliorait le pronostic initial des animaux. A l'opposé, l'administration de terlipressine, agoniste des récepteurs à la vasopressine, s'accompagnait d'une aggravation de l'hypoperfusion malgré une pression artérielle élevée. A forte dose, ces effets délétères étaient également observés dans le groupe Sham sans IDM. L'ensemble de ces données plaident pour un rôle critique du système vasopressinergique à la phase précoce du choc cardiogénique compliquant un IDM. L'altération de la réponse contractile à l'AVP *in vitro* sur les anneaux aortiques vient confirmer la stimulation soutenue du système vasopressinergique entraînant un certain degré de désensibilisation.

De nouvelles expériences sont nécessaires pour étudier l'existence d'un déficit relatif secondaire en vasopressine et la participation de cette désensibilisation dans le syndrome inflammatoire et vasoplégique du choc cardiogénique. L'étude d'une possible prévention des effets délétères de la vasopressine à la phase aiguë de l'IDM et du choc cardiogénique est probablement à développer.

DISCUSSION GENERALE

La mise au point de ce modèle de choc cardiogénique a été l'occasion d'explorer la possibilité de mesurer l'oxygénation tissulaire de façon non-invasive chez le rat afin de déceler une hypoperfusion dans le tissu ou l'organe concerné et à décrire son évolution au cours du choc. C'est une approche tout à fois originale dans ce type de modèle et nouvelle dans le laboratoire d'accueil. Nous avons transposé une technique bien documentée et largement utilisée en pratique clinique pour monitorer l'oxygénation cérébrale ou somatique périphérique en anesthésie et en réanimation : la NIRS⁷⁷⁻⁷⁹. L'idée d'explorer l'oxygénation mésentérique chez le rat est venue du constat lors de l'examen anatomique pour le prélèvement de l'aorte que, chez certains animaux, les intestins étaient cyanosés. Plusieurs portions des intestins se trouvent dans une fenêtre d'échantillonnage accessible avec une électrode de NIRS classique collée sur la paroi médio-abdominale antérieure. Les résultats sur l'oxygénation mésentérique au cours du choc cardiogénique retrouvés dans notre étude renforcent l'intérêt du monitoring des perfusions tissulaires dans divers territoires peu soumis à une autorégulation, à la différence du cerveau. Cependant, chez l'adulte, les seuls tissus peu profonds accessibles à la NIRS sont les muscles superficiels des membres. La possibilité de réaliser des tests d'ischémie-reperfusion par des épreuves d'occlusion vasculaire au niveau des membres permet de renforcer la sensibilité de détection d'une dysfonction microcirculatoire^{17,20,80}. Une nouvelle technique prometteuse est actuellement développée au laboratoire PhyMedExp permettant également de mesurer de façon non-invasive l'oxygénation de certains tissus par photoacoustique en couplant un laser à l'échographe. Il pourrait apporter une information sur le degré d'hypoperfusion dans d'autres organes tels que le foie, les reins ou les muscles. Le choc cardiogénique étant une situation de défaillance cardiaque entraînant une hypoperfusion tissulaire, il est souhaitable de pouvoir explorer la perfusion de différents organes. Une valeur de lactatémie prise isolément est malheureusement peu informative si on ne connaît pas la cinétique d'évolution de ce marqueur.

La réponse du système vasopressinergique est très intense dans les suites immédiates d'un IDM étendu, sans que l'on connaisse précisément la part de la nécrose myocardique en soi, celle de l'insuffisance cardiaque aiguë et celle de l'hypotension et de l'état de choc dans cette activation.

Notre travail a permis d'établir que la vasopressine endogène ainsi libérée participait à l'aggravation des signes d'hypoperfusion tissulaire et avait potentiellement un impact pronostic défavorable. Il est à noter que dans les conditions expérimentales de cette étude, les rats sans IDM (Sham) avaient une augmentation notable de la copeptine, certes plus faible que lors de l'IDM. La copeptine était environ 10 fois plus élevée dans le groupe Sham que chez des rats contrôles non opérés pour lesquels le dosage a été réalisé avec le même test. Lors de tests complémentaires sur des rats contrôles sous anesthésie mais non opérés, nous n'avons pas retrouvé de différence de SmO_2 par rapport aux Sham de l'étude à J0 avant chirurgie ou à J1, indiquant l'absence d'altération de la perfusion mésentérique malgré la différence de copeptine observée (données non montrées). Le taux circulant de vasopressine dans cette circonstance pourrait être insuffisant pour déclencher une baisse de la perfusion mésentérique, la fonction cardiaque étant préservée par ailleurs. Cependant, la baisse de SmO_2 constatée en postopératoire immédiat chez les Sham, comme dans tous les groupes, pourrait être aussi en partie liée à une libération brève de vasopressine dont le dosage de copeptine à J1 a gardé la trace (demi-vie plus longue de la copeptine).

Après un IDM avec FEVG altérée, pour une situation hémodynamique comparable (débit cardiaque et PAM similaires), il était observé une baisse de la SmO_2 et une hausse du taux de lactate en présence de vasopressine endogène ou de terlipressine, tandis qu'une SmO_2 proche de la valeur initiale et une faible élévation du lactate étaient retrouvés en cas de traitement avec un antagoniste sélectif du récepteur V_{1a} . Pour autant, est-il possible d'utiliser ces constatations pour une application clinique dans l'IDM ? Ce n'est bien sûr pas aussi simple. Tout d'abord notre schéma d'administration débutait avant l'induction de l'IDM, ce qui n'est pas transposable en clinique. Ensuite, cet effet protecteur de l'antagoniste n'a été étudié que sur les 24 premières heures. Nous avons par ailleurs constaté que les IDM traités avec l'antagoniste avaient un taux de copeptine encore plus élevé ce qui indique une stimulation accrue de sécrétion de vasopressine face à l'absence de rétrocontrôle négatif. Une déplétion des stocks de vasopressine pourrait survenir. Une étude du modèle sur une période plus longue est également nécessaire pour répondre à la

question du déficit relatif en vasopressine secondaire à la sécrétion initiale, soit par épuisement de la synthèse, soit par déplétion des stocks, soit enfin par défaut de disponibilité des récepteurs. Ce déficit secondaire, si il était confirmé, pourrait participer à la vasoplégie parfois réfractaire retrouvée dans les chocs cardiogéniques évolués en association au mécanisme inflammatoire habituellement décrits¹.

La régulation du système vasopressinergique vise à maintenir l'homéostasie en réponse à diverses situations de stress ou d'agression de l'organisme, de variations de l'osmolalité plasmatique ou de chute de la pression sanguine. Le maintien d'une certaine pression de perfusion peut sembler ainsi une priorité pour l'organisme, au prix d'une vasoconstriction. Mais il s'agit plutôt d'un mécanisme de redistribution vasculaire, excluant certaines circulations (mésentérique par l'AVP par exemple), pour redistribuer le débit sanguin limité vers des organes qu'il faut absolument préserver dans l'immédiat dits à forte autorégulation. D'ailleurs l'exclusion de la circulation mésentérique favorise aussi un retour veineux plus rapide en excluant une circulation sanguine très étendue à temps de circulation lent. Cette redistribution en cas de stress peut avoir des conséquences délétères si cette situation se prolonge en entraînant des défaillances d'organes.

Finalement, ce mécanisme d'adaptation et de sauvetage impliquant entre autres la vasopressine dans la situation du choc cardiogénique plaide en faveur d'une prise en charge thérapeutique précoce en particulier par assistance circulatoire mécanique, seule capable de restaurer rapidement un débit de perfusion à l'ensemble de l'organisme. Il serait intéressant de rechercher un effet préventif sur la stimulation de la sécrétion de vasopressine en cas de mise en place d'une assistance circulatoire dès le début du choc cardiogénique après IDM. Une étude clinique préliminaire observationnelle réalisée dans notre unité de réanimation semble être en faveur de cette hypothèse⁸⁰. Dans cette série de patients en choc cardiogénique post-IDM dont la plupart avaient une assistance circulatoire temporaire, la copeptine initiale était élevée mais une décroissance rapide était observée. Toutefois dans cette petite série aucun lien avec l'évolution de l'état microcirculatoire n'a pu être retrouvé.

Une meilleure connaissance de l'état microcirculatoire, de son évolution et du profil de sécrétion de vasopressine doit cependant aider à mieux guider les choix thérapeutiques pour ces patients complexes et avec une mortalité encore très élevée.

En conclusion, le CC survient volontiers quand la FEVG est inférieure à 40% après ligature de l'ACG. Dans ce modèle, le CC est associé à une diminution significative de l'oxygénation mésentérique. La SmO₂ permet une évaluation non-invasive des états de choc en temps réel. L'augmentation de sécrétion de vasopressine, révélée par l'élévation de la copeptine à J1, semble impliquée dans la phase précoce de l'IDM avec un impact sur la perfusion mésentérique et la production de lactate. La perfusion tissulaire était améliorée par le traitement avec un antagoniste des récepteurs V1a, sans effet majeur sur la pression artérielle, tandis qu'elle était altérée par la terlipressine, associée à une forte augmentation de pression artérielle. Le rôle de la vasopressine dans l'hypoperfusion tissulaire au cours de la phase précoce du CC semble crucial.

BIBLIOGRAPHIE

1. Reynolds HR, Hochman JS. Cardiogenic shock: current concepts and improving outcomes. *Circulation* 2008;**117**:686–697.
2. Delmas C, Puymirat E, Leurent G, Elbaz M, Manzo-Silberman S, Bonello L, Gerbaud E, Bataille V, Levy B, Lamblin N, Bonnefoy E, Henry P, Roubille F, FRENSHOCK investigators. Design and preliminary results of FRENSHOCK 2016: A prospective nationwide multicentre registry on cardiogenic shock. *Arch Cardiovasc Dis* 2019;**112**:343–353.
3. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola V-P, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GMC, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, Meer P van der, ESC Scientific Document Group. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J* 2016;**37**:2129–2200.
4. Mebazaa A, Combes A, Diepen S van, Hollinger A, Katz JN, Landoni G, Hajjar LA, Lassus J, Lebreton G, Montalescot G, Park JJ, Price S, Sionis A, Yannopoulos D, Harjola V-P, Levy B, Thiele H. Management of cardiogenic shock complicating myocardial infarction. *Intensive Care Med* 2018;**44**:760–773.
5. Puymirat E, Fagon JY, Aegerter P, Diehl JL, Monnier A, Hauw-Berlemont C, Boissier F, Chatellier G, Guidet B, Danchin N, Aissaoui N, Collège des Utilisateurs de Bases de données en Réanimation (CUB-Réa Group [Intensive Care Database User Group]). Cardiogenic shock in intensive care units: evolution of prevalence, patient profile, management and outcomes, 1997-2012. *Eur J Heart Fail* 2017;**19**:192–200.
6. Diepen S van, Katz JN, Albert NM, Henry TD, Jacobs AK, Kapur NK, Kilic A, Menon V, Ohman EM, Sweitzer NK, Thiele H, Washam JB, Cohen MG, American Heart Association Council on Clinical Cardiology; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Quality of Care and Outcomes Research; and Mission: Lifeline. Contemporary Management of Cardiogenic Shock: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* 2017;**136**:e232–e268.
7. Hochman JS, Sleeper LA, Webb JG, Sanborn TA, White HD, Talley JD, Buller CE, Jacobs AK, Slater JN, Col J, McKinlay SM, LeJemtel TH. Early revascularization in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. SHOCK Investigators. Should We Emergently Revascularize Occluded Coronaries for Cardiogenic Shock. *N Engl J Med* 1999;**341**:625–634.
8. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, Caforio ALP, Crea F, Goudevenos JA, Halvorsen S, Hindricks G, Kastrati A, Lenzen MJ, Prescott E, Roffi M, Valgimigli M, Varenhorst C, Vranckx P, Widimský P, ESC Scientific Document Group. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2018;**39**:119–177.
9. Kapur NK, Alkhouli MA, DeMartini TJ, Faraz H, George ZH, Goodwin MJ, Hernandez-Montfort JA, Iyer VS, Joseph N, Kalra S, Kaki A, Karas RH, Kimmelstiel CD, Koenig GC, Lau E, Lotun K, Maddler RD, Mannino SF, Meraj PM, Moreland JA, Moses JW, Kim RL, Schreiber TL, Udelson JE, Witzke C, Wohns DHW, O'Neill WW. Unloading the Left Ventricle Before Reperfusion in Patients With Anterior ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction. *Circulation* 2019;**139**:337–346.

10. Esposito ML, Zhang Y, Qiao X, Reyelt L, Paruchuri V, Schnitzler GR, Morine KJ, Annamalai SK, Bogins C, Natov PS, Pedicini R, Breton C, Mullin A, Mackey EE, Patel A, Rowin E, Jaffe IZ, Karas RH, Kapur NK. Left Ventricular Unloading Before Reperfusion Promotes Functional Recovery After Acute Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* 2018;**72**:501–514.
11. Hochman JS, Buller CE, Sleeper LA, Boland J, Dzavik V, Sanborn TA, Godfrey E, White HD, Lim J, LeJemtel T. Cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction--etiologies, management and outcome: a report from the SHOCK Trial Registry. SHould we emergently revascularize Occluded Coronaries for cardiogenic shock? *J Am Coll Cardiol* 2000;**36**:1063–1070.
12. Grande P, Christiansen C, Hansen BF. Myocardial infarct size and cardiogenic shock. *Eur Heart J* 1983;**4**:289–294.
13. Kohsaka S, Menon V, Lowe AM, Lange M, Dzavik V, Sleeper LA, Hochman JS, SHOCK Investigators. Systemic inflammatory response syndrome after acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Arch Intern Med* 2005;**165**:1643–1650.
14. Hochman JS. Cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction: expanding the paradigm. *Circulation* 2003;**107**:2998–3002.
15. Kubiak GM, Tomasik AR, Bartus K, Olszanecki R, Ceranowicz P. Lactate in cardiogenic shock - current understanding and clinical implications. *J Physiol Pharmacol Off J Pol Physiol Soc* 2018;**69**:15–21.
16. Mizock BA, Falk JL. Lactic acidosis in critical illness. *Crit Care Med* 1992;**20**:80–93.
17. Creteur J, Carollo T, Soldati G, Buchele G, De Backer D, Vincent J-L. The prognostic value of muscle StO₂ in septic patients. *Intensive Care Med* 2007;**33**:1549–1556.
18. Donati A, Damiani E, Domizi R, Scorcella C, Carsetti A, Tondi S, Monaldi V, Adrario E, Romano R, Pelaia P, Singer M. Near-infrared spectroscopy for assessing tissue oxygenation and microvascular reactivity in critically ill patients: a prospective observational study. *Crit Care Lond Engl* 2016;**20**:311.
19. Orbegozo D, Su F, Xie K, Rahmania L, Taccone FS, De Backer D, Vincent J-L, Creteur J. Peripheral Muscle Near-Infrared Spectroscopy Variables are Altered Early in Septic Shock. *Shock Augusta Ga* 2018;**50**:87–95.
20. ESICM 2012 MONDAY SESSIONS 15 October, 2012. *Intensive Care Med* 2012;**38**:1–327.
21. Donati A, Domizi R, Damiani E, Adrario E, Pelaia P, Ince C. From macrohemodynamic to the microcirculation. *Crit Care Res Pract* 2013;**2013**:892710.
22. Ince C, Boerma EC, Cecconi M, De Backer D, Shapiro NI, Duranteau J, Pinsky MR, Artigas A, Teboul J-L, Reiss IKM, Aldecoa C, Hutchings SD, Donati A, Maggiorini M, Taccone FS, Hernandez G, Payen D, Tibboel D, Martin DS, Zarbock A, Monnet X, Dubin A, Bakker J, Vincent J-L, Scheeren TWL, Cardiovascular Dynamics Section of the ESICM. Second consensus on the assessment of sublingual microcirculation in critically ill patients: results from a task force of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 2018;**44**:281–299.
23. Uil CA den, Lagrand WK, Ent M van der, Jewbali LSD, Cheng JM, Spronk PE, Simoons ML. Impaired microcirculation predicts poor outcome of patients with acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Eur Heart J* 2010;**31**:3032–3039.

24. Hochman JS, Sleeper LA, Webb JG, Dzavik V, Buller CE, Aylward P, Col J, White HD, SHOCK Investigators. Early revascularization and long-term survival in cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction. *JAMA* 2006;**295**:2511–2515.
25. Thiele H, Akin I, Sandri M, Fuernau G, Waha S de, Meyer-Saraei R, Nordbeck P, Geisler T, Landmesser U, Skurk C, Fach A, Lapp H, Piek JJ, Noc M, Goslar T, Felix SB, Maier LS, Stepinska J, Oldroyd K, Serpytis P, Montalescot G, Barthelémy O, Huber K, Windecker S, Savonitto S, Torremante P, Vrints C, Schneider S, Desch S, Zeymer U, et al. PCI Strategies in Patients with Acute Myocardial Infarction and Cardiogenic Shock. *N Engl J Med* 2017;**377**:2419–2432.
26. Levy B, Bastien O, Karim B, Benjelid K, Cariou A, Chouihed T, Combes A, Mebazaa A, Megarbane B, Plaisance P, Ouattara A, Spaulding C, Splauding C, Teboul J-L, Vanhuyse F, Boulain T, Kuteifan K. Experts' recommendations for the management of adult patients with cardiogenic shock. *Ann Intensive Care* 2015;**5**:52.
27. Jolly S, Newton G, Horlick E, Seidelin PH, Ross HJ, Husain M, Dzavik V. Effect of vasopressin on hemodynamics in patients with refractory cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2005;**96**:1617–1620.
28. Beurton A, Ducrocq N, Auchet T, Joineau-Groubatch F, Falanga A, Kimmoun A, Girerd N, Fay R, Vanhuyse F, Tran N, Levy B. Beneficial Effects of Norepinephrine Alone on Cardiovascular Function and Tissue Oxygenation in a Pig Model of Cardiogenic Shock. *Shock Augusta Ga* 2016;**46**:214–218.
29. Levy B, Clere-Jehl R, Legras A, Morichau-Beauchant T, Leone M, Frederique G, Quenot J-P, Kimmoun A, Cariou A, Lassus J, Harjola V-P, Meziani F, Louis G, Rossignol P, Duarte K, Girerd N, Mebazaa A, Vignon P, Collaborators. Epinephrine Versus Norepinephrine for Cardiogenic Shock After Acute Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* 2018;**72**:173–182.
30. Léopold V, Gayat E, Pirracchio R, Spinar J, Parenica J, Tarvasmäki T, Lassus J, Harjola V-P, Champion S, Zannad F, Valente S, Urban P, Chua H-R, Bellomo R, Popovic B, Ouweneel DM, Henriques JPS, Simonis G, Lévy B, Kimmoun A, Gaudard P, Basir MB, Markota A, Adler C, Reuter H, Mebazaa A, Chouihed T. Epinephrine and short-term survival in cardiogenic shock: an individual data meta-analysis of 2583 patients. *Intensive Care Med* 2018;**44**:847–856.
31. Werdan K, Gielen S, Ebel H, Hochman JS. Mechanical circulatory support in cardiogenic shock. *Eur Heart J* 2014;**35**:156–167.
32. Thiele H, Zeymer U, Neumann F-J, Ferenc M, Olbrich H-G, Hausleiter J, Waha A de, Richardt G, Hennersdorf M, Empen K, Fuernau G, Desch S, Eitel I, Hambrecht R, Lauer B, Böhm M, Ebel H, Schneider S, Werdan K, Schuler G, Intraaortic Balloon Pump in cardiogenic shock II (IABP-SHOCK II) trial investigators. Intra-aortic balloon counterpulsation in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock (IABP-SHOCK II): final 12 month results of a randomised, open-label trial. *Lancet Lond Engl* 2013;**382**:1638–1645.
33. Ouweneel DM, Schotborgh JV, Limpens J, Sjaauw KD, Engström AE, Lagrand WK, Cherpanath TGV, Driessen AHG, Mol BAJM de, Henriques JPS. Extracorporeal life support during cardiac arrest and cardiogenic shock: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med* 2016;**42**:1922–1934.
34. Gaudard P, Mourad M, Eliet J, Zeroual N, Culas G, Rouvière P, Albat B, Colson P. Management and outcome of patients supported with Impella 5.0 for refractory cardiogenic shock. *Crit Care Lond Engl* 2015;**19**:363.

35. Schrage B, Burkhoff D, Rübsamen N, Becher PM, Schwarzl M, Bernhardt A, Grahn H, Lubos E, Söffker G, Clemmensen P, Reichenspurner H, Blankenberg S, Westermann D. Unloading of the Left Ventricle During Venoarterial Extracorporeal Membrane Oxygenation Therapy in Cardiogenic Shock. *JACC Heart Fail* 2018;**6**:1035–1043.
36. Bankir L, Bichet DG, Morgenthaler NG. Vasopressin: physiology, assessment and osmosensation. *J Intern Med* 2017;**282**:284–297.
37. Vincent J-L, Su F. Physiology and pathophysiology of the vasopressinergic system. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2008;**22**:243–252.
38. Mutlu GM, Factor P. Role of vasopressin in the management of septic shock. *Intensive Care Med* 2004;**30**:1276–1291.
39. Koshimizu T, Nakamura K, Egashira N, Hiroyama M, Nonoguchi H, Tanoue A. Vasopressin V1a and V1b receptors: from molecules to physiological systems. *Physiol Rev* 2012;**92**:1813–1864.
40. Maybauer MO, Maybauer DM, Enkhbaatar P, Traber DL. Physiology of the vasopressin receptors. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2008;**22**:253–263.
41. Manning M, Misicka A, Olma A, Bankowski K, Stoev S, Chini B, Durroux T, Mouillac B, Corbani M, Guillon G. Oxytocin and vasopressin agonists and antagonists as research tools and potential therapeutics. *J Neuroendocrinol* 2012;**24**:609–628.
42. Manning M, Stoev S, Chini B, Durroux T, Mouillac B, Guillon G. Peptide and non-peptide agonists and antagonists for the vasopressin and oxytocin V1a, V1b, V2 and OT receptors: research tools and potential therapeutic agents. *Prog Brain Res* 2008;**170**:473–512.
43. Ryckwaert F, Virsolvy A, Fort A, Murat B, Richard S, Guillon G, Colson PH. Terlipressin, a provasopressin drug exhibits direct vasoconstrictor properties: consequences on heart perfusion and performance. *Crit Care Med* 2009;**37**:876–881.
44. Colson PH, Virsolvy A, Gaudard P, Charrabi A, Corbani M, Manière MJ, Richard S, Guillon G. Terlipressin, a vasoactive prodrug recommended in hepatorenal syndrome, is an agonist of human V1, V2 and V1B receptors: Implications for its safety profile. *Pharmacol Res* 2016;**113**:257–264.
45. Serradeil-Le Gal C, Wagnon J, Garcia C, Lacour C, Guiraudou P, Christophe B, Villanova G, Nisato D, Maffrand JP, Le Fur G. Biochemical and pharmacological properties of SR 49059, a new, potent, nonpeptide antagonist of rat and human vasopressin V1a receptors. *J Clin Invest* 1993;**92**:224–231.
46. Izumi Y, Miura K, Iwao H. Therapeutic potential of vasopressin-receptor antagonists in heart failure. *J Pharmacol Sci* 2014;**124**:1–6.
47. Bankir L. Antidiuretic action of vasopressin: quantitative aspects and interaction between V1a and V2 receptor-mediated effects. *Cardiovasc Res* 2001;**51**:372–390.
48. Quillen EW, Cowley AW. Influence of volume changes on osmolality-vasopressin relationships in conscious dogs. *Am J Physiol* 1983;**244**:H73–79.
49. Keller-Wood M. Hypothalamic-Pituitary--Adrenal Axis-Feedback Control. *Compr Physiol* 2015;**5**:1161–1182.

50. Renaud LP. CNS pathways mediating cardiovascular regulation of vasopressin. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1996;**23**:157–160.
51. Klein L, O'Connor CM, Leimberger JD, Gattis-Stough W, Piña IL, Felker GM, Adams KF, Califf RM, Gheorghiade M, OPTIME-CHF Investigators. Lower serum sodium is associated with increased short-term mortality in hospitalized patients with worsening heart failure: results from the Outcomes of a Prospective Trial of Intravenous Milrinone for Exacerbations of Chronic Heart Failure (OPTIME-CHF) study. *Circulation* 2005;**111**:2454–2460.
52. Khan SQ, Dhillon OS, O'Brien RJ, Struck J, Quinn PA, Morgenthaler NG, Squire IB, Davies JE, Bergmann A, Ng LL. C-terminal provasopressin (copeptin) as a novel and prognostic marker in acute myocardial infarction: Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide (LAMP) study. *Circulation* 2007;**115**:2103–2110.
53. Schrier RW, Abraham WT. Hormones and hemodynamics in heart failure. *N Engl J Med* 1999;**341**:577–585.
54. Konstam MA, Gheorghiade M, Burnett JC, Grinfeld L, Maggioni AP, Swedberg K, Udelson JE, Zannad F, Cook T, Ouyang J, Zimmer C, Orlandi C, Efficacy of Vasopressin Antagonism in Heart Failure Outcome Study With Tolvaptan (EVEREST) Investigators. Effects of oral tolvaptan in patients hospitalized for worsening heart failure: the EVEREST Outcome Trial. *JAMA* 2007;**297**:1319–1331.
55. Colson PH, Bernard C, Struck J, Morgenthaler NG, Albat B, Guillon G. Post cardiac surgery vasoplegia is associated with high preoperative copeptin plasma concentration. *Crit Care Lond Engl* 2011;**15**:R255.
56. Leone M, Boyle WA. Decreased vasopressin responsiveness in vasodilatory septic shock-like conditions. *Crit Care Med* 2006;**34**:1126–1130.
57. Landry DW, Levin HR, Gallant EM, Ashton RC, Seo S, D'Alessandro D, Oz MC, Oliver JA. Vasopressin deficiency contributes to the vasodilation of septic shock. *Circulation* 1997;**95**:1122–1125.
58. Hajjar LA, Vincent JL, Barbosa Gomes Galas FR, Rhodes A, Landoni G, Osawa EA, Melo RR, Sundin MR, Grande SM, Gaiotto FA, Pomerantzeff PM, Dallan LO, Franco RA, Nakamura RE, Lisboa LA, Almeida JP de, Gerent AM, Souza DH, Gaiane MA, Fukushima JT, Park CL, Zambolim C, Rocha Ferreira GS, Strabelli TM, Fernandes FL, Camara L, Zeferino S, Santos VG, Piccioni MA, Jatene FB, et al. Vasopressin versus Norepinephrine in Patients with Vasoplegic Shock after Cardiac Surgery: The VANCS Randomized Controlled Trial. *Anesthesiology* 2017;**126**:85–93.
59. Schaller MD, Waeber B, Nussberger J, Brunner HR. Angiotensin II, vasopressin, and sympathetic activity in conscious rats with endotoxemia. *Am J Physiol* 1985;**249**:H1086-1092.
60. Sharshar T, Carlier R, Blanchard A, Feydy A, Gray F, Paillard M, Raphael J-C, Gajdos P, Annane D. Depletion of neurohypophyseal content of vasopressin in septic shock. *Crit Care Med* 2002;**30**:497–500.
61. Patel BM, Chittock DR, Russell JA, Walley KR. Beneficial effects of short-term vasopressin infusion during severe septic shock. *Anesthesiology* 2002;**96**:576–582.

62. Russell JA, Walley KR, Singer J, Gordon AC, Hébert PC, Cooper DJ, Holmes CL, Mehta S, Granton JT, Storms MM, Cook DJ, Presneill JJ, Ayers D, VASST Investigators. Vasopressin versus norepinephrine infusion in patients with septic shock. *N Engl J Med* 2008;**358**:877–887.
63. Gordon AC, Mason AJ, Thirunavukkarasu N, Perkins GD, Cecconi M, Cepkova M, Pogson DG, Aya HD, Anjum A, Frazier GJ, Santhakumaran S, Ashby D, Brett SJ, VANISH Investigators. Effect of Early Vasopressin vs Norepinephrine on Kidney Failure in Patients With Septic Shock: The VANISH Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2016;**316**:509–518.
64. Liu Z-M, Chen J, Kou Q, Lin Q, Huang X, Tang Z, Kang Y, Li K, Zhou L, Song Q, Sun T, Zhao L, Wang X, He X, Wang C, Wu B, Lin J, Yuan S, Gu Q, Qian K, Shi X, Feng Y, Lin A, He X, Study Group of investigators, Guan X-D. Terlipressin versus norepinephrine as infusion in patients with septic shock: a multicentre, randomised, double-blinded trial. *Intensive Care Med* 2018;**44**:1816–1825.
65. Russell JA, Vincent J-L, Kjølbye AL, Olsson H, Blemings A, Spapen H, Carl P, Laterre P-F, Grundemar L. Selepressin, a novel selective vasopressin V1A agonist, is an effective substitute for norepinephrine in a phase IIa randomized, placebo-controlled trial in septic shock patients. *Crit Care Lond Engl* 2017;**21**:213.
66. Laterre P-F, Berry SM, Blemings A, Carlsen JE, François B, Graves T, Jacobsen K, Lewis RJ, Opal SM, Perner A, Pickkers P, Russell JA, Windeløv NA, Yealy DM, Asfar P, Bestle MH, Muller G, Bruel C, Brulé N, Decruyenaere J, Dive A-M, Dugernier T, Krell K, Lefrant J-Y, Megarbane B, Mercier E, Mira J-P, Quenot J-P, Rasmussen BS, Thorsen-Meyer H-C, et al. Effect of Selepressin vs Placebo on Ventilator- and Vasopressor-Free Days in Patients With Septic Shock: The SEPSIS-ACT Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2019;
67. Lattuca B, Sy V, Nguyen LS, Bernard M, Zeitouni M, Overtchouk P, Yan Y, Hammoudi N, Ceccaldi A, Collet J-P, Kerneis M, Diallo A, Montalescot G, Silvain J. Copeptin as a prognostic biomarker in acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2019;**274**:337–341.
68. Møller-Helgestad OK, Hyldebrandt JA, Banke A, Rud CS, Udesen NLJ, Linde L, Okkels-Jensen L, Schmidt H, Ravn HB, Møller JE. Impella CP or VA-ECMO in profound cardiogenic shock: left ventricular unloading and organ perfusion in a large animal model. *EuroIntervention J Eur Collab Work Group Interv Cardiol Eur Soc Cardiol* 2019;**14**:e1585–e1592.
69. Ostadal P, Mlcek M, Strunina S, Hrachovina M, Kruger A, Vondrakova D, Janotka M, Hala P, Kittnar O, Neuzil P. Novel porcine model of acute severe cardiogenic shock developed by upper-body hypoxia. *Physiol Res* 2016;**65**:711–715.
70. Warenits A-M, Sterz F, Schober A, Ettl F, Magnet IAM, Högl S, Teubenbacher U, Grassmann D, Wagner M, Janata A, Weihs W. Reduction of Serious Adverse Events Demanding Study Exclusion in Model Development: Extracorporeal Life Support Resuscitation of Ventricular Fibrillation Cardiac Arrest in Rats. *Shock Augusta Ga* 2016;**46**:704–712.
71. Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, Braunwald E. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res* 1979;**44**:503–512.
72. Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR. Experimental myocardial infarction in the rat: qualitative and quantitative changes during pathologic evolution. *Am J Pathol* 1978;**90**:57–70.
73. Samsamshariat SA, Samsamshariat ZA, Movahed M-R. A novel method for safe and accurate left anterior descending coronary artery ligation for research in rats. *Cardiovasc Revasc Med* 2005;**6**:121–123.

74. Chen J, Ceholski DK, Turnbull IC, Liang L, Hajjar RJ. Ischemic Model of Heart Failure in Rats and Mice. *Methods Mol Biol Clifton NJ* 2018;**1816**:175–182.
75. Kompa AR, Summers RJ. Lidocaine and surgical modification reduces mortality in a rat model of cardiac failure induced by coronary artery ligation. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2000;**43**:199–203.
76. Kainuma S, Miyagawa S, Fukushima S, Tsuchimochi H, Sonobe T, Fujii Y, Pearson JT, Saito A, Harada A, Toda K, Shirai M, Sawa Y. Influence of coronary architecture on the variability in myocardial infarction induced by coronary ligation in rats. *PloS One* 2017;**12**:e0183323.
77. Hongo K, Kobayashi S, Okudera H, Hokama M, Nakagawa F. Noninvasive cerebral optical spectroscopy: depth-resolved measurements of cerebral haemodynamics using indocyanine green. *Neurol Res* 1995;**17**:89–93.
78. Mesquida J, Espinal C, Gruartmoner G, Masip J, Sabatier C, Baigorri F, Pinsky MR, Artigas A. Prognostic implications of tissue oxygen saturation in human septic shock. *Intensive Care Med* 2012;**38**:592–597.
79. Steppan J, Hogue CW. Cerebral and tissue oximetry. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2014;**28**:429–439.
80. ESICM LIVES 2018: Paris, France. 20-24 October 2018. *Intensive Care Med Exp* 2018;**6**:40, s40635-018-0201–0206.

Implication de la vasopressine dans l'hypoperfusion tissulaire au cours du choc cardiogénique compliquant l'infarctus du myocarde

Résumé : L'insuffisance cardiaque aiguë (ICA) en rapport avec un infarctus du myocarde (IDM) est à risque d'évoluer vers un choc cardiogénique (CC), avec réponse neuro-hormonale. Un lien entre ICA, CC et réponse vasopressinergique est suspecté. La ligature de l'artère coronaire gauche (ACG) est le modèle d'ICA le plus répandu chez le rat. Un état de choc est caractérisé par une production accrue de lactate, indiquant une dysoxie tissulaire, à laquelle l'hypoperfusion mésentérique peut contribuer. L'objectif de la première étude était d'évaluer chez le rat le lien entre CC et perfusion mésentérique mesurée par un appareil de NIRS. La seconde étude avait pour objectif d'étudier l'implication de la vasopressine dans l'état hémodynamique et la perfusion tissulaire à la phase précoce (24h) du CC post-IDM. Tous les animaux avaient la même chirurgie avec (AMI) ou sans (Sham) ligature de l'ACG. A partir de la cohorte complète de 103 rats mâles Wistar, l'oxygénation mésentérique (SmO₂) était comparée pour une partie de la cohorte entre un groupe AMI avec CC (fraction d'éjection du ventricule gauche (FEVG) $\leq$ 40% et élévation de la lactatémie) et les rats Sham et AMI sélectionnés avec lactatémie normale (non choqués). Après chirurgie, la SmO₂ diminuait dans tous les groupes. La SmO₂ restait basse à J1 uniquement dans le groupe AMI avec CC, tandis qu'une SmO₂ retournait à sa valeur préopératoire chez les Sham et AMI non choqués. La pression artérielle moyenne était plus basse et la baisse de débit cardiaque plus prononcée pour les AMI avec CC comparés aux AMI non choqués. La détermination de la SmO₂ avait une excellente valeur prédictive pour la survenue de CC (aire sous la courbe ROC : 0.955 [95%CI: 0.854;1], $p=0.003$) avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 88% pour un seuil de SmO₂ à 35%. Dans le but d'étudier l'ICA post-IDM et la stimulation vasopressinergique, une FEVG $\leq$ 40% était requise pour sélectionner les rats dans les groupes AMI et 6 groupes de rats étaient étudiés : Sham sans traitement (Sham), AMI sans traitement (AMI), rats traités par terlipressine (Sham-TLP et AMI-TLP) ou par un antagoniste du récepteur V1a, le SR-49059 (Sham-SR et AMI-SR). Une hypoperfusion tissulaire mise en évidence par une lactatémie $> 2,2$ mmol/l ou une hypoxie mésentérique (SmO₂ $< 35\%$) était requise pour définir le CC. Parmi les 103 rats opérés, 67 ont eu une ligature coronaire parmi lesquels la mortalité était de 40%, 0% et 33% respectivement pour les groupes AMI, AMI-SR et AMI-TLP ($p=0,057$). Tous les rats étaient sacrifiés à J1 après évaluation complète. L'incidence de CC était diminuée à 25% pour les AMI-SR contre 72% pour les AMI ou AMI-TLP ($p=0,038$). La copeptine plasmatique à J1 était augmentée chez les AMI et AMI-SR mais pas chez les AMI-TLP. La réponse contractile maximale à la vasopressine, évaluée *in vitro* sur les anneaux aortiques, était similairement diminuée pour les rats AMI et les rats traités par terlipressine (AMI-TLP et Sham-TLP) comparés aux Sham non traités. Elle était aussi sévèrement altérée pour les animaux traités avec l'antagoniste pour lesquels un profil de liaison compétitive était observé. En conclusion, le CC survient volontiers quand la FEVG est inférieure à 40% après ligature de l'ACG. Dans ce modèle, le CC est associé à une diminution significative de l'oxygénation mésentérique. Ainsi, en cas de FEVG altérée, la SmO₂ permet une évaluation non-invasive des états de choc en temps réel. L'augmentation de sécrétion de vasopressine semble impliquée dans la phase précoce de l'IDM, ce qui peut conduire à une hypoperfusion mésentérique et une production de lactate. La perfusion tissulaire était améliorée par le traitement avec un antagoniste des récepteurs V1a, sans effet majeur sur la pression artérielle, tandis qu'elle était altérée par la terlipressine, associée à une forte augmentation de pression artérielle. Le rôle de la vasopressine dans l'hypoperfusion tissulaire au cours de la phase précoce du CC semble crucial.

Mots clés : Infarctus du myocarde ; choc cardiogénique ; vasopressine ; réactivité vasculaire ; microcirculation ; antagoniste V1a

Involvement of vasopressin in tissue hypoperfusion during cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction in rats.

Abstract : Acute heart failure (AHF) due to acute myocardial infarction (AMI) is likely to involve cardiogenic shock (CS), with neuro-hormonal activation. A relationship between AHF, CS and vasopressin response is suspected. Permanent left coronary artery ligation (LCA) is the most widely used model of heart failure in rat. A shock state is characterized by an increase of lactate production, a marker of global tissue dysoxia to which mesenteric hypoperfusion may notably contribute. The aim of the first study was to evaluate the relationship between CS and mesenteric perfusion assessed by near infrared spectroscopy (NIRS) in a rat model. The second study aimed to investigate the implication of vasopressin on hemodynamic and tissue perfusion at the early phase (24h) of CS complicating AMI. All animals had the same surgery with LCA ligation (AMI) or not (Sham). From the whole cohort of 103 male Wistar rats, the mesenteric oxygenation (SmO₂) was compared in several animals between AMI with cardiogenic shock (left ventricular ejection fraction (LVEF) $\leq$ 40% and elevated lactate level) and selected Sham and AMI with normal lactate level (non-shocked). After surgery, SmO₂ decreased notably in all groups. SmO₂ remained low at Day 1 (D1) only in AMI with CS, while it returned close to preoperative value in Sham and AMI without shock. The mean arterial pressure was lower, and the decrease of cardiac output was higher in AMI with CS compared to non-shocked AMI. SmO₂ determination had an excellent predictive value for CS (area under the receiver operating characteristic curve: 0.955 [95%CI: 0.854;1], $p=0.003$) with a 100% sensitivity and 88% specificity for a 35% SmO₂ threshold. In order to study AMI-induced AHF and vasopressin stimulation, a LVEF $\leq$ 40% was prerequisite for the selection of animals in AMI groups and six groups of rats were studied: Sham without treatment, AMI without treatment (AMI), rats treated with terlipressin (Sham-TLP and AMI-TLP) or SR-49059, a V_{1a} receptor antagonist, (Sham-SR and AMI-SR). To assess CS, a tissue hypoperfusion as evidenced by lactate > 2.2 mmol/L or mesenteric hypoxia (SmO₂ $< 35\%$) was required. Among 103 operated rats, 67 were ligatured and exhibited mortality of 40%, 0% and 33% respectively for AMI, AMI-SR and AMI-TLP ($p=0.057$). All animals were sacrificed at D1 after hemodynamic and biochemical assessments. Incidence of CS was decreased to 25% in AMI-SR versus 72% in AMI or AMI-TLP ($p=0.038$). Plasma copeptin at D1 was increased in AMI and AMI-SR but not in AMI-TLP. The maximal contractile response to vasopressin, evaluated *in vitro* on aortic rings, was similarly decreased in AMI and TLP-treated rats (AMI-TLP and Sham-TLP) compared to Sham but also severely altered in animals treated by the antagonist, the latest exhibiting a competitive binding profile. To conclude, CS occurs likely when LVEF is below 40% after LCA ligation. In this model, CS is associated with a significant decrease in mesenteric oxygenation. Thus, combined to reduced LVEF, SmO₂ could allow a non-invasive assessment of shock at the bench side. Increased vasopressin secretion seems involved in the early phase of AMI, which may result in mesenteric hypoperfusion and lactate production. Tissue perfusion was improved by V1a antagonist treatment, without major effect on arterial pressure, while it was impaired by treatment with terlipressin, associated to a huge increase in arterial pressure. The role of vasopressin in tissue hypoperfusion during the early phase of CS seems crucial.

Keywords : Myocardial infarction ; cardiogenic shock ; vasopressin ; vascular reactivity ; microcirculation ; V1a antagonist