



HAL
open science

Évaluation des troubles de la perfusion tissulaire dans les états de chocs circulatoires et de l'intérêt thérapeutique du pimobendane : de la recherche expérimentale aux applications cliniques

Mathieu Magnin

► **To cite this version:**

Mathieu Magnin. Évaluation des troubles de la perfusion tissulaire dans les états de chocs circulatoires et de l'intérêt thérapeutique du pimobendane : de la recherche expérimentale aux applications cliniques. Physiologie [q-bio.TO]. Université de Lyon, 2021. Français. NNT : 2021LYSE1087 . tel-03890719

HAL Id: tel-03890719

<https://theses.hal.science/tel-03890719>

Submitted on 8 Dec 2022

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.



N° d'ordre NNT : 2021LYSE1087

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de

l'Université Claude Bernard Lyon 1

**École Doctorale Interdisciplinaire Sciences-Santé
N°205**

**Spécialité de doctorat : Sciences de la vie et de la santé
Discipline : Physiologie et thérapeutique**

Soutenue publiquement le 20/05/2021, par :

Mathieu Magnin

**Évaluation des troubles de la perfusion
tissulaire dans les états de chocs
circulatoires et de l'intérêt thérapeutique du
pimobendane
De la recherche expérimentale aux applications cliniques**

Devant le jury composé de :

Schwebel Carole, PU-PH, Université de Grenoble-Alpes	Rapporteuse
Pottecher Julien, PU-PH, Université de Strasbourg	Rapporteur
Jourdan Géraldine, MC, École vétérinaire de Toulouse	Examinatrice
Allaouchiche Bernard, PU-PH, Université de Lyon	Examinateur
Junot Stéphane, Professeur, VetAgro Sup	Directeur de thèse
Bonnet-Garin Jeanne-Marie, Professeure, VetAgro Sup	Co-directrice de thèse

Université Claude Bernard – LYON 1

Président de l'Université	M. Frédéric FLEURY
Président du Conseil Académique	M. Hamda BEN HADID
Vice-Président du Conseil d'Administration	M. Didier REVEL
Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. Philippe CHEVALLIER
Vice-Président de la Commission de Recherche	M. Jean-François MORNEX
Directeur Général des Services	M. Pierre ROLLAND

COMPOSANTES SANTE

Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directrice : Mme Anne-Marie SCHOTT
Faculté d'Odontologie	Doyenne : Mme Dominique SEUX
Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon Sud - Charles Mérieux	Doyenne : Mme Carole BURILLON
Faculté de Médecine Lyon-Est	Doyen : M. Gilles RODE
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation (ISTR)	Directeur : M. Xavier PERROT
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (ISBP)	Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA

COMPOSANTES & DEPARTEMENTS DE SCIENCES & TECHNOLOGIE

Département Génie Electrique et des Procédés (GEP)	Directrice : Mme Rosaria FERRIGNO
Département Informatique	Directeur : M. Behzad SHARIAT
Département Mécanique	Directeur M. Marc BUFFAT
Ecole Supérieure de Chimie, Physique, Electronique (CPE Lyon)	Directeur : Gérard PIGNAULT
Institut de Science Financière et d'Assurances (ISFA)	Directeur : M. Nicolas LEBOISNE
Institut National du Professorat et de l'Education	Administrateur Provisoire : M. Pierre CHAREYRON
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1	Directeur : M. Christophe VITON
Observatoire de Lyon	Directrice : Mme Isabelle DANIEL
Polytechnique Lyon	Directeur : Emmanuel PERRIN
UFR Biosciences	Administratrice provisoire : Mme Kathrin GIESELER
UFR des Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS)	Directeur : M. Yannick VANPOULLE
UFR Faculté des Sciences	Directeur : M. Bruno ANDRIOLETTI

Remerciements

A Monsieur le Professeur Stéphane Junot,

Pour avoir eu la patience de m'encadrer pendant ses trois années, pour sa gentillesse et sa bienveillance, pour son calme olympien qui rassure dans les moments de stress. Toute ma gratitude pour la qualité de ton encadrement et de tes conseils ; pour m'avoir donné la liberté d'action et de réflexion qui m'étaient nécessaires tout en ayant su me refréner dans mes moments de dispersion et d'égarement.

A Madame la Professeure Jeanne-Marie Bonnet-Garin,

A qui j'exprime également toute ma gratitude pour sa gentillesse, sa bienveillance et sa bonne humeur. Tous mes remerciements pour la qualité de votre écoute, pour avoir su vous rendre disponible malgré votre emploi du temps de ministre, pour la rigueur qui vous caractérise tant, pour la pertinence de vos commentaires et de vos réflexions et, enfin, pour votre passion communicative de la physiologie.

A Monsieur le Professeur Bernard Allaouchiche,

A qui je dois faire part, à nouveau, de toute ma gratitude pour ses grandes qualités humaines ; pour sa patience, sa gentillesse, sa bienveillance, son humour décapant et sa tolérance. Je tiens également à vous exprimer toute ma reconnaissance pour votre soutien indéfectible, pour avoir cru en moi depuis longtemps et pour m'avoir intégré dans de nombreux projets passionnants.

J'ai eu énormément de chance d'être encadré, suivi, soutenu, par trois personnes chez qui les qualités humaines égalent les qualités professionnelles. Je tiens sincèrement à ce que vous sachiez le profond respect et l'admiration que j'éprouve à votre égard. Vous êtes, chacun à votre manière, des modèles pour se construire.

A Madame la Professeure Carole Schwebel,

Tous mes remerciements pour le temps que vous consacrez à ce travail et pour la gentillesse de participer à ce jury.

A Madame le docteur Géraldine Jourdan,

Toute ma gratitude pour avoir eu la gentillesse d'accepter de relire ce travail, de participer au jury de cette thèse et de venir de si loin. En témoignage de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Julien Pottecher,

A qui je souhaite exprimer toute ma reconnaissance pour avoir eu la gentillesse d'accepter de juger ce travail et d'être rapporteur dans le jury de cette thèse.

Aux membres du service de Physiologie,

Et plus particulièrement à Christian, Jean-Yves et Vanessa,
Pour m'avoir accueilli parmi vous pendant ce travail, pour votre aide précieuse
notamment lors de la mise en place et de la réalisation des études expérimentales,
pour votre gentillesse et votre bonne humeur.
Toute mon amitié.

A Thibaut Lurier,

Pour ta pédagogie, pour le temps que tu m'as accordé à de nombreuses reprises
pour répondre à mes questions de statistiques, pour ton aide précieuse.
Toute mon amitié.

A Céline Pouzot-Nevoret,

Pour m'avoir permis de participer à des projets de recherche clinique passionnants.
J'espère que l'avenir donnera lieu à de nouvelles collaborations enrichissantes.

**A Morgane Gavet, Caroline Didier, Chiara Laurenza, Alexandra Nectoux,
Elisa Foulon et Thien-Tâm Ngo** pour leur aide précieuse lors de la réalisation
des études expérimentales qui constituent le substrat de cette thèse.

*A mes parents, ma sœur, ma famille,
Pour tout votre amour*

*A tous mes amis, dont je serai bien incapable de faire la liste ici (surtout par peur
d'oublier quelqu'un...)
Pour votre chaleur, votre bienveillance, pour tous les petits bonheurs du quotidien*

*A toutes les personnes, vivantes et décédées, qui ont nourrie ma curiosité, qui m'ont
transmis leur passion pour la biologie, la science, la philosophie etc.
Merci de m'avoir tant apporté*

*A Rémi, qui m'a soutenu au cours de ce travail et qui me soutient dans la vie
Merci d'être là, de m'enrichir et de me rendre (me semble-t-il) un peu meilleur*

Je crois qu'il existe — je le sens en moi — un instinct de vérité, de connaissance ou de découverte, quelque chose du même ordre que l'instinct qui nous pousse à être vertueux, et que la possession d'un tel instinct est une raison suffisante pour mener des recherches scientifiques sans qu'aucun résultat pratique n'en découle jamais.
Charles Darwin, correspondance avec John Stevens Henslow, 1848

Avoir une foi robuste et ne pas croire
Claude Bernard, Introduction à l'étude de la médecine expérimentale

Tout cela paraîtra insensé si l'on n'y réfléchit pas, et aussi, peut-être, si l'on y réfléchit.
Charles Darwin, correspondance avec Asa Gray, 1857

Sommaire

Introduction. Les troubles de la perfusion tissulaire associés aux états de choc

I. Définitions	18
A. Le choc circulatoire.....	18
B. Sepsis et choc septique.....	19
C. Perfusion tissulaire, perfusion périphérique et microcirculation	20
II. Classification et gradation des chocs cardiocirculatoires	21
A. La classification de Weil et Shubin	21
B. La gradation des états de choc.....	23
C. Quelques données d'épidémiologie.....	24
III. Physiopathologie des états de choc	25
A. Les altérations hémodynamiques : aux prémises des troubles de la perfusion tissulaire .	25
1. Le choc hypovolémique	25
2. Le choc distributif	35
3. Le choc cardiogénique.....	43
4. Les troubles de la perfusion tissulaire lors de sepsis et de choc septique	46
B. Les troubles de la perfusion tissulaire et les défaillances d'organes	49
1. Syndrome inflammatoire et sepsis d'origine intestinal : un carrefour physiologique.....	49
2. Les mécanismes physiopathologiques à l'origine des défaillances d'organe lors de sepsis.....	50
IV. Perfusion tissulaire et thérapeutique	56
A. Les recommandations actuelles de prise en charge des états de choc	56
B. Quels sont les liens entre la macro- et la microcirculation ?.....	58
1. L'autorégulation du flux sanguin tissulaire.....	59
2. La dissociation macro/microcirculatoire	60
C. Une approche holistique du monitoring de la perfusion au cours du choc septique	63
D. La perfusion tissulaire en pratique.....	64
1. La perfusion tissulaire comme objectif thérapeutique	65
2. Optimiser la microcirculation en modulant le tonus vasculaire	66
V. Conclusion	68

1ère Partie. Utilisation de la thermographie infrarouge, de la photopléthysmographie urétrale et de la videomicroscopie dans la mesure des troubles de la perfusion tissulaire

I. La thermographie infrarouge	73
A. Le rationnel scientifique	73
1. Utilisation des gradients de température dans les états de choc	74
2. La thermographie infrarouge	76
B. Les apports de la recherche préclinique	78
C. Applications cliniques	84
D. Les limites	88

1.	Les limites à l'utilisation des gradients de température.....	88
2.	Les limites de la thermographie infrarouge.....	90
II.	<i>La photopléthysmographie urétrale.....</i>	91
A.	Le rationnel scientifique	91
1.	Photopléthysmographie et mesure de la perfusion tissulaire.....	92
2.	Le choix du site de mesure	94
3.	Description de la sonde urétrale de photopléthysmographie.....	95
B.	Les apports de la recherche préclinique	97
C.	Les applications cliniques	103
D.	Les limites de la photopléthysmographie urétrale	107
III.	<i>La vidéomicroscopie sublinguale</i>	108
A.	Le rationnel scientifique	109
1.	Développement de la microscopie et étude de la microcirculation.....	109
2.	La vidéomicroscopie <i>in vivo</i>	110
3.	Pourquoi et comment évaluer la microcirculation en région sublinguale ?.....	112
4.	Quelles sont les procédures de l'analyse des vidéos de microcirculation sublinguale ?.....	112
B.	Les apports de la recherche préclinique.....	117
C.	Applications cliniques.....	119
D.	Les limites de la vidéomicroscopie.....	121
1.	Impact de la qualité des vidéos sur l'interprétation des résultats	121
2.	La perfusion sublinguale : reflet des territoires splanchniques ?.....	126
3.	La grande variabilité des résultats.....	127
4.	Les limites liées aux méthodes d'analyse des résultats.....	129
2ème partie. Évaluation de l'intérêt du pimobendane dans le traitement des troubles de la perfusion tissulaire lors de choc septique		
I.	<i>Le rationnel scientifique.....</i>	133
A.	Intérêts théoriques des inodilatateurs.....	133
1.	Intérêts de la vasodilatation.....	133
2.	Intérêt de la combinaison vasodilatation-inotropisme positif	137
3.	Améliorer la perfusion tissulaire en corrigeant la défaillance cardiaque.....	138
B.	Les propriétés du pimobendane	139
1.	Les propriétés pharmacodynamiques	139
2.	Les propriétés pharmacocinétiques	142
C.	Retour d'expérience sur l'utilisation du levosimendan lors de choc septique.....	143
1.	Les propriétés pharmacodynamiques du levosimendan.....	143
2.	Levosimendan et cardiomyopathie induite par le sepsis	144
3.	Levosimendan et troubles de la perfusion tissulaire.....	145
II.	<i>Évaluation préliminaire de l'effet du pimobendane sur la microcirculation sublinguale</i>	146
A.	Objectif de l'étude.....	146
B.	Matériels et méthodes	146
1.	Anesthésie et équipement	146
2.	Synopsis de l'étude.....	147
3.	La microcirculation sublinguale	147
4.	Analyses statistiques	148

C.	Résultats	148
1.	Altérations macro et microcirculatoires associées à l'hypotension	148
2.	Évolution des paramètres macrocirculatoires après l'administration de pimobendane	149
3.	Évolution des paramètres microcirculatoires après l'administration de pimobendane	150
4.	Association entre microcirculation et macrocirculation lors de l'administration de pimobendane	152
D.	Conclusions et discussion	153
III.	Évaluation de l'intérêt thérapeutique du pimobendane dans un modèle expérimental de choc septique	155
A.	Objectif de l'étude.....	156
B.	Matériels et méthodes	156
1.	Équipement hémodynamique	156
2.	Synopsis de l'étude	156
3.	Induction du choc septique	158
4.	Mesure de la perfusion tissulaire	158
5.	Analyse statistique	160
C.	Résultats	160
1.	Induction du choc septique	160
2.	Réanimation des animaux	167
3.	Suivi post-réanimation	175
4.	Mesures thérapeutiques	177
D.	Discussion et conclusion	179
Conclusions et perspectives		
I.	La recherche illusoire de la méthode universelle	188
II.	La pierre philosophale.....	192
III.	La complexité du biologique comme obstacle à la connaissance.....	193
Références.....		197
Annexes.....		214
Liste des abréviations.....		280

Table des illustrations

Figure 1 : Illustration de l'évolution de la pression artérielle au cours du temps à différents stades de choc circulatoire. D'après une étude expérimentale de choc hémorragique réalisée chez des chiens	23
Figure 2 : Évolution biphasique des paramètres hémodynamiques lors du choc hémorragique. D'après une étude expérimentale réalisée chez l'homme sur des personnes volontaires	26
Figure 3 : Mécanismes de régulation du flux sanguin local en réponse à l'hypoxémie	29
Figure 4 : Les mécanismes physiologiques de réponse à l'hypovolémie	32
Figure 5 : Physiopathologie de la progression du choc hypovolémique	35
Figure 6 : Les voies de régulation du tonus vasculaire.....	37
Figure 7 : Les voies métaboliques activées par le monoxyde d'azote à l'origine d'une vasodilatation. La vasodilatation est rendue possible par la réduction de la quantité de calcium cytoplasmique liée à l'activation de l'efflux, du recaptage par le réticulum sarcoplasmique et par l'inhibition de son entrée dans la cellule. La réduction du calcium cellulaire et l'activation de protéines kinases est à l'origine d'une déphosphorylation de la myosine et ainsi de la vasodilatation.....	39
Figure 8 : Les voies métaboliques activées par le monoxyde d'azote à l'origine d'une vasodilatation. La vasodilatation est rendue possible par la réduction de la quantité de calcium cytoplasmique liée à l'activation de l'efflux, du recaptage par le réticulum sarcoplasmique et par l'inhibition de son entrée dans la cellule. La réduction du calcium cellulaire et l'activation de protéines kinases est à l'origine d'une déphosphorylation de la myosine et ainsi de la vasodilatation.....	40
Figure 9 : Physiopathologie du choc distributif.....	43
Figure 10 : Physiopathologie du choc cardiogénique	44
Figure 11 : Les intrications des différents types de chocs circulatoires.....	46
Figure 12 : Augmentation de la perméabilité intestinale et sepsis d'origine intestinale	51
Figure 13 : La dysfonction endothéliale au cours du sepsis	53
Figure 14 : Synthèse sur la physiopathogénie des troubles de la perfusion tissulaire	56
Figure 15 : Autorégulation du flux sanguin local en fonction de la pression artérielle.....	60
Figure 16 : La théorie holistique du monitoring de la perfusion lors du choc septique.....	64
Figure 17 : Intérêt de la thermographie infrarouge lors d'un état de choc.....	78
Figure 18 : Synopsis de l'étude.....	80
Figure 19 : Mesure de la température cutanée moyenne du carpe et du coude par thermographie infrarouge	81
Figure 20 : Évolution des gradients de température, de la pression artérielle moyenne et de l'index cardiaque au cours de l'étude.....	82
Figure 21 : Représentation des gradients de température en fonction de la pression artérielle moyenne	83
Figure 22 : Exemples de thermogrammes obtenus sur des patients. A droite une jambe droite, à gauche un bras droit.	86
Figure 23 : La mesure de la perfusion tissulaire par photopléthysmographie par réflectance.....	94
Figure 24 : La sonde IKORUS UP	96
Figure 25 : Synopsis de l'étude.....	98
Figure 26 : Évolution des paramètres faisant suite à l'administration de bolus de fluides.....	99
Figure 27 : Corrélations individuelles entre l'index de perfusion urétrale et la pression artérielle moyenne	100
Figure 28 : Évolutions des paramètres de perfusion tissulaire et des paramètres macrocirculatoires au cours d'un choc hémorragique porcin.....	102
Figure 29 : Le moniteur IKORUS monitor et les différents types de sondes IKORUS UP)	103

Figure 30 : Illustration de la corrélation entre l'index de perfusion urétrale et le volume d'éjection systolique observés chez un patient	105
Figure 31 : Illustration de la corrélation entre l'index de perfusion urétrale et la pression artérielle moyenne chez un patient	106
Figure 32 : Illustration de la dissociation observée entre la pression artérielle moyenne et l'indice de perfusion urétrale chez un patient.....	107
Figure 33 : La vidéomicroscopie par sidestream dark field imaging	111
Figure 34 : Exemple des résultats fournis par le logiciel AVA lors de l'analyse d'une vidéo de microcirculation	116
Figure 35 : Évolution de la proportion de vaisseaux perfusés au cours du temps dans une population de patients en choc septique	120
Figure 36 : Probabilité d'obtenir une vidéo à rejeter, c'est à dire contenant des artefacts de compression non-acceptables en fonction de la pression artérielle moyenne de l'individu lors de l'enregistrement.....	124
Figure 37 : Visualisation de la valeur des paramètres de microcirculation en fonction des artefacts de compression.....	125
Figure 38 : Variabilité intra et interindividuelle des paramètres de microcirculation enregistrés par vidéomicroscopie sur des porcs après induction d'une anesthésie générale et stabilisation.	128
Figure 39 : Variations de la pression au sein de la circulation sanguine et effets d'une vasoconstriction ou d'une vasodilatation généralisée.....	134
Figure 40 : Exemple d'organisation d'une unité fonctionnelle microcirculatoire.....	135
Figure 41 : Illustration de l'effet Fahraeus	136
Figure 42 : Effet des inodilatateurs sur le retour veineux et le débit cardiaque	138
Figure 43 : Mécanismes d'action du pimobendane sur les cardiomyocytes.	141
Figure 44 : Mécanismes d'action du levosimendan sur l'appareil cardiovasculaire	144
Figure 45 : Évolution des paramètres macrocirculatoires au cours du temps	149
Figure 46 : Évolution des paramètres microcirculatoires au cours du temps	151
Figure 47 : Nombre de vaisseaux croisant la grille d'analyse	152
Figure 48 : Synopsis de l'étude.....	158
Figure 49 : Évolution de l'index cardiaque au cours de l'étude.....	161
Figure 50 : Évolution de la pression artérielle moyenne au cours de l'étude.....	161
Figure 51 : Évolution de la fréquence cardiaque au cours de l'étude	162
Figure 52 : Évolution des gradients de température au cours de l'étude	163
Figure 53 : Évolution de l'uPI au cours du temps	164
Figure 54 : Évolution des paramètres de vidéomicroscopie sublinguale au cours de l'étude	165
Figure 55 : Évolution de la lactatémie artérielle au cours de l'étude.....	167
Figure 56 : Évolution de la fréquence cardiaque : mise en évidence des trajectoires individuelles	168
Figure 57 : Évolution des gradients de température : mise en évidence des trajectoires individuelles	170
Figure 58 : Évolution de l'index de perfusion urétrale : mise en évidence des trajectoires individuelles	171
Figure 59 : Évolution des paramètres de vidéomicroscopie sublinguale : mise en évidence des trajectoires individuelles.....	173
Figure 60 : Évolution de la lactatémie artérielle : mise en évidence des trajectoires individuelles.....	174
Figure 61 : Comparaison de la clairance des lactates au cours du suivi dans les deux groupes	176
Figure 62 : Dose d'adrénaline administrée par individu	177
Figure 63 : Quantité de noradrénaline administrée par groupe.....	177
Figure 64 : Quantité de noradrénaline administrée par individu.....	178
Figure 65 : Nombre de bolus de Ringer Lactate administrés par groupe.....	178
Figure 66 : Nombre de bolus de Ringer Lactate administrés par individu	179
Figure 67 : Évolution du pH et du dioxyde de carbone artériel au cours de l'étude.....	180

<i>Tableau 1 : Corrélations entre les gradients de température et les paramètres hémodynamiques.....</i>	<i>83</i>
<i>Tableau 2 : Analyse univariée et multivariée des gradients de température</i>	<i>83</i>
<i>Tableau 3 : Comparaisons des paramètres de perfusion tissulaire des patients présentant un gradient de température entre la température centrale et la température de l'index supérieur à 7 °C avec ceux dont le gradient est inférieur à 7°C.....</i>	<i>87</i>
<i>Tableau 4 : Matrice de corrélations entre les différents paramètres de perfusion tissulaire</i>	<i>87</i>
<i>Tableau 5 : Les critères de jugement du score de qualité des vidéos de microcirculation.....</i>	<i>114</i>
<i>Tableau 6 : Caractéristiques des paramètres microcirculatoires.....</i>	<i>117</i>
<i>Tableau 7 : Associations entre les paramètres microcirculatoires et macrocirculatoires.....</i>	<i>152</i>

Introduction.

**Les troubles de la perfusion
tissulaire associés aux états
de choc**

« Rallumer à l'intensité de ce qui commence,

tout ce qui succède [...] »

Pascal Quignard

La conception et la compréhension des états de choc circulatoire n'a été possible qu'après la découverte du fonctionnement de la *circulation sanguine*. Avant le XVI^{ème} siècle, les connaissances de physiologie s'appuient principalement sur les écrits de Claude Galien (Claudius Galienus), un médecin grec de l'antiquité. Pour ce dernier, il existe deux types de sang : le sang « nutritif », fabriqué par le foie à partir de l'alimentation, réparti dans l'organisme par les veines pour être utilisé comme source d'énergie, et le sang « vital », porteur d'une énergie spirituelle, produit par le cœur et circulant dans les artères. En 1628, William Harvey publie *Exercitatio de Motu Cordis et Sanguinis in Animalibus*, ouvrage dans lequel il décrit une découverte capitale : le sang s'échappe du cœur *via* des artères et y retourne au travers des veines, formant ainsi une boucle, la circulation sanguine étant propulsée grâce à la contraction du muscle cardiaque^{1,2}.

La notion médicale du « choc » est ancienne. Initialement, elle est toujours associée au traumatisme physique et les premières descriptions qui l'abordent traitent principalement d'états de choc secondaire à des blessures de guerres sur des soldats. On attribue généralement le terme de « choc » au chirurgien français Henri François Ledran (1740). Cependant ce dernier n'utilise pas ce mot, mais les termes de « saisissement », « commotion » et « coup ». Le terme « shock » apparaît en réalité dans la traduction anglaise du traité de Ledran, écrite par le médecin John Clarke. Pour Ledran et Clarke, le choc correspond à une séquelle comportementale ou neurologique du traumatisme et n'est pas le traumatisme physique *stricto sensu*².

La définition et la conception du choc ont évolué depuis le XVIII^{ème} siècle grâce aux découvertes de la physiologie, à la création de concepts de physiopathologie et au développement d'outils permettant la mesure de la pression artérielle et du débit cardiaque^{1,2}. L'invention du sphygmomanomètre au XIX^{ème} siècle permet les premières mesures hémodynamiques expérimentales. Mummery et Crile proposent d'utiliser l'hypotension comme critère clinique de définition du choc. Ce critère persistera jusqu'à des conceptions très récentes des états de choc. A partir du XIX^{ème} siècle et jusqu'à la moitié du XX^{ème} siècle on attribue au choc une origine neurologique. En 1826 Travers le présente comme une altération de l'influence du cerveau sur les organes de la circulation. Pour Guthrie et Velpeau, il correspond à la fois au traumatisme et aux conséquences neurophysiologiques des lésions. La vision du choc comme une affection neurologique s'appuie notamment sur les travaux de Claude Bernard concernant le système nerveux autonome (SNA) et ses interactions avec le système cardiovasculaire. Il montre

expérimentalement le rôle du SNA dans le contrôle de la pression artérielle et de la perfusion systémique mais n'étudie pas particulièrement le choc. De nombreuses hypothèses vont ensuite être formulées. S'appuyant notamment sur des expériences réalisées sur des grenouilles, on imagine que le choc serait secondaire à une vasodilatation splanchnique d'origine nerveuse déclenchée par des émotions ou des douleurs. Au début du XXème siècle, des physiologistes américains élaborent la « théorie tachypnéique » et émettent l'hypothèse d'une vasodilatation splanchnique secondaire à une hypocapnie. On envisage également la participation de « toxines ». A cette époque, la notion de réduction du volume circulant comme conséquence de la séquestration d'une partie du sang dans une région de l'organisme prend de l'importance. Entre 1930 et 1940, Blalock établit une classification en 4 types de chocs, définis en fonction des mécanismes physiologiques impliqués : le choc hémotogénique (secondaire à une hypovolémie), le choc neurogénique (associé à une vasodilatation neurogénique), le choc vasogénique (associé à une vasodilatation induite par des médiateurs chimiques) et le choc cardiogénique. Il exclut l'origine nerveuse centrale. Il crée la notion de « volume sanguin effectif » et réussit à caractériser l'ensemble des chocs par une règle simple : le choc est une défaillance circulatoire périphérique résultant d'une inadéquation entre le volume circulant et les capacités volumiques de l'arbre vasculaire³. Dans les années 1950, Wiggers définit le choc comme un syndrome résultant de l'altération de nombreuses fonctions, au cours duquel la réduction du volume circulant effectif est d'importance capitale. Il imagine que le choc est progressif et qu'il évolue jusqu'à atteindre un état irréversible. A cette époque apparaît aussi la notion de défaillance multi-organique consécutive au choc. Les travaux de Wiggers soulignent l'importance de la dysfonction myocardique dans la physiologie du choc⁴. Dans les années 1960, Simeone propose de le définir comme un état clinique caractérisé par des signes spécifiques, qui se produisent lorsque le débit cardiaque est insuffisant pour permettre le remplissage de la vascularisation artérielle avec la pression suffisante pour garantir la bonne perfusion des organes et des tissus^{1,2}. Il rapporte que de nombreuses affections peuvent converger vers l'état de choc et souligne l'importance de la perfusion tissulaire⁴. Au milieu du XXème siècle les avancées de la biologie et de la médecine permettent de mieux comprendre et décrire la complexité du tableau physiopathologique du choc et les nombreuses interactions qui existent en son sein. On insiste sur la présence d'une perfusion inadéquate à l'origine d'une hypoxie et on souligne l'importance des désordres microcirculatoires (dont on faisait déjà mention un siècle auparavant⁵). Apparaît également la notion de réponse inadaptée de l'organisme⁴.

Nombreux sont ceux qui ont tenté d'éliminer le terme initial au profit d'une expression qui leur semblait plus pertinente, mais le terme a tenu le choc et reste largement utilisé aujourd'hui.

Au cours de cette évolution on comprend progressivement que le choc n'est pas nécessairement la conséquence d'un traumatisme. Laennec décrit le lien avec des infections dès 1831, Gross rapporte la présence de chocs à la suite de nombreuses affections abdominales comme des perforations digestives, des ruptures de la vésicule biliaire ou des voies urinaires à la fin du XIX^e siècle. Fishberg introduit le concept de choc cardiogénique primitif, secondaire à un infarctus, en 1934^{1,4}. La notion de choc septique et l'observation de choc hyperdynamique semble apparaître en 1965, d'après les travaux de Wilson et col¹.

La prise en charge des états de choc circulatoire à la fin du XX^e siècle se focalise principalement sur la restauration hémodynamique « macrocirculatoire ». Ceci s'explique par l'accès à des appareils permettant une mesure facile et relativement fiable de paramètres (pression artérielle, débit cardiaque), mais également par l'amélioration observée des patients suite aux soins prodigués. Les études réalisées ces 20 dernières années montrent néanmoins que cette prise en charge n'est pas complètement satisfaisante : malgré la correction de la pression artérielle ou du débit cardiaque des troubles de la perfusion tissulaire peuvent persister⁶. En outre, l'utilisation de critères thérapeutiques comme un seuil de pression artérielle, peuvent conduire à l'administration d'une trop grande quantité de fluides ou de vasopresseurs à l'origine de troubles de la perfusion des organes^{7,8}. C'est pourquoi la notion de perfusion tissulaire est au cœur des préoccupations contemporaines.

Même si la complexité de la physiopathologie des chocs circulatoires et du choc septique nous semble davantage comprise aujourd'hui, de nombreuses questions restent en suspens, dont certaines sont en réalité de vieilles interrogations. Très tôt dans l'histoire, on s'est demandé quel paramètre privilégier pour le diagnostic et le suivi du choc¹ : la pression artérielle ? la température de la peau ? etc... Le progrès scientifique, qu'on imagine souvent naïvement comme linéaire, réalise parfois des mouvements de balancier et ainsi, les idées qui peuvent nous apparaître nouvelles ne sont en réalité que des résurgences. C'est ce que rappelle Pascal Quignard en citant l'empereur Romain Claude : « Les Romains furent le peuple qui médita le plus longuement sur le thème du nouveau. C'est le mot si étrange de l'empereur Claude : « Les choses les plus anciennes ont été extrêmement neuves. » *Novissima*. Les novissimes sont les plus originaires. (Les choses les plus anciennes ont été les plus neuves des choses.) »⁹.

Après cette brève contextualisation de la notion du choc circulatoire (qui n'a pas pour objectif de décrire son histoire de façon exhaustive), et plus particulièrement de la problématique de la perfusion tissulaire, cette introduction aura pour but de présenter, à la lumière des

connaissances récentes, les notions clefs permettant de mieux comprendre les questionnements actuels.

Dans un premier temps, nous préciserons les définitions en vigueur concernant les états de choc, le choc septique et les troubles de la perfusion tissulaire. Nous présenterons ensuite la classification des différents types de chocs circulatoires puis leur physiopathologie, afin d'éclairer les mécanismes à l'origine des troubles de la perfusion tissulaire. Enfin, nous aborderons rapidement la place qu'occupe ces altérations en pratique, dans la prise en charge des patients.

I. Définitions

A. Le choc circulatoire

Dans ce manuscrit, nous utiliserons sans distinction sémantique les termes de choc, choc circulatoire ou d'état de choc. Les définitions actuelles concernant le choc circulatoire s'accordent pour le définir comme l'ensemble des conséquences physiologiques cellulaires et tissulaires d'une défaillance hémodynamique aiguë, parfois visible ou alors masquée par des mécanismes physiologiques compensateurs.

D'après le *Guyton and Hall textbook of medical physiology – 14th edition*, le choc circulatoire est caractérisé par une perfusion inadéquate généralisée de l'organisme à l'origine de lésions tissulaires. L'hypoperfusion est généralement secondaire à une baisse du débit cardiaque ou à une mauvaise distribution du sang dans l'organisme. Les lésions qui en résultent sont secondaires au défaut d'apport en oxygène et en nutriments aux cellules. Le système cardiovasculaire étant lui-même sujet à détérioration, le choc est une entité qui tend à progresser vers la dégradation¹⁰.

Pour Vincent et De Backer, le choc est l'expression clinique d'une défaillance circulatoire et résulte d'une utilisation inadéquate de l'oxygène par les cellules¹¹.

Enfin, le consensus sur le choc circulatoire et son monitoring publié par la Société Européenne de Soins Intensifs (ESICM) définit le choc comme une forme particulièrement sévère de défaillance circulatoire aiguë, associée à une utilisation inadéquate de l'oxygène par les cellules. Il décrit un état dans lequel la circulation est incapable de délivrer suffisamment d'oxygène pour satisfaire les besoins des tissus, conduisant à une dysoxie cellulaire, c'est à dire à une inadéquation entre la consommation et la délivrance de l'oxygène, et à la production de lactates. Il souligne également que plusieurs signes cliniques évoquent la présence d'anomalies microcirculatoires ou de troubles de la perfusion périphérique : la présence de marbrures cutanées, l'augmentation du temps de

recoloration capillaire (TRC), l'augmentation du gradient entre la température centrale et la température périphérique ou encore la présence d'une acrocyanose¹².

Ce consensus indique également des critères diagnostiques plus ou moins précis : le diagnostic de défaillance circulatoire aiguë doit se fonder sur des arguments cliniques, hémodynamiques et biochimiques. Les signes cliniques du choc incluent typiquement une hypotension (qui n'est cependant pas nécessairement présente) et une hypoperfusion tissulaire se traduisant par des signes cutanés (peau froide et décolorée ou cyanosée), rénaux (oligo-anurie) et cérébraux (altération de la conscience, désorientation, confusion). Il est bien précisé que l'hypotension n'est pas un critère décisif puisqu'elle peut être compensée par la vasoconstriction. En revanche les signes d'hypoperfusion le sont.

B. Sepsis et choc septique

En 1991, une première séance de consensus est organisée à Chicago pour tenter d'homogénéiser les termes utilisés pour désigner les états septiques sévères. Elle est à l'origine des premières définitions du sepsis et de choc septique. Ces définitions sont cliniques et correspondent davantage à des critères diagnostiques¹³. Depuis, ces définitions ont été raffinées.

En 2010, le congrès de la Global Sepsis Alliance propose deux définitions physiopathologiques du sepsis, une définition « publique » et une définition « moléculaire »¹⁴ :

- La première définit le sepsis comme une affection potentiellement mortelle qui survient lorsque la réponse de l'organisme face à une infection est à l'origine de lésions tissulaires et organiques. Le sepsis est à l'origine d'un état de choc, de défaillances organiques et du décès du patient, particulièrement s'il n'est pas reconnu et traité rapidement.
- D'un point de vue mécanistique, il est caractérisé par une activation inadaptée de la réponse immunitaire innée induite par la libération de molécules libérées par l'agent pathogène et/ou l'hôte. Ces molécules sont reconnues par des récepteurs spécifiques présents à la surface ou à l'intérieur des cellules, induisant ainsi la libération de médiateurs de l'inflammation à l'origine des signes cliniques du sepsis.

Plus récemment, une nouvelle séance de consensus a actualisé les définitions et les critères de diagnostic du sepsis et du choc septique¹⁵.

Le sepsis est défini comme une dysfonction d'organe potentiellement mortelle induite par une dérégulation de la réponse de l'hôte face à une infection. Cette définition met l'accent sur l'origine homéostatique du syndrome et sur sa sévérité. Elle supprime les critères cliniques de réponse inflammatoire systémique utilisés dans le passé et qui pouvaient être le reflet d'une réponse

physiologique appropriée. Le critère choisi pour identifier la sous-catégorie de personnes infectées chez lesquelles la réponse physiologique altère l'organisme est une augmentation de 2 points du score SOFA (Sequential [sepsis-related] Organ Failure Assessment). Un nouveau score est créé pour identifier des patients particulièrement à risque en dehors de l'hôpital, le qSOFA (quick SOFA) : si un patient suspect de présenter une infection exprime au moins deux des critères suivants (fréquence respiratoire ≥ 22 mouvements respiratoires/min, pression artérielle systolique ≤ 100 mmHg, troubles de la vigilance), le médecin doit rechercher des défaillances d'organes.

Le choc septique est défini comme une sous-classe du sepsis dans laquelle la défaillance circulatoire et les anomalies du métabolisme cellulaire sont si sévères qu'elles sont à l'origine d'une augmentation majeure du risque de décès. Elle identifie trois critères qui permettent le diagnostic chez des patients en sepsis : une hypotension réfractaire nécessitant l'administration de vasopresseurs pour maintenir la pression artérielle moyenne (PAM) au-dessus de 65 mmHg associée à une hyperlactatémie (> 2 mmol/L) malgré une réanimation liquidienne adéquate. Ces critères ont été identifiés comme associés à un taux de mortalité supérieur à 40 %.

Ces dernières définitions sont celles en vigueur à l'heure actuelle. Elles présentent des avantages ; la définition du sepsis, par exemple, insiste sur l'aspect physiopathologique et permet peut-être de mieux distinguer les patients atteints de ceux présentant une infection non compliquée. Elles présentent également de nombreuses limitations inhérentes à la complexité des syndromes et à la diversité des situations qu'elles sont censées regrouper.

C. Perfusion tissulaire, perfusion périphérique et microcirculation

Plusieurs termes sont utilisés dans la littérature pour désigner la perfusion d'un organe ou d'un tissu, à l'échelle macroscopique ou microscopique : perfusion tissulaire, perfusion périphérique, perfusion tissulaire périphérique, microcirculation... Ces termes sont très rarement définis et parfois utilisés comme synonymes^{11,12,16-21}.

Pour Lima et Bakker, la perfusion périphérique correspond à la perfusion des organes « non vitaux » (peau et tissus sous-cutanés, muscle, tube digestif), dont la fonction n'est pas prioritaire pour la survie immédiate de l'individu et dont la perfusion est réduite *via* une vasoconstriction lors de la phase compensatoire du choc, au profit des organes qualifiés de « vitaux » (cœur, cerveau, reins), physiologiquement prioritaires^{22,23}.

Comme nous le verrons plus tard, cette présentation dichotomique présente l'avantage d'être simple et didactique mais ne reflète pas tout à fait la complexité des réponses physiologiques

observables au cours des états de choc. En outre, cette présentation très finaliste ne permet pas d'en appréhender les mécanismes réels : ce n'est pas le caractère « vital » de l'organe mais plutôt son niveau d'activité métabolique qui en est le vrai déterminant.

La microcirculation est généralement définie comme l'ensemble des petits vaisseaux, de moins de 100 µm de diamètre comprenant les artérioles, les métartérioles, les capillaires et les veinules²⁴⁻²⁷. Elle se définit principalement par sa fonction (apporter les nutriments et l'oxygène aux cellules et évacuer leur *excreta*)²⁵⁻²⁷, et par ses propriétés rhéologiques²⁴.

Pour tenter d'être précis, nous utiliserons trois termes dans ce manuscrit, définis comme suit :

- Perfusion tissulaire : nous utiliserons ce terme pour caractériser une perfusion régionale. Elle pourra concerner une région de l'organisme (un membre par exemple), un organe ou un tissu.
- Perfusion périphérique : nous utiliserons ce terme au sens de Lima et Bakker. Il s'agira donc d'une sous classe de perfusion tissulaire concernant spécifiquement des tissus considérés comme particulièrement sensibles : la peau et les tissus sous cutanés, les muscles et le tube digestif.
- Microcirculation : nous utiliserons ce terme comme défini ci-dessus, pour désigner spécifiquement les microvaisseaux d'un organe ou d'un tissu (la vascularisation des organes comprenant également d'autres types de vaisseaux sanguins).

II. Classification et gradation des chocs cardiocirculatoires

A. La classification de Weil et Shubin

La taxinomie de Weil et Shubin, publiée en 1971, utilise le mécanisme physiologique primitivement à l'origine du choc comme critère de classification²⁸. Cette classification avait été réalisée initialement pour aider les médecins à identifier rapidement le traitement le plus adapté au patient²⁸. Cette classification est toujours d'actualité et n'a quasiment pas été modifiée depuis sa publication. Elle est reprise dans de nombreuses publications récentes^{11,12,29-33}.

Cette classification distingue 4 catégories de chocs :

- **Le choc hypovolémique** : Il est secondaire à une hypovolémie, c'est à dire à la diminution du volume liquidien intravasculaire. Cette dernière peut être secondaire à une hémorragie ou à des pertes non-hémorragiques (pertes liquidiennes digestives par exemple).
- **Le choc cardiogénique** : Il est secondaire à un dysfonctionnement intrinsèque du myocarde à l'origine d'une réduction de la fonction de la pompe cardiaque. Il peut être observé lors d'un infarctus du myocarde par exemple.
- **Le choc obstructif** : Il fait suite à une obstruction sanguine localisée dans les veines, les artères (i.e. embolies), ou dans le péricarde (tamponnade).
- **Le choc distributif** : Il est caractérisé par une mauvaise distribution sanguine dans l'organisme secondaire à une baisse des résistances vasculaires périphériques. Il correspond à une hypovolémie relative au sens où le volume circulant n'est plus adapté au volume vasculaire. Deux sous-types sont initialement présentés :
 - Un premier, dans lequel le mécanisme principal est augmentation de la capacitance veineuse à l'origine d'une baisse de la précharge et d'une dysfonction cardiaque secondaire et d'une baisse du débit cardiaque (profil hypodynamique). Les résistances artérielles sont normales à augmentées.
 - Dans le second, le mécanisme principal est la réduction des résistances artérielles. On observe une ouverture des shunts artérioveineux et le débit cardiaque a tendance à être augmenté (profil hyperdynamique).

Les chocs distributifs sont généralement secondaires à une infection ou une inflammation. L'exemple le plus fréquemment rencontré est le choc septique. C'est également dans cette catégorie que l'on place le choc anaphylactique.

Cette classification présente un avantage qui fait aussi son défaut : sa simplicité. Ces types de choc sont des stéréotypes qui aident à la compréhension et permettent d'orienter la prise en charge thérapeutique. Cependant, en réalité on observe souvent une combinaison des mécanismes physiologiques présentés ci-dessus^{11,12,28,31}. Nous reviendrons sur les interactions qui existent entre les différents types de choc lors de la description de leur physiopathologie. Si les mécanismes primitifs diffèrent (ou s'associent), tous aboutissent à l'apparition de troubles de la perfusion tissulaire qui caractérisent réellement l'état de choc^{28,34}.

B. La gradation des états de choc

Guyton propose une gradation physiologique du choc, qui s'appuie sur l'évolution et l'intensité de ce dernier. Il souligne son caractère progressif et auto-aggravant (« *the shock itself leads to more shock* »¹⁰).

Ainsi, il distingue 3 stades de choc^{10,35} :

- **Le choc non progressif**, au cours duquel les mécanismes physiologiques adaptatifs peuvent être à l'origine d'une récupération spontanée, sans intervention thérapeutique.
- **Le choc progressif**, correspond au stade au cours duquel le choc se dégrade progressivement et s'auto-entretient : les mécanismes compensateurs ne sont plus suffisants (voire même peuvent être délétères) et les conséquences du choc sont à l'origine de nouvelles lésions. L'évolution conduit au décès si aucune mesure thérapeutique n'est mise en place.
- **Le choc irréversible**. Il s'agit du stade terminal. Les altérations physiologiques sont trop sévères, la progression est irréversible et le décès est inéluctable, même avec la mise en place de traitements, qui au mieux permettent une amélioration transitoire (figure 1).

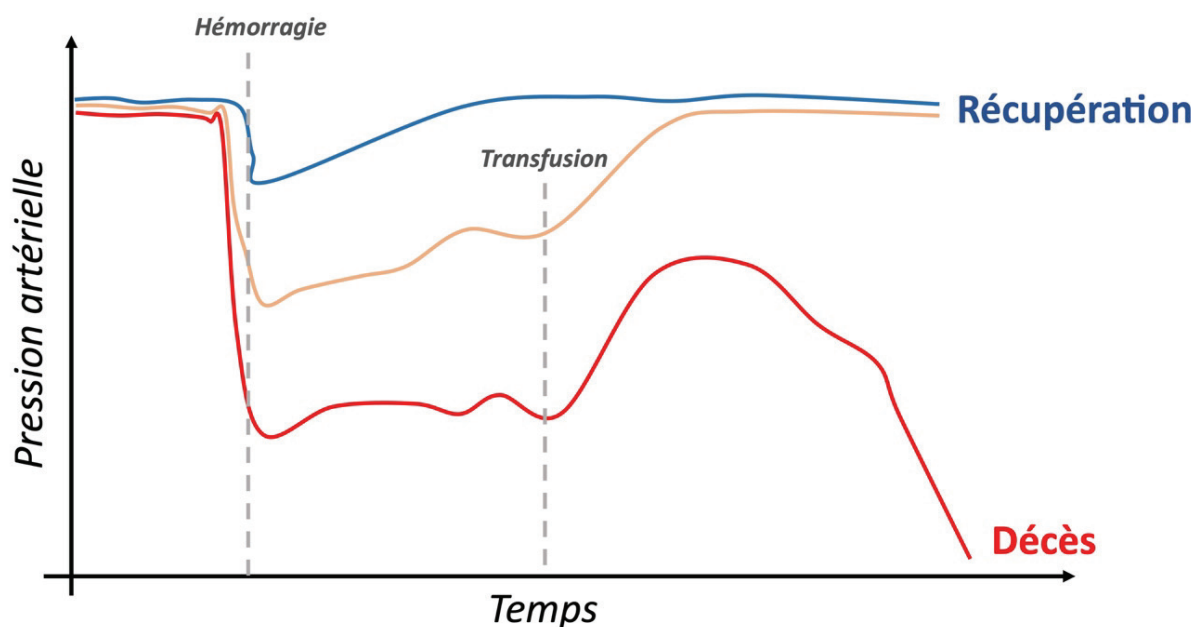


Figure 1: Illustration de l'évolution de la pression artérielle au cours du temps à différents stades de choc circulaire. D'après une étude expérimentale de choc hémorragique réalisée chez des chiens (d'après [10])

Cette approche conséquentialiste est soutenue par des études expérimentales^{35,36}. Elle souligne le point commun des différentes catégories citées ci-dessus : peu importe la cause, les évolutions sont assez similaires, suggérant l'importance de l'hypoperfusion tissulaire progressive et délétère.

C. Quelques données d'épidémiologie

Une étude danoise rapporte qu'un choc circulatoire est présent à l'admission chez 0,4 % des personnes admises en urgence dans un centre hospitalier. L'incidence des cas semble être en augmentation ces dernières années, avec des valeurs évoluant entre 40 et 80 personnes pour 100 000 consultations. Le taux de mortalité décrit à 7 jours est de 23,1 %, et de 40,7 % à 90 jours. La définition du choc utilisée par les auteurs est non consensuelle : une pression artérielle systolique (PAS) inférieure à 100 mmHg associée à une défaillance d'organe³⁷.

Dans une population de plus de 1600 patients hospitalisés en soins intensifs, 62 % présentent un choc septique, 16 % un choc cardiogénique, 16 % un choc hypovolémique, 4% un choc distributif non septique et 2 % un choc obstructif³⁸. Berg et al. rapportent une prévalence de 22 % de choc dans une population de 3049 patients hospitalisés dans une unité de soins intensifs cardiologiques. Parmi eux 66 % présentent un choc cardiogénique, 7 % un choc distributif, 3 % un choc hypovolémique, 4 % un choc d'origine inconnue et 20 % un choc complexe, associant différents types³⁹. Ces données soulignent l'importance des chocs mixtes : en effet, le choc septique souvent considéré comme un choc distributif, présente une physiopathologie complexe associant choc distributif, hypovolémique et cardiogénique⁴⁰.

En Europe et en Amérique du Nord, un choc septique est diagnostiqué chez 10 % des patients à l'admission en soins intensifs. Le taux de mortalité varie autour de 38 %⁴¹. Une méta-analyse mondiale rapporte que 24 % des chocs septiques se développent au cours de l'hospitalisation en réanimation et que 49 % d'entre eux sont d'origine nosocomiale⁴².

Le choc cardiogénique concerne 2 à 5 % des patients en insuffisance cardiaque aiguë. Il est présent chez 4 à 12 % des patients présentant un syndrome coronarien aigu. Il représente 14 à 16 % des patients hospitalisés en réanimation et est associé à un taux de mortalité à l'hôpital de 30 à 60 %⁴³.

Le choc hémorragique constitue la seconde cause de décès après l'atteinte du système nerveux central lors de traumatisme. Il est à l'origine de 30 à 40 % des décès et vient compliquer 25 % des traumatismes crâniens, augmentant ainsi le risque de décès⁴⁴.

En conclusion, on constate que les états de choc sont des affections fréquentes, qui concernent la grande majorité des patients hospitalisés en réanimation. L'augmentation des connaissances

concernant leur diagnostic et leur prise en charge semble essentielle pour permettre la réduction de la mortalité qui leur est associée.

III. Physiopathologie des états de choc

Comme nous l'avons vu, les chocs circulatoires sont des états dans lesquels les besoins métaboliques cellulaires ne sont pas satisfaits. Plusieurs mécanismes physiologiques peuvent en être à l'origine, comme présenté précédemment, cependant les mécanismes terminaux sont similaires avec la survenue de troubles de la perfusion tissulaire induisant une hypoxie cellulaire et des défaillances d'organes. Les lésions provoquées peuvent aggraver la défaillance hémodynamique, conduisant ainsi à l'installation d'un cercle vicieux délétère^{10,11,28}.

Dans une première partie nous aborderons les mécanismes généraux des différents types de chocs (en nous focalisant sur les chocs hypovolémiques, distributifs et cardiogéniques) afin de mieux comprendre l'origine des troubles de la perfusion tissulaire. Dans un second temps, nous détaillerons les mécanismes terminaux conduisant à l'apparition des défaillances d'organes.

A. Les altérations hémodynamiques : aux prémises des troubles de la perfusion tissulaire

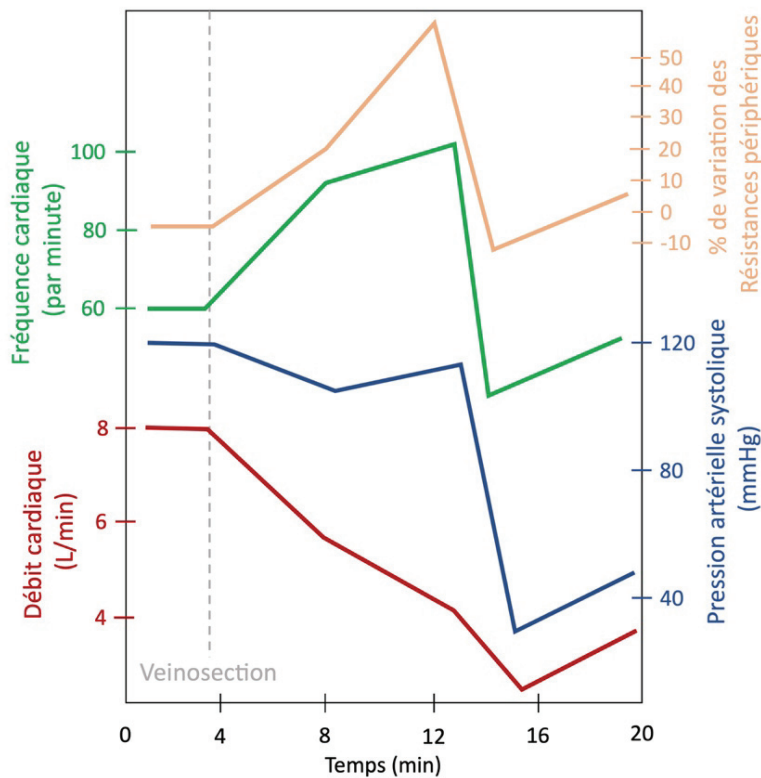
Nous disposons de beaucoup de données scientifiques concernant la physiopathologie des chocs hypovolémiques, et plus précisément celle des chocs hémorragiques, pour des raisons historiques d'une part (les premiers chocs étudiés concernaient des blessures de guerre), et des raisons pratiques, des modèles expérimentaux sont facilement réalisables^{1,2}. C'est pourquoi nous présenterons de manière approfondie la physiopathologie de ce dernier. Cette présentation permettra également de décrire des mécanismes adaptatifs que l'on retrouve également dans les autres types de chocs, dont nous préciserons plus tard les particularités.

1. Le choc hypovolémique

L'hypovolémie est une réduction du volume intravasculaire. Elle peut être secondaire à des pertes hémorragiques, des pertes de plasma, comme lors de la formation d'un troisième secteur ou

lors de brûlures sévères, et à des pertes hydriques (associées à des troubles digestifs ou à des pertes urinaires par exemple)^{10,45}. Beaucoup des connaissances dont nous disposons sont issues d'études expérimentales concernant le choc hémorragique^{10,46}.

La baisse du volume circulant est à l'origine d'une réduction de la pression de remplissage du ventricule gauche et donc d'une baisse du débit cardiaque. Dans un premier temps la pression



artérielle est préservée grâce à la mise en place de mécanismes compensateurs qui aboutissent à l'augmentation des résistances vasculaires périphériques. Dans un second temps la pression artérielle chute^{10,45,46} (généralement après une réduction aiguë de plus de 20 % du volume sanguin¹⁰) (figure 2).

Figure 2 : Évolution biphasique des paramètres hémodynamiques lors du choc hémorragique. D'après une étude expérimentale réalisée chez l'homme sur des personnes volontaires (d'après [46])

a. Les mécanismes adaptatifs

i. La vasoconstriction et la tachycardie réflexe

La baisse de la pression artérielle est détectée par les barorécepteurs de haute pression situés principalement dans le sinus carotidien, la crosse aortique ou dans certains territoires splanchniques, et par les volorécepteurs cardiopulmonaires. Ces derniers semblent jouer un rôle prépondérant dans la réponse adaptative chez l'homme, contrairement à d'autres mammifères⁴⁶. L'information nerveuse est alors transmise jusqu'au *nucleus solitarius* dans la moelle allongée activant ainsi le système nerveux sympathique (SNS) et inhibant le système nerveux parasympathique. Ce dernier est également activé par la voie de chemorécepteurs, en réponse à des variations de pH, de modifications de la composition sanguine en oxygène ou en gaz carbonique. Ainsi, les barorécepteurs, volorécepteurs et chimiorécepteurs participent tous trois au déclenchement d'une

vasoconstriction périphérique et d'une tachycardie, *via* la libération de catécholamines, qui vont permettre, dans un premier temps, le maintien de la pression artérielle^{10,46,47}.

La vasoconstriction des artères, et surtout des artérioles, est à l'origine d'une augmentation des résistances périphériques et de la pression artérielle. Elle affecte peu le débit sanguin (figure 2). En revanche, la veinoconstriction permet de mobiliser les réserves sanguines veineuses (le réseau veineux contenant 50 à 70 % du volume sanguin total), permettant ainsi d'améliorer le retour veineux et limite la chute du débit cardiaque^{10,46,47}. Lorsque la pression artérielle chute davantage et atteint un niveau critique, la réponse centrale à l'ischémie est enclenchée. Cette dernière correspond à l'activation extrême du SNS¹⁰.

Le SNS est à l'origine de la libération de noradrénaline directement au niveau des cellules musculaires vasculaires. Son activation va également induire le relargage, par les glandes surrénales, d'adrénaline et de noradrénaline dans la circulation sanguine (chez l'homme, environ 80 % d'adrénaline et 20 % de noradrénaline). Les catécholamines libérées dans le sang ont les mêmes effets sur les organes que celles déversées au niveau synaptique, cependant la durée d'action est 5 à 10 fois plus longue. La fixation des catécholamines sur les récepteurs α -adrénergiques vasculaires (principalement de type 1) est à l'origine de la vasoconstriction, alors que la fixation sur les récepteurs β_2 est à l'origine d'une vasodilatation (ces récepteurs sont principalement présents dans les artères coronaires, les muscles lisses et les muscles striés squelettiques). Dans le cœur, la fixation sur les récepteurs β -adrénergiques (principalement de type 1) est à l'origine d'une augmentation de la fréquence et de la contractilité cardiaques (effets chronotropes et inotropes positifs). Les catécholamines vont également agir sur les reins pour stimuler la synthèse de rénine^{10,48}.

La baisse de la pression artérielle est à l'origine de la libération de rénine par les cellules juxtaglomérulaires rénales *via* l'activation de barorécepteurs de l'appareil juxta-glomérulaire et *via* l'activation du SNS^{10,49}. La rénine permet la transformation de l'angiotensinogène en angiotensine II. Cette molécule présente des propriétés vasoconstrictrices puissantes mais de courte durée, son action a lieu principalement au niveau artériel¹⁰. En outre, il semble qu'elle favorise l'action des catécholamines^{10,46}.

Enfin, la vasopressine libérée par l'hypothalamus suite à son activation par les volo- et barorécepteurs, possède également des propriétés vasoconstrictrices lorsqu'elle se fixe sur ses récepteurs vasculaires (V1)¹⁰. Contrairement à l'angiotensine II, il ne semble pas que son rôle soit prépondérant dans la première phase de compensation (dite sympathico-excitatrice). Il semblerait en revanche qu'il soit plus important dans une phase plus avancée du choc (dite sympatho-inhibitrice)⁴⁶. Il semble néanmoins que l'action de la vasopressine dans la réponse au choc hypovolémique ne soit pas totalement élucidée¹⁰.

La vasoconstriction réflexe en réponse à la baisse de la volémie est un mécanisme compensateur essentiel. Elle permet de maintenir la pression artérielle en augmentant les résistances vasculaires et d'éviter une baisse trop importante du débit cardiaque en mobilisant les réserves sanguines veineuses. Il s'agit d'un mécanisme précoce qui met de l'ordre de quelques secondes à quelques minutes pour se mettre en place. La vascularisation de tous les organes n'est pas affectée de la même manière : en effets, quelques organes dont la fonction est vitale (ou plutôt qui présentent une activité métabolique soutenue), vont être « protégés » d'une vasoconstriction potentiellement délétère.

ii. La redistribution sanguine

L'hypovolémie est à l'origine de l'activation de plusieurs voies physiologiques induisant une vasoconstriction et donc la réduction potentielle du débit sanguin perfusant les organes. Néanmoins cette augmentation des résistances vasculaires n'est pas homogène dans l'organisme : on observe une redistribution sanguine privilégiant certains organes, au détriment d'autres qui sont alors hypoperfusés. La vasoconstriction concerne plus particulièrement le tube digestif, le pancréas, les muscles striés squelettiques et la peau. Le flux sanguin va ainsi être redistribué vers le cœur et le cerveau. La perfusion rénale est, quant à elle, maintenue (autorégulation rénale) lors de la première phase du choc puis va rapidement chuter lorsqu'une hypotension sévère survient. Cette redistribution sanguine permet d'optimiser la délivrance d'une quantité limitée d'oxygène dans l'organisme en augmentant son apport aux organes présentant des besoins importants⁵⁰⁻⁵².

Cette redistribution sanguine résulte de la balance entre l'activation de la vasoconstriction réflexe, une vasodilatation localisée liée à la régulation physiologique du flux sanguin régional et à certains mécanismes spécifiques d'organes.

- **Les mécanismes de la régulation locale de la perfusion tissulaire**

Dans l'organisme, la régulation locale de la perfusion tissulaire dépend, entre autres, du métabolisme du tissu et de la disponibilité en oxygène. L'hypoxie tissulaire est à l'origine d'une vasodilatation permettant une augmentation du flux sanguin local et donc un apport possible d'oxygène. Si les mécanismes sous-jacents ne sont pas complètement élucidés, plusieurs théories semblent apporter quelques explications.

- Les mécanismes dépendant de l'oxygène

La réduction de la pression partielle locale en oxygène secondaire à une hypoxémie, une hypoperfusion ou à une augmentation de la demande en oxygène est à l'origine d'une vasodilatation d'origine multifactorielle (figure 3).

La réduction de la pression partielle en oxygène induit la libération de molécules vasodilatatrices par les cellules parenchymateuses, la paroi vasculaire et les hématies (*vasodilator substance theory*¹⁰). Plusieurs molécules pourraient être impliquées comme l'adénosine, l'adénosine triphosphate (ATP), le potassium, les lactates, le CO₂, les prostaglandines, le monoxyde d'azote (NO)^{10,53,54} etc...

La vasodilatation pourrait être directement liée au manque d'oxygène (*nutriment demand theory*¹⁰) ou à l'absence d'autres nutriments, secondaires à l'hypoperfusion. En l'absence de ces éléments, les cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire ne pourraient se contracter et l'on observerait alors une relaxation artériolaire^{10,54}.

Il est également possible que la libération de substance vasodilatatrice ne soit pas déclenchée par la variation de la quantité locale d'oxygène. La modification du diamètre vasculaire serait alors secondaire à un effet de dilution : en cas d'hypoperfusion, la concentration des vasodilatateurs augmenterait déclenchant ainsi leur effet^{53da}.

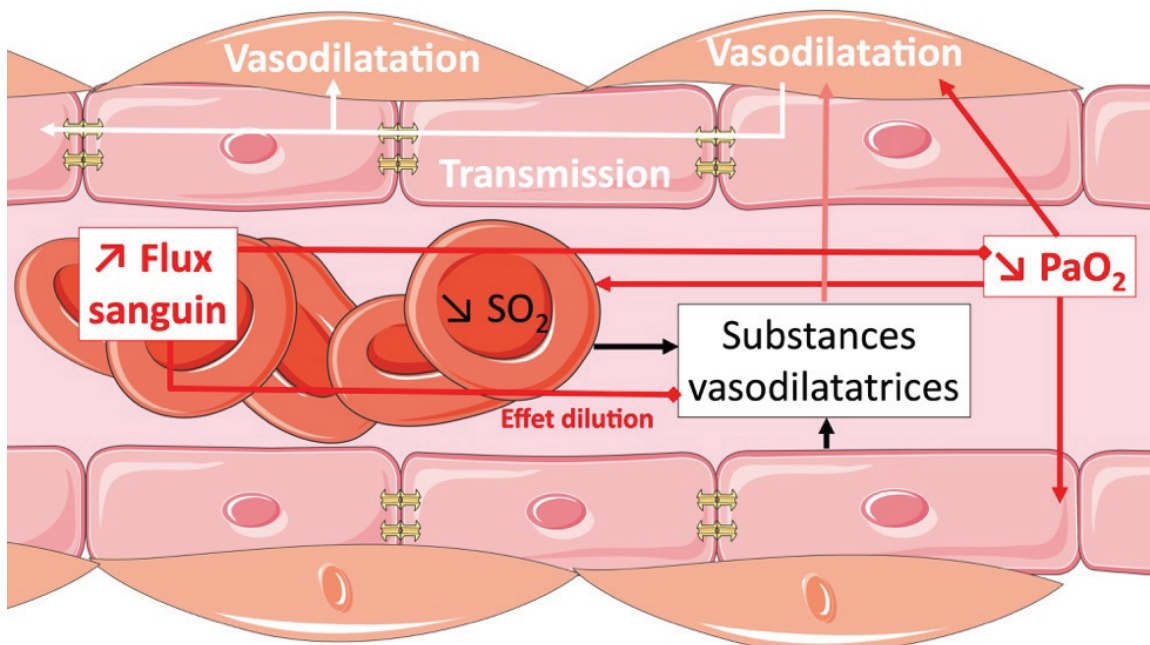


Figure 3 : Mécanismes de régulation du flux sanguin local en réponse à l'hypoxémie (les flèches normales représentent des activations, celles à bouts carrés des inhibitions)

- Les mécanismes dépendants des tensions pariétales

Lorsque la paroi vasculaire est distendue par le flux, une vasoconstriction d'origine myogénique est activée (*myogenic theory*¹⁰) : la distension est à l'origine d'une dépolarisation membranaire des cellules musculaires vasculaires déclenchant l'ouverture de canaux calciques et entraînant une augmentation de la concentration en calcium dans le cytoplasme à l'origine de la contraction⁵³.

Les variations de flux sont à l'origine de forces de cisaillement (appelées *shear stress*) détectées par les cellules endothéliales (notamment *via* le glycocalyx). Cette détection est à l'origine de la libération de molécules vasodilatatrices comme les prostacyclines et le NO^{10,53}.

Ces mécanismes sont essentiels dans la régulation physiologique du tonus musculaire lisse et dans l'autorégulation. Ils permettent de maintenir un débit sanguin local stable malgré des variations aiguës de la pression artérielle⁵⁵.

- Les communications cellulaires

La transmission de la vasodilatation ou de la vasoconstriction s'effectue de cellule endothéliale en cellule endothéliale *via* le par le passage d'une dépolarisation membranaire rendue possible par les jonctions gap qui les relient (figure 3). Cette conduction peut être modulée par le système nerveux sympathique. Cette transmission de l'information est un mécanisme prépondérant dans la régulation du tonus vasomoteur^{56,57}.

- **La perfusion des « organes vitaux »**

Les organes dit « vitaux » sont surtout des organes au métabolisme très important. Cette forte consommation d'oxygène est à l'origine du déclenchement d'une vasodilatation locale, comme présenté ci-dessus. Cette dernière va venir contrecarrer les effets vasoconstricteurs systémiques initiés par l'état de choc, permettant ainsi de maintenir l'apport de sang à ces organes.

Lors de choc, la fréquence et la contractilité du myocarde augmentent, induisant ainsi une hausse de la consommation d'ATP et la libération d'adénosine. Il semble que cette molécule vasodilatatrice joue un rôle clef dans la régulation des résistances coronariennes. D'autres molécules vasodilatatrices sont également impliquées : le potassium, la bradykinine, le CO₂, les ions hydrogène etc^{58,59}. Il serait également possible que cette vasodilatation soit associée à une réduction de la libération de molécules vasoconstrictrices comme l'endothéline et l'angiotensine II⁵⁹. Outre les mécanismes déjà évoqués, d'autres vont également intervenir dans la régulation du flux sanguin cérébral comme le pH, la quantité de CO₂ ou la libération de médiateurs par les astrocytes¹⁰. Les reins possèdent également un mécanisme d'autorégulation spécifique : le rétrocontrôle

tubuloglomérulaire. En bref, une hypoperfusion rénale est à l'origine d'une réduction de débit de filtration glomérulaire et donc d'un ralentissement du flux de l'urine primitive dans l'anse de Henlé. Ce ralentissement induit une augmentation de la réabsorption du sodium. La baisse de concentration du sodium est détectée par les cellules de la *macula densa* du tubule distal, ce qui active une vasodilatation de l'artériole afférente et une vasoconstriction de l'artériole efférente. La résultante étant un maintien du débit de filtration glomérulaire¹⁰.

- **L'hypoperfusion des organes « non vitaux »**

Dans de nombreux tissus dont l'activité métabolique est moins intense que celle du cœur, du cerveau ou des reins comme les muscles, la peau ou le tube digestif, la vasoconstriction est à l'origine d'une hypoperfusion^{50,58}. Ce sont notamment des signes cliniques d'hypoperfusion de la peau qui vont être utilisés pour le diagnostic du choc.

Si ce mécanisme de redistribution peut être protecteur dans un premier temps et pour des états de choc peu sévères, il va être à l'origine d'une ischémie qui va s'avérer délétère au cours de l'évolution du choc hypovolémique, comme nous le présenterons plus tard.

iii. La compensation des pertes

L'angiotensine II libérée lors d'une hypovolémie favorise la rétention sodique rénale, réduisant ainsi les pertes d'eau. Cette dernière va agir directement sur les cellules tubulaires rénales pour activer la réabsorption de sodium et dans un même temps déclenche la synthèse d'aldostérone par les glandes surrénales, laquelle permet la réabsorption de sodium¹⁰. La fixation de la vasopressine aux récepteurs V2 rénaux est à l'origine d'une augmentation du nombre d'aquaporines 2 dans la paroi des tubules, permettant ainsi la réabsorption osmotique de l'eau présente dans l'urine primitive^{10,45}. L'angiotensine II et d'autres molécules comme le NO vont également être à l'origine d'une augmentation de la soif et de l'appétit pour les produits salés⁶⁰. L'ensemble de ces mécanismes va permettre de compenser les pertes volumiques *via* la réabsorption d'eau dans les reins, le tube digestif et par des modifications comportementales permettant une augmentation de l'apport exogène. Ces mécanismes sont plus tardifs que ceux décrits précédemment : la compensation des pertes demande plusieurs heures à plusieurs jours pour être effective¹⁰.

L'ensemble de ces mécanismes, résumés dans la figure 4, peut permettre de compenser totalement ou partiellement une hypovolémie. Le rétablissement des patients a parfois lieu sans intervention médicale (si les pertes sont faibles : < 10%). En revanche, pour des pertes plus

importantes, l'activation des mécanismes physiologiques compensateurs est insuffisante et une intervention médicale est requise. Lorsque 30 à 50 % du volume sanguin est perdu, une vasodilatation et une bradycardie paradoxale peuvent être observées (phase dite sympatho-inhibitrice). L'inhibition sympathique aurait très probablement une origine centrale et pourrait être secondaire à une hyperactivation des récepteurs α_2 adrénergiques présynaptiques par la grande quantité de catécholamines circulantes, à une baisse de la perfusion cérébrale ou encore à une boucle reflexe vago-vagale initiée par l'activation de mécanorécepteurs intracardiaques^{10,46}. Ces derniers seraient activés lorsque le volume télésystolique devient pratiquement nul, enclenchant ainsi une bradycardie permettant une amélioration du remplissage cardiaque⁴⁶. Ainsi les mécanismes adaptatifs, et certaines lésions qu'ils provoquent, peuvent être délétères et participer à la progression du choc⁵⁸.

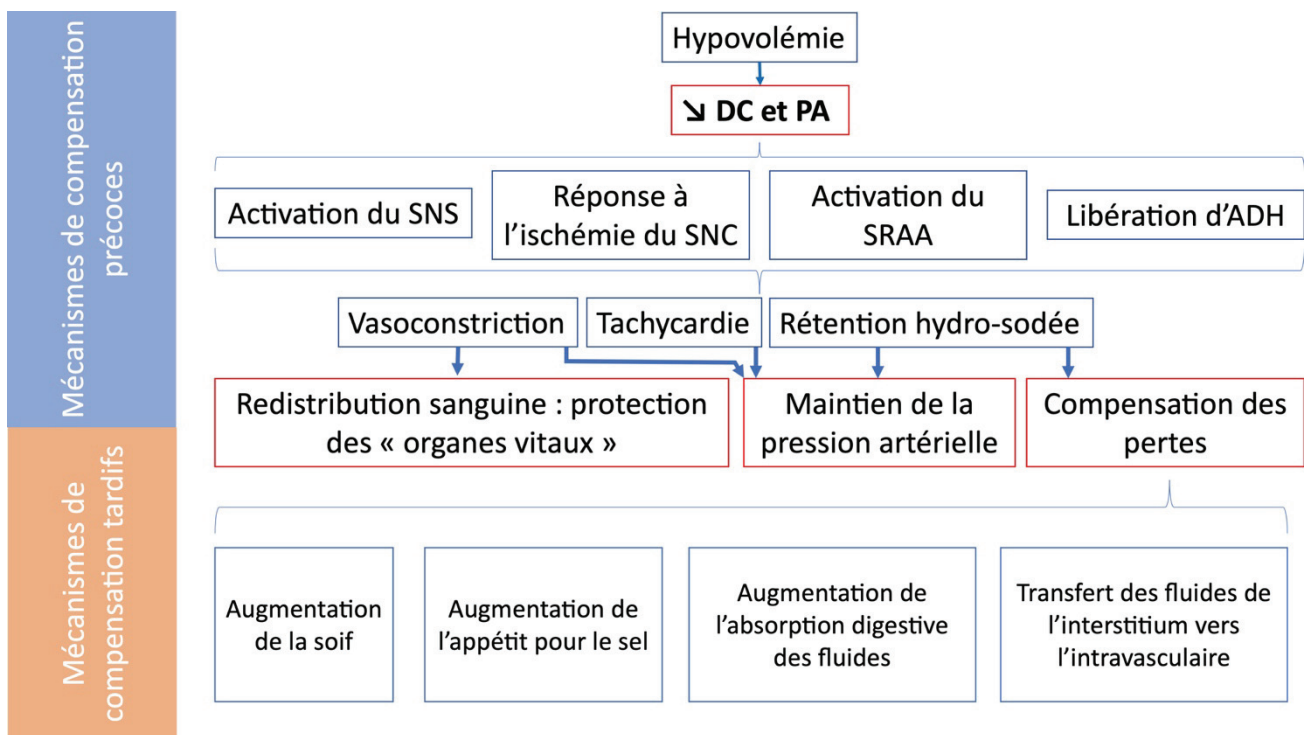


Figure 4 : Les mécanismes physiologiques de réponse à l'hypovolémie (SNS : système nerveux sympathique, SNC : système nerveux central, SRAA : système rénine-angiotensine-aldostérone, ADH : hormone antidiurétique ou vasopressine)

b. Le choc progressif et les mécanismes de détérioration

L'intensité des pertes volumiques, mais également la durée d'exposition à l'hypovolémie, sont des paramètres qui vont conditionner la progression du choc vers des stades plus avancés. L'hypovolémie *stricto sensu*, les défaillances cardiovasculaires associées mais également les mécanismes homéostatiques qu'elle déclenche vont être à l'origine d'une ischémie tissulaire. Suite

au déséquilibre entre la distribution de l'oxygène et sa consommation qui survient dans l'organisme, les cellules changent de fonctionnement et adoptent un métabolisme anaérobie, moins performant conduisant à une réduction de la production d'ATP. De nombreuses molécules commencent à s'accumuler : acide lactique, phosphates inorganiques, radicaux libres. Des cellules vont être endommagées et vont ainsi libérer des motifs moléculaires associés aux dégâts ou MMAD (*DAMPS* pour *damage-associated molecular pattern*) comme de l'ADN mitochondrial ou différents types de peptides, déclenchant ainsi un syndrome inflammatoire systémique. Ces éléments vont provoquer la mort de cellules *via* l'activation de différentes voies (nécrose, apoptose ou nécroptose). Un véritable cercle vicieux et un effet d'emballement se mettent en place : le choc aggrave le choc^{10,61}.

De nombreux organes vont être progressivement concernés par des défaillances, notamment ceux concernés par la vasoconstriction réflexe. Au niveau digestif, l'hypoperfusion est à l'origine d'une perte de perméabilité de la barrière digestive, par destruction de l'épithélium digestif, et ainsi d'une augmentation de la translocation d'éléments intestinaux intra-luminaux, notamment d'origine bactérienne (voire des bactéries intestinales entières). De la même manière que les MMAD, ces motifs moléculaires associés aux pathogènes ou MMAP (*PAMPS* pour *pathogen-associated molecular pattern*) sont à l'origine d'un syndrome inflammatoire (qu'on qualifiera de sepsis d'origine intestinale).

L'hypoxie concerne également le foie et réduit son fonctionnement et par là même, ses capacités de détoxification. Les cellules de Kupffer ne peuvent notamment plus éliminer les éléments sanguins d'origine digestive (bactérie, endotoxines, enzymes protéolytiques, acides biliaires etc...) et vont en plus libérer de nombreuses cytokines, participant ainsi à la mise en place du syndrome inflammatoire^{10,62}.

L'hypoperfusion pancréatique aboutit à une autodigestion des cellules acineuses pancréatiques et à la libération d'enzymes pancréatiques dans la circulation sanguine et dans la lumière intestinale. Ces enzymes semblent participer à la perméabilisation de la barrière digestive en dégradant le mucus présent à la surface de l'épithélium et les jonctions serrées intercellulaires^{50,62}.

L'infiltration, dans la paroi du tube digestif, de nombreuses cellules inflammatoires (dont des polynucléaires neutrophiles) à l'origine de la libération de grandes quantités de cytokines pourrait également être à l'origine du syndrome inflammatoire systémique⁶³.

Ce syndrome inflammatoire peut être à l'origine d'une vasodilatation (choc distributif) et d'une défaillance myocardique (choc cardiogénique) et conduire dans les cas les plus sévères à un véritable choc septique associé à un syndrome de défaillance multi-organique (SDMO)⁶¹. Outre ce syndrome inflammatoire, la vasodilatation va également être provoquée par l'inhibition du système

nerveux sympathique et l'hypoperfusion de la paroi des artères. De même, la dysfonction myocardique est également liée à la réduction des réserves de molécules phosphatées hautement énergétiques (créatine phosphate, ATP, ADP...) induite par l'hypofusion coronarienne. Il semble que la dégradation de la fonction cardiaque soit un des mécanismes prépondérant de la progression vers un état de choc irréversible¹⁰.

Les altérations du flux sanguin, la dégradation tissulaire, l'altération de l'endothélium vasculaire et l'acidémie sanguine favorisent l'apparition d'anomalies microcirculatoires incluant une augmentation de la perméabilité capillaire pouvant conduire à la formation d'œdèmes aggravant l'hypovolémie¹⁰.

En plus des lésions secondaires à l'hypovolémie et aux phénomènes compensateurs mis en jeu, la prise en charge thérapeutique, *via* l'administration de fluides intraveineux par exemple, peut également participer à la progression du choc, notamment par la libération de molécules pro-inflammatoires faisant suite au syndrome d'ischémie-reperfusion^{45,61}.

On observe une fréquence particulièrement élevée d'infections chez les patients en choc hémorragique, et particulièrement lors de polytraumatismes graves. Ces infections sont très probablement d'origine multifactorielle. Il est fort probable qu'elles soient favorisées par la présence d'une immunodépression secondaire au choc (immunoparalysie) : des dysfonctions macrophagiques et lymphocytaires ainsi que la production de cytokines anti-inflammatoires ont été rapportées chez des patients en choc hémorragique⁶⁴.

Comme présenté ci-dessus, la progression du choc résulte de très nombreuses interactions et de l'installation d'un cercle vicieux. La figure 5 tente d'en réaliser une synthèse. Elle souligne également les intrications qui existent entre les différents mécanismes primitifs des chocs : le choc hypovolémique progressant peut se compliquer d'un choc distributif, cardiogénique voire d'un véritable choc septique.

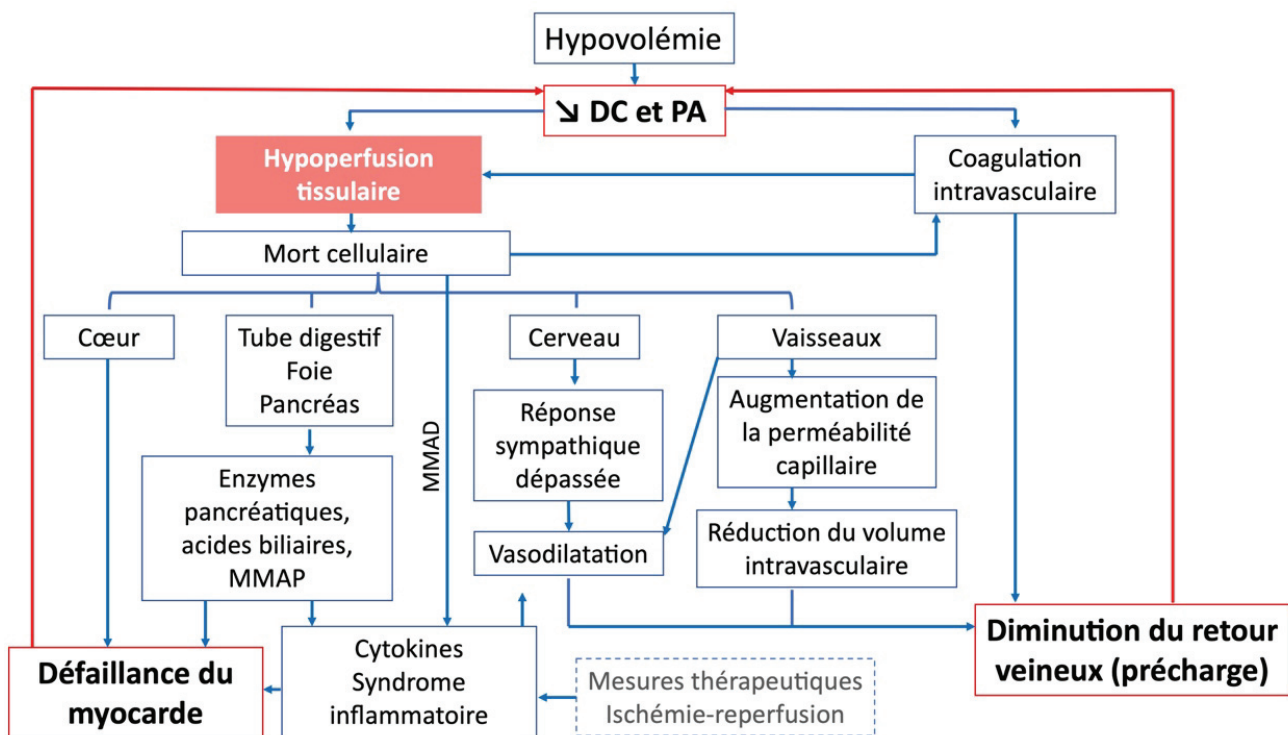


Figure 5 : Physiopathologie de la progression du choc hypovolémique (DC : débit cardiaque, PA : pression artérielle, MMAD : motifs moléculaires associés au dommages, MMAP : motifs moléculaires associés aux pathogènes)

2. Le choc distributif

Le choc distributif ou vasoplégique est un trouble de la perfusion tissulaire lié à une mauvaise distribution sanguine dans un contexte où le débit cardiaque n'est pas forcément altéré. Il est caractérisé par une vasodilatation à l'origine d'une hypotension et d'une augmentation de la perméabilité capillaire. La vasodilatation est le reflet d'un dysfonctionnement des cellules musculaires lisses vasculaires d'origine multifactorielle.

a. La reconnaissance hôte-pathogène

Un choc distributif peut être la complication de nombreuses situations : un sepsis, des brûlures sévères, une pancréatite, un traumatisme ou encore une chirurgie et notamment les chirurgies cardiaques. Il peut également apparaître au cours de l'évolution d'un choc hypovolémique et notamment lors de choc hémorragique de stade avancé, comme présenté dans la partie précédente. Dans tous ces cas, le choc semble apparaître à la suite d'un syndrome inflammatoire déclenché par la reconnaissance par l'organisme de motifs particuliers : les MMAP et les MMAD³³.

Lors de ces affections, des MMAP comme des lipopolysaccharides (LPS), des polypeptides, des acides nucléiques d'origine microbienne, ou des MMAD comme l'ADN ou des protéines d'origine intrinsèque, vont être libérés dans l'organisme. Suite à leur fixation sur différents types de récepteurs cellulaires membranaires ou cytoplasmiques (i.e. *Toll Like Receptors*, *Nod Like Receptors*...), ces molécules vont être à l'origine d'une activation de la réponse immunitaire innée. De nombreuses cellules vont participer à la réponse inflammatoire : des cellules immunitaires comme les polynucléaires neutrophiles, les macrophages, les cellules dendritiques etc, mais également des cellules non-immunitaires comme les cellules endothéliales, épithéliales et les fibroblastes. Suite à cette activation de nombreuses cytokines pro-inflammatoires (mais aussi anti-inflammatoires) et des chémokines sont synthétisées. Cette activation est également à l'origine d'une activation endothéliale et plaquettaire induisant un état d'hypercoagulabilité^{65,66}.

Les molécules synthétisées suite à la reconnaissance des MMAP/MMAD, les substances libérées au cours de l'évolution du choc, comme l'acide lactique, sont les points de départ des voies métaboliques conduisant à la vasoplégie (et en seront également le fruit).

b. La vasoplégie

Les concentrations plasmatiques élevées en catécholamines observées lors de chocs distributifs et l'activation du système rénine angiotensine montrent que la vasoplégie observée au cours des chocs distributifs semble secondaire à une défaillance contractile des cellules musculaires vasculaires. Si la diversité des causes de chocs distributifs est associée à une diversité de processus, il semble néanmoins qu'il existe des mécanismes communs à l'ensemble. Avant de les détailler, nous décrirons rapidement les bases du contrôle physiologique du tonus vasculaire.

i. Le fonctionnement des cellules musculaires vasculaires

La media des veines et des artères est composée principalement de cellules musculaires lisses dont la contraction et la relaxation permettent la modification du diamètre et donc des résistances vasculaires. Ces cellules présentent un état de contraction basal permettant le maintien d'un tonus vasculaire. Si la vasoconstriction est un processus actif, la vasodilatation au contraire correspond au relâchement du tonus vasculaire basal. L'état de contraction ou de relaxation de ces cellules dépend principalement de la quantité de calcium (Ca^{2+}) présent dans leur cytoplasme et de l'état de sensibilité au calcium des cellules (figure 6). Lorsque la concentration de Ca^{2+} cytoplasmique est élevée, le calcium forme un complexe avec la calmoduline qui active la phosphorylation de la

myosine permettant la vasoconstriction via la formation de ponts actine-myosine. La vasodilatation est due à la réduction de la concentration de Ca^{2+} par recaptage de ce dernier par le réticulum sarcoplasmique, l'expulsion vers le milieu extracellulaire et la fermeture des canaux calciques voltage dépendants permettant son entrée dans la cellule. La concentration en Ca^{2+} est régulé par de nombreux mécanismes intrinsèques et extrinsèques.

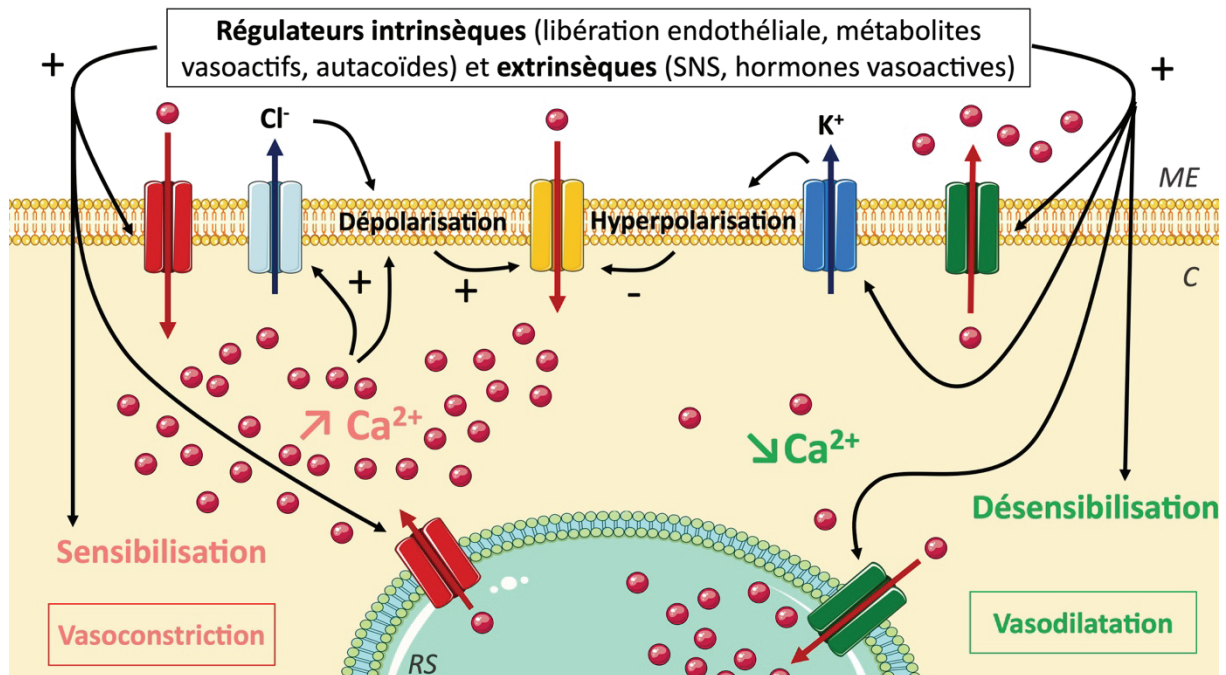


Figure 6 : Les voies de régulation du tonus vasculaire (SNS : système nerveux sympathique, ME : milieu extracellulaire, C : cytoplasme, RS : réticulum sarcoplasmique, les billes rouges représentent des ions calciques)

Parmi les régulateurs intrinsèques on retrouve des substances d'origine endothéliale comme le NO, les prostacyclines ou les endothélines, des métabolites vasoactifs, la pression partielle en oxygène (comme expliqué précédemment) et des autacoïdes comme la sérotonine, les prostaglandines et le thromboxane A2. La régulation extrinsèque a lieu principalement via le SNS et la libération d'hormones vasoactives comme les catécholamines, l'angiotensine II et la vasopressine. La différence de potentiel membranaire a une importance capitale dans la régulation de la quantité de calcium cytosolique. La présence d'une dépolarisation est à l'origine d'une ouverture de canaux calciques voltage dépendants permettant l'entrée de Ca^{2+} et la vasoconstriction. Physiologiquement la membrane des cellules musculaires présente une dépolarisation, permettant l'entrée continue d'une quantité basale de calcium participant ainsi au maintien du tonus basal. Une hyperpolarisation va au contraire induire une fermeture de ces canaux

empêchant ainsi l'entrée de calcium dans la cellule qui a lieu de manière physiologique pour le maintien du tonus vasculaire induisant ainsi la survenue d'une vasodilatation^{55,67,68}.

ii. Les troubles de la régulation intrinsèque

• La surproduction de NO et la libération de radicaux libres

Le NO est produit dans l'organisme par trois enzymes : la eNOS (NO synthase endothéliale) et la nNOS (NO synthase neuronale) sont des enzymes constitutives alors que la iNOS (NO synthase inductible) n'est pas exprimée physiologiquement. Le rôle du NO dans les états de choc a été mis en évidence expérimentalement suite à l'administration de LPS, de cytokines ou lors d'hémorragies : il a été montré que l'administration d'inhibiteurs des NOS permettait une correction de l'hypotension⁶⁹.

De nombreuses cytokines, MMAP et MMAD induisent une activation de la eNOS et une augmentation de la synthèse de la iNOS à l'origine d'une surproduction massive de NO par les cellules endothéliales, les cellules musculaires vasculaires et de nombreuses cellules immunitaires. Le NO est un acteur majeur de la vasoplégie^{33,68,69}. Il va être à l'origine d'une relaxation des cellules musculaires vasculaires et donc une vasodilatation par de nombreuses voies métaboliques (figure 7)^{69,70} : le NO active la guanylate cyclase permettant l'augmentation de la concentration en guanosine monophosphate cyclique (GMPc) cytoplasmique des cellules musculaires vasculaires et l'activation de protéines kinases. Ces dernières vont activer la déphosphorylation de la myosine et cibler plusieurs canaux permettant ainsi la réduction de la concentration en calcium. Le NO active également les canaux potassiques permettant une hyperpolarisation membranaire réduisant l'entrée du calcium dans les cellules. Outre une vasodilatation, cette hyperpolarisation va aussi être à l'origine d'une résistance des cellules à l'action vasoconstrictrice des catécholamines⁶⁸. Une partie du NO produit est oxydée rapidement en nitrites et nitrates. Une autre partie est liée aux protéines comme l'albumine et l'hémoglobine par S-nitrosylation. Ces molécules permettent le stockage et le transport du NO, qui pourra ainsi agir à distance dans l'organisme (action endocrine), notamment dans les territoires qui nécessitent une vasodilatation suite à une hypoxie (figure 3).

La phosphorylation de la eNOS induit son découplage, la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et le dysfonctionnement des mitochondries. L'anion superoxyde réagit avec le NO pour former du peroxy-nitrite, un puissant oxydant qui provoque des lésions cellulaires et l'activation du recaptage du calcium par le réticulum sarcoplasmique participant ainsi à l'induction d'une vasodilatation. La production de ROS est également à l'origine d'une désactivation des catécholamines et de lésions cellulaires^{33,69,71}.

L'action du NO n'est pas seulement délétère. Physiologiquement il participe à de nombreuses réactions homéostatiques, notamment dans la régulation du tonus vasculaire et du flux sanguin local pour répondre aux besoins métaboliques des tissus. Dans les états de choc, d'autres de ses propriétés peuvent être utiles à l'organisme telle l'inhibition de l'agrégation plaquettaire, de l'adhésion leucocytaire, de l'apoptose etc⁶⁹...

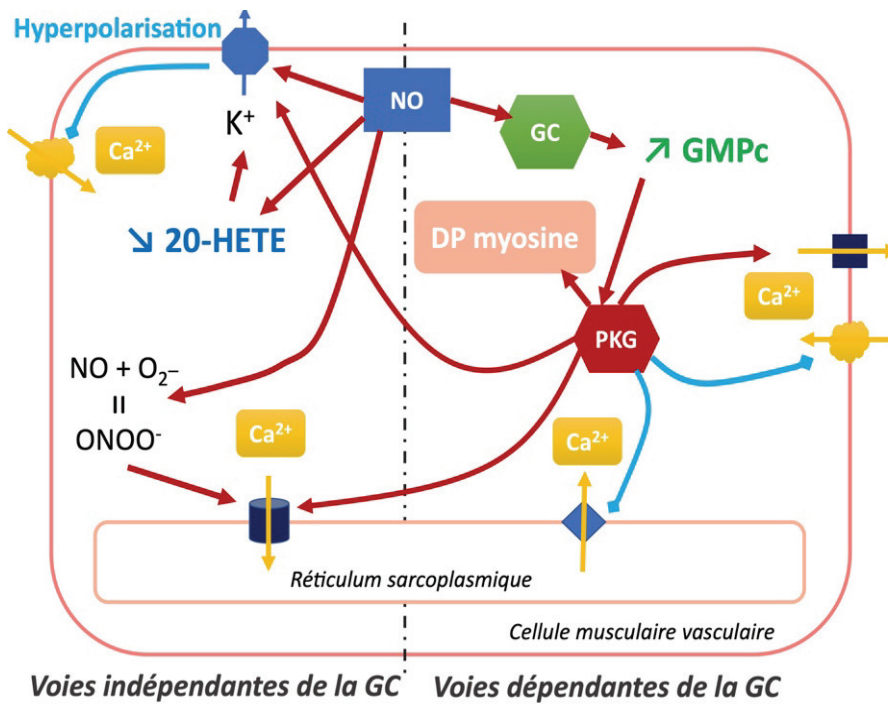


Figure 7 : Les voies métaboliques activées par le monoxyde d'azote à l'origine d'une vasodilatation. La vasodilatation est rendue possible par la réduction de la quantité de calcium cytoplasmique liée à l'activation de l'efflux, du recaptage par le réticulum sarcoplasmique et par l'inhibition de son entrée dans la cellule. La réduction du calcium cellulaire et l'activation de protéines kinases est à l'origine d'une déphosphorylation de la myosine et ainsi de la vasodilatation. Les flèches rouges correspondent à des activations, les flèches bleues à des inhibitions, DP myosine : déphosphorylation de la myosine, GC : guanylate cyclase, GMPc : Guanosine monophosphate cyclique, NO : monoxyde d'azote, PKG : protéine kinase dépendante de la GMPc (d'après [69, 70])

- **L'activation des canaux potassiques**

Comme évoqué précédemment, la différence de potentiel membranaire des cellules musculaires vasculaires joue un rôle important dans la régulation du tonus vasculaire en modifiant l'ouverture des canaux calciques voltage dépendants. Une sur-activation des canaux potassiques est à l'origine d'une sortie de potassium hors de la cellule et d'une hyperpolarisation membranaire qui induit la fermeture des canaux calciques voltage dépendants. Le calcium ne pouvant plus entrer dans la cellule, cette dernière se relâche et devient insensible aux stimulation vasoconstrictrices (catécholamines etc...). Ainsi, l'activation des canaux potassiques au niveau des artérioles semble être un des mécanismes prépondérants de l'hypotension observée au cours du choc distributif. De nombreux stimuli peuvent activer les canaux calciques telle la diminution de la quantité d'ATP et l'augmentation des ions hydrogène ou des lactates. Comme présenté précédemment, la production de NO participe également à leur activation^{33,68}.

- **D'autres substances produites par l'endothélium**

De nombreux médiateurs de l'inflammation peuvent être à l'origine d'une activation de la cyclooxygénase 2 induisant une augmentation de la production de prostacycline (PGI_2)^{33,72,73}. Comme le NO, la PGI_2 induit une vasodilatation *via* l'activation de nombreuses voies métaboliques (figure 8) : elle active l'adénylate cyclase ce qui augmente la concentration d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) dans la cellule et active des protéines kinases dépendantes de l'AMPc. Ces dernières permettent l'ouverture des canaux potassiques, induisant une hyperpolarisation membranaire et inhibant l'entrée de calcium. Elles vont également stimuler l'efflux de calcium et le recaptage par le réticulum sarcoplasmique. Elles déphosphorylent la myosine directement et par l'intermédiaire de la réduction de la concentration calcique cytosolique. En outre il existe des interactions étroites entre le NO et la PGI_2 : la PGI_2 favorise la synthèse de NO par les cellules endothéliales, son action est potentialisée par le NO puisque l'augmentation du GMPc qu'il induit inhibe la phosphodiesterase qui dégrade l'AMPc, prolongeant ainsi la demi-vie du second messenger de la PGI_2 ^{72,73}.

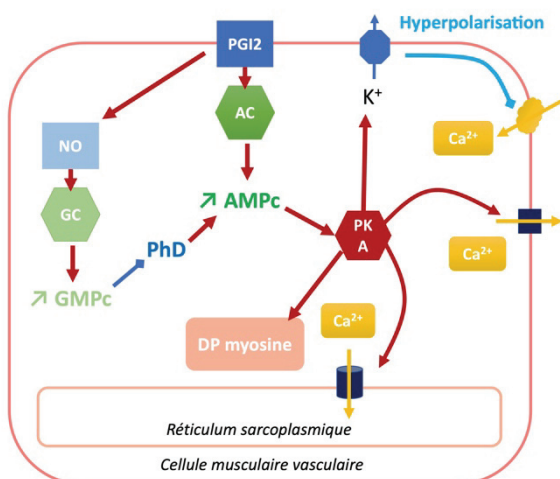


Figure 8 : Les voies métaboliques activées par le monoxyde d'azote à l'origine d'une vasodilatation. La vasodilatation est rendue possible par la réduction de la quantité de calcium cytoplasmique liée à l'activation de l'efflux, du recaptage par le réticulum sarcoplasmique et par l'inhibition de son entrée dans la cellule. La réduction du calcium cellulaire et l'activation de protéines kinases est à l'origine d'une déphosphorylation de la myosine et ainsi de la vasodilatation. Les flèches rouges correspondent à des activations, les flèches bleues à des inhibitions, DP myosine : déphosphorylation de la myosine, GC : guanylate cyclase, GMPc : Guanosine monophosphate cyclique, NO : monoxyde d'azote, PKG : protéine kinase dépendante de la GMPc.

iii. Les troubles de la régulation extrinsèque

- **La déficience en vasopressine**

La concentration de la vasopressine augmente fortement dans les premières heures du choc puis chute rapidement après 24h dans le cas du choc septique^{33,68}. Cette chute est probablement induite par un épuisement des stocks lié à une stimulation prolongée du baroréflexe. Un des arguments en faveur du rôle de la déficience en vasopressine endogène dans la physiopathologie du choc distributif est l'observation d'une réponse importante après administration de vasopressine

exogène chez des patients en choc, alors que ces derniers présentent une résistance aux autres vasopresseurs. Cette sensibilité particulière pourrait s'expliquer de différentes manières : premièrement, la concentration plasmatique en vasopressine endogène étant basse, les récepteurs vasculaires sont plus disponibles pour les molécules exogènes administrées ; deuxièmement, cette molécule potentialise l'effet de la noradrénaline, présente en grande quantité chez les patients en choc ; troisièmement, la vasopressine inactive les canaux potassiques qui semblent fortement impliqués dans la vasodilatation ; enfin, elle bloque l'augmentation de GMPc induite par le NO et inhibe la synthèse de iNOS⁶⁸.

- **L'insuffisance corticostéroïdienne**

Il est possible qu'une insuffisance corticostéroïdienne apparaisse au cours du choc. Elle pourrait être secondaire à un dysfonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire, des glandes surrénales ou liée à une résistance périphérique aux corticostéroïdes. Physiologiquement, des récepteurs sont présents au niveau de l'endothélium et des cellules musculaires vasculaires. Leur activation potentialise la réponse aux catécholamines et à l'angiotensine II. Ainsi, l'insuffisance corticostéroïdienne pourrait exacerber la dysfonction vasculaire³³.

- **La réduction du nombre de récepteurs adrénergiques**

Déjà évoquée à plusieurs reprises précédemment, la résistance aux catécholamines circulantes semble jouer un rôle important dans le maintien de la vasoplégie. Cette résistance est très probablement d'origine multifactorielle. Outre les mécanismes évoqués précédemment, il semble que la quantité de récepteurs adrénergiques chute au cours de l'évolution du choc distributif³³.

c. Hypotension, défaillance cardiaque et redistribution sanguine

La vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité capillaire sont à l'origine d'une hypovolémie (vraie et relative) et ainsi d'une hypotension. Cette hypotension induit une activation du baroréflexe et peut ainsi être compensée par une augmentation du débit cardiaque, on parle alors de profil hyperdynamique. Néanmoins cette compensation n'est pas toujours observée, notamment en présence d'une réelle hypovolémie ou lorsque le myocarde est dysfonctionnel (suite à un déficit énergétique, à une dysfonction adrénergique ou à l'action du NO et de médiateurs de l'inflammation). Il est possible également que les variations de réponse du débit cardiaque observées dépendent de la nature des territoires vasodilatés : Weil, dans sa classification, décrit des chocs distributifs à basse résistance, associés classiquement à une augmentation du débit cardiaque,

et les chocs distributifs à haute résistance, haute capacitance veineuse et bas débit cardiaque. Les premiers tendant à évoluer vers les seconds³⁴.

L'hypotension est à l'origine d'une activation réflexe du SNS et du système rénine-angiotensine-aldostérone, comme évoqué lors du choc hypovolémique. Cette activation du SNS peut permettre l'augmentation du débit cardiaque par stimulation adrénergique directe mais l'action vasoconstrictrice est très difficile à décrire puisque des mécanismes vasodilatateurs sont concomitamment mis à l'œuvre^{47,74-76}.

A ce stade il est très difficile de présenter un tableau physiopathologique type, puisqu'on se trouve dans un système extrêmement complexe avec de très nombreuses interactions. La perfusion tissulaire est très probablement hétérogène avec des territoires vasodilatés et d'autres vasoconstrictés. La vasodilatation de certains territoires et la vasoconstriction d'autres favorisent la formation de shunts artérioveineux participant à la mauvaise distribution du flux sanguin et à un déficit de perfusion de certains territoires²⁸. Can Ince a développé l'idée du shunt lors du sepsis (*shunting theory of sepsis*) mais en se focalisant uniquement sur le rôle de la vasoconstriction dans la formation de shunts⁷⁷.

La redistribution sanguine assez stéréotypée observée dans le choc hypovolémique n'est pas toujours retrouvée : les études expérimentales apportent des informations très différentes en fonction des modèles utilisés. On observe cependant une distribution sanguine inadéquate avec des territoires hyperperfusés et d'autres hypoperfusés. Cette hétérogénéité de perfusion, parfois présente au sein d'un même organe, est à l'origine d'une mauvaise distribution de l'oxygène. Au niveau des territoires splanchniques l'ischémie peut participer à l'entretien du syndrome inflammatoire comme lors du choc hypovolémique^{50,78}.

La physiopathologie des troubles de la perfusion tissulaire sont complexes et ne dépendent pas seulement de l'activation du SNS. De très nombreux mécanismes sont impliqués au niveau microcirculatoire. Nous les aborderons plus en détail dans une prochaine partie.

La physiopathologie du choc distributif est très complexe, nous avons tenté d'en faire une synthèse dans la figure 9. Elle fait intervenir une vasodilatation secondaire à un dysfonctionnement des cellules musculaires vasculaires et à l'installation d'une résistance aux agents vasoconstricteurs. Cette vasodilatation peut être à l'origine d'une hypotension, notamment quand elle s'associe à d'autres troubles cardiovasculaires comme une hypovolémie et une défaillance myocardique. La mise en place de mécanismes compensateurs de l'hypotension et le syndrome inflammatoire vont être à l'origine, *in fine*, de troubles de la perfusion tissulaire.

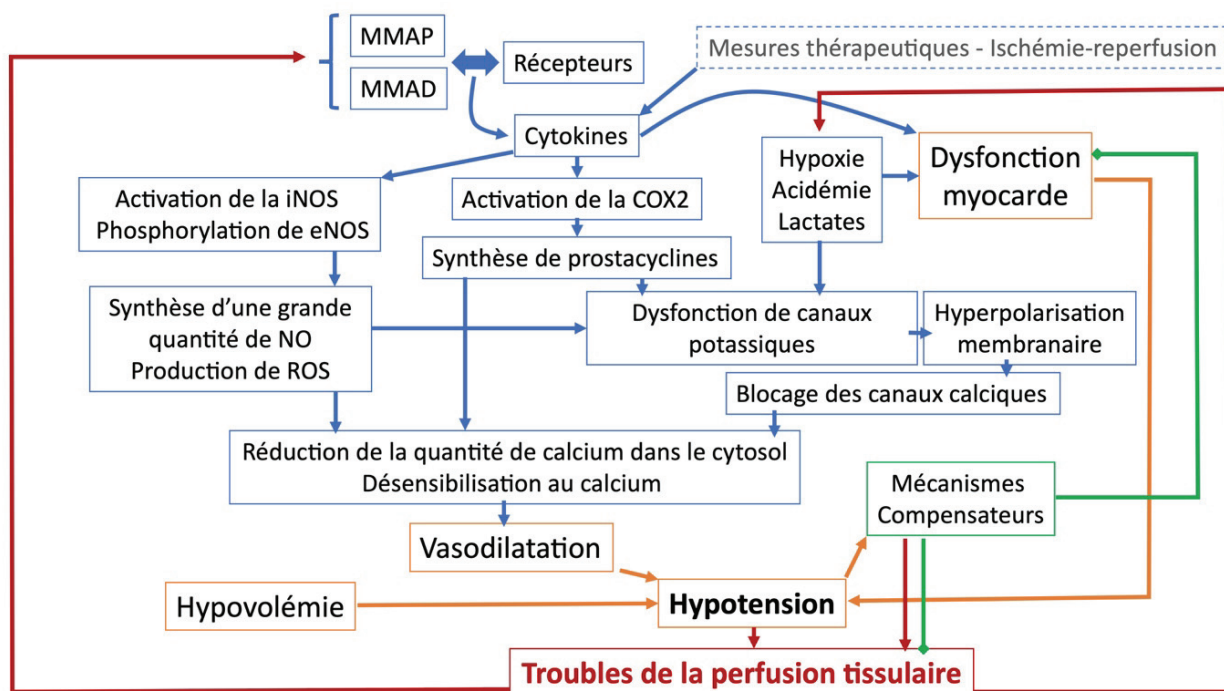


Figure 9 : Physiopathologie du choc distributif (MMAP : motifs moléculaires associés aux pathogènes, MMAD : motifs moléculaires associés aux dommages, NO : monoxyde d'azote, eNOS : NO synthase endothéliale, iNOS : NO synthase inductible, ROS : espèces réactives de l'oxygène, COX : cyclo-oxygénase, les flèches normales représentent des activations, celles à bouts carrés des inhibitions)

3. Le choc cardiogénique

Un choc cardiogénique peut survenir suite à de nombreuses affections. Quelle qu'en soit la cause, il résulte de l'enchaînement de mécanismes pathophysiologique communs : une dysfonction cardiaque à l'origine d'une baisse du débit cardiaque initie le processus, puis surviennent une défaillance hémodynamique, des troubles de la perfusion tissulaire et un syndrome inflammatoire systémiques pouvant conduire à un syndrome de défaillance multi-organique.

La dysfonction cardiaque concerne les parties gauches et droite du cœur (ou uniquement le cœur gauche) et concerne généralement la systole et la diastole. La conséquence est une réduction du débit cardiaque induisant une hypotension. En réponse, des mécanismes compensateurs sont activés, comme détaillé dans le paragraphe décrivant la physiologie du choc hypovolémique. L'activation du SNS et du système-rénine-angiotensine-aldostérone sont notamment à l'origine d'une vasoconstriction reflexe et d'une ischémie tissulaire. Comme nous l'avons précisé précédemment, cette vasoconstriction est à l'origine d'une redistribution sanguine et ainsi d'une hypoperfusion de nombreux organes, dont le foie et le tractus digestif. Cette hypoperfusion digestive induit une altération de la barrière digestive et une augmentation de la perméabilité digestive,

11). En effet, comme précisé plus haut, un choc peut en entraîner un autre. Nous avons notamment vu que, quelle qu'en soit la cause, une hypoperfusion digestive peut être à l'origine d'une altération de la barrière et d'une augmentation de sa perméabilité induisant un syndrome inflammatoire systémique. Ce dernier est le point de départ du choc distributif. Ainsi, l'évolution d'un choc hypovolémique et d'un choc cardiogénique va conduire à l'apparition d'un choc distributif. Dans certains cas, des translocations bactériennes peuvent survenir et le choc peut progresser vers un état de choc septique, sans qu'une infection soit clairement identifiée. En outre, les situations cliniques sont souvent de nature complexe et des états de choc peuvent d'emblée se superposer : lors de chocs traumatiques, si les hémorragies peuvent conduire à un choc hypovolémique, les lésions tissulaires ou d'éventuelles lésions organiques (i.e. des lésions du tube digestif ou du tractus urinaire) peuvent induire un syndrome inflammatoire, un choc distributif voir un choc septique. Chez les patients en choc cardiogénique il n'est pas rare qu'une infection d'origine exogène survienne, favorisée par l'insertion d'un cathéter par exemple. Ainsi, il semble que le syndrome inflammatoire, le sepsis et les mécanismes du choc distributif correspondent à un véritable carrefour physiologique pour de nombreuses affections.

Les mécanismes physiopathologiques des différents types de chocs présentent deux points communs d'importance. Premièrement, quel que soit le mécanisme d'origine, on observe un passage d'une réponse physiologique compensatrice à une réponse mal-adaptée, participant à la progression de l'affection. Deuxièmement, si les mécanismes d'origine divergent, la finalité des états de chocs converge vers les troubles de la perfusion tissulaire qui sont, comme nous l'avons vu notamment pour le tube digestif, la clef de voute de l'aggravation : « In each instance, defective function at one or more of the [loci of the circulatory system] explains the critical reduction in effective blood flow to capillary exchange vessels, which is the ultimate cause of circulatory shock » MH Weil³⁴.

Nous l'avons vu, ces troubles de la perfusion tissulaires sont d'origine multifactorielles : ils sont la conséquence des altérations hémodynamique et des mécanismes de compensation de ces altérations (vasoconstriction). Ils sont également le fait d'une véritable dysfonction de la microcirculation liée à la présence de phénomènes obstructifs (adhésions leucocytaires, troubles de la coagulation) et aux anomalies de fonctionnement de l'endothélium vasculaire. La progression de ces troubles de la perfusion tissulaire est à l'origine d'un syndrome de défaillance multi-organique, nous en détaillerons les soubassements dans la partie III.B de l'introduction.

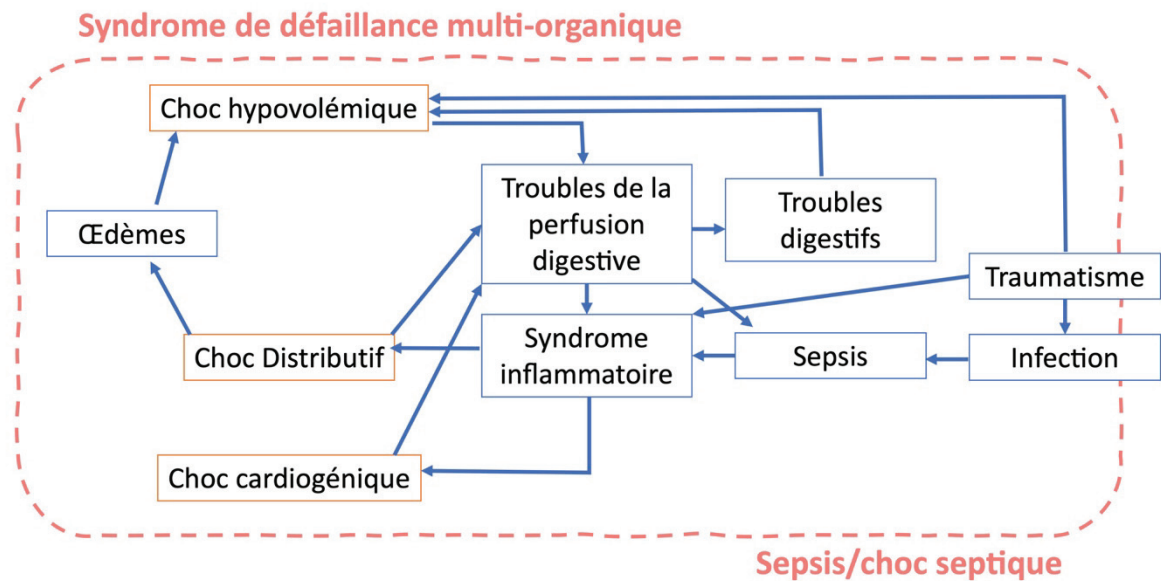


Figure 11 : Les intrications des différents types de chocs circulatoires

4. Les troubles de la perfusion tissulaire lors de sepsis et de choc septique

Les états septiques sévères (sepsis/choc septique) sont des syndromes complexes qui résultent d'une réponse inappropriée de l'hôte face à une infection. Souvent considéré comme l'archétype du choc distributif, il correspond en réalité à l'intersection des différentes altérations hémodynamiques évoquées précédemment : vasoplégie, hypovolémie et défaillance myocardique. Cette combinaison est à l'origine d'une hypotension qui peut être difficile à corriger dans les cas les plus sévères (chocs septiques).

a. La vasoplégie

La vasoplégie constitue probablement un des mécanismes majeurs à l'origine de l'hypotension et du décès des patients^{40,80}. En effet, chez ces patients une hypotension peut persister malgré l'administration de volume de fluide jugés adéquats et malgré la présence d'un bon débit cardiaque^{15,81}. Comme évoqués précédemment, cette vasoplégie fait suite à l'interaction entre des MMAP ou des MMAD et différents types de récepteurs. Il en résulte une dysfonction vasculaire dont les principaux mécanismes ont été décrits précédemment.

La présence de cette vasodilatation justifie l'utilisation de vasoconstricteurs comme mesure thérapeutique. Actuellement la *Surviving Sepsis Campaign* recommande l'utilisation de noradrénaline comme agent administré en première intention⁸². L'utilisation d'adrénaline n'est pas recommandée

compte tenu de la vasoconstriction splanchnique et des tachyarythmies qu'elle peut induire⁴⁰. L'utilisation de vasopressine semble également théoriquement intéressante : en effet, la déficience en vasopressine semble être un des mécanismes à l'origine de la vasoplégie. En outre, il semblerait qu'elle présente des propriétés intéressantes comme la préservation de la perfusion rénale ou encore l'absence d'effet chronotrope positif^{40,83}. Son utilisation permettrait également de réduire la quantité de catécholamines administrées et ainsi d'en réduire leurs effets secondaires. Son utilisation est recommandée en deuxième intention dans les cas de choc septiques réfractaires⁸². Cependant certains auteurs sont partisans d'une utilisation plus précoce, seule ou en association avec la noradrénaline⁸³. Enfin, quelques études ont été publiées concernant l'utilisation d'angiotensine II dans les cas de chocs septiques réfractaires⁸⁴.

Si les vasopresseurs permettent de corriger la vasodilatation et ainsi de réduire l'hypotension pour ainsi préserver la pression de perfusion des organes, leur utilisation (en excès) peut également être à l'origine d'une vasoconstriction délétère réduisant la perfusion des organes^{6,40}.

b. L'hypovolémie

L'hypovolémie présente au cours des états septiques sévères est généralement multifactorielle et peut résulter de différents mécanismes : pertes liées à des troubles digestifs, pertes insensibles liées à la fièvre ou une tachypnée, formation d'un troisième secteur (i.e épanchement abdominal lors de péritonite) ou formation d'un œdème interstitiel secondaire à l'augmentation de la perméabilité capillaire associée à la dysfonction endothéliale⁸⁵. Il est probable que cette hypovolémie soit un des mécanismes principaux à l'origine des troubles de la perfusion tissulaire dans les premiers moments du choc septiques (dans la phase pré-réanimatoire)⁸⁶. Ainsi, la première étape dans la prise en charge des patients en choc septique consiste à administrer des bolus de fluides pour restaurer la volémie et la perfusion tissulaire.

L'administration de fluides n'est pas sans effets secondaires. Les états septiques sévères sont associés à une dysfonction endothéliale, des altérations du glycocalyx et une augmentation de la perméabilité capillaire. L'administration de fluide en quantité trop importante va ainsi induire une augmentation de la pression hydrostatique et la formation d'un œdème interstitiel. En outre, l'administration de fluide peut participer à la dégradation de la dysfonction endothéliale. La présence de l'œdème réduit l'apport d'oxygène aux cellules en augmentant la distance de diffusion. Il comprime les microvaisseaux et notamment les vaisseaux lymphatiques, limitant ainsi la perfusion sanguine et la régulation de la quantité de fluide dans l'interstitium. La présence d'un œdème est particulièrement délétère dans les organes encapsulés comme le rein en raison de l'augmentation de la pression intracapsulaire^{40,85} s'opposant à la pression de perfusion de l'organe.

Qu'elle soit vraie ou relative (vasoplégie), l'importance physiopathologique de l'hypovolémie dans le choc septique est démontrée par le fait que l'expansion volémique transforme souvent les chocs hypodynamiques en chocs hyperdynamiques et par le fait qu'une grande proportion de patients ont une pression artérielle augmentée suite à l'administration des fluides⁴⁷.

c. La défaillance myocardique

Le profil hémodynamique type de la phase précoce du choc septique correspond au profil hyperdynamique caractérisé par un débit cardiaque élevé et des résistances vasculaires réduites. Ce profil n'est pas toujours observé, notamment lors d'hypovolémie non corrigée ou lors de défaillance myocardique⁴⁷.

Cependant, la présence d'un profil hyperdynamique n'exclut pas la présence d'une défaillance myocardique. On parle généralement de cardiomyopathie induite par le sepsis. Sa définition n'est pas clairement établie mais elle semble caractérisée par une dilatation des cavités cardiaques et une réduction de la fraction d'éjection systolique. Elle concerne le cœur gauche et le droit. Cette dysfonction semble réversible en 7 à 10 jours chez les personnes qui survivent^{87,88}.

Si la présence de cette dysfonction dans le sepsis/choc septique est bien établie, son caractère délétère ou bénéfique est encore sujet à débat. En effet, Parker et col rapportent la présence d'une dilatation cardiaque chez les survivants et son absence chez les non survivants, suggérant qu'elle représente un mécanisme d'adaptation⁸⁹. Plus récemment, une corrélation entre défaillance cardiaque et mortalité a été rapportée dans le contexte de choc septique⁹⁰.

La baisse de contractilité cardiaque de la cardiomyopathie induite par le sepsis semble être d'origine multifactorielle. Initialement, on supposait qu'elle résultait de l'ischémie induite par le choc. Cependant, des études ont montré la persistance d'une bonne perfusion coronarienne chez des patients en choc septique, soulignant ainsi que l'ischémie n'était pas le mécanisme prépondérant. La cardiomyopathie fait plutôt suite à l'action de molécules présentant un pouvoir dépresseur sur le myocarde et agissant de manière endocrine, paracrine et autocrine. Ces molécules sont nombreuses. Des endotoxines et de nombreuses cytokines semblent impliquées. Ces agents induiraient une activation de la iNOS à l'origine d'une surproduction de NO au niveau des cardiomyocytes. Le NO serait associé à des anomalies du métabolisme calcique dans ces cellules, à une réduction de la sensibilité au calcium des cardiomyocytes, à une réduction du nombre de récepteurs β -adrénergiques, à une dysfonction mitochondriale et à une surproduction de ROS. D'autres molécules comme les histones pourraient également être impliquées. L'ensemble de ces mécanismes serait à l'origine d'une hyporéactivité des cardiomyocytes et de lésions cellulaires^{74,87,88}.

Cette dépression peut être à l'origine d'un choc cardiogénique avec une réduction du débit cardiaque associé à des troubles de la perfusion tissulaire. Dans ce contexte plusieurs traitements peuvent être administrés. Historiquement le traitement recommandé était l'administration de dobutamine, un inotrope β -adrénergique. Cependant, son utilisation peut être associée à des effets secondaires graves comme des arythmies et ne semble pas toujours efficace. D'autres inotropes semblent aujourd'hui plus prometteurs. C'est par exemple le cas du levosimendan. Il s'agit d'un sensibilisateur calcique et inhibiteur de la phosphodiesterase 3 qui présente l'avantage de posséder des propriétés inotropes positives qui ne sont pas associées à une augmentation des besoins en oxygène du myocarde, nous aborderons plus en détail la pharmacologie et l'intérêt clinique de cette classe médicamenteuse dans la troisième partie de la thèse^{87,88}.

B. Les troubles de la perfusion tissulaire et les défaillances d'organes

1. Syndrome inflammatoire et sepsis d'origine intestinale : un carrefour physiologique

Comme évoqué précédemment (figure 11), l'atteinte de la barrière intestinale, qui est à l'origine d'un syndrome inflammatoire voire d'un véritable sepsis, représente un véritable carrefour physiopathologique. En effet, les différents types de chocs circulatoires, par l'hypoperfusion digestive qu'ils provoquent, peuvent engendrer cette réponse inflammatoire. Pour décrire ce syndrome clef, Deitch propose le terme de *gut-derived sepsis* ou 'sepsis d'origine intestinale'. Il le définit comme un processus au cours duquel des éléments pro-inflammatoires microbiens ou non microbiens, d'origine intestinale, vont induire ou contribuer au développement d'un syndrome inflammatoire systémique et *in fine* aux défaillances d'organes.

De nombreuses données précliniques et cliniques illustrent l'importance de ce concept. Il est rapporté dans des contextes de chocs hémorragiques^{61,63,91} et traumatiques⁹². Un syndrome inflammatoire est observé chez 20 à 40% des patients, 48h après le début d'un choc cardiogénique⁹³. Une corrélation entre la concentration en cytokines plasmatiques et la mortalité chez les patients en choc cardiogénique a été rapportée⁹⁴. Enfin, 20 à 30% des patients en choc cardiogénique présentent des complications infectieuses, soit d'origine endogène (i.e. cathéter), soit d'origine digestive⁹⁵. Ce sepsis d'origine intestinale semble intervenir dans de nombreuses affections observées chez des patients critiques : coup de chaleur, pancréatites, brûlures, chirurgies lourdes etc...^{96 97}.

Ce syndrome est parfois décrit comme « la force motrice » des défaillances d'organe. Nous en détaillerons les raisons dans le prochain paragraphe, consacré aux mécanismes physiopathologiques à l'origine du syndrome de défaillance multi-organique. Considérant le caractère central du sepsis dans ce syndrome, il nous semble pertinent de nous focaliser sur les mécanismes décrits lors du sepsis, sans s'attarder sur ceux plus spécifiques rencontrés dans d'autres affections.

2. Les mécanismes physiopathologiques à l'origine des défaillances d'organe lors de sepsis

Nous l'avons détaillé dans la précédemment : les états de chocs sont associés à des altérations hémodynamiques qui aboutissent directement et indirectement (via les mécanismes adaptatifs qu'ils déclenchent) des troubles de la perfusion tissulaire, réduisant l'apport en oxygène des cellules et participant ainsi à la survenue de défaillances d'organes. Ces mécanismes ne sont pas les seuls et sont associées à d'autres troubles homéostatiques, à l'échelle microcirculatoire et cellulaire, qui vont contribuer à l'apparition du syndrome de défaillance multi-organique. Mais avant de les décrire, attardons-nous un instant sur l'un des acteurs principaux de ce processus : l'intestin.

a. Le rôle clef de l'intestin

La barrière intestinale est recouverte d'un épithélium monostratifié composé de *villi* et de cryptes, recouvert d'une couche de mucus. Sa surface totale est d'environ 300 m². Il assure à de multiples fonctions, essentielles au maintien de l'homéostasie dans l'organisme : digestion et absorption des nutriments, synthèse hormonale, synthèse de mucus et de peptides antimicrobiens. Il représente une barrière s'opposant au passage d'éléments potentiellement délétères dans l'organisme et assure une fonction immunitaire majeure. Il contient une flore commensale riche et diversifiée dont les rôles, multiples, sont de plus en plus étudiés. Cette flore prévient la colonisation par des agents pathogènes, participe à la digestion et à l'éducation du système immunitaire. Elle entretient de nombreuses interactions avec l'hôte, favorisant notamment la différenciation des cellules épithéliales. Des découvertes récentes révèlent l'importance des dysbioses dans la physiopathologie de nombreuses affections^{62,97,98}.

L'hypoperfusion tissulaire, les lésions d'ischémie-reperfusion et l'inflammation vont être à l'origine d'une augmentation de la perméabilité intestinale en induisant la mort de cellules épithéliales et leur désolidarisation via la destruction des jonctions serrées qui les relient. La barrière intestinale est également endommagée suite à la libération d'enzymes pancréatiques qui vont

notamment dégrader la couche de mucus intestinale et les jonctions entre les cellules épithéliales. L'action des protéases est favorisée par la libération d'acides biliaires^{62,97}.

Cette augmentation de la perméabilité intestinale est à l'origine d'infiltration, dans la paroi digestive, de nombreuses cellules immunitaires, dont des polynucléaires neutrophiles et des lymphocytes. Ces derniers vont déclencher une réponse pro-inflammatoire, favorisée également par des phénomènes d'autodigestions induits par les enzymes pancréatiques. L'augmentation de la perméabilité digestive est à l'origine du passage de nombreux éléments dans la circulation sanguine : translocation bactériennes, translocation de fragments de micro-organismes, passages d'enzymes pancréatiques et d'acides biliaires. Ces éléments vont être transportés en partie par la circulation porte-hépatique jusqu'au foie où ils vont activer la production de cytokines pro-inflammatoires par les cellules de Kupffer et l'infiltration de polynucléaires neutrophiles. Le foie pouvant être dysfonctionnel (dysfonction liée à l'affection primitive), une partie des éléments peut ne pas être filtrée et être ainsi transportée dans l'organisme. Une partie des éléments qui traverse la paroi digestive lésée va également être disséminée via la lymphe et les nœuds lymphatiques mésentériques. Enfin, les dysbioses secondaires aux agressions initiales ou à l'administration de traitements (i.e. antibiotiques, inhibiteurs des pompes à protons etc) vont favoriser l'expression de facteurs de virulence par les organismes commensaux, la colonisation de l'intestin par des microorganismes pathogènes et participent ainsi à l'installation de l'état pro-inflammatoire.

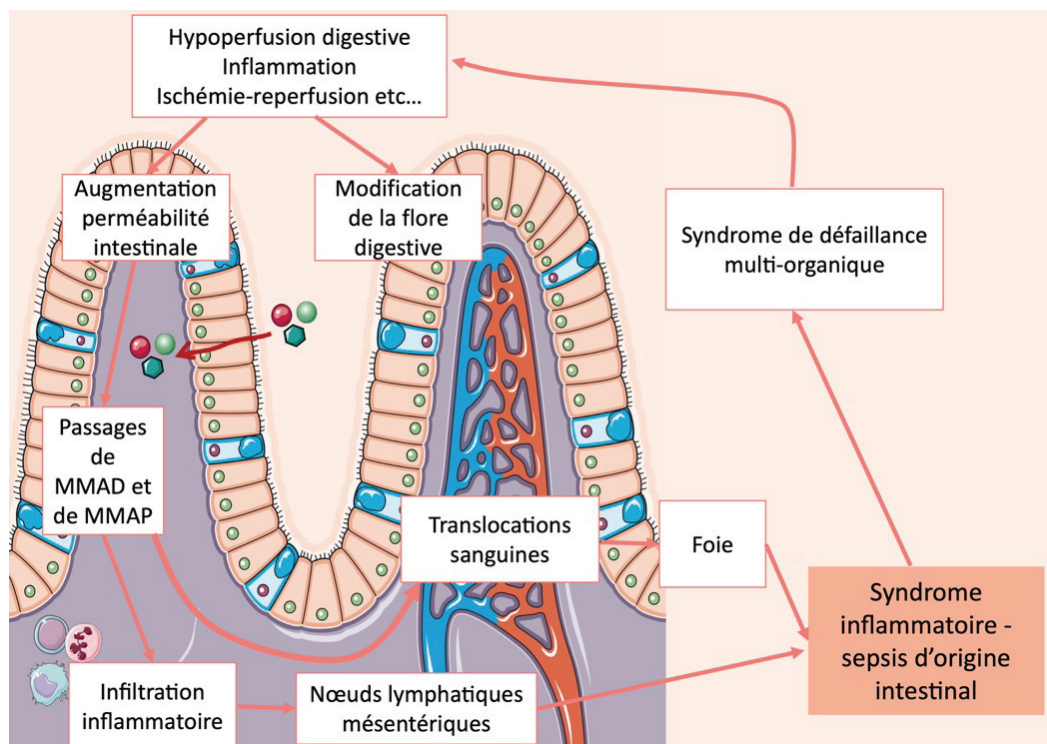


Figure 12 : Augmentation de la perméabilité intestinale et sepsis d'origine intestinale (MMAD : motifs moléculaires associés aux dommages, MMAP : motifs moléculaires associés aux pathogènes)

Les translocations de MMAP, de MMAD, leur passage via les ganglions mésentériques, la production de cytokines par le foie et le tube digestif vont ainsi être à l'origine d'un syndrome inflammatoire systémique, aussi appelé sepsis d'origine intestinal, qui est une étape clef dans le développement du syndrome de défaillance multi-organique (figure 12). Les poumons sont particulièrement vulnérables dans ce contexte : le syndrome de détresse respiratoire aiguë induit par cet état inflammatoire est une complication fréquente de nombreuses affections^{62,97,99}.

b. Les troubles de la perfusion microcirculatoire

De nombreuses études expérimentales et cliniques ont montrées l'existence de profondes altérations de la perfusion microcirculatoire induites par le sepsis. Si la défaillance hémodynamique participe à leur installation, il semble évident que d'autres mécanismes sont également impliqués. En effet, plusieurs études rapportent la persistance de ces troubles de la perfusion microcirculatoire alors que les anomalies hémodynamiques ont été corrigées. Ces anomalies macrocirculatoires ont été observées dans de nombreux organes incluant la peau, les muscles, les yeux, la langue, l'intestin, le foie, le cœur et le cerveau. La diminution de la perfusion microcirculatoire augmente la distance de diffusion de l'oxygène des vaisseaux vers les cellules. En outre, il semble que les tissus soient perfusés de manière hétérogène, créant ainsi des zones hypoxiques même lorsque le flux sanguin total organique est préservé¹⁰⁰. Nous avons déjà abordé cette notion d'hétérogénéité dans la partie III.A.2.c de l'introduction. Ainsi les troubles microcirculatoires, en créant des zones d'hypoxie tissulaire, induisent des dysfonctions cellulaires.

La dysfonction endothéliale est un mécanisme majeur des troubles de la perfusion à cette échelle (figure 13). En effet, elle est à l'origine de la formation d'œdème, de l'activation de la coagulation, de l'adhésion de polynucléaires neutrophiles et de troubles vasomoteurs. La régulation du tonus vasomoteur présente une importance capitale car elle permet, en conditions normales, la régulation du flux sanguin tissulaire.

L'endothélium est constitué d'une couche monocellulaire à l'interface entre la circulation sanguine et les tissus parenchymateux des différents organes. Sa surface interne est recouverte du glycocalyx, une couche de gel constituée de glycosaminoglycanes à l'intérieur de laquelle on trouve diverses molécules comme des antioxydants ou de l'antithrombine. L'endothélium et le glycocalyx participent à de nombreuses fonctions comme l'hémostase, le contrôle du tonus vasculaire et la transmission de l'information nerveuse entre les cellules musculaires vasculaires, l'adhésion des cellules etc...

Lors de sepsis, les cytokines, les ROS les MMAP et les MMAD circulants sont à l'origine d'une destruction du glycocalyx. Cette destruction favorise la formation d'un œdème interstitiel, l'adhésion de polynucléaires neutrophiles et induit un état hypercoagulable suite à la libération de facteur tissulaire et l'exposition d'éléments comme le facteur de von Willebrand, active ainsi l'agrégation plaquettaire. En outre, la dégradation du glycocalyx perturbe la détection des forces de cisaillement intravasculaires et altère la réponse myogénique (mécanisme capital pour la régulation physiologique du tonus vasculaire, voir Introduction.III.A.1.a.ii) induisant ainsi un dysfonctionnement vasomoteur.

Les éléments circulants sont également à l'origine d'une dégradation de la monocouche endothéliale. Ils détruisent les jonctions entre les cellules, rompant ainsi la communication qu'elles entretiennent via les jonctions gap et qui permettent normalement la transmission de l'information vasomotrice (voir Introduction.III.A.1.a.ii). La rupture de ces jonctions, mais surtout la destruction du glycocalyx, perturbent la fonction de barrière et de filtration de la paroi endothéliale et favorise ainsi la formation d'œdème interstitiel.

En outre, l'endothélium régule l'hémostase, la coagulation et la fibrinolyse. Les lésions endothéliales vont permettre la libération de facteur tissulaire, prothrombotique, et sont associées à une diminution de la synthèse des molécules anticoagulantes. Cela favorise la survenue d'une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), obstruant les microvaisseaux et réduisant la perfusion des organes.

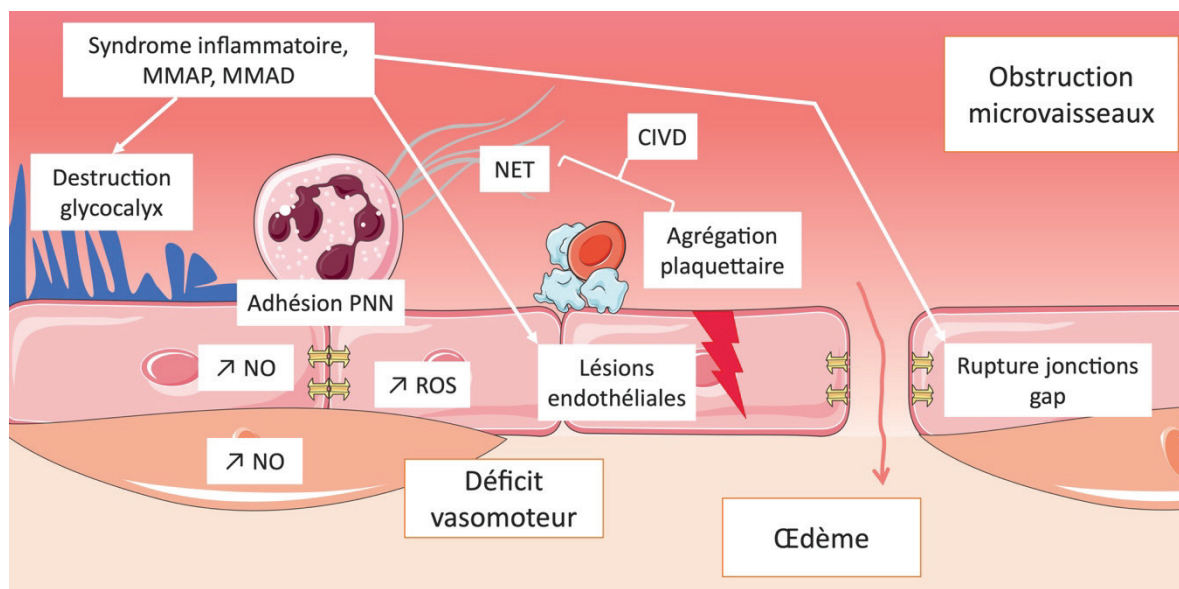


Figure 13 : La dysfonction endothéliale au cours du sepsis (MMAD : motifs moléculaires associés aux dommages, MMAP : motifs moléculaires associés aux pathogènes, PNN : polynucléaire neutrophiles, NO : monoxyde d'azote, ROS : espèces réactives de l'oxygène, NET : pièges extracellulaires neutrophiliques, CIVD : coagulation intravasculaire disséminée)

La dégradation de l'endothélium et du glycocalyx induit la libération de fragments et microparticules qui se comportent comme des MMAD et participent ainsi à l'apparition d'autres lésions^{100,101}.

Enfin, les molécules pro-inflammatoires et les MMAP vont activer la formation de *neutrophil extracellular traps* (NET) ou filets neutrophiliques. Ces éléments, constitués principalement d'ADN, de protéines et d'histones, vont participer à l'obstruction des microvaisseaux, notamment en stimulant l'agrégation plaquettaire et en participant à l'apparition d'une CIVD¹⁰².

c. Les dysfonctions cellulaires

Les troubles de la perfusion microcirculatoire et la circulation de cytokines, MMAP et MMAD aboutissent à des dysfonctions cellulaires, activant des phénomènes de mort cellulaire programmée ou non programmée ou des dysfonctions mitochondriales. L'ensemble semble participer à la l'installation de défaillances d'organes^{99,100}.

De très nombreuses formes de mort cellulaire ont été décrites : nécrose, apoptose, pyroptose, autophagie, nécroptose etc... Ces phénomènes, comme celui de nécrose par exemple, peuvent être à l'origine de relargage d'éléments cellulaires se comportant comme des MMAD et activant à leur tour l'inflammation.

Le rôle de la dysfonction mitochondriale lors du sepsis est de plus en plus reconnu. Les mitochondries sont des organites essentiels au bon fonctionnement des cellules. Elles participent à la production d'ATP, à la régulation de l'homéostasie calcique cytoplasmique, à la production de ROS ou encore à la thermorégulation. Au cours du sepsis, leur fonctionnement est altéré, induisant un déficit énergétique, la production de ROS, l'activation de voies de l'apoptose et la libération de MMAD. Ainsi, certaines cellules sont incapables d'utiliser l'oxygène, même en l'absence d'hypoxie. Une augmentation de la mitophagie et de la production de nouvelles mitochondries a été observée précocement au cours du sepsis, pouvant potentiellement réduire l'effet délétère des dysfonctions mitochondriales. Certains auteurs suggèrent que ces anomalies mitochondriales sont un mécanisme adaptatif, mais cette hypothèse reste à confirmer. Leur importance globale au cours du sepsis est un sujet de recherche intense actuellement et le rôle qu'elle exerce dans les défaillances d'organe n'est pas encore complètement élucidé^{99,103}.

d. Le syndrome de défaillance multi-organique et les relations inter-organes

Le syndrome de défaillance multi-organique est défini par l'association d'au moins deux dysfonctions d'organes. D'un point de vue clinique, il existe des scores d'identification, comme le score SOFA (Sequential Organ Failure Assessment).

Si les défaillances d'organes apparaissent souvent conjointement, ce n'est pas uniquement parce que les mécanismes sous-jacents sont communs. C'est également la conséquence d'interrelations qui existent entre les organes. Ces relations sont très complexes et ne sont pas toutes bien identifiées. En faire une liste exhaustive n'a pas de pertinence dans le cadre de ce travail. En voici tout de même quelques exemples illustratifs : la relation entre le tube digestif, le foie, le pancréas et l'ensemble de l'organisme évoqué précédemment. Le rein présente aussi de nombreuses interrelations avec d'autres organes : la diminution de sa fonction de filtration lors d'insuffisance rénale aiguë est associée à une augmentation de facteurs pro-inflammatoires, comme l'interleukine 6, induisant des lésions pulmonaires et cérébrales⁹⁹.

Les troubles de la perfusion tissulaire caractéristiques des états de choc sont la conséquence de nombreux mécanismes intriqués (figure 14) : ils résultent de défaillance hémodynamique, des mécanismes vasoconstricteurs adaptatifs, des mesures thérapeutiques mises en place pour les corriger, d'un syndrome inflammatoire (ou sepsis d'origine intestinal), de troubles de la perfusion microcirculatoire et d'anomalies cellulaires. L'importance des anomalies à l'échelle microcirculatoire dans la physiopathologie du sepsis semble de plus en plus admise, à tel point, que certains auteurs qualifient la microcirculation de « moteur du sepsis »¹⁰⁴.

Ces troubles de la perfusion tissulaire sont d'importance capitale en pratique puisqu'ils impliquent des défaillances d'organes (interdépendantes) et donc une augmentation de la morbidité et de la mortalité. Comme nous en avons détaillé les soubassements physiologiques, nous allons décrire rapidement la place qu'occupe la notion de perfusion tissulaire, en pratique, dans la prise en charge thérapeutique des patients.

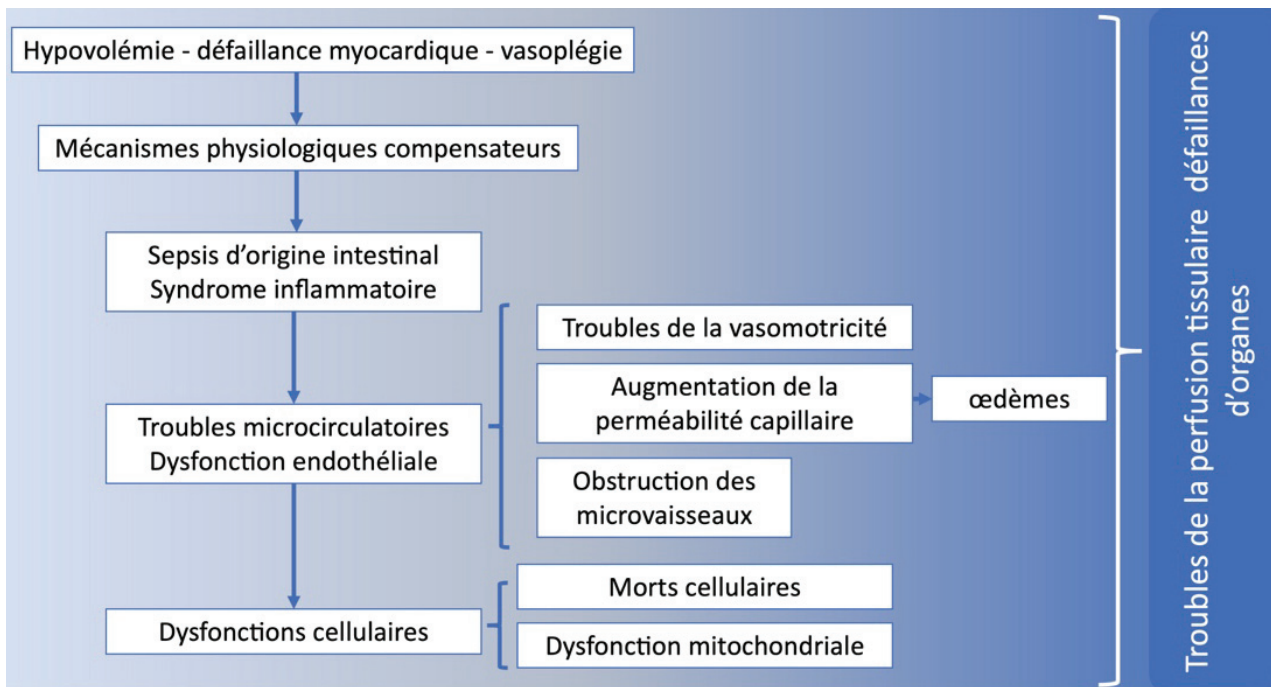


Figure 14 : Synthèse sur la physiopathogénie des troubles de la perfusion tissulaire

IV. Perfusion tissulaire et thérapeutique

A. Les recommandations actuelles de prise en charge des états de choc

Le consensus européen¹² concernant la prise en charge des chocs circulatoires recommande de réaliser leur diagnostic après l'identification de signes d'hypoperfusion, et ce, même en l'absence d'hypotension. Les signes cliniques d'hypoperfusion évoqués sont relativement peu explicites : ils sont relatifs à la perfusion cutanée, la diurèse et l'altération du statut mental. Le recours à des biomarqueurs est recommandé, principalement le dosage répété des lactates (qui sont produit, entre autres, par le métabolisme anaérobie lors d'hypoperfusion). Les auteurs évoquent également la mesure de la saturation veineuse centrale en oxygène (S_{vO_2}) et du gradient veinoartériel de la PCO_2 . Le traitement repose initialement sur l'identification du type de choc, permis par l'historique, la présentation clinique et grâce au monitoring hémodynamique (notamment la mesure du débit cardiaque et de la fonction cardiaque par échocardiographie). Le traitement repose principalement

sur l'utilisation de fluides, de vasopresseurs et d'inotropes. L'objectif étant de corriger les anomalies hémodynamiques afin de corriger les troubles de la perfusion tissulaire. En cas d'hypotension, des fluides et des vasopresseurs sont administrés afin de maintenir une pression artérielle moyenne (PAM) autour de 65 mmHg, sauf cas particuliers (patient septique ayant des antécédents d'hypertension, hémorragie non contrôlée sans traumatisme crânien...). L'administration de fluides doit être raisonnée bien que la détermination du volume idéal ne soit pas toujours évidente. En effet, l'administration démesurée en cas de défaillance myocardique peut conduire à des signes de congestions et va être à l'origine d'œdèmes interstitiels chez les patients présentant une augmentation de la perméabilité capillaire. C'est pourquoi la quantité administrée dépend de la réponse du patient : une augmentation de 10 à 15% du débit cardiaque est généralement interprété comme une réponse positive. En outre il est fortement recommandé d'évaluer au préalable la fonction myocardique. Cette évaluation doit nécessairement être réalisée avant l'administration d'inotropes. Le débit cardiaque n'est pas toujours le paramètre le plus pertinent : une défaillance cardiaque peut être présente chez des patients présentant un débit normal a augmenté, et absente chez des patients dont le débit est diminué. Ainsi l'administration des inotropes est recommandé chez les patients dont la fonction cardiaque est altérée en présence d'un débit cardiaque réduit (ou inadéquate – mais l'inadéquation n'est pas nécessairement simple à définir) et de signes d'hypoperfusion tissulaire. L'évaluation de la réponse aux traitements se fait principalement sur la base de l'amélioration du débit cardiaque, même si l'idée sous-jacente reste la correction de l'hypoperfusion tissulaire. Les auteurs considèrent que les signes cliniques d'hypoperfusion classique ne sont pas des marqueurs sensibles pour mesurer la réponse aux traitements. Sans qu'aucune recommandation précise soit donnée, le suivi des lactates comme indicateur de réussite du traitement est également conseillé. Une consigne semble particulièrement pertinente : les auteurs recommandent l'utilisation de plusieurs variables pour le diagnostic ou le suivi des patients. Enfin, plusieurs techniques d'évaluation de la perfusion tissulaire et de la microcirculation sont décrites, mais considérant l'étendue de la connaissance à leur sujet (et des inconnues), les auteurs ne donnent pas de recommandation quant à leur utilisation en pratique, la limitant à la recherche.

Concernant le choc septique, la *Surviving Sepsis Campaign* recommande dans la phase précoce de prise en charge, l'administration d'un bolus de fluide, la correction de l'hypotension (avec un objectif thérapeutique fixé à 65 mmHg) et la correction de l'hyperlactatémie. Elle donne de très nombreuses recommandations concernant les médicaments administrés : vasopresseurs, inotropes, fluides, anticoagulants etc... mais n'aborde pas directement la question des troubles de la perfusion tissulaire et microcirculatoire⁸².

Depuis l'étude de Rivers¹⁰⁵ et col décrivant les procédures de l'*Early-Goal-Directed-Therapy* (EGDT), plusieurs études ont reproduit ce protocole ou des protocoles similaires^{8,106,107}, dans lesquels les objectifs thérapeutiques se focalisent principalement sur des paramètres macrocirculatoires (pression artérielle, pression veineuse centrale) et sur le $S_{v(c)}O_2$. Contrairement à ce qui avait été montré en 2001 par l'étude princeps, les dernières études n'ont pas montré de bénéfices de ces thérapies guidées, comparativement aux soins standard, en termes de mortalité ou de défaillances d'organes. En outre, dans une étude, l'EGDT est associée à une augmentation du score SOFA dans les premières heures de prise en charge¹⁰⁷. Dans une autre étude, un protocole dirigé est associé à une augmentation des besoins en techniques d'épuration extrarénale et à une augmentation du volume de fluides administrés¹⁰⁶. En outre, dans une sous-population de cette étude, l'EGDT thérapie n'était pas associée à une amélioration de la microcirculation sublinguale, voir avait tendance à réduire certains paramètres (cette tendance n'était statistiquement significative que pour un seul paramètre et la taille de l'effet semblait biologiquement non significative)¹⁰⁸.

Plus récemment, plusieurs auteurs ont souligné l'intérêt du suivi de la pression artérielle diastolique dans la prise en charge du choc septique. En effet, cette dernière serait le reflet de la perfusion tissulaire, du tonus artériolaire et le déterminant de la perfusion coronarienne. Ils recommandent de la maintenir au-dessus de 50mmHg via l'utilisation de vasopresseurs^{109,110}. Encore une fois, si l'objectif final est bien une modulation à l'échelle de la microcirculation, l'outil utilisé est à l'échelle de la macrocirculation.

B. Quels sont les liens entre la macro- et la microcirculation ?

Nous l'avons vu précédemment : les procédures thérapeutiques conventionnelles de traitement du choc, et particulièrement du choc septique, s'appuient principalement sur des variables macrocirculatoires et toujours sur des paramètres à l'échelle systémique (paramètres macrocirculatoires, lactates, S_vO_2) bien que l'objectif final soit une amélioration de la perfusion tissulaire et microcirculatoire. Se poser la question des liens qui unissent la macro- et la microcirculation, de leurs interactions et de leur homogénéité correspond à se poser la question de la pertinence physiologique, et *a fortiori* clinique, de ces recommandations thérapeutiques.

1. L'autorégulation du flux sanguin tissulaire

Augmenter la pression artérielle pour améliorer la perfusion microcirculatoire repose sur des arguments physiques, physiologiques et cliniques. Théoriquement, le débit d'un liquide dans un tube suit la loi de Poiseuille. Ainsi, le débit est proportionnel au gradient de pression et au diamètre (à la puissance quatre). Néanmoins cette relation entre pression artérielle et débit sanguin local est modifiée dans l'organisme : il existe des mécanismes d'autorégulation qui permettent une relative stabilisation du débit sanguin local dans un certain intervalle de PAM (environ compris entre 60 et 160 mmHg) (figure 15). Cette autorégulation repose sur la modification du diamètre des microvaisseaux : dans cet intervalle de pression, si la pression artérielle augmente, une vasoconstriction est mise en place pour réduire le diamètre du vaisseau et ainsi le débit sanguin. À l'inverse, si la pression diminue, une vasodilatation a lieu, induisant l'augmentation du débit. Cette autorégulation fait intervenir des mécanismes de régulation du flux évoqués précédemment (voir Introduction.III.A.1a.ii), notamment le réflexe myogénique qui semble en être le principal médiateur^{10,55}. L'autorégulation n'est pas présente dans l'ensemble des tissus : la peau par exemple en est dépourvue¹⁰⁵⁵. Malgré cette autorégulation, il existe une relation quasi linéaire lorsque la pression artérielle passe en deçà du seuil minimal d'autorégulation (figure 15). Ainsi, il semble cohérent d'imaginer qu'une augmentation de la pression artérielle soit à l'origine d'une amélioration de la perfusion microcirculatoire.

En outre, des études expérimentales confirment cette idée dans différents modèles de chocs (hémorragiques⁵², distributif¹¹¹, obstructif¹¹²...). Chez des patients en choc septique, il a notamment été montré que le temps passé à une pression inférieure à 65 mmHg était un facteur associé à la mortalité¹¹³.

Néanmoins, des études rapportent la persistance de troubles de la perfusion tissulaire malgré la correction de l'hypotension^{114,115}. De plus, Asfar et col rapportent que l'utilisation d'un objectif thérapeutique de PAM plus élevé que l'objectif conventionnel ne permet pas de réduire la mortalité¹¹⁶. Ainsi, malgré le bienfondé physiologique d'une prise en charge basée sur la modulation de la PAM, ces éléments soulignent le fait que d'autres mécanismes doivent intervenir et que ce type d'approche n'est pas suffisant.

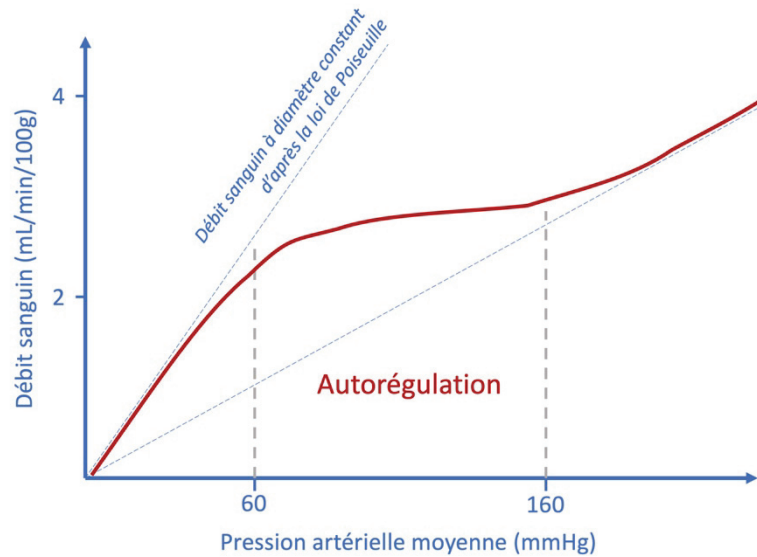


Figure 15 : Autorégulation du flux sanguin local en fonction de la pression artérielle (d'après [55])

2. La dissociation macro/microcirculatoire

L'approche classique des chocs circulatoires, et principalement du choc septique, a permis une amélioration de la prise en charge des patients et une réduction de la mortalité, notamment grâce au développement de la EGDT¹⁰⁵ (et quand bien même ces résultats n'ont pas été confirmés dans les études plus récentes) et grâce à la diffusion des recommandations pratiques de la *Surviving Sepsis Campaign*¹¹⁷. En effet, la mise en place de cette campagne a été associée à une réduction initiale importante de la mortalité des patients en choc septique, ce qui a conduit certains auteurs à comparer cette avancée (peut-être de manière disproportionnée) à une révolution scientifique, comme décrit par Thomas Kuhn dans *La structure des révolutions scientifiques*¹¹⁸. Malgré les résultats intéressants initiaux et les progrès réalisés par les équipes de soignants, de nombreuses questions persistent actuellement : les succès de l'EGDT n'ont pas été confirmés par les études réalisées plus récemment^{8,106,107}. En outre, des questionnements nouveaux sont apparus : comment optimiser la quantité de fluides administrée ? Quel type de fluide administrer ? Comment réduire la quantité des vasopresseurs ?¹¹⁹ etc... Si ces nouvelles questions se posent, c'est parce que, malgré les progrès réalisés, le sepsis reste une affection fréquente et grave. En outre, les défaillances d'organes restent un problème de santé publique majeur puisqu'elles sont à l'origine de décès (et de séquelles handicapantes chez les survivants) et sont associées à une augmentation du coût des soins^{41,120,121}. En outre, peu (aucune ?) d'études récentes décrivent des procédures thérapeutiques permettant une

nette amélioration de la mortalité. Une nouvelle approche du paradigme initial semble donc être à envisager.

Si une relation telle que celle présentée précédemment régie la perfusion microcirculatoire, comment expliquer que de nombreuses études rapportent la persistance de troubles de la perfusion tissulaire et microcirculatoire une fois les altérations macrohémodynamiques corrigées^{114,122-124}? L'explication semble provenir de l'apparition d'une dissociation, d'origine complexe, entre la micro- et la macrocirculation¹²⁵.

Dans un article de commentaire personnel, Can Ince introduit et détaille un concept intéressant : celui de cohérence et d'incohérence hémodynamique⁶. Pour lui, l'absence de progrès de ces dernières années est associée à la persistance d'altérations microcirculatoires liée à une incohérence hémodynamique. La cohérence hémodynamique correspond à la situation dans laquelle l'amélioration des anomalies macrocirculatoires s'accompagnent d'une amélioration de la perfusion régionale, microcirculatoire et ainsi permet l'apport correct d'oxygène aux cellules. La perte de la cohérence, ou l'incohérence hémodynamique est observée lorsque la correction des variables macrohémodynamiques ne s'accompagne pas d'une amélioration de la microcirculation.

Nous avons détaillé précédemment de nombreux mécanismes qui permettent la régulation de la perfusion régionale en fonction des besoins tissulaires. Cependant, en situation pathologique et notamment lors de chocs circulatoires, l'inflammation, l'infection et les mesures thérapeutiques initiés peuvent interférer avec les mécanismes de régulation et/ou détruire les cellules qui interviennent. Les mécanismes sous-jacents de cette dérégulation sont notamment la dysfonction endothéliale et les troubles de la régulation du tonus vasomoteur induits par la surproduction de NO et de ROS. La fluidothérapie peut être à l'origine d'une hémodilution réduisant la viscosité sanguine et les contraintes de cisaillement sur la paroi des vaisseaux. Les vasopresseurs administrés peuvent également être à l'origine de vasoconstriction délétère dans certains territoires alors qu'elle ne l'est pas dans d'autres. La qualité de la perfusion microcirculatoire au sens large et la présence ou non d'une perte de cohérence hémodynamique varient fortement à différentes échelles^{6,126} : elles varient d'une situation à l'autre, d'un individu à l'autre, d'un organe à l'autre et d'un territoire à l'autre ; reflétant ainsi la grande complexité physiopathologique à l'œuvre. Dans sa synthèse, Can Ince détaille aussi une catégorisation de 4 types de perte de la cohérence hémodynamique. Si les idées sous-jacentes sont intéressantes, la classification semble pourtant hasardeuse et la pertinence clinique restreinte puisqu'il n'existe pas réellement de moyen de les distinguer.

La cohérence est parfois définie comme une concordance des changements entre la macrocirculation et la microcirculation¹²⁷ ou encore comme couplage entre macro et microcirculation¹²⁸. Cependant, il semble important que cette notion ne soit justement pas comprise

comme un simple couplage ou une simple corrélation. Il est donc essentiel de clarifier sa définition : la notion de cohérence n'a de sens qu'à travers ses caractères dynamique et non réciproque (ou asymétrique). Concernant le caractère dynamique : la mise en évidence de la cohérence ou de l'incohérence ne se fait qu'en fonction de la réponse au traitement et nécessite obligatoirement la mise en place de mesures thérapeutiques à visé hémodynamique (fluides, vasopresseurs ...) comme le rappelle Morelli¹²⁹. En l'absence de traitement, la mise en évidence de troubles de la perfusion chez un patient ne présentant pas d'altération macrocirculatoire n'est pas un signe d'incohérence hémodynamique, au sens initial donné par l'auteur, mais plutôt le reflet d'une hypoperfusion occulte¹³⁰. Rien ne garantit que ces patients ne vont pas répondre favorablement à l'administration de fluide, par exemple. L'importance de cette distinction peut paraître futile, mais il est possible que les deux concepts ne reflètent pas du tout la même réalité physiologique. Dans ce cas, comprendre les mécanismes de l'un, ne permettrait pas de corriger l'autre.

La deuxième caractéristique de la notion de cohérence hémodynamique est sa non-réciprocité : on qualifie de situation cohérente une situation dans laquelle la microcirculation est de bonne qualité alors que la macrocirculation ne l'est pas. La perte de la cohérence correspond ainsi à l'existence de troubles microcirculatoires en présence d'une hémodynamique systémique normale. On ne peut qualifier d'incohérence hémodynamique une situation dans laquelle la microcirculation est préservée alors que la macrocirculation est défaillante ; cette situation étant totalement cohérente au sens où l'on peut s'attendre à l'observer, compte tenu des mécanismes d'autorégulation. D'un point de vue sémantique, il me semble que dans cette expression, le terme de cohérence ne s'applique pas au lien qui unit la micro- et la macrocirculation, mais à la présence ou non d'une contradiction entre ce qu'on attend rationnellement du traitement mis en place et la réponse observée.

Pour Can Ince, la correction des troubles de la macrocirculation sans prise en compte de la microcirculation en situation d'incohérence hémodynamique est une intervention futile. Sans aller si loin il semble logique de concéder qu'une telle intervention semble insuffisante quand bien même pourrait-elle être nécessaire.

Pour conclure, des données factuelles vont dans le sens de l'existence d'une incohérence hémodynamique. C'est à dire la persistance d'anomalies microcirculatoires après correction des troubles macrohémodynamiques. Dans une telle situation, la perfusion est très hétérogène, variable d'un individu à l'autre, d'un organe à l'autre et parfois d'une cellule à l'autre. En outre, de nombreuses études rapportent une association entre la persistance des troubles de la perfusion tissulaire, les défaillances d'organes et la mortalité^{114,123,124}.

De ces prémisses, trois conclusions peuvent être tirées. Premièrement, les troubles de la perfusion tissulaire doivent d'avantage être pris en compte dans les protocoles thérapeutiques. Deuxièmement, la mesure de la perfusion tissulaire doit tenir compte de cette hétérogénéité. Enfin, les protocoles doivent tendre vers une prise en charge plus individualisée, signifiant un abandon des protocoles dirigés (i.e. EGDT) ou alors leur complexification. Dans la fin de cette partie, nous tenterons de présenter quelques données décrivant les résultats de la prise en compte des troubles de la perfusion tissulaire dans le traitement des patients en état de choc.

C. Une approche holistique du monitoring de la perfusion au cours du choc septique

Dans sa thèse, puis publié sous la forme d'un article en 2012^{86,131}, Glenn Hernandez et ses collaborateurs présentent une approche dite « holistique » intéressante du suivi de la perfusion au cours du choc septique. Leur constat de départ est le suivant : la complexité physiopathologique du choc septique implique la nécessité d'utiliser plusieurs paramètres ; or, beaucoup d'études s'attardent sur leur comparaison plutôt que sur l'évaluation de leur intérêt en association. Ils décrivent une prise en charge biphasique des patients qui s'appuie sur l'évolution physiologique du syndrome. D'après les auteurs, dans les premières heures du choc septique, l'hypovolémie est le mécanisme pathogénique principal, à l'origine notamment des troubles de la perfusion périphérique et de l'augmentation de la lactatémie. Dans cette période précoce, plusieurs études rapportent une corrélation entre les variables macrohémodynamiques, les lactates et les paramètres de perfusion périphérique. L'objectif est alors de corriger l'hypovolémie via l'administration de fluides, permettant ainsi de résoudre le choc chez une partie des patients. Une dysfonction circulatoire persiste chez une partie des patients et différents profils se dessinent alors : des patients en hypotension sans hyperlactatémie, des patients en hyperlactatémie sans hypotension (appelé choc cryptique) et des patients présentant un profil « classique » de choc septique (hypotension et hyperlactatémie) (figure 16). A ce stade, les mécanismes physiopathologiques majeurs sont la vasoplégie, la dysfonction myocardique et les troubles microcirculatoires. On observe une décorrélation entre les paramètres macrohémodynamiques, les lactates et les variables de perfusion périphérique, reflétant ainsi l'apparition d'une incohérence hémodynamique chez certains individus. Les auteurs proposent une approche diagnostique multimodale pour aider à l'identification des problèmes sous-jacents et permettre ainsi une meilleure prise en charge, mais ils ne délivrent pas de recommandations thérapeutiques associées (figure 16).

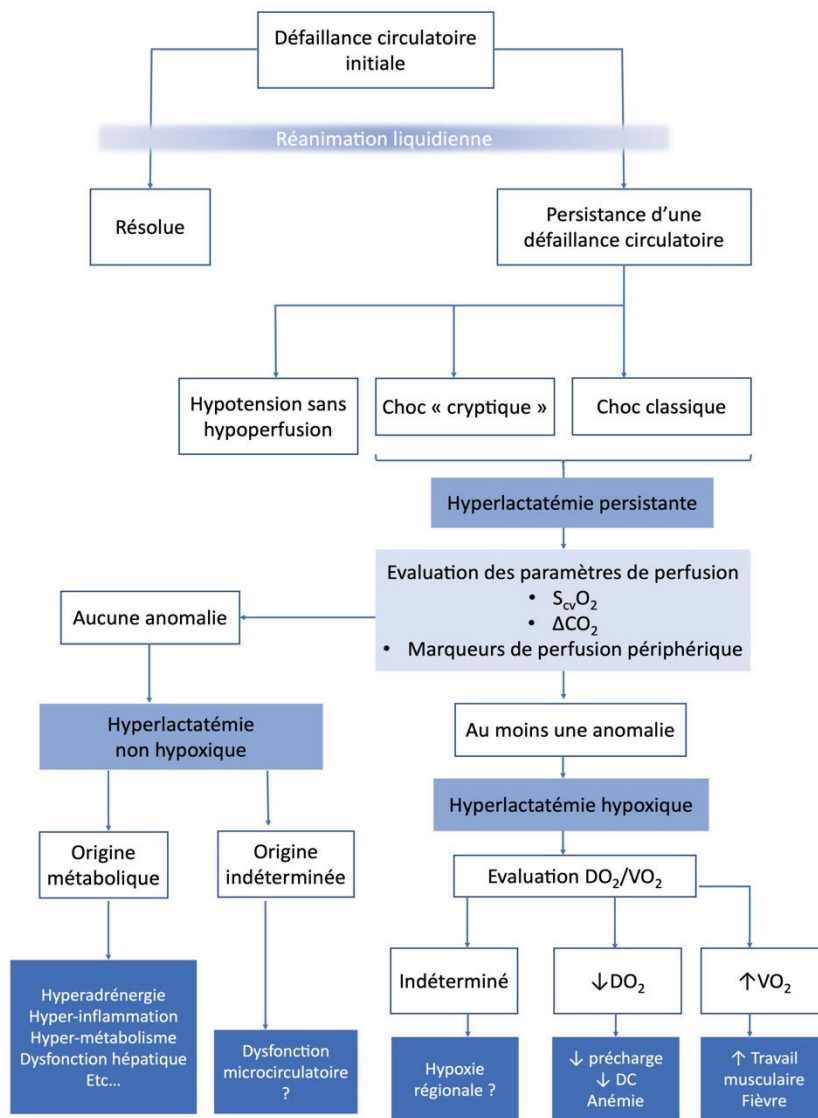


Figure 16 : La théorie holistique du monitoring de la perfusion lors du choc septique (d'après [86])

D. La perfusion tissulaire en pratique

De nombreuses études décrivent une association entre la présence ou la persistance de troubles de la perfusion tissulaire au sens large, l'apparition de défaillances d'organes et la mortalité lors de choc septique, hémorragique ou cardiogénique^{123,124,132-136}. L'observation de ces associations et la justification physiologique du lien de causalité entre les troubles de la perfusion tissulaire en général (et microcirculatoire en particulier) et les défaillances d'organes sont des arguments forts en faveur de la prise en compte de tels troubles lors du traitement du choc. Plusieurs stratégies peuvent être envisagées : elles vont de l'adjonction d'objectif thérapeutiques ciblant la perfusion

tissulaire aux protocoles classiques à l'utilisation non conventionnelle de molécules qui ne font pas forcément parti de l'arsenal classique, parfois associée à une remise en question plus profonde du paradigme actuellement en vigueur.

1. La perfusion tissulaire comme objectif thérapeutique

Dans une étude réalisée sur 41 patients présentant une hyperlactatémie associée à un sepsis, Hernandez et col montrent que, six heures après le début de la réanimation, la mesure du temps de remplissage capillaire (TRC) associée à celle du gradient de température entre la température de l'orteil et la température centrale permet de prédire la stabilisation du patient à 24h. Cette dernière est définie comme la correction de l'hyperlactatémie et d'une éventuelle hypotension¹³⁷.

Dans une lettre à l'éditeur, van Genderen et ses collègues décrivent les résultats d'une étude randomisée contrôlée comparant deux groupes de 15 patients. L'administration de fluides est conditionnée par la mesure d'une hypoperfusion caractérisée par l'association de plusieurs anomalies de la perfusion périphérique dans le groupe interventionnel, et par les critères classiques de l'EGDT dans le groupe contrôle. Les auteurs rapportent une réduction de la quantité de fluide administrée, une réduction du score SOFA et de la durée d'hospitalisation dans le groupe interventionnel. Si les résultats semblent encourageant, il semble important de souligner que l'étude présente des limites, notamment concernant le manque de clarté du protocole et la nature de la publication¹³⁸.

ANDROMEDA-SHOCK propose de comparer un protocole de prise en charge centrée sur la mesure du TRC à un protocole utilisant la lactatémie, lors de la phase initiale (les huit premières heures) du choc septique. L'utilisation du TRC est associée à une réduction modérée mais significative du score SOFA, à une réduction significative de la quantité de fluide administrée et à une réduction de la mortalité¹³⁹. La réduction de la mortalité semble à la limite de la significativité d'après l'analyse statistique fréquentiste réalisée dans l'étude *princeps*, mais semble confirmée par une analyse bayésienne des données¹⁴⁰. Le protocole de cette étude est détaillé avec précision dans une publication¹⁴¹ dont le titre est « Early goal-directed therapy using a physiological holistic view [...] » en référence à l'approche détaillée précédemment. Il est assez curieux de voir que, contrairement à ce qui est argumenté dans l'approche holistique du suivi du choc septique, les auteurs basent leur prise en charge sur l'utilisation d'un seul paramètre de perfusion périphérique (le TRC), et le comparent à l'utilisation des lactates, alors même que ce type de comparaison est décriée dans l'approche holistique⁸⁶.

Ces différentes études rapportent des résultats intéressants associés à l'adjonction de paramètres de perfusion dans l'orientation de la prise en charge, notamment une réduction de la quantité de fluide administrée et des défaillances d'organes. Si ces études sont originales, elles n'abandonnent pas pour autant l'objectif traditionnel de PAM et se basent sur des thérapeutiques conventionnelles, à savoir l'utilisation de fluides et de noradrénaline. Certains auteurs imaginent un changement plus profond du paradigme de prise en charge du choc septique et proposent d'utiliser des molécules non conventionnelles et d'abandonner l'objectif de PAM fixé à 65 mmHg¹⁴².

2. Optimiser la microcirculation en modulant le tonus vasculaire

De nombreuses études ont évalué les effets de plusieurs interventions médicales sur le recrutement de la microcirculation dans les états de chocs, et plus particulièrement lors du choc septique. Nous n'en réaliserons pas ici une synthèse exhaustive, mais nous présenterons les principes théoriques qui soutiennent l'utilisation de vasopresseurs et/ou de vasodilatateurs lors de choc septique, ainsi que les données empiriques disponibles sur ce sujet.

Le choc septique est associé à des mécanismes antagonistes : une vasoplégie à l'origine d'une hypotension et l'activation de mécanismes vasoconstricteurs, illustrés notamment par la synthèse importante de catécholamines. Le choc septique peut également être associé à une importante hétérogénéité concernant la perfusion tissulaire. Les troubles microcirculatoires sont très complexes et ne reposent pas uniquement sur les défaillances hémodynamiques. Comme détaillé plus haut (voir Introduction.III.A.2.c et IV.B.2), il semble possible que la vasoconstriction comme la vasodilatation soit à l'origine de troubles de la perfusion tissulaire.

Ainsi, l'utilisation de vasopresseur exogène pourrait améliorer la perfusion tissulaire grâce à l'augmentation du débit sanguin induit par la veinoconstriction et par l'augmentation de la pression en amont des organes secondaire à la vasoconstriction des artérioles. À l'inverse, l'utilisation de vasodilatateur pourrait bénéficier à la perfusion tissulaire en réduisant la vasoconstriction pré-capillaire et en réduisant la postcharge, améliorant ainsi le débit cardiaque. Ces éléments montrent également que l'association conjointe d'un vasodilatateur et d'un vasoconstricteur pourrait être utile, notamment s'ils n'agissent pas au même niveau : l'idéal serait de maintenir un certain niveau de vasoconstriction des artérioles pour maintenir une pression de perfusion satisfaisante et de vasodilater les méta-artérioles et les sphinctères pré-capillaires dans les zones hypoxiques pour augmenter le flux local. À noter que cette description correspond, de manière simpliste, aux mécanismes de régulation physiologiques du flux sanguin local. Par exemple, lors d'un effort physique, la libération de catécholamines dans l'organisme est à l'origine d'une

augmentation du débit cardiaque et de la pression artérielle. Au niveau microcirculatoire, des mécanismes de vasodilatation locaux sont activés dans les tissus à fort besoins en oxygène pour augmenter le flux sanguin et ainsi la quantité d'oxygène apportée¹⁰.

La modulation du tonus vasculaire pour recruter la microcirculation et améliorer la perfusion tissulaire a été (et est toujours) très étudié. L'augmentation de la pression artérielle de 65 à 85 mmHg via l'administration de noradrénaline lors de choc septique donne des résultats contradictoires : LeDoux et col ne rapportent pas d'amélioration de la perfusion cutanée et splanchnique ou de la diurèse¹⁴³. Dubin et col décrivent des réponses très variables en fonction des individus. Une amélioration est observée chez les patients présentant des troubles microcirculatoires initialement alors que ceux n'en présentant pas tendent à répondre défavorablement. Mais globalement, cette augmentation de la pression artérielle n'est pas associée à une amélioration des paramètres microcirculatoires¹⁴⁴. Jhanji et col décrivent une amélioration de la perfusion cutanée et une augmentation de la délivrance de l'oxygène, mais pas d'amélioration de la microcirculation sublinguale¹⁴⁵. L'ajout de vasopressine ou de terlipressine à des patients en choc septique permet de maintenir la pression artérielle en réduisant la quantité de noradrénaline administrée, sans affecter la macro- et la microcirculation¹⁴⁶. Dans cette étude, une amélioration de la microcirculation est observée après 6h de traitement dans les trois groupes étudiés (noradrénaline + placebo, noradrénaline + vasopressine, noradrénaline + terlipressine).

Concernant les vasodilatateurs, plusieurs études décrivant des résultats contradictoires ont également été publiées. Spronk et col montrent une amélioration de la microcirculation, au détriment de la pression artérielle, chez 8 patients en choc septique¹⁴⁷. L'intérêt potentiel de perfusion de nitroglycérine sur la microcirculation n'est pas retrouvée dans d'autres études^{148,149}. Son administration est associée à une augmentation des fluides administrés¹⁴⁸ et semble plutôt défavorable en terme de survie (mais la différence n'est pas statistiquement significative)¹⁴⁹. L'administration de NO inhalé n'est pas associée à une amélioration microcirculatoire dans le choc septique¹⁵⁰, tout comme les perfusions de magnésium¹⁵¹. Enfin, la ketansérine¹⁵² et la papavérine¹⁵³ sont associées à une amélioration de la microcirculation dans deux études pilotes, mais les traitements ne sont pas comparés avec des groupes témoins. Concernant l'administration d'inodilatateurs ; L'administration de dobutamine est associée à des résultats contradictoires^{154,155} et le levosimendan à une amélioration microcirculatoire¹⁵⁶. Nous reviendrons sur l'intérêt de cette classe médicamenteuse dans la 3^{ème} partie de cette thèse.

Une synthèse sur l'utilisation de modulateurs du tonus vasculaire dans le traitement des troubles microcirculatoires conclue ainsi : «Actuellement, Il n'existe aucune preuve robuste qu'une molécule puisse améliorer la microcirculation de manière reproductible»¹⁵⁷. L'hétérogénéité des

approches envisagées et des résultats obtenues est probablement liée à plusieurs facteurs : la complexité de la physiopathologie (activation de mécanismes vasoconstricteurs et vasodilatateur dans l'organisme), à l'hétérogénéité de perfusion qui en découle et au manque de spécificité des médicaments utilisés, qui peuvent agir à plusieurs échelles (macro/microcirculatoire) et ainsi exprimer leurs effets bénéfiques et délétères.

V. Conclusion

La physiopathologie des chocs circulatoires est complexe et fait intervenir de nombreux mécanismes reliés les uns aux autres. L'activation de phénomènes compensateurs aboutit potentiellement à une réponse physiologique inadaptée se manifestant, entre autres, par des troubles de la perfusion tissulaire. Ces troubles de la perfusion tissulaire sont d'origine multifactorielle. Les mécanismes sous-jacents interviennent à différentes échelles et incluent les altérations hémodynamiques macrocirculatoires (hypovolémie, vasoplégie, défaillance myocardique), les troubles de la perfusion microcirculatoire et les dysfonctions cellulaires qui en résultent. Le syndrome inflammatoire et le sepsis jouent un rôle majeur dans ce tableau physiopathologique, quel que soit le mécanisme étiologique impliqué. Ce sepsis d'origine intestinale peut être envisagé comme un carrefour physiologique à la conjonction de nombreuses affections plus ou moins intriquées.

Les troubles de la perfusion tissulaire représentent un enjeu majeur de la médecine, et particulièrement dans la prise en charge des chocs septiques. En effet, ils sont à l'origine de défaillances d'organes à l'origine de décès ou de handicaps. Si les troubles microcirculatoires sont étudiés depuis longtemps, leur intérêt dans la pratique clinique semble croissant depuis quelques dizaines d'années.

La prise en charge traditionnelle du choc septique, sur le plan hémodynamique, repose sur la correction de désordres macrocirculatoires *via* l'administration de fluides, vasopresseurs et inotropes. Si cette approche a permis d'améliorer le devenir des patients lors de son avènement, elle semble aujourd'hui insuffisante. En effet, certains patients exhibent une incohérence hémodynamique : des troubles de la perfusion microcirculatoire persistent après correction des paramètres macrocirculatoires. En outre, des études ont révélé le pendant négatif des traitements utilisés et leur part de responsabilité dans l'apparition et l'entretien des troubles de la perfusion tissulaire : l'administration de trop grandes quantités de fluides est à l'origine d'œdème interstitiel s'opposant à la diffusion de l'oxygène jusqu'aux cellules, celle de vasopresseurs peut induire une

réduction de la perfusion dans certains territoires *via* la vasoconstriction des artérioles pré-capillaires et la formation de shunts artérioveineux.

L'augmentation des connaissances révèle la complexité des situations et l'échelle des objets au centre de notre intérêt réduit au cours du temps. Ainsi, le défi actuel concernant la prise en charge des états de choc (et plus particulièrement du choc septique) consiste probablement à comprendre comment corriger les troubles de la perfusion tissulaire et microcirculatoire. Ce défi s'articule autour de deux problématiques : comprendre comment mesurer au mieux ces anomalies puis identifier des thérapies pour les corriger. Dans les parties suivantes, à travers lesquelles nous aborderons les travaux expérimentaux réalisés au cours de ce travail de thèse, nous tenterons d'apporter des éléments de réponse à ces deux problématiques. Dans un premier temps nous décrirons trois techniques qui peuvent être utilisées pour mesurer, plus ou moins directement la perfusion tissulaire. Enfin, nous tenterons d'évaluer l'intérêt potentiel d'un inodilatateur, le pimobendane, dans le traitement des anomalies microcirculatoires.

1ère Partie.

**Utilisation de la
thermographie infrarouge, de
la photopléthysmographie
urétrale et de la
videomicroscopie dans la
mesure des troubles de la
perfusion tissulaire**

Les troubles de la perfusion tissulaire sont un enjeu majeur dans la prise en charge des états de choc. Leur importance repose sur des arguments physiopathologiques et cliniques, qui ont été détaillés par le menu dans la première partie. Cette importance implique la nécessité de mettre en place des méthodes fiables permettant leur évaluation.

De nombreuses techniques ont été développées pour permettre de détecter des troubles de la perfusion tissulaire. Elles permettent d'approcher directement ou indirectement la perfusion régionale à différentes échelles allant de la perfusion d'un membre ou d'un organe à la perfusion microcirculatoire d'un tissu. Les plus simples, décrites depuis plusieurs dizaines (ou centaines) d'années, sont purement cliniques et correspondent à l'évaluation de la perfusion du territoire cutané : c'est le cas du temps de recoloration capillaire (TRC), de la température des extrémités, de la couleur des muqueuses ou de la peau. Les techniques mises en place plus récemment reposent sur l'utilisation de technologies plus fines mais nécessairement moins disponibles. Dans tous les cas, ces méthodes doivent être le moins invasives possible pour faciliter leur application et permettre aux praticiens de les mettre en œuvre très rapidement dans la prise en charge de leurs patients (au contraire, les techniques de mesure macrohémodynamiques sont généralement plus invasives et requièrent la réalisation de cathétérismes vasculaires).

L'objectif de cette partie n'est pas de réaliser une description exhaustive de méthodes de mesure de la perfusion tissulaire : de nombreuses synthèses de bonne qualité sont disponibles dans la littérature^{18,23,158}. Nous privilégierons la description de trois méthodes que nous avons utilisées : la thermographie infrarouge (TI), une technique originale qui permet de calculer des gradients de température ; la vidéomicroscopie, considérée actuellement comme le « gold standard » du monitoring de la microcirculation ; et enfin, une sonde urétrale utilisant la photopléthysmographie pour mesurer la perfusion régionale, développée en partenariat avec notre équipe de recherche. Pour chacune d'entre elle, nous décrirons le rationnel motivant leur utilisation, les données expérimentales et cliniques publiées et enfin leurs limites.

I. La thermographie infrarouge

A. Le rationnel scientifique

1. Utilisation des gradients de température dans les états de choc

Physiologiquement, la chaleur est produite par le métabolisme cellulaire et dissipée vers l'extérieur, depuis la surface de la peau, par plusieurs mécanismes : convection, conduction, évaporation et radiation. Les sources principales de chaleur sont la digestion et l'exercice physique. La chaleur est plus élevée au niveau du noyau (tête, tronc, abdomen) où l'activité métabolique est importante, et elle est transférée vers la périphérie, en partie par un fluide caloporteur, le sang. Les phénomènes de vasoconstriction et de vasodilatation qui ont lieu dans le derme modulent la température de la peau et ainsi les échanges avec l'extérieur¹⁵⁹⁻¹⁶¹. Le sang joue donc un rôle important dans le transfert de la chaleur dans l'organisme et dans la thermorégulation.

Il existe un lien étroit entre la température de la peau et sa perfusion^{162,163}. La relation est cependant complexe puisque d'autres phénomènes que la perfusion peuvent influencer la température cutanée, notamment des phénomènes locaux de production de chaleur. Ainsi, la relation entre température et perfusion cutanée est dépendante des régions¹⁶³. Stoner et col ont montré que la température cutanée était bien corrélée à la perfusion au niveau des pieds, des doigts et des orteils. La température des avant-bras et des mollets semble influencée par la température du noyau¹⁶⁴.

Au cours des états de choc, la mise en place d'une vasoconstriction réflexe (principalement associée à l'activation du système nerveux sympathique) est à l'origine d'une redistribution sanguine (voir Introduction.III.A.1). Au cours de cette redistribution, la vasoconstriction touche particulièrement la peau et les muscles⁵⁰. La vasoconstriction périphérique qui a lieu induit ainsi une diminution de la température des extrémités. C'est cette diminution de la température périphérique qui peut être mise à profit pour évaluer les troubles de perfusion périphérique.

La diminution de la perfusion périphérique s'accompagne nécessairement d'une réduction des pertes thermiques. Il est possible que ce phénomène soit à l'origine d'une augmentation de la température centrale, par « rétention » de l'énergie thermique au niveau du noyau. Ross et col font cette hypothèse suite à l'observation d'une hyperthermie apparaissant chez des patients en hypovolémie¹⁶⁵. Si cette hypothèse semble cohérente et physiquement logique (dans des conditions où la production de chaleur est stable), rien n'indique que d'autres phénomènes ne soient pas à l'origine de l'hyperthermie, notamment un syndrome inflammatoire d'origine intestinale (voir Introduction.III.B.1) qui pourrait induire de la fièvre.

L'utilisation de gradients de température entre la température (T°) périphérique (généralement mesurée au niveau de l'hallux) et la température centrale (ou la température ambiante) a été décrite

dans de nombreuses études. Une augmentation du gradient [T° centrale – T° périphérique] ou la réduction du gradient [T° périphérique – T° ambiante] sont le reflet d'une diminution de la température périphérique suite à une hypoperfusion. Le calcul de gradients semble plus intéressant que la mesure de la température périphérique seule²³. Ils permettent de réduire l'impact des variations de la température ambiante ou de la température centrale dans l'analyse et assurent ainsi d'obtenir des données comparables dans le temps et d'un patient à l'autre. Ils permettent aussi de prendre en compte l'augmentation de la température centrale parfois observée¹⁶⁵. Pour illustrer ce point, détaillons un exemple : la mesure d'une température de 33°C au niveau de l'hallux ne donne pas la même information chez un patient anesthésié en hypothermie à 35°C et chez un patient en choc septique présentant de la fièvre (40°C). Dans le premier cas, l'hypothermie périphérique est reliée à l'hypothermie centrale ; alors que pour le second patient, elle semble la conséquence de troubles de la perfusion périphérique. L'utilisation du gradient [T° centrale – T° périphérique] semble particulièrement pertinente au cours d'une hospitalisation parce que le milieu ambiant est contrôlé et les variations de la température environnementale sont faibles. La valeur de ce gradient est généralement inférieure à 7°C chez les patients hémodynamiquement stables²¹.

En 1967, Ibsen et col décrivent une réduction du gradient entre la T° périphérique et la T° rectale après l'administration de vasodilatateurs à des patients en choc, soulignant ainsi la participation d'une vasoconstriction dans la survenue des troubles de la perfusion périphérique¹⁶⁶. Deux ans plus tard, Joly et Weil montrent que le gradient [T° hallux – T° ambiante] est fortement corrélé au débit cardiaque et qu'il est un facteur pronostique chez des patients en choc¹⁶⁷.

Dans une cohorte de 34 patients en choc (cardiogénique, septique et hypovolémique) traités avec de la dobutamine, une augmentation de la température de l'hallux est associée à une augmentation du débit cardiaque et à une réduction de la lactatémie. En outre, la température de l'hallux est identifiée comme facteur pronostique. Ce résultat est confirmé par Henning et col : dans leur étude, le gradient de température [T° hallux – T° ambiante] permet de mieux prédire la survie que le débit cardiaque ou la pression artérielle¹⁶⁸.

Kholoussy et col décrivent l'évolution du gradient [T° centrale – T° hallux] chez 65 patients en choc. Ils décrivent une grande variabilité interindividuelle liée à des variations de la température centrale (présence d'hypo- et d'hyperthermie) et de la température de l'hallux. Au cours de la réanimation initiale, ils montrent que la normalisation du gradient de température coïncide avec la stabilisation hémodynamique. En outre, ils observent un taux de mortalité plus élevé chez les patients présentant un gradient de température élevé et pour lesquels la normalisation est plus longue¹⁶⁹.

Des études plus récentes ont confirmé l'intérêt de la mesure de la température cutanée. Kaplan et col rapportent l'intérêt de l'évaluation subjective de la température des extrémités dans l'identification des patients présentant des troubles de la perfusion tissulaire¹⁷⁰. Lors de sepsis, la normalisation conjointe du gradient [$T^{\circ}\text{centrale} - T^{\circ}\text{hallux}$] et du TRC permet de prédire le succès de la réanimation à 6h¹³⁷. Enfin, Bourcier et col rapportent que le gradient [$T^{\circ}\text{centrale} - T^{\circ}\text{hallux}$] est significativement plus élevé chez les patients en choc septique que chez les patients en sepsis. De même le gradient [$T^{\circ}\text{hallux} - T^{\circ}\text{ambiante}$] est significativement plus bas. Ces résultats sont liés au refroidissement de l'hallux secondaire à l'hypoperfusion périphérique. En outre, une augmentation de [$T^{\circ}\text{centrale} - T^{\circ}\text{hallux}$] et une diminution de [$T^{\circ}\text{hallux} - T^{\circ}\text{ambiante}$] sont associées aux décès liés à des syndrome de défaillance multiorganique¹⁷¹.

D'autres gradients peuvent être calculés comme le T_{skindiff} . Ce dernier correspond à la différence entre la T° de l'avant-bras et la T° du bout d'un doigt. Des études expérimentales montrent qu'il permet d'identifier la survenue d'une vasoconstriction, notamment lors de la thermorégulation. Un gradient supérieur à 4°C semble associé à une forte vasoconstriction¹⁷²⁻¹⁷⁴.

2. La thermographie infrarouge

a. Généralités

La thermographie infrarouge (TI) est une technique permettant d'obtenir la température d'un objet à partir des rayons infrarouges (IR) qu'il émet. Les caméras équipées de cette technologie, utilisables en médecine, sont des celles avec un capteur infrarouge non refroidi. Elles sont bien plus accessibles financièrement que celles à capteur refroidi et sont bien plus simples d'utilisation. Leur lentille est constituée de cellules composées avec de matériaux pyroélectriques ou ferroélectriques qui réagissent au passage d'IR. La modification de la résistance des cellules induite par les radiations est convertie en une image, appelée thermogramme. Les thermogrammes sont initialement des images en noir et blanc dont l'intensité du gris dépend de la quantité d'IR détectée. Pour faciliter leur lecture, des couleurs artificielles sont ajoutées permettant ainsi de mieux apprécier les changements de température. Les couleurs appliquées sont généralement le bleu pour les zones les plus froides et le rouge pour les zones chaudes. Ces caméras présentent l'avantage de ne pas nécessiter de calibrages thermiques réguliers, comme c'est le cas des lentilles à capteur refroidi. En revanche, elles présentent l'inconvénient d'être moins précises que ces dernières. Cependant, les avancées technologiques récentes ont permis d'augmenter la performance des caméras à capteur

non refroidi (la sensibilité thermique des capteurs actuels est généralement inférieure à 0,15°C), en faisant ainsi des outils intéressants^{162,163}.

L'obtention de thermogrammes dépend des capacités d'émission des IR de l'objet étudié. Cette émissivité dépend de la composition de l'objet et varie de 0 à 1. Elle est calculée en mesurant le flux radiatif du rayonnement thermique émis par un élément de surface à une température donnée, et en le rapportant à la valeur de référence qu'est le flux émis par un corps noir à cette même température. Cette dernière valeur est la valeur maximale possible : une émissivité de 1 correspond à celle d'un corps noir¹⁶².

Certains paramètres d'utilisation peuvent avoir un impact sur les thermogrammes obtenus, comme la position de la caméra par rapport à la surface dont on veut connaître la température. L'angle généralement recommandé entre la caméra et la surface de l'objet est de 90°, la distance de la caméra par rapport à l'objet varie entre 0,5 et 1,5 m¹⁶². Cependant, une étude réalisée sur des chevaux montre que des variations de l'angle de prise de vue (entre 70° et 110°), ou le recul de la caméra de 1m à 1,5 m, n'ont pas d'influence significative sur la température de la peau mesurée¹⁷⁵. Des paramètres environnementaux comme la température extérieure ou l'humidité peuvent en revanche avoir une influence sur la température mesurée¹⁶³.

b. Application de la thermographie infrarouge en médecine

L'application de la TI en médecine semble techniquement pertinente compte tenu de différents éléments. Premièrement, la peau des mammifères possède une bonne émissivité : elle est comprise entre 0,97 et 0,99¹⁷⁶ chez l'homme et entre 0,96 et 0,98 chez le cochon¹⁷⁷. L'émissivité n'est pas modifiée par la pigmentation de la peau¹⁷⁸ : la TI est donc utilisable sur l'ensemble des individus, contrairement à certains signes cliniques comme le TRC ou le *mottling score* qui sont difficilement applicables sur des peaux noires¹⁸. Deuxièmement, il est possible de prédire la température cutanée grâce la quantité d'IR détectée¹⁶⁰. En outre, la TI est simple à mettre en place, peu onéreuse. Elle n'est pas invasive, elle n'émet pas de rayons ionisants et elle n'est pas douloureuse. Elle permet de mesurer la température à distance, ce qui évite de placer un thermomètre sur la peau des patients, réduisant ainsi le risque d'infection nosocomiale, les patients en état de choc étant particulièrement à risque de surinfections¹⁷⁹. Enfin, elle permet d'obtenir des données dynamiques et « régionalisées » et ainsi de mettre en évidence l'hétérogénéité de perfusion d'une zone.

L'utilisation de la TI comme outil d'évaluation de la perfusion est rapportée depuis plusieurs dizaines d'années^{180,181} : les données obtenues semblent corrélées avec des mesures de perfusion obtenues par pléthysmographie¹⁸¹, laser doppler¹⁸² ou *Laser Speckle Contrast Imaging*¹⁸³. L'évaluation

de la perfusion *via* la TI est bien décrite dans d'autres contextes que celui des troubles de la perfusion périphérique lors des états de choc. Elle permet notamment de mesurer la perfusion cutanée lors de chirurgie (particulièrement lors de chirurgie esthétique^{160,184}), de mettre en évidence la présence de thrombus pulmonaires lors d'une greffe de poumon¹⁸⁵, de troubles de la perfusion chez des patients présentant une artériopathie périphérique¹⁸⁶⁻¹⁸⁹ et son utilisation est décrites dans de nombreuses autres conditions médicales¹⁶².

En résumé, le refroidissement des extrémités est un signe permettant d'identifier des troubles de la perfusion périphérique (figure 17). Le calcul des gradients de température (avec la température centrale ou ambiante) semble donc être un outil intéressant dans la prise en charge des patients en choc, que ce soit pour le diagnostic des troubles de la perfusion périphérique, prédire le pronostic ou la réponse au traitement. Cette mesure de température peut être faite grâce à différentes techniques. Parmi elles, la TI semble particulièrement intéressante.

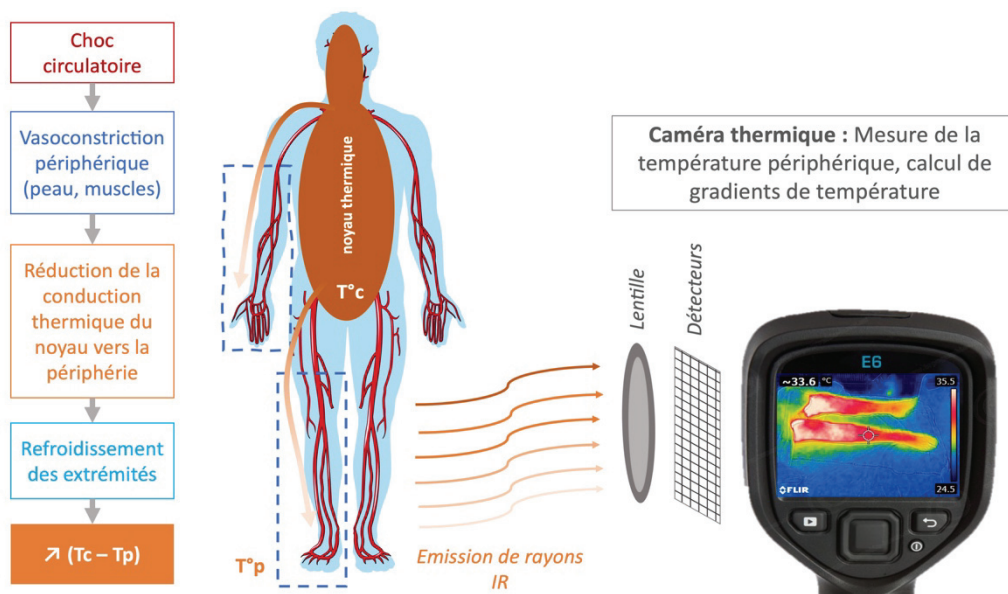


Figure 17 : Intérêt de la thermographie infrarouge lors d'un état de choc (Tc : température centrale, Tp : température périphérique)

B. Les apports de la recherche préclinique

Les données concernant l'utilisation des gradients de température, issues de la recherche expérimentale, sont rares. A notre connaissance, il n'existe que deux études : une étude de Pereira

et col publiée en 2014¹⁹⁰ et une autre, réalisée dans le cadre de cette thèse, et publiée en 2020¹⁹¹. Dans ces deux études, les auteurs utilisent la TI pour l'évaluation des gradients de température.

Pereira et col décrivent l'utilisation de la TI dans un modèle expérimental porcin de syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA)¹⁹⁰. Des thermogrammes de la partie antérieure (tête, tronc, membres antérieurs) ont été enregistrés chez 6 cochons avant induction des lésions puis toutes les heures après l'apparition du SDRA. Les images ont été segmentées *a posteriori* pour retirer l'arrière-plan. Le traitement des images a permis l'extraction de deux variables visant à évaluer l'hétérogénéité de la perfusion périphérique : la pente de la fonction $T^\circ(x)$ (température en fonction de x , x étant une position) mesurée entre l'extrémité d'un membre et la base du cou, et l'écart type des distributions des températures de toute la région d'intérêt. Les auteurs rapportent une corrélation négative forte entre ces paramètres et la PAM et une corrélation forte avec l'index de choc (fréquence cardiaque/pression artérielle systolique). La TI est donc capable de détecter les troubles de la perfusion tissulaire secondaires à une défaillance hémodynamique. Si cette étude apporte des informations intéressantes elle présente cependant une limite majeure, la complexité du post-traitement des thermogrammes enregistrés. Elle ne décrit pas l'évolution des gradients de température, calculés simplement comme cela a été décrit précédemment chez des patients en état de choc ($T^\circ_{\text{centrale}} - T^\circ_{\text{périphérique}}$ ou $T^\circ_{\text{périphérique}} - T^\circ_{\text{ambiante}}$).

Article n°1 : Utilisation de la thermographie infrarouge dans la détection des troubles de la perfusion périphérique d'apparition aiguë : évaluation dans un modèle expérimental porcin

L'article étant présenté en intégralité en annexe 1, nous détaillerons ici uniquement les résultats les plus intéressants. L'objectif de cette étude était d'évaluer la possibilité de détecter des troubles de la perfusion périphérique d'apparition aiguë dans un modèle de défaillance hémodynamique induite pharmacologiquement.

- *Le protocole expérimental*

Huit cochons ont été anesthésiés et équipés pour le suivi hémodynamique. Ce dernier incluait notamment la pression artérielle invasive (systolique : PAS, moyenne : PAM et diastolique : PAD), l'index cardiaque (IC), les variations de la pression pulsée (VPP) et la fréquence cardiaque. L'étude se décomposait en dix temps, le synopsis est présenté en figure 18. Le premier temps, dit de *baseline*,

commençait après induction de l'anesthésie, une fois l'animal stable. Des bolus de Ringer lactate ont ensuite été administrés pour s'assurer du bon remplissage vasculaire. Des phases d'hypotension (PAM comprise entre 30 et 50 mmHg) et d'hypertension (PAM comprise entre 90 et 110 mmHg) ont alors été réalisées. L'hypotension était consécutive à une vasoplégie et une baisse de l'inotropisme cardiaque induite par un surdosage de sévoflurane. L'hypertension était liée à l'augmentation des résistances vasculaires et du débit cardiaque secondaires à la perfusion de noradrénaline. La température centrale était mesurée par le cathéter artériel, dans l'aorte abdominale.

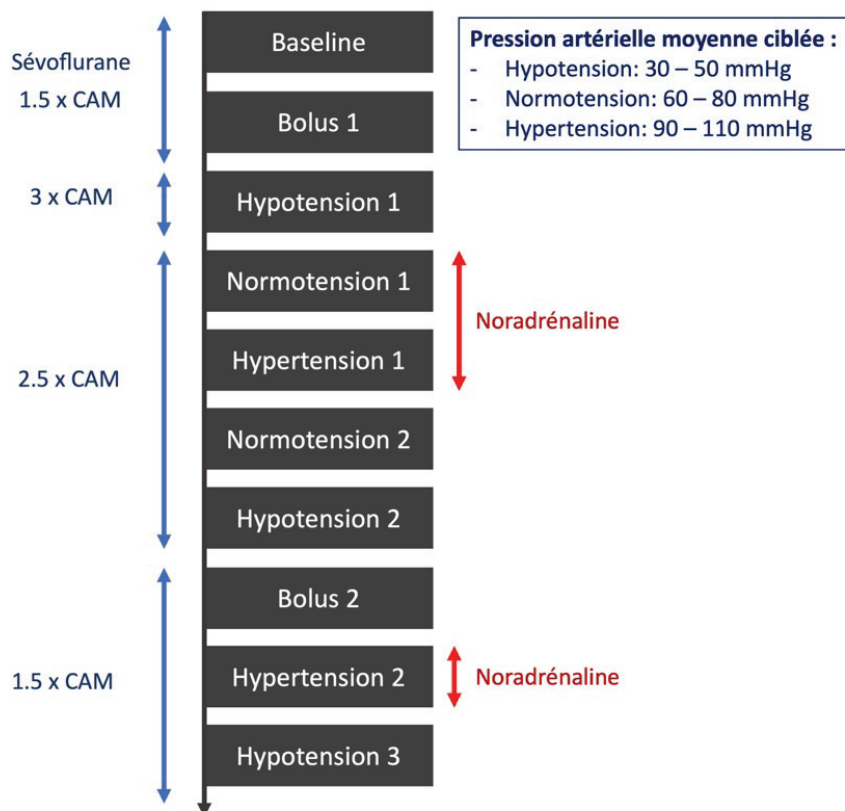


Figure 18 : Synopsis de l'étude (CAM : concentration alvéolaire minimum)

Des thermogrammes du membre antérieur droit ont été enregistrés à chaque temps. La température cutanée moyenne du carpe et du coude a été mesurée *a posteriori*, grâce à un logiciel adapté (figure 19). Des gradients de température ont été calculés à partir de ces mesures : $T^{\circ}c - T^{\circ}ca$ (température centrale – température du carpe), $T^{\circ}c - T^{\circ}co$ (température centrale – température du coude) et $T^{\circ}skindiff$ (température du coude – température du carpe). L'utilisation de ces gradients semblait plus pertinente que ceux utilisant la température ambiante. En effet, les

expérimentations avaient lieu en environnement contrôlé, la température extérieure était donc constante. L'utilisation d'un gradient de température incluant la température centrale permettait de mieux évaluer les variations de la température périphérique associées aux variations de perfusion en écartant celles secondaires aux oscillations de la température centrale liées à l'anesthésie et à l'utilisation d'un tapis chauffant (permettant de limiter les hypothermies induites par l'anesthésie). Détaillons un exemple imaginaire pour être plus clair : on observe chez deux cochons (A et B) une réduction de la température du carpe après 1h d'expérimentation, cette dernière étant passée de 34°C à 30°C. Pour le cochon A, la température centrale est restée stable et égale à 38°C, pour le cochon B, la température centrale a baissé au cours de l'anesthésie et est égale à 35°C au moment de la seconde mesure. Dans ces deux cas, si la température périphérique est bien la même à la fin de l'expérimentation, les gradients calculés sont différents : 8°C pour le cochon A et 5°C pour le cochon B. Dans le premier cas, la baisse de la température périphérique n'est pas consécutive à hypothermie, alors qu'elle doit l'être (au moins en partie) dans le deuxième cas.

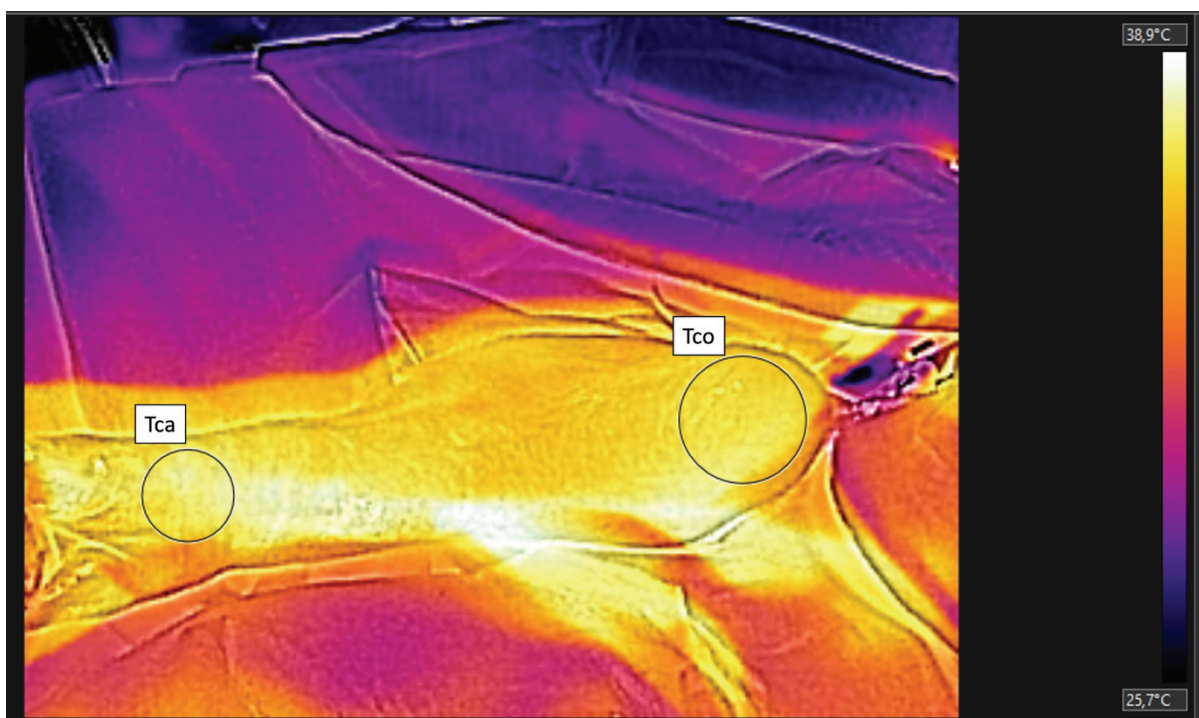


Figure 19 : Mesure de la température cutanée moyenne du carpe (Tca) et du coude (Tco) par thermographie infrarouge

Nous avons ensuite recherché l'existence de corrélations entre les paramètres hémodynamiques et les gradients de température en calculant les coefficients de corrélation de Spearman et en

construisant des modèles linéaires mixtes pour chaque gradient de température. Ces derniers incluait les paramètres hémodynamiques comme effets fixes et les individus comme effet aléatoire.

- *Les résultats*

Les gradients de température ($T^{\circ}c - T^{\circ}ca$) et ($T^{\circ}c - T^{\circ}co$) étaient fortement corrélés et on observait une corrélation négative faible avec la PAM et l'IC (tableau 1). La figure 20 présente l'évolution de ces variables au cours de l'expérimentation. Sur cette figure, si on devine l'existence de ces corrélations, on constate surtout la grande variabilité interindividuelle concernant les gradients de température, plus marquée pendant les phases d'hypotension. Ces éléments sont également visualisables sur la figure 21.

L'analyse multivariée montrait une association significative entre ces gradients de température, la PAM et la fréquence cardiaque (tableau 2). Cependant l'association de la PAM et de la FC n'expliquait que très partiellement la variance des gradients de température (28 % pour $T^{\circ}c - T^{\circ}ca$, 27 % pour $T^{\circ}c - T^{\circ}co$).

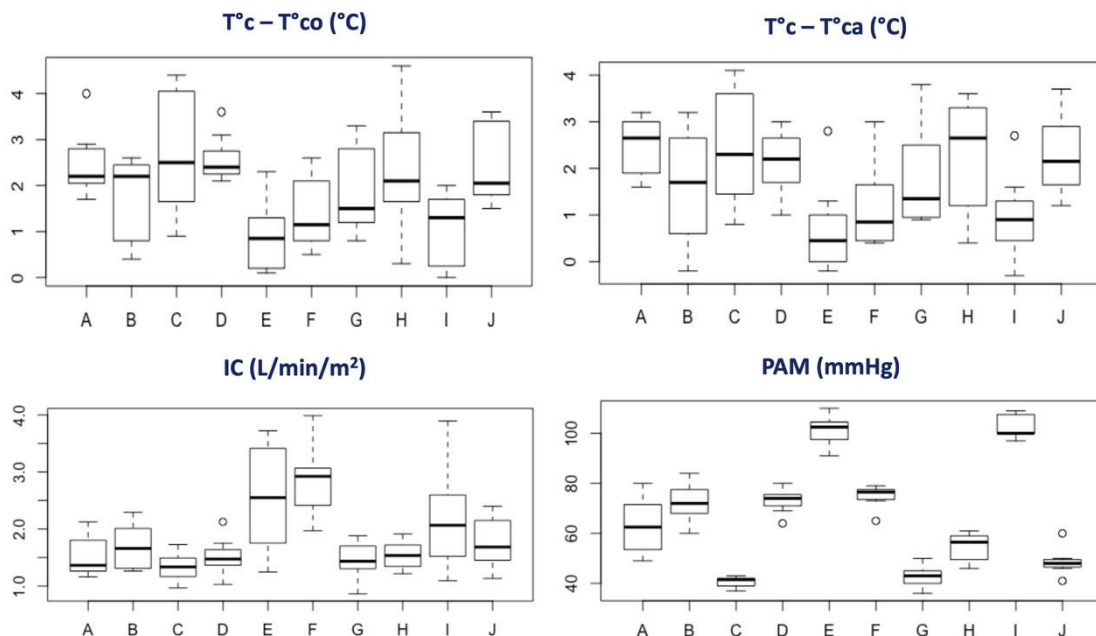


Figure 20 : Évolution des gradients de température, de la pression artérielle moyenne et de l'index cardiaque au cours de l'étude (IC : index cardiaque, PAM : pression artérielle moyenne, $T^{\circ}c$: température centrale, $T^{\circ}ca$: température du carpe, $T^{\circ}co$: température du coude – Temps de l'étude : A : baseline, B : bolus 1, C : hypotension 1, D : normotension 1, E : hypertension 1, F : normotension 2, G : hypotension 2, H : bolus 2, I : hypertension 2, J : hypotension 3)

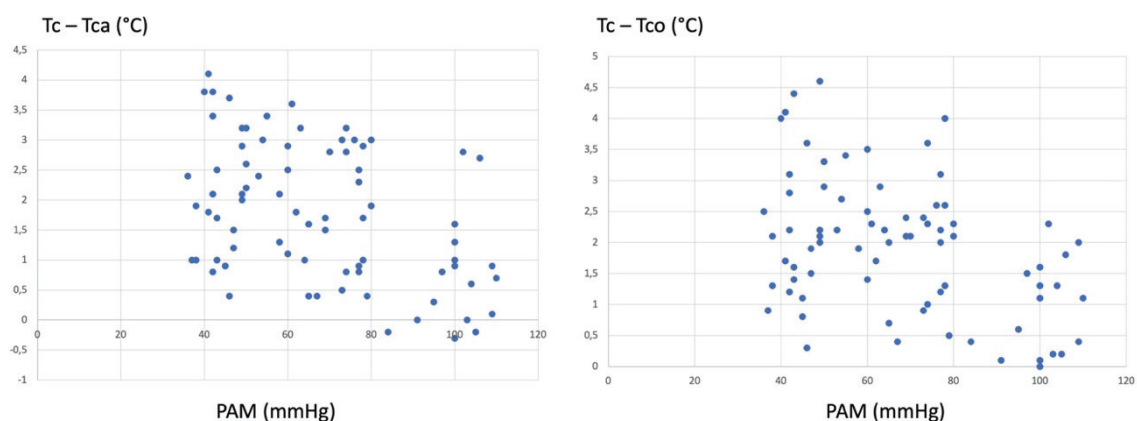


Figure 21 : Représentation des gradients de température en fonction de la pression artérielle moyenne (PAM : pression artérielle moyenne, Tc : température centrale, Tca : température du carpe, Tco : température du coude)

Tableau 1 : Corrélations entre les gradients de température et les paramètres hémodynamiques (IC : index cardiaque, PAM : pression artérielle moyenne, Tc : température centrale, Tco : température du coude, Tca : température du carpe, * P ≤ 0,05)

		Tc - Tco	Tc - Tca	Tskindiff
PAM	Corrélation de Spearman	-0.36*	-0.40*	-0.15
	P-value	0.007	0.002	1
IC	Corrélation de Spearman	-0.32*	-0.36*	0.12
	P-value	0.05	0.02	1
Tc - Tco	Corrélation de Spearman	-	0.89*	-0.02
	P-value	-	0.0007	1
Tc - Tca	Corrélation de Spearman	0.89*	-	0.40*
	P-value	0.0007	-	0.002

Tableau 2 : Analyse univariée et multivariée des gradients de température (FC : fréquence cardiaque, PAM : pression artérielle moyenne, VES : volume d'éjection systolique, Tc : température centrale, Tco : température du coude, Tca : température du carpe)

Variable dépendante	Effet fixe	Analyse univariée		Analyse multivariée	
		Coefficient	P-value	Coefficient	P-value
Tc - Tca	PAM	-0.024	<0.0001	-0.017	0.004
	VES	-0.014	0.12		
	FC	-0.021	<0.0001	-0.012	0.03
Tc - Tco	PAM	-0.024	<0.0001	-0.013	0.04
	VES	-0.019	0.06	-0.011	0.19
	FC	-0.023	<0.0001	-0.015	0.01
Tskindiff	MAP	-0.0006	0.23		
	VES	0.007	0.06		
	FC	0.0008	0.67		

- *Conclusions*

La TI a permis d'évaluer des variations des gradients de température entre la T° centrale et la T° cutanée périphérique. Ces variations sont très probablement le reflet de modifications de la perfusion périphérique consécutives aux variations hémodynamiques. Cependant, une des limites de cette étude est que nous n'avons pas utilisé d'autre technique pour quantifier la perfusion périphérique et ainsi comparer ces gradients de température avec une méthode standard.

Les corrélations observées entre les paramètres hémodynamiques et ces gradients de température étaient plutôt faibles. Ceci est potentiellement à relier avec l'observation d'une variabilité interindividuelle importante concernant les gradients. D'autres causes peuvent également expliquer ces observations : premièrement, on peut imaginer des variations interindividuelles liées à des réponses physiologiques légèrement différentes d'un individu à l'autre. Deuxièmement, la température cutanée n'est pas seulement dépendante de sa perfusion ; d'autres paramètres interviennent, notamment la production locale de chaleur. Cependant, cette dernière doit être faible dans les conditions d'expérimentation (anesthésie, ralentissement du métabolisme, immobilité). Enfin, il est possible que des imprécisions de mesure de la température cutanée expliquent ces observations. En effet, si la sensibilité thermique de la caméra utilisée est très élevée ($<0,1^{\circ}\text{C}$), sa précision reste limitée ($\pm 0,6^{\circ}\text{C}$). Il aurait donc été plus pertinent de calculer un gradient entre deux températures extraites du même thermogramme, plutôt que de comparer une température évaluée par la caméra thermique à une température mesurée par une autre méthode (dans l'étude, la T° centrale a été mesurée par un thermomètre au niveau de l'aorte abdominale). Compte tenu des variabilités interindividuelles, il est possible que la cinétique individuelle des gradients de température soit plus utile que la mesure ponctuelle.

Le gradient T_{skindiff} n'a pas présenté d'intérêt au cours de notre étude : il a peu varié et n'était pas corrélé aux paramètres hémodynamiques. Ces faibles variations peuvent être liées à la rapidité des variations hémodynamiques. Il est aussi possible que ce paramètre ne soit pas le plus adapté dans les situations de chocs circulatoires : les études le concernant rapportent son augmentation lorsqu'une vasoconstriction périphérique est mise en œuvre dans un contexte physiologique de thermorégulation¹⁷².

C. Applications cliniques

Il existe quelques études qui rapportent l'utilisation de la TI dans des contextes de chocs circulatoires. Ortiz-Dosal et col décrivent son utilisation chez huit enfants hospitalisés en soins

intensifs dont 3 en état de choc circulatoire. Ces derniers présentent une température du poignet, de la face dorsale de la main et du pied significativement inférieure à celle mesurée dans le groupe contrôle, hémodynamiquement stable, les différences observées étant de l'ordre de 7°C¹⁹².

Nagori et col rapportent des résultats très intéressants avec l'utilisation de la TI dans un centre pédiatrique de soins intensifs. Des thermogrammes sont enregistrés toutes les 3h chez 253 enfants. Sur chaque thermogramme, les auteurs calculent un pourcentage de différence d'intensité (PDI, reflet de la température) entre le pied et l'abdomen ($PDI = (intensité\ abdominale - intensité\ du\ pied) / intensité\ abdominale \times 100$) qu'ils substituent au gradient de température conventionnel. Ce calcul est réalisé manuellement dans un premier temps, et permet de prédire la survenue d'un choc 3h post-thermogramme avec une précision de 79 % (sensibilité = 0,69, spécificité = 0,79). Dans un second temps, ils utilisent l'apprentissage automatique (*machine learning*) pour calculer leur variable (PDI). Cette étape, complètement automatisée, permet de prédire le choc à 3h avec une précision de 73 s% (sensibilité = 0,65, spécificité = 0,82).

Chez des adultes en choc septique, Ferraris et col évaluent l'intérêt de la TI dans la mesure de la température de la région du genou et la compare au *mottling score*. L'idée sous-jacente étant que la TI pourrait peut-être être plus performante car moins subjective que la réalisation d'un score s'appuyant sur l'évaluation des marbrures cutanées. Les auteurs rapportent une température plus basse en présence de marbrures. Cependant dans cette étude, ni la température cutanée, ni le *mottling score* ne permettent de prédire le décès. Ce résultat est très probablement lié à la grande variabilité interindividuelle des températures cutanées enregistrées¹⁶. Il est possible que le calcul d'un gradient de température ait pu être intéressant pour réduire cette hétérogénéité.

Considérant ces résultats encourageants, nous avons évalué l'intérêt du gradient de température entre périphérie et noyau dans la prédiction de la mortalité chez des patients en choc septique.

Article n°2 : Le gradient de température entre la périphérie et le noyau mesuré par thermographie prédit la mortalité à 8 jours lors de choc septique - Une étude prospective observationnelle.

L'ensemble de l'article est accessible en annexe 2. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'intérêt de la mesure du gradient de température [T° centrale - T° périphérique] dans la prédiction de la mortalité précoce.

- *Le protocole expérimental*

Soixante et un patients présentant un choc septique (d'après la définition du dernier consensus) depuis moins de 24h ont été inclus. Ces derniers ont été suivis pendant 8 jours. Au moment de l'inclusion, plusieurs paramètres de perfusion tissulaire ont été enregistrés, incluant des paramètres de perfusion périphériques (TRC, *mottling score*, gradients de température) et les lactates. Les gradients de température ont été calculés en soustrayant la température cutanée périphérique à la température centrale. La température cutanée périphérique était mesurée par TI dans différentes régions : l'index, l'hallux, l'avant-bras et le genou (figure 22). Les gradients étaient mesurés pour chaque côté (gauche/droite) mais seul le gradient le plus important était conservé pour l'analyse.

Des régressions logistiques univariées, incluant respectivement un gradient de température (index, hallux, genou ou avant-bras) comme prédicteurs et la mortalité comme variable à prédire ont été réalisées. Leur AIC (critère d'information d'Akaike) a été calculé pour sélectionner le modèle (et donc le gradient de température) associé à une perte d'information moindre. Une valeur seuil optimale pour le gradient de température a été estimée. Une régression logistique univariée pour prédire la mortalité, incluant le gradient de température transformé en variable binaire ($>$ ou $<$ au seuil identifié), puis une régression logistique multivariée en ajustant au score SOFA, ont été réalisées. Les paramètres de perfusion tissulaire ont été comparés entre les individus présentant un gradient de température élevé ou bas à l'aide d'un test de Fisher ou d'un test de Wilcoxon. Des corrélations ont également été recherchées à l'aide de corrélations de Spearman.

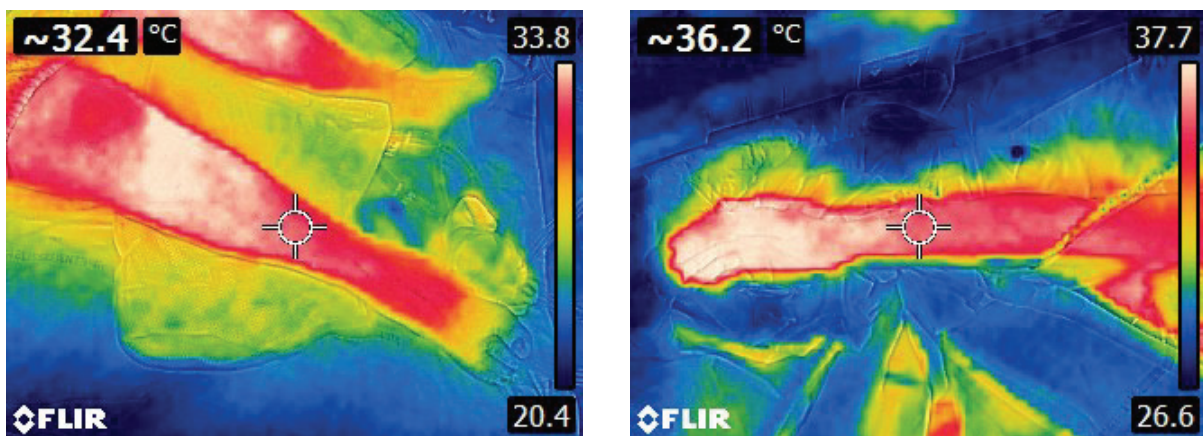


Figure 22 : Exemples de thermogrammes obtenus sur des patients. A droite une jambe droite, à gauche un bras droit.

- *Les résultats*

Dans cette cohorte, le taux de mortalité à 8 jours était de 16 %. Le gradient de température sélectionné était celui utilisant la température de l'index. Ce gradient était associé à la mortalité (OR = 1,35, IC95% : [1,07 – 1,82], $p = 0,02$).

Le seuil de 7°C a été identifié, suggérant qu'un gradient supérieur permettait de prédire le décès à 8 jours avec une sensibilité de 90 % et une spécificité de 66 % (associées une valeur prédictive positive de 35 % et négative de 97 %).

Lorsque ce gradient de température était intégré, sous sa forme binaire, dans le modèle incluant le score SOFA, il était toujours associé à la mortalité (OR = 4,26, IC95% : [2,06 – 10,77], $p < 0,001$).

Les patients avec un gradient de température supérieur à 7°C présentaient des signes d'hypoperfusion tissulaire plus marqués que les autres (tableau 3). Enfin, il existait une corrélation modérée entre les gradients de température, le TRC, le *mottling score* et les lactates (tableau 4).

Tableau 3 : Comparaisons des paramètres de perfusion tissulaire des patients présentant un gradient de température entre la température centrale et la température de l'index (GT) supérieur à 7°C avec ceux dont le gradient est inférieur à 7°C

	GT < 7°C	GT > 7°C	<i>p</i> -value
Lactates (mmol/L)	3,6 (2,6 – 6,2)	5,4 (3,5 – 8,1)	0,015
TRC (s)	3,8 (3,0 – 5,2)	4,7 (3,7 – 6,6)	0,043
Mottling score			0,004
0 - 1	29 (48%)	13 (21%)	
2 - 3	4 (7%)	12 (20%)	
4 - 5	2 (3%)	1 (2%)	

Tableau 4 : Matrice de corrélations entre les différents paramètres de perfusion tissulaire (les valeurs indiquées sont les *rho* de Spearman, * p -value < 0,05)

	GT	Lactate	TRC	Mottling score
GT	1	0.38*	0.36*	0.33*
Lactate	0.38*	1	-0.01	0.27*
TRC	0.36*	-0.01	1	0.53*
Mottling score	0.33*	0.27*	0.53*	1

• Conclusions

Cette étude démontre qu'il est possible d'utiliser la TI pour calculer les gradients de température. Ici le gradient entre la température centrale et celle mesurée en regard de l'index permet de prédire la mortalité précoce. Le seuil de 7°C permet de prédire le décès avec une

sensibilité correcte et une spécificité modérée. Les valeurs prédictives suggèrent qu'une attention particulière doit être apportée aux patients présentant une valeur au-delà de ce seuil. Cette valeur vient notamment confirmer des données déjà présentes dans la littérature¹⁹³.

Les corrélations observées entre les différents paramètres ne sont pas étonnantes puisque tous (sauf les lactates) évaluent la perfusion cutanée. Ces corrélations restent cependant modérées, soulignant que chaque paramètre possède ses propres caractéristiques et ses propres limites. Les autres paramètres périphériques étudiés (TRC, mottling score) ont également fait l'objet d'études rapportant leur intérêt, notamment dans la prédiction de la mortalité^{135,136}. Malgré leur intérêt, aucun de ces paramètres n'est parfait : il semble donc logique d'imaginer une utilisation conjointe, pour additionner des informations, comme le suggère Hernandez et col⁸⁶ dans leur « théorie holistique » (voir Introduction.IV.C) plutôt que la découverte d'un paramètre unique, supérieur à tous les autres, à tout égard et pour chaque patient.

Cette étude décrit l'utilisation ponctuelle, dans la phase aiguë du choc septique, de paramètres de perfusion. Il serait intéressant d'en étudier l'évolution au cours du temps pour mieux comprendre quelle association est la plus pertinente et à quel moment. Il aurait également été intéressant d'étudier si ces paramètres, et plus précisément le gradient de température dans cette étude, étaient modifiés par l'administration de vasopresseurs et comment, et si leur augmentation permettait de prédire la survenue future de défaillances d'organes.

D. Les limites

Les limites à l'utilisation de la TI dans le diagnostic des troubles de la perfusion périphérique sont de deux ordres : certaines correspondent aux limites inhérentes à la mesure des gradients de température, quelle qu'en soit l'approche, d'autres sont liées à la méthode même de mesure, la TI.

1. Les limites à l'utilisation des gradients de température

Certaines études concernant l'utilisation des gradients de température rapportent des résultats discordants avec les éléments présentés précédemment (1^{ère} partie, I, A, 1). Wood et col suggèrent que l'utilisation des gradients de température est une pratique « dangereuse » puisqu'ils ne mettent pas en évidence de corrélation entre cette variable et les paramètres hémodynamiques, dans une cohorte de 27 patients présentant un choc circulatoire (septique, hypovolémique ou cardiogénique). Cependant, ce travail présente une limite majeure. En effet, les patients ont reçu des inotropes

et/ou des vasodilatateurs. L'administration de ces médicaments a largement pu modifier la perfusion périphérique ; or, elle n'a pas été prise en compte dans l'analyse des données¹⁹⁴.

Quelques études réalisées chez des enfants ayant subi une chirurgie cardiaque décrivent peu ou pas de corrélation entre gradients de température et paramètres hémodynamiques¹⁹⁵⁻¹⁹⁷. Butt et col ne mettent pas en évidence de corrélation entre l'évolution du gradient de température entre la température de l'hallux et la température centrale, celle du débit cardiaque et des résistances vasculaires dans une cohorte de 136 enfants¹⁹⁶. Mais ces résultats ne sont pas surprenants pour plusieurs raisons. En premier lieu, les patients ne semblent pas présenter, en grande majorité, de troubles de la perfusion périphérique ou de défaillance hémodynamique. En effet, la plupart des individus présentent un gradient inférieur à 4°C et un index cardiaque normal¹⁹⁸ (compris entre 3 et 6 L/min/m²). Or, chez l'adulte en choc cardiogénique, les études rapportent une corrélation dans des populations présentant une instabilité macrocirculatoire et une baisse du débit cardiaque^{199,200}. En outre, dans l'étude réalisée par Butt et col, les patients ont reçu des alpha-bloquants, altérant potentiellement la mise en place d'une vasoconstriction périphérique. Dans le même contexte, Duke et col rapportent que le gradient de température ne permet pas de prédire les complications, parmi lesquelles sont inclus les syndromes de défaillances multiorganiques. Cette absence de preuve n'est pourtant pas la preuve de l'absence d'intérêt des gradients de température, d'autant plus que les défaillances d'organes sont rares dans leur cohorte (6 enfants sur 90 soit 7 %) ¹⁹⁵.

Malgré les arguments que l'on peut opposer à ces études contradictoires, il n'en reste pas moins que l'utilisation des gradients de température présente de nombreuses limites. Premièrement, comme précisé plus haut d'autres facteurs que la perfusion influencent la variation de la température cutanée, comme la production de chaleur locale. Cette dernière semble cependant de moindre importance dans le contexte d'une hospitalisation en réanimation (absence de production de chaleur liée à la locomotion) et en regard de l'hallux. Deuxièmement, il semble possible d'imaginer la présence d'une hypoperfusion chez des patients présentant des extrémités chaudes, notamment lors de sepsis où la perfusion peut être très hétérogène. En outre, d'autres causes qu'une vasoconstriction réflexe induite par un état de choc peuvent être à l'origine d'un refroidissement des extrémités comme la présence d'une vasculopathie périphérique, la douleur, l'anxiété ou un environnement froid²⁰¹.

Enfin, l'utilisation des gradients de température est confrontée à des limites d'ordre méthodologique : manque de reproductibilité et de précisions des mesures réalisées avec certains thermomètres par exemple. Schey et col recommandent l'utilisation d'appareils validés par une institution de référence. Ainsi, le calcul par TI de gradients entre deux températures issues d'un

même thermogramme (comme dans l'étude de Nagori et col par exemple²⁰²) semble particulièrement pertinent compte-tenu de la bonne sensibilité thermique des caméras actuelles. Dans ce contexte, l'imprécision de la mesure n'est pas importante puisque l'objectif n'est pas de savoir si la température mesurée est précisément celle de l'objet mais plutôt de quantifier une différence de température entre deux points ; or, l'erreur est la même pour toutes les températures d'un même thermogramme : le gradient calculé ne sera donc pas influencé par l'imprécision. Voici un exemple pour clarifier ce point : nous souhaitons mesurer le gradient de température entre le point A et le point B à l'aide de deux caméras infrarouge (dont la précision est de +/- 2°C). Les points étant suffisamment rapprochés, dans les deux cas les températures peuvent être mesurées sur le même thermogramme. La première caméra donne une température de 35°C pour le point A et de 22°C pour le point B, le gradient calculé entre A et B est de 13°C. La deuxième caméra ne donne pas les mêmes résultats de température : la température du point A est de 37°C, celle de B est de 24°C. Pour autant, la différence reste la même (13°C).

La dernière limite concerne la mesure de la température centrale. La température rectale n'est pas forcément le reflet de cette dernière, notamment lorsqu'une hypoperfusion digestive est présente. Il semble donc que l'utilisation de la température mesurée par un cathéter artériel pulmonaire soit plus précise pour l'évaluation de la température centrale²⁰¹.

2. Les limites de la thermographie infrarouge

Les limites intrinsèques de la TI ont déjà été abordées en partie précédemment. Les appareils utilisés actuellement pour des applications médicales sont généralement des appareils utilisant un microbolomètre non refroidi. Ce type de technologie est censé être moins précis que les appareils à microbolomètre refroidi. Cependant ces derniers sont très onéreux et leur utilisation en pratique médicale reste impossible à mettre en œuvre car nécessitant un recalibrage à froid avant chaque enregistrement. Les nouvelles générations d'appareils à microbolomètre non refroidi ont bénéficié d'une nette amélioration de leurs performances¹⁶³. Ils présentent, entre autres, une très bonne sensibilité thermique, généralement inférieure à 0,1°C¹⁶⁰. Une étude ayant testé 3 différentes caméras thermiques équipées de microbolomètre non refroidi conclut que chacun des appareils est adapté à la mesure de la température cutanée²⁰³.

L'enregistrement d'image par TI doit se faire suivant un protocole adapté et répété pour chaque mesure, afin de s'assurer de la comparabilité des résultats. En effet, des paramètres extérieurs comme la température ambiante, l'humidité ou le vent peuvent modifier les résultats

obtenus^{162,163,204}. Le mieux est d'enregistrer la température et l'humidité ambiante au moment de l'enregistrement du thermogramme afin de les préciser dans le logiciel d'analyse d'image, ce dernier étant capable de faire des corrections adaptées. Ces limites ne semblent pas majeures pour une utilisation en hospitalisation où l'environnement est contrôlé et les variations de faible intensité.

D'autres paramètres pratiques peuvent théoriquement influencer sur les résultats : la distance entre l'objet et la caméra et l'angle entre la surface de l'objet et la lentille. Il est recommandé de réaliser un enregistrement à 90° et à environ 1m de l'objet. Des études réalisées sur des chevaux montrent cependant que des variations d'angle entre 70° et 110°, et de distance entre 50 et 150 cm, ne sont pas à l'origine de modifications significatives des températures cutanées mesurées¹⁷⁵.

La TI est une méthode intéressante d'évaluation de la perfusion périphérique applicable à tous, quelle que soit la pigmentation cutanée. Une étude expérimentale réalisée par notre équipe sur des cochons suggère qu'elle est capable de détecter des changements de la perfusion périphérique secondaires à des variations hémodynamiques¹⁹¹. Cette évaluation repose sur la mesure de la température cutanée et le calcul des gradients entre température périphérique et centrale. En outre, elle est peu onéreuse, simple à utiliser en pratique, non invasive et non ionisante. La mesure de la température se fait à distance, ce qui peut être intéressant chez des patients hospitalisés en réanimation. Une étude réalisée chez des patients en choc septique a montré qu'elle permettait de prédire la mortalité précoce²⁰⁵. Les limites concernant son applicabilité aux états de choc correspondent majoritairement aux limites intrinsèques à l'utilisation des gradients de température comme marqueurs de la perfusion périphérique. A l'avenir, il est possible que son utilisation soit optimisée et automatisée grâce à l'utilisation de l'intelligence artificielle, comme décrit récemment par Nagori et son équipe²⁰².

II. La photopléthysmographie urétrale

A. Le rationnel scientifique

1. Photopléthysmographie et mesure de la perfusion tissulaire

La photopléthysmographie (PPG) est une technique optique permettant, entre autres, d'évaluer les variations du volume sanguin présent dans un tissu. La PPG repose sur l'utilisation conjointe d'une source de lumière illuminant un volume tissulaire et d'un photorécepteur détectant des variations d'intensité lumineuse secondaires aux variations de la quantité de lumière absorbée par les tissus environnants. La lumière utilisée consiste en des IR ou des rayons proches de l'IR, ces rayons étant très bien absorbés par l'hémoglobine. Dans l'espace étudié, seul les volumes sanguins peuvent varier, les changements détectés par le photorécepteur sont donc liés aux modifications de la perfusion tissulaire : plus le volume sanguin local est important et plus la lumière sera atténuée²⁰⁶⁻²⁰⁸ (figure 23).

Les interactions entre les tissus et la lumière sont complexes et impliquent de nombreux événements : diffusion, absorption, réflexion, fluorescence etc... De nombreuses études se sont intéressées à la PPG et ont permis d'identifier les paramètres influençant la lumière captée par le photorécepteur. Les paramètres majeurs sont le volume sanguin, le mouvement de la paroi des vaisseaux sanguins et l'orientation des globules rouges^{206,207}. Néanmoins d'autres éléments semblent impliqués et l'origine des différents composants du signal de PPG n'est pas encore complètement élucidée. Le choix de la longueur d'onde utilisée semble également d'importance majeure puisque cette dernière conditionne les interactions lumière-tissu. La longueur d'onde doit permettre à la lumière de diffuser dans les tissus sans qu'elle soit absorbée par l'eau. C'est également l'une des raisons pour laquelle les IR ou les proches IR sont utilisés. En outre, des différences d'absorption majeures peuvent exister entre l'oxyhémoglobine et la désoxyhémoglobine. Ces différences sont fonction de la longueur d'onde utilisée. Enfin, la longueur d'onde conditionne également la profondeur à laquelle la lumière diffuse. Les radiations utilisées par la PPG diffusent généralement à quelques millimètres de profondeur dans les tissus, ce qui correspond à un volume étudié de l'ordre du cm^3 ²⁰⁶.

Le signal PPG se décompose en deux parties (figure 23). La première est une composante pulsatile, elle est généralement appelée « AC » pour *alternate current*, ou courant alternatif. Elle est le reflet des variations d'absorption liées aux modifications du volume sanguin artériel ou artériolaire, synchronisée aux cycles cardiaques. La deuxième composante est non pulsatile, elle est désignée par l'acronyme « DC », pour *direct current*, signifiant courant continu. Elle correspond à l'absorption relativement constante de la lumière par les tissus environnants. Elle dépend de la nature des tissus,

du volume sanguin veineux et du volume sanguin artériolaire correspondant des régions vasculaires non pulsatiles. La DC est aussi légèrement influencée par les mouvements respiratoires. Le traitement du signal par l'ajout de filtres et l'amplification permet d'extraire ces deux composantes^{23,206,208}. Le choix des filtres est essentiel et résulte nécessairement d'un compromis : un filtrage excessif peut distordre la partie pulsatile alors qu'un filtrage insuffisant est à l'origine d'une prépondérance de la composante non pulsatile. La PPG étant très sensible aux mouvements de la sonde, le traitement du signal permet, après détection du mouvement, d'exclure les artefacts et d'augmenter la qualité du signal²⁰⁶.

Il existe deux configurations possibles concernant le placement de la source de lumière et du photorécepteur. Dans la première, dite de trans-illumination (ou transmission), le tissu étudié est placé entre les deux éléments de la sonde PPG. Dans la seconde, appelée PPG par réflectance (ou réflexion), la source de lumière et le récepteur sont placés côte à côte (figure 23). Ce mode de PPG est moins contraignant car il permet de réaliser des mesures dans plus de régions de l'organisme²⁰⁶.

L'utilisation de la PPG comme méthode d'évaluation de la perfusion est reconnue et présente de nombreux avantages : elle est non invasive, non ionisante et peu onéreuse. Contrairement aux dernières technologies utilisant la PPG, la PPG « traditionnelle » requiert un contact avec les tissus étudiés¹⁶³. Des sondes utilisant cette technique ont permis de réaliser des mesures de la perfusion tissulaire dans différentes régions et divers contextes. Elle a été comparée avec succès à la vélocimétrie laser (*laser doppler flowmetry*) et à la spectroscopie dans l'infrarouge proche (*near infrared spectroscopy*) dans le cadre de la mesure de la perfusion cutanée²⁰⁹. Sandberg et col rapportent l'emploi de la PPG dans l'évaluation de la perfusion musculaire. Ils décrivent une augmentation de cette dernière suite à un exercice physique. Les résultats obtenus sont similaires à ceux obtenus par échodoppler²¹⁰. Plusieurs études rapportent l'intérêt de la PPG dans l'évaluation de la perfusion digestive²¹¹⁻²¹³. Dans l'une d'entre elles, réalisée dans un modèle expérimental canin, la PPG se révèle plus sensible que l'écho-doppler et l'administration de fluorescéine pour l'identification d'ischémies digestives²¹³. Enfin, l'index de perfusion périphérique, calculé d'après les mesures enregistrées par une sonde PPG d'oxymétrie de pouls (permettant initialement d'évaluer la saturation en oxygène de l'hémoglobine), s'est révélé intéressant dans la mesure des troubles de la perfusion périphérique lors de choc circulatoires. Dans une cohorte de 37 patients hospitalisés en réanimation, cet index est corrélé avec le gradient de température entre la température de l'hallux et la température centrale. He et col rapportent que cet index permet de prédire le décès de patients en choc septique avec une sensibilité de 65 % et une spécificité de 92 %²¹⁴.

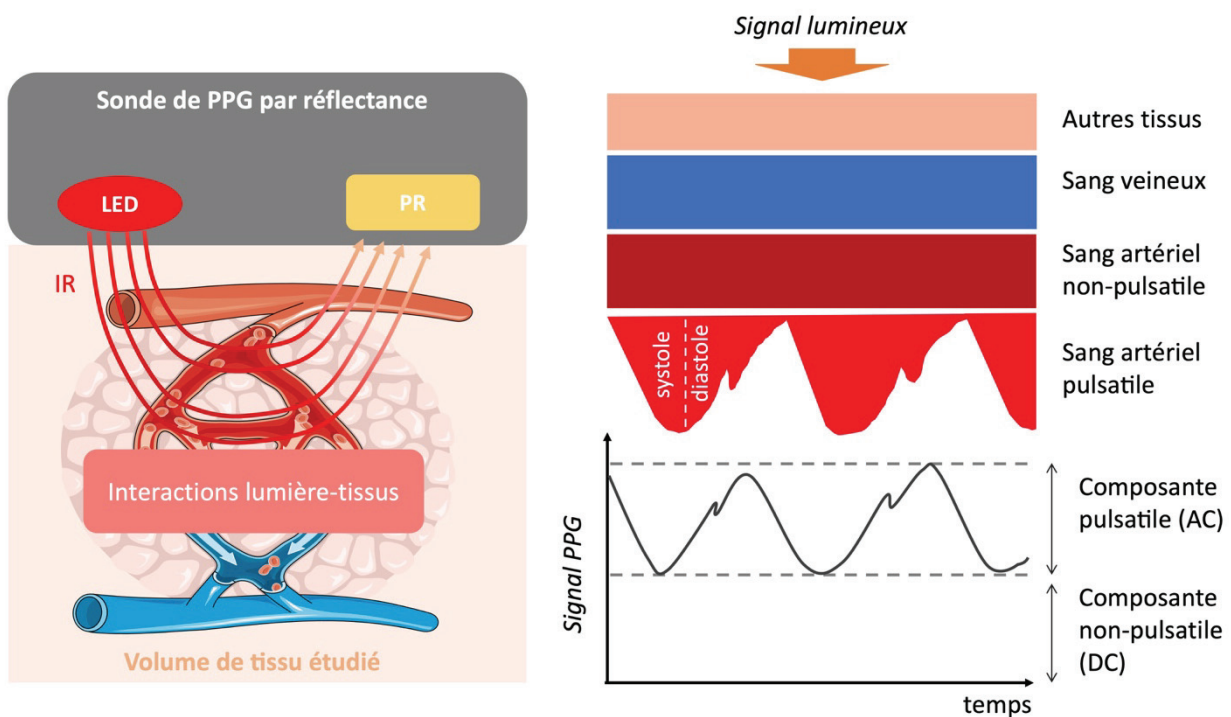


Figure 23 : La mesure de la perfusion tissulaire par photopléthysmographie par réflectance (LED : *light emitting diode*, PR : photorécepteur, IR : infrarouge, PPG : photopléthysmographie, AC : *alternate current*, DC : *direct current*)

2. Le choix du site de mesure

Les sites de mesures pertinents dans le contexte de chocs circulatoires correspondent aux territoires « sacrifiés », dans lesquels les mécanismes compensateurs sont à l'origine d'une hypoperfusion (voir Introduction.III.A.1). En effet, ces sites permettraient d'identifier de manière précoce des troubles de la perfusion tissulaire permettant, potentiellement, de prévenir la survenue de défaillances d'organes. Ainsi, plusieurs régions ont déjà été évaluées.

L'index de perfusion périphérique décrit précédemment se mesure au niveau de l'index. Comme nous l'avons présenté dans la partie concernant la TI, cette localisation permet la mesure de la perfusion périphérique et semble donc pertinente. En outre, elle est facile d'accès. Cependant elle présente une limite : la pigmentation de la peau peut interférer avec les mesures et limiter son utilisation. En effet, l'absorption de la lumière par la mélanine peut être à l'origine d'une réduction de la qualité du signal qui est alors difficilement interprétable²¹⁵.

La mesure de la perfusion digestive, et plus particulièrement intestinale, semble particulièrement intéressante dans les états de chocs. En effet, comme cela a été détaillé en introduction (III.B.1), l'hypoperfusion digestive est un événement clef dans l'installation d'un

syndrome de défaillance multi-organique. Si la mise en place d'une sonde PPG au contact de la muqueuse intestinale est réalisable, comme cela a déjà été décrit^{211,212}, elle reste difficile à mettre en œuvre en pratique clinique. En effet, elle nécessite des compétences et du matériel particulier, puisqu'elle doit être placée sous contrôle endoscopique. Ce type d'intervention est potentiellement chronophage et une telle procédure n'est pas forcément réalisable sur un patient instable.

Pour nos études, nous avons fait le choix d'utiliser la PPG pour mesurer la perfusion urétrale. La première raison est d'ordre pratique : en effet, l'appareil de PPG est placé sur une sonde urétrale (sonde de Foley). Ce type de sonde est très simple à mettre en place et fait généralement partie de la prise en charge classique des patients critiques puisqu'elle permet de quantifier la diurèse. En outre, la muqueuse urétrale semble être un territoire sujet à l'hypoperfusion lors des états de choc. Une étude expérimentale réalisée sur des cochons montre que la perfusion urétrale est fortement réduite lors d'hypovolémie ou lors de pancréatite, et ce même lorsque le débit cardiaque n'est pas affecté²¹⁶.

La pertinence de l'utilisation de la paroi urétrale comme marqueur d'hypoperfusion chez des patients critiques a également été soulignée dans plusieurs études réalisées par Mayevsky et col. Ces derniers ont mis au point une sonde urétrale sur laquelle sont disposés plusieurs capteurs²¹⁷. Ces derniers permettent, entre autres, de mesurer la perfusion par *laser doppler flowmetry* et le fonctionnement mitochondrial par fluorescence, en quantifiant le nicotinamide adénine dinucléotide sous forme réduite (NADH) présent dans les tissus. Les auteurs décrivent des résultats très encourageants. Ils ont confirmé la baisse précoce de la perfusion urétrale chez des cochons en choc hémorragique²¹⁸. Un de leurs résultats est particulièrement intéressant : la perfusion urétrale semble répondre aux mesures de réanimation mises en place²¹⁸, suggérant que cette fenêtre d'observation pourrait être intéressante dans le suivi thérapeutique des patients. Les auteurs rapportent aussi son utilisation chez quelques patients critiques, dont certains ayant reçu une chirurgie cardiaque à cœur ouvert²¹⁹. Malheureusement, il n'existe pas, à notre connaissance, de description plus exhaustive de l'intérêt de ce moniteur dans une population de patients en choc circulatoire.

3. Description de la sonde urétrale de photopléthysmographie

La sonde urinaire, nommée IKORUS UP (IkUp), a été développée par la société Advanced Perfusion Diagnostics (APD, Villeurbanne, France) dans le cadre d'un partenariat avec notre équipe de recherche. Il s'agit d'une sonde de Foley équipée d'un dispositif de PPG par réflectance (figure 24). L'émetteur de lumière (LED) émet des IR de longueur d'onde égale à 905 nm. Ces

derniers pénètrent la paroi de l'urètre de quelques millimètres et permettent ainsi l'étude de la perfusion de la muqueuse et de la sous muqueuse. L'absorption lumineuse est détectée par une photodiode placée à 12 mm de la source de lumière. La taille de la sonde est adaptée au patient et permet au dispositif de PPG de rester en contact avec la paroi de l'urètre. Deux emplacements sont possibles pour la PPG : distal ou proximal.

La sonde est connectée à un moniteur dédié : IKORUS monitor. Deux variables sont enregistrées : la fréquence cardiaque et un paramètre permettant d'évaluer la perfusion urétrale, appelé uPI pour *urethral perfusion index* (index de perfusion urétrale). La méthode de calcul de cet indice est très proche de celle employée pour le calcul de l'index de perfusion périphérique évoqué précédemment. Elle s'appuie sur une approche se basant sur l'extraction des composantes AC et DC du signal. Ainsi, l'uPI correspond à l'intégrale de l'absorbance de la composante pulsatile à un temps donné. Il est mesuré par le moniteur toutes les 30 secondes.

Le dispositif de PPG utilisé dans cette sonde est similaire à celui disposé sur une sonde digestive développée par APD. Les résultats obtenus avec cette dernière étaient très encourageants : une étude réalisée sur un modèle expérimental porcin de choc septique révélait une corrélation entre la composante pulsatile enregistrée par la sonde PPG et la perfusion intestinale mesurée par *laser doppler flowmetry*²¹². Depuis cette étude, l'analyse du signal PPG par le moniteur a été raffinée pour permettre le calcul de l'uPI.

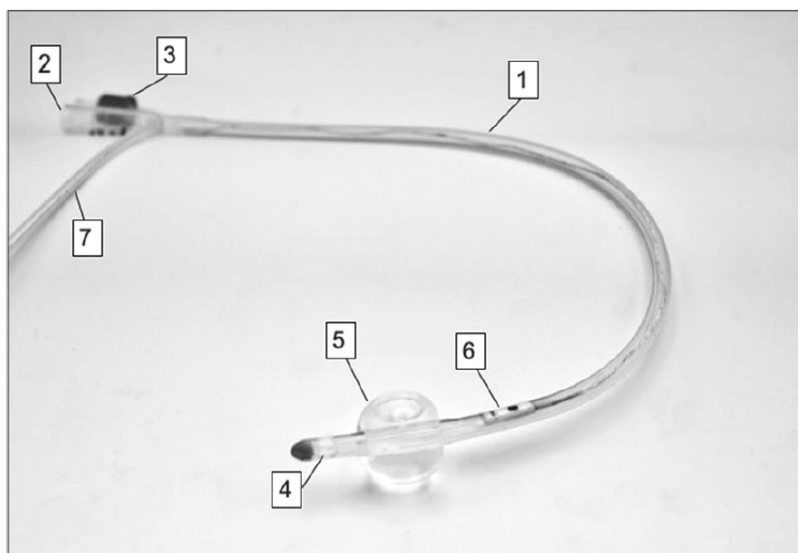


Figure 24 : La sonde IKORUS UP

- 1 : sonde de Foley**
- 2 : port de drainage de l'urine**
- 3 : port du ballonnet**
- 4 : ouverture vésicale**
- 5 : ballonnet**
- 6 : dispositif de photopléthysmographie**

En conclusion, la PPG est une méthode approuvée pour la quantification d'un volume sanguin intra-tissulaire, permettant ainsi la mesure de la perfusion d'un volume de tissu d'environ 1cm³. En collaboration avec la société APD, nous avons développé une sonde urétrale équipée d'un dispositif PPG dans le but de mesurer la perfusion urétrale en conditions critiques. Le choix du site repose

sur des raisons techniques et biologiques. En effet c'est une localisation simple d'accès. En outre, il semble qu'il fasse partie des territoires où la perfusion est sacrifiée lors de chocs circulatoires. Dans la suite de cette partie, nous présenterons les résultats des études réalisées par notre équipe et dont l'objectif est d'évaluer l'intérêt de cette sonde.

B. Les apports de la recherche préclinique

Nous avons testé la sonde IkUp dans différents contextes expérimentaux, sur des modèles porcins. Dans un premier temps, nous avons cherché à observer les variations de l'uPI suite à des modulations hémodynamiques d'origine pharmacologique. Les résultats de ce travail ont été publiés²²⁰ ; l'article est disponible en annexe 3. Dans un second temps, nous avons évalué l'index de perfusion au cours d'un choc hémorragique et de la réanimation qui a suivi. Un résumé de ce travail sera détaillé ci-après ; il a été présenté sous la forme d'un poster au congrès de la Société Française de Réanimation, en 2020.

Article n°3 : Une nouvelle sonde de photopléthysmographie pour la mesure de la perfusion urétrale : évaluation dans un modèle porcine

Le premier objectif de notre étude était d'étudier les variations de l'index de perfusion (uPI) en fonction d'épreuves thérapeutiques à l'origine de modifications hémodynamiques : bolus de fluide, hypotension liée à l'anesthésie et sa correction par des perfusions de noradrénaline. Le second objectif concernait l'utilité de la sonde comme guide thérapeutique, mais cette fois ci, lors de l'administration de vasopresseurs, agents pharmacologiques considérés comme la pierre angulaire du traitement de nombreux types de chocs circulatoires. Ainsi, nous souhaitons évaluer la capacité du dispositif à mettre en évidence les troubles perfusionnels secondaires à l'administration d'une quantité inadaptée de noradrénaline.

- *Le protocole expérimental*

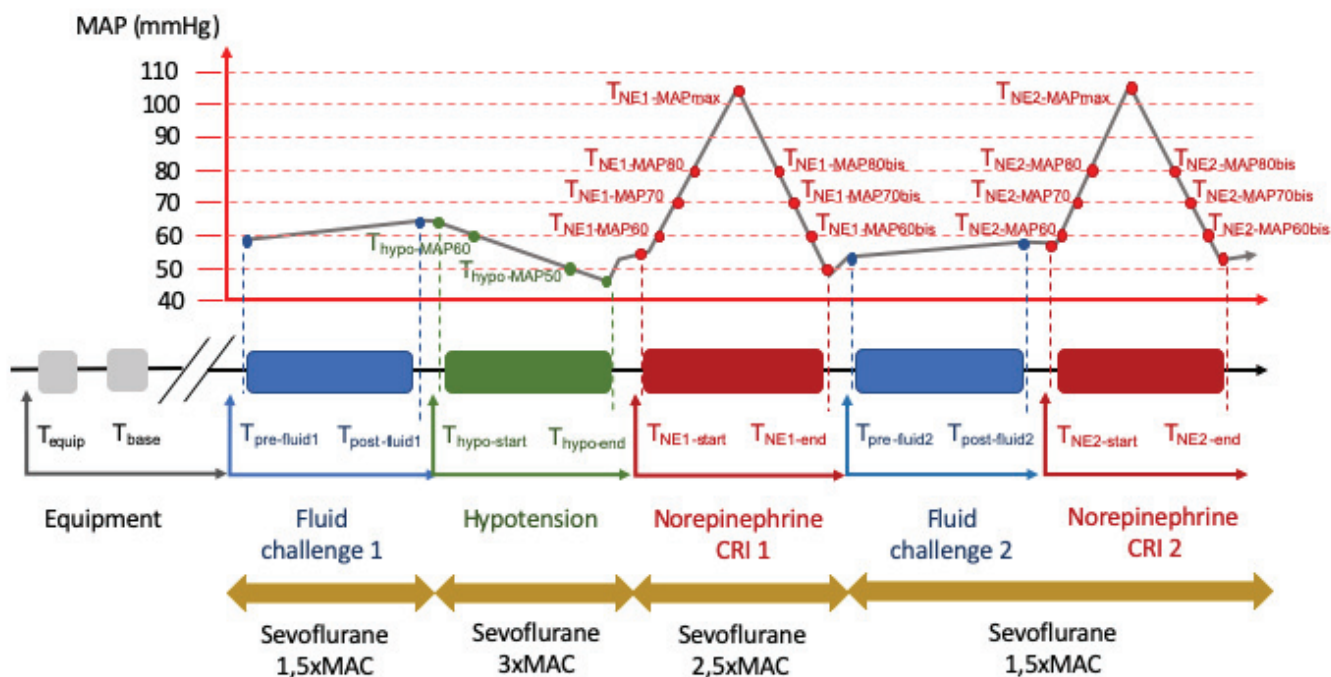


Figure 25 : Synopsis de l'étude. Les temps d'intérêt étudiés étaient les suivants : T_{base} : après stabilisation - $T_{prefluid}$ et $T_{postfluid}$: avant et après la réalisation des bolus de fluide - $T_{hypo-start}$, $T_{hypo-MAP60}$, $T_{hypo-MAP50}$ et $T_{hypo-end}$: correspondant au début de l'induction de l'hypotension puis lorsque la PAM a atteint 60 mmHg puis 50 mmHg, et enfin à la fin de l'hypotension - $T_{NE-start}$, $T_{NE-MAP60i}$, $T_{NE-MAP70i}$, $T_{NE-MAP80i}$, $T_{NE-MAPmax}$: ces temps correspondent au temps de mise en place de la perfusion de noradrénaline puis aux temps au cours desquels la PAM augmente sous l'effet de la noradrénaline ; les valeurs indiquées correspondent à la valeur de la PAM au moment de la mesure - $T_{NE-MAP80d}$, $T_{NE-MAP70d}$, $T_{NE-MAP60d}$, T_{NE-end} : ces temps correspondent au temps de décroissance de la PAM suite à l'arrêt progressif de la perfusion de noradrénaline, le dernier temps marquant la fin de l'administration. Les valeurs 1 ou 2 indiquées dans le nom de certains temps précisent s'il s'agit de la première ou de la deuxième épreuve, de même nature, réalisée (MAC : concentration alvéolaire minimale, MAP=PAM : pression artérielle moyenne, Equipment : équipement des animaux, fluid challenge : bolus de fluide, norepinephrine CRI : perfusion de noradrénaline)

Douze cochons ont été anesthésiés, intubés et ventilés puis équipés de cathéters permettant le suivi hémodynamique. La sonde IkUp a également été mise en place par voie rétrograde. Ces animaux ont ensuite subi des variations hémodynamiques, comme détaillé sur la figure 25. Après une période de stabilisation de 30 min (sévoflurane = 1,5 x MAC, T_{base}) les animaux ont reçu un bolus de Ringer Lactate de 10mL/kg. Une hypotension a ensuite été induite *via* de la quantité de sévoflurane administrée (3 x CAM). Une fois que la PAM a atteint 40 mmHg, la dose de sévoflurane a été réduite (2,5 x CAM) et une perfusion de noradrénaline (dose initiale : 0,04 μ g/kg/min) a été initiée. La dose a été incrémentée jusqu'à l'obtention d'une PAM comprise entre 95 et 115 mmHg. Alors, la perfusion de noradrénaline a été progressivement stoppée, permettant la chute de la PAM à des valeurs comprises entre 40 et 50 mmHg. La concentration de sévoflurane insufflée a ensuite

été réduite à 1,5 fois la CAM. Un second bolus de fluide a alors été administré puis une deuxième épreuve à la noradrénaline réalisée. Les temps d'intérêt sont identifiés sur la figure 25.

Les comparaisons des valeurs des paramètres de l'étude ont été faites par l'intermédiaire du test de Wilcoxon pour données appariées, ou du test de Friedman (suivi de tests de Student avec la correction de Nemenyi) pour les données répétées.

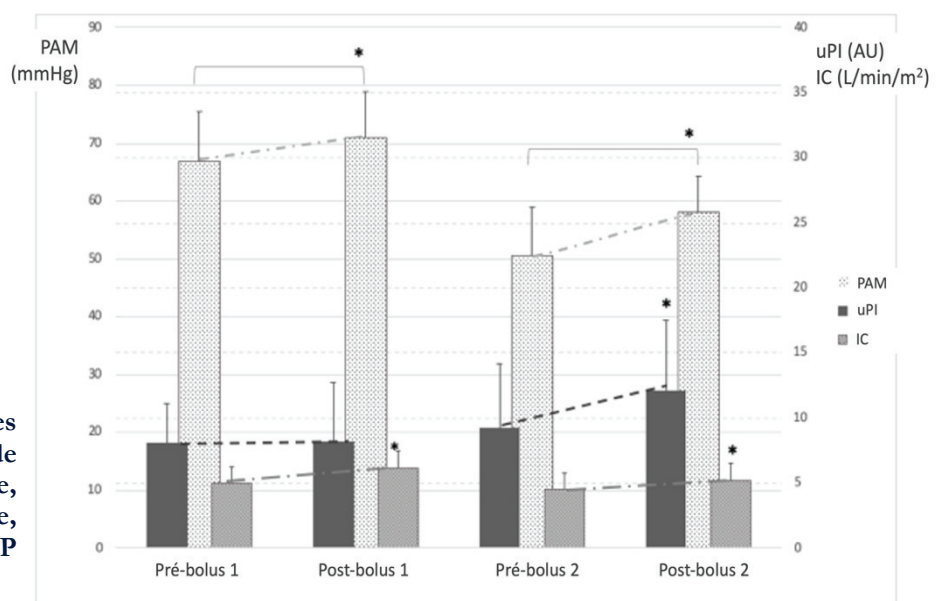
Notre hypothèse était que l'administration de noradrénaline devait être associée à une augmentation conjointe de la PAM et de l'uPI jusqu'à un certain seuil (que l'on a appelé seuil de dissociation ou DT). Au-delà de ce seuil, l'administration de noradrénaline devait être à l'origine d'une dissociation entre la PAM et l'uPI : la vasoconstriction induite permettait d'augmenter la pression artérielle mais est étai à l'origine d'une réduction de la perfusion tissulaire urétrale. Nous avons donc tenté de modéliser la relation entre l'uPI et la PAM d'après cette hypothèse, en construisant un modèle linéaire mixte incluant uPI comme variable dépendante, l'interaction entre la PAM et la position par rapport au seuil de dissociation (avant ou après le DT) comme effet fixe et la variation du seuil DT en fonction de l'individu comme effet aléatoire. Le modèle est codé de la manière suivante : $uPI \sim PAM : (avant/après DT) + (1 | (avant/après DT)/individu)$.

• Résultats

- Variation de l'uPI après l'administration de fluides

La variation de uPI n'était pas statistiquement significative après l'administration du premier bolus mais l'était après le second (figure 26). Lors de ces deux épreuves, on observait une augmentation significative de l'IC et de la PAM. En outre, la FC était significativement réduite après le deuxième bolus.

Figure 26 : Évolution des paramètres faisant suite à l'administration de bolus de fluides (IC : index cardiaque, PAM : pression artérielle moyenne, uPI : index de perfusion urétrale, * $P < 0,05$)



- Relation entre l'uPI et la PAM

Le modèle réalisé a montré qu'il existe une association significative entre l'uPI et la PAM : le coefficient de régression était de + 0,2 ($P < 0,0001$) avant DT et de - 0,14 ($P < 0,0001$) après DT. Ce résultat signifie, qu'en moyenne, lorsque la PAM augmentait de 1 mmHg, l'uPI augmentait de 0,2 AU avant DT et diminuait de 0,14 AU après DT.

La figure 27 présente l'évolution de l'uPI et fonction de la PAM. Les lignes correspondent à des droites de régression, réalisées par individu, avant et après de seuil DT. Cette figure illustre la dissociation qui apparaît entre uPI et PAM à partir d'un certain seuil. Des coefficients de corrélation de Pearson ont été calculés par individu, avant et après DT : le coefficient moyen était de 0,83 avant DT et de - 0,76 après DT.

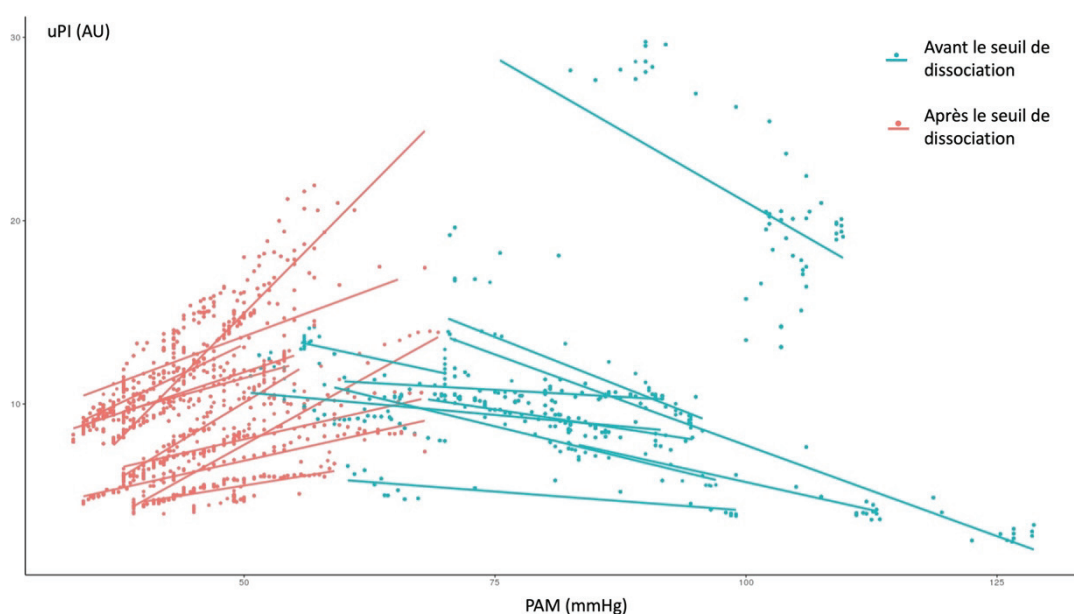


Figure 27 : Corrélations individuelles entre l'index de perfusion urétrale et la pression artérielle moyenne (PAM : pression artérielle moyenne, uPI : index de perfusion urétrale)

• Conclusions

Cette première étude rapporte des résultats très intéressants. Premièrement, Les résultats concernant ses variations avant et après administration d'un bolus de fluide suggèrent qu'il pourrait être un indice de précharge dépendance. Ce résultat reste cependant à confirmer plus rigoureusement. Deuxièmement, l'index de perfusion semble évoluer logiquement en fonction des paramètres macrohémodynamiques : une défaillance hémodynamique (baisse de la PAM et de l'IC) est associée à une réduction de l'uPI. En outre l'étude rapporte une corrélation biphasique entre

l'uPI et la MAP : avant un certain seuil de pression, l'augmentation de cette dernière est associée à une amélioration de la perfusion urétrale identifiée par l'augmentation de l'uPI. En revanche, au-delà d'un certain seuil de pression (individu dépendant), l'augmentation de la PAM s'accompagne d'une réduction de la perfusion urétrale, probablement liée à l'effet local vasoconstricteur délétère, reflet d'un excès de noradrénaline. Curieusement, ce seuil est généralement autour de 60 mmHg de PAM (compris entre 50 et 75 mmHg, figure 27). Ce résultat suggère qu'il est potentiellement possible de monitorer la quantité de vasopresseur administrée et d'identifier une PAM individuelle optimale pour chaque individu. Le fait que ce seuil DT corresponde à une valeur de PAM optimale pour la perfusion tissulaire reste tout de même à confirmer.

Si ces résultats sont intéressants et physiologiquement cohérents, ils ne sont qu'une première étape. En effet, il est essentiel de vérifier, chez des patients en état de choc, si la sonde donne des résultats concordants et si les hypothèses soutenues par nos résultats ont une réalité clinique : la perfusion urétrale est-elle optimale lorsque la PAM avoisine le seuil DT ? Ce seuil correspond-il à un niveau de pression idéal pour maintenir la perfusion tissulaire dans tout l'organisme ? l'augmentation (ou la diminution) de l'uPI au-delà (ou en deçà) de ce seuil est-elle vraiment associée à des troubles de la perfusion tissulaire ? Est-elle associée à des défaillances d'organes ? La réponse à ces questions permettrait de mieux cerner la pertinence de la sonde IkUp dans le suivi thérapeutique des patients en choc.

Présentation en congrès : Monitoring continu de la perfusion tissulaire par photopléthysmographie urétrale lors d'un choc hémorragique expérimental

Une deuxième étude préclinique a été réalisée sur un modèle porcin de choc hémorragique. Elle avait pour objectif comparer l'évolution de l'uPI et des paramètres macrocirculatoires.

- *Protocole expérimental*

Un choc hémorragique a été induit chez dix porcelets (30 kg en moyenne) par déplétion sanguine (40 mL/kg) réalisée sur 2 heures. Le choc était suivi d'une phase de réanimation correspondant à la restitution du volume prélevé, sur 1h, puis à l'administration de noradrénaline jusqu'à l'obtention d'une PAM de 100 mmHg. La lactatémie, la SvO₂, l'uPI, la PAM et le DC ont été enregistrés après stabilisation (baseline), en fin de spoliation, en fin de remplissage puis au cours de la perfusion de noradrénaline, lorsque la PAM atteignait 60, 80 et 100 mmHg.

- *Résultats et conclusions*

Une corrélation entre la PAM et l'uPI est observée statistiquement pendant la phase de spoliation et la phase de remplissage ($r = 0,45$, $P < 0,0001$). Cette corrélation n'est pas retrouvée pendant l'administration de noradréline.

Graphiquement, on observe une corrélation entre l'uPI, la PAM, le débit cardiaque et la SvO₂ de la baseline jusqu'au pallier de PAM de 60 mmHg (figure 28). Cette corrélation disparaît lorsque la PAM augmente davantage.

Curieusement, on retrouve des propriétés de l'uPI observées dans l'étude présentée précédemment : c'est à dire une corrélation avec la PAM pour des valeurs inférieures à 60 mmHg. En outre, l'évolution conjointe de l'uPI et du DC suggère également la potentialité que cet index soit le reflet de la précharge dépendance.

Attention cependant, ces conclusions doivent être lues avec prudence. En effet, ces éléments correspondent à une analyse préliminaire lacunaire des données. Une analyse plus exhaustive est en cours et permettra de confirmer ou d'infirmer nos hypothèses.

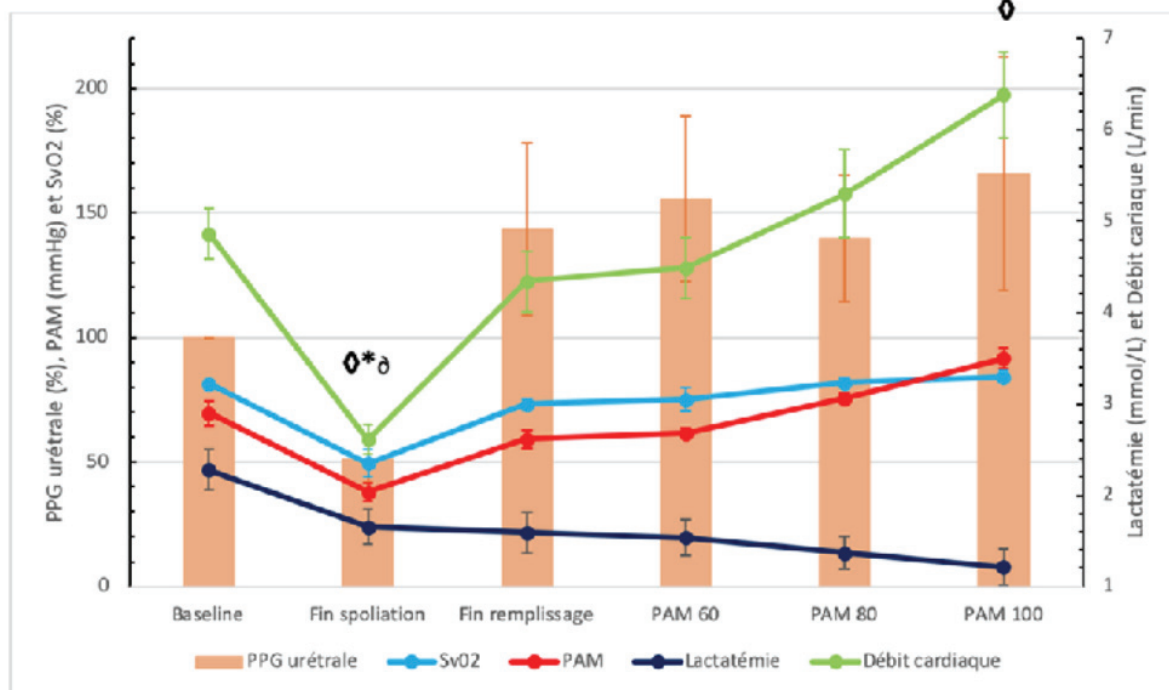


Figure 28 : Évolutions des paramètres de perfusion tissulaire et des paramètres macrocirculatoires au cours d'un choc hémorragique porcin

C. Les applications cliniques

Une étude a été publiée récemment concernant l'utilisation de cette sonde chez des patients critiques, hospitalisés en soins intensifs ou devant subir une chirurgie lourde²²¹. Ses objectifs sont d'évaluer l'innocuité et la faisabilité de ce type de monitoring d'une part, et d'étudier les associations entre l'évolution de l'uPI et celle des paramètres macrocirculatoires. Pour ce faire, 28 patients adultes à risque d'instabilité hémodynamique ont été suivis. Les auteurs rapportent que l'utilisation de cette sonde est possible, facile à mettre en place, l'insertion et le retrait sont peu douloureux et son utilisation est associée à peu de complications : un patient (4 %) a présenté une infection urinaire et un autre (4 %) des saignements urétraux. Ces taux de complications ne sont pas plus importants que ceux rapportés avec l'utilisation de sonde de Foley classique. Le signal enregistré était de bonne qualité pour en moyenne 97 % du temps d'utilisation. Les deux emplacements (distal et proximal) du dispositif PPG ont été évalués (figure 29).

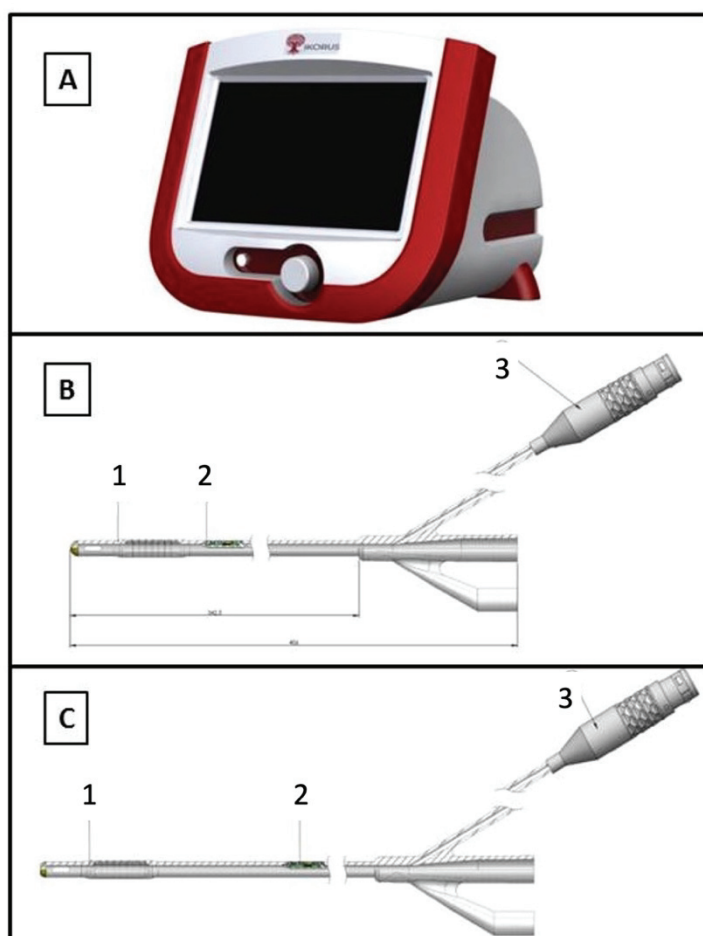


Figure 29 : Le moniteur IKORUS monitor et les différents types de sondes IKORUS UP (d'après [221])

- A. IKORUS monitor
 - B. IKORUS UP avec dispositif de photopléthysmographie distal
 - C. IKORUS UP avec dispositif de photopléthysmographie proximal
1. Sonde de Foley
 2. Dispositif de photopléthysmographie
 3. Connecteur sonde-moniteur

La qualité des signaux obtenus n'était pas différente en fonction du site d'enregistrement. En moyenne, l'uPI et le volume d'éjection systolique étaient fortement corrélés ($r > +0,70$) 45 %

du temps d'étude. L'uPI et la PAM étaient fortement corrélées 47 % du temps, en moyenne. Pour 4 patients, ce pourcentage était supérieur à 70 %. Enfin, en moyenne, l'uPI et la PAM présentaient une corrélation inverse forte 18 % du temps. Cette fraction était supérieure à 40 % chez 4 patients. La corrélation entre l'uPI et le VES ou la PAM sont des résultats non surprenants : l'amélioration de la macrocirculation peut être à l'origine d'une meilleure perfusion tissulaire et potentiellement microcirculatoire. C'est du moins ce qu'il semble logique d'observer chez des patients présentant une « cohérence hémodynamique ». Des relations de ce genre sont également décrites dans la littérature : Højlund et col décrivent des corrélations fortes entre PAM, VES et l'index de perfusion périphérique, calculé par photopléthysmographie au niveau de l'index d'après une approche s'apparentant à celle utilisée pour déterminer l'uPI. Les corrélations inverses nous semblent particulièrement intéressantes. Elles pourraient être le reflet de ce que de nombreux auteurs qualifient « d'incohérence hémodynamique », comme le suggère les auteurs de l'étude. Une telle assertion est cependant à prendre avec des réserves. En effet, comme présenté dans l'introduction (IV.B.2), le concept d'incohérence hémodynamique, selon la définition proposée par Can Ince⁶, concerne une dissociation entre la micro et la macrocirculation d'origine multifactorielle. Or, il n'est pas certain que la mesure de la PPG soit précisément le reflet de la perfusion microcirculatoire. En effet, la détermination de l'uPI s'appuie sur le caractère pulsatile de la circulation sanguine, ce caractère étant fortement atténué au sein de la microcirculation, il est possible que le signal capté provienne également de vaisseaux plus larges dans lesquels les anomalies physiopathologiques ne sont pas nécessairement les mêmes que dans la microcirculation. Nous proposons de considérer la notion de cohérence hémodynamique au sens large comme un rapport entre la perfusion tissulaire et la macrocirculation. L'observation de ces périodes de corrélation inverse pourrait correspondre à ce qui a été observé dans notre étude expérimentale (cf *infra*) et que nous avons hypothétiquement relié à une baisse de la perfusion tissulaire secondaire à un excès de vasoconstriction d'origine iatrogénique, qui peut être considéré comme une forme particulière d'incohérence hémodynamique⁶. Nous allons tenter d'analyser et de discuter ces éléments en nous appuyant sur des exemples d'enregistrements fournis par les auteurs, les résultats de nos études et quelques références issues de la littérature.

Dans le premier exemple (figure 30), on observe une forte corrélation entre le volume d'éjection systolique et l'uPI, notamment lors de l'administration de bolus de fluides, ou lors d'une transfusion sanguine. Ces éléments sont en faveur de l'idée présentée précédemment, faisant suite aux résultats obtenus dans les études réalisées sur des cochons (cf *infra*), suggérant que l'uPI puisse être un marqueur potentiel intéressant de précharge dépendance. Des études rapportent également

l'utilisation d'indices extraits de l'analyse du signal de PPG comme outils permettant d'identifier la précharge dépendance^{222,223}. Cependant, les résultats les concernant présentent une certaine hétérogénéité et soulignent la nécessité de mieux comprendre pourquoi, dans certaines situations ils s'avèrent être de bons marqueurs de précharge dépendance, et pourquoi ils ne le sont pas dans d'autres. D'autres publications vont dans le sens de variations corrélées des paramètres de perfusion tissulaire (et plus particulièrement microcirculatoire) et des variables macrocirculatoires chez des patients précharge dépendants : Bouattour et col rapportent l'altération conjointe de la macrocirculation et de la microcirculation sublinguale évaluée par vidéomicroscopie, et la restauration de cette dernière grâce à la fluidothérapie²²⁴. Il nous semble néanmoins qu'un indice comme l'uPI pourrait être plus pratique à utiliser à cette fin qu'un paramètre de microcirculation (ou qu'une conjonction de paramètres) évaluée par vidéomicroscopie sublinguale. Des précisions concernant le fonctionnement et les limites de cette technique seront apportées dans la partie suivante.

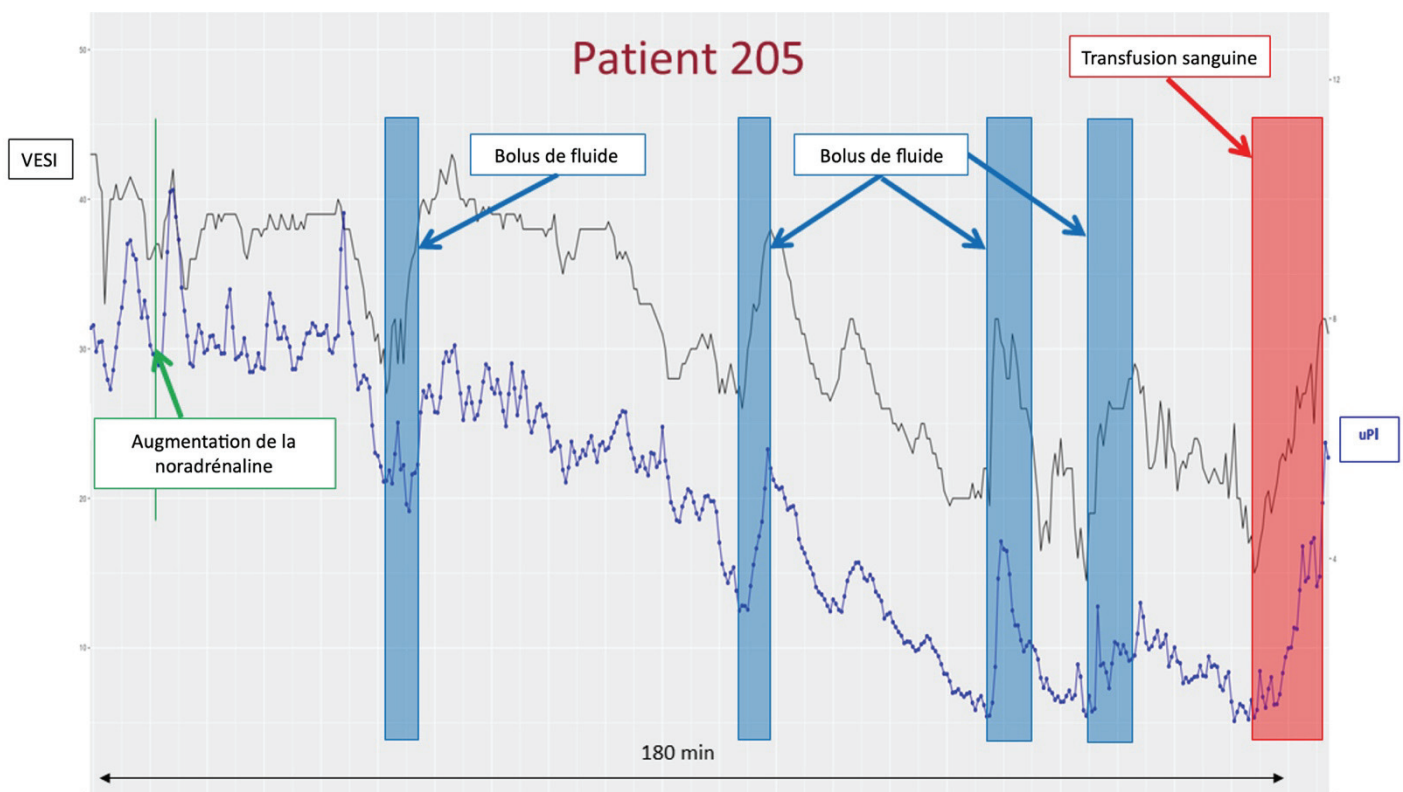


Figure 30 : Illustration de la corrélation entre l'index de perfusion urétrale et le volume d'éjection systolique observés chez un patient (VESI : volume d'éjection systolique indexé, uPI : index de perfusion urétrale, (d'après [221])

Dans le deuxième exemple (figure 31), on observe les tracés d'un patient pour lequel la PAM et l'uPI sont particulièrement bien corrélés, quelles que soit les mesures thérapeutiques mises

en œuvre. Dans cet exemple, la corrélation entre le VES et l'uPI ne semble pas présente, mais les données sont plus difficiles à interpréter car la dose de noradrénaline administrée est augmentée, en même temps que le bolus de fluide est administré. Globalement, force est de constater que chez ce patient, l'uPI et le VES semblent peu corrélés. Ces tracés ressemblent à ceux observés lors de la réalisation de notre étude²²⁰, pour des PAM inférieures au seuil de dissociation. Ils illustrent bien la notion de cohérence hémodynamique, considérée au sens large. Chez ce patient, on n'identifie pas de seuil de dissociation, contrairement à ce que nous avons observé²²⁰.

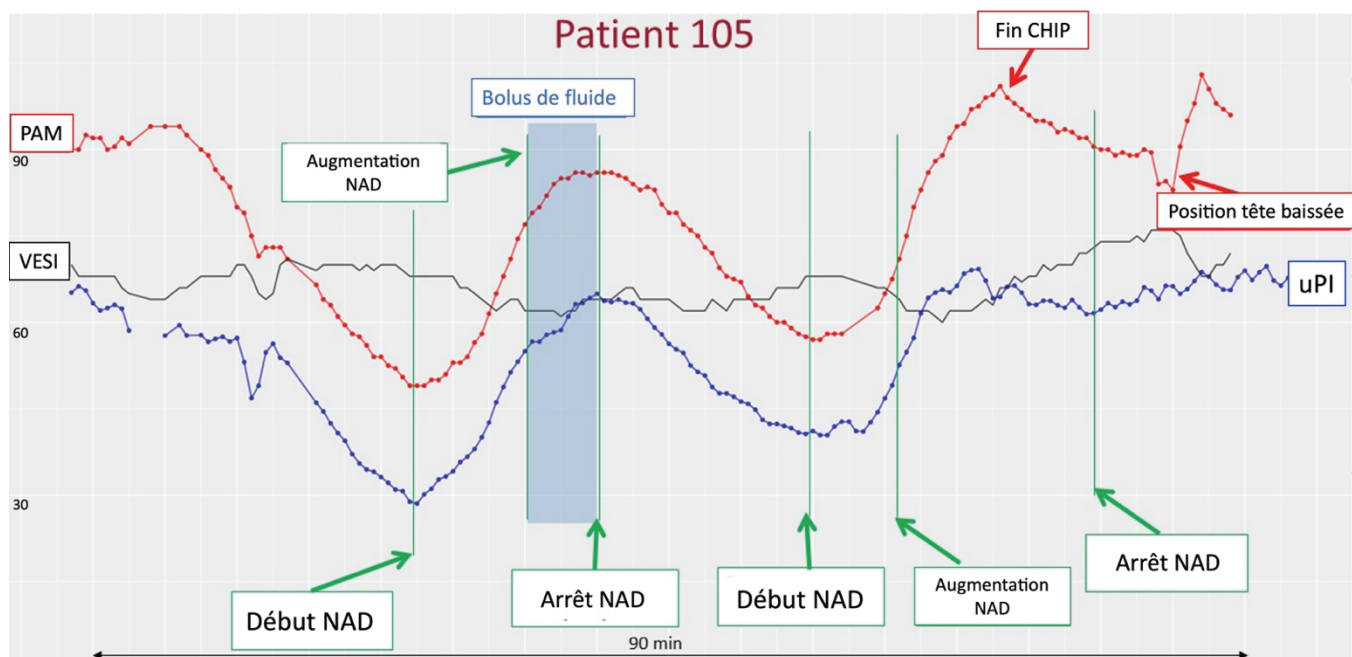


Figure 31 : Illustration de la corrélation entre l'index de perfusion urétrale et la pression artérielle moyenne chez un patient (CHIP : chimiothérapie hyperthermique intrapéritonéale, NAD : noradrénaline, VESI : volume d'éjection systolique indexé, uPI : index de perfusion urétrale, (d'après [221]))

Enfin, le dernier enregistrement (figure 32) illustre la corrélation inverse qui a pu être observée entre la PAM et l'uPI chez certains patients. Ce type d'observation rappelle les tracés obtenus dans notre étude sur modèle porcin²²⁰, présenté précédemment, lorsque la pression artérielle dépassait le seuil de dissociation (généralement situé autour de 60 - 70 mmHg) suite à l'administration de vasopresseur. L'hypothèse alors envisagée était une réduction de la perfusion tissulaire secondaire à un excès de vasopresseurs. Ces corrélations inverses suggèrent l'intérêt potentiel de la PPG dans l'identification des troubles de la perfusion tissulaires iatrogènes, associés à l'administration de vasoconstricteur. De nouvelles études sont cependant nécessaires pour confirmer cette hypothèse et identifier des critères dynamiques de diagnostic.

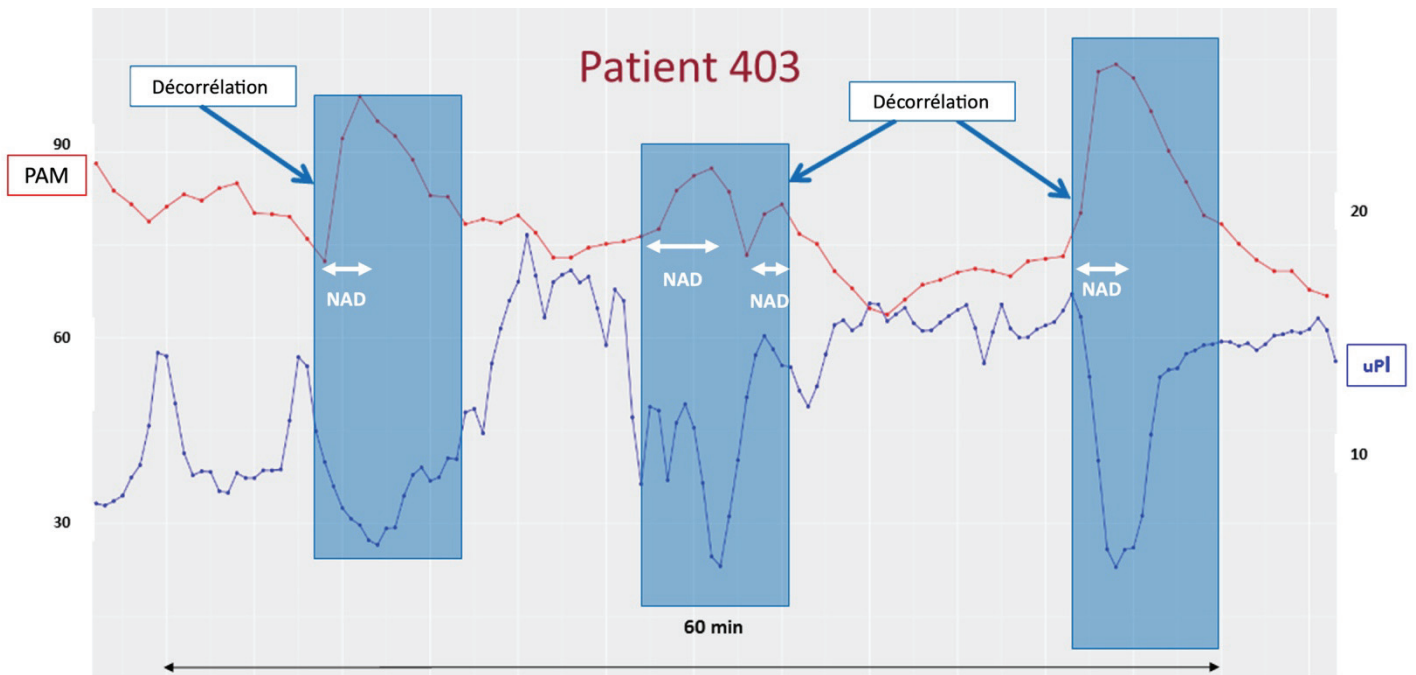


Figure 32 : Illustration de la dissociation observée entre la pression artérielle moyenne et l'indice de perfusion urétrale chez un patient (uPI : indice de perfusion urétrale, PAM : pression artérielle moyenne, NAD : perfusion de noradrénaline, (d'après [221]))

D. Les limites de la photopléthysmographie urétrale

La mesure de la perfusion tissulaire urétrale par PPG présente plusieurs limites potentielles qu'il reste à explorer, compte tenu du peu de données disponibles concernant cette technologie. La première est l'influence de la saturation en oxygène de l'hémoglobine et de la concentration en hémoglobine sanguine sur les valeurs d'uPI mesurées. En effet, l'absorption à la longueur d'onde utilisée par l'appareil est dépendante de la saturation en oxygène. Une hypoxémie pourrait donc être à l'origine d'une modification de l'indice, comme cela a été décrit lors de l'utilisation de l'oxymétrie de pouls²²⁵. De même, l'absorption de la lumière est dépendante de la quantité d'hémoglobine présente dans le sang. Une anémie devrait donc logiquement être à l'origine d'une sous-estimation de la quantité du volume sanguin présent dans les tissus étudiés. Malgré ces influences, l'uPI pourrait tout de même se révéler utile dans le suivi des patients chez lesquels il existe un problème de ce genre lorsque la saturation en oxygène ou l'hématocrite restent stables au cours du temps : les comparaisons des valeurs de l'uPI à différents moments s'avéreraient toujours

pertinentes. Cependant, il n'en va probablement pas de même chez des patients présentant des variations de l'hématocrite ou de la SaO₂ en cours d'hospitalisation.

Une autre limite concerne l'incapacité de cette technologie à mettre en évidence des hétérogénéités de perfusion tissulaire, comme celle décrites lors de choc septique. En effet, la sonde permet d'obtenir une valeur moyenne de perfusion dans un volume tissulaire donné mais ne permet pas de calculer d'indice d'hétérogénéité, comme c'est le cas par exemple pour la vidéomicroscopie¹²⁶. Il serait intéressant de voir quels résultats donneraient des mesures de perfusion synchrones, par exemple en plaçant plusieurs dispositifs PPG sur la même sonde de Foley.

Enfin, nous manquons d'informations concernant les régions vasculaires étudiées par le dispositif : s'agit-il uniquement de microvaisseaux ? Qu'en est-il du signal si une artère de plus gros calibre se trouve à proximité (ou à l'intérieur) de la zone étudiée ? De même, nous manquons d'informations quant aux conséquences cliniques des hypoperfusions diagnostiquées par ce biais : la baisse de l'uPI est-elle associée à des défaillances d'organes ? A davantage de décès ? Les états de dissociation entre la PAM et l'uPI, identifiés comme étant probablement la conséquence d'une vasoconstriction délétère (d'origine iatrogène ?), sont-ils associés à d'autres signes de troubles de la perfusion tissulaire ou à un mauvais pronostic ?

Ainsi, les études concernant la sonde IkUp rapportent des premiers résultats encourageants. Elle permet la mesure de la perfusion urétrale en continue, l'identification d'hypoperfusion et possiblement la mise en évidence de surdosages de vasopresseurs. En outre, l'uPI pourrait être un indice particulièrement intéressant dans le guidage thérapeutique (administration de fluide, de vasopresseurs ?). Ce sont plusieurs éléments qui font de cette technique un outil intéressant dans la prise en charge des patients en état de choc. Néanmoins, de nombreuses questions restent en suspens : les prochaines études réalisées à son sujet devront s'atteler à y apporter des réponses.

III. La vidéomicroscopie sublinguale

La publication, en 2002, de deux articles originaux concernant l'analyse de la microcirculation sublinguale par vidéomicroscopie chez des patients septiques est très probablement à l'origine du regain d'intérêt pour la microcirculation, et plus largement pour la perfusion tissulaire lors de sepsis,

qui s'en est suivi. Dans la première¹¹⁵, De Backer et col montrent que le sepsis est associé à la présence d'anomalies microcirculatoires sublinguales, plus sévères chez les patients décédés, et potentiellement réversibles. Dans la seconde¹⁴⁷, Spronck et col rapportent une amélioration des anomalies microcirculatoires chez 8 patients en choc septique, suite à l'administration d'un vasodilatateur.

Depuis, de très nombreuses études ont été publiées, principalement concernant le choc septique. Les anomalies microcirculatoires sublinguales ont également été étudiées dans d'autres types de chocs, comme le choc cardiogénique ou chez des patients polytraumatisés. Aujourd'hui la littérature est extrêmement riche et de très nombreux articles originaux ou de synthèse sont disponibles. L'objectif de cette partie se focalisera principalement sur les limites inhérentes à cette technique et qui nous semblent relativement peu abordées. Pour ce faire, nous présenterons des données issues de la littérature et d'autres extraites de nos propres travaux. Mais avant de détailler ces limites, et comme pour les deux autres méthodes présentées précédemment, nous reviendrons sur le rationnel sous-tendant l'utilisation de la vidéomicroscopie sublinguale comme outil permettant d'évaluer la perfusion tissulaire puis nous décrirons, très rapidement, les principaux résultats obtenus chez l'animal et chez l'homme. Ces parties permettront notamment une meilleure compréhension du fonctionnement de la vidéomicroscopie, essentielle à l'appréhension de ses limites.

A. Le rationnel scientifique

1. Développement de la microscopie et étude de la microcirculation

L'apparition de la microscopie à la fin du XVII^{ème} siècle marque le début de l'étude de la microcirculation, jusqu'à présent inconnue. En 1661, Malpighi découvre la présence de vaisseaux microscopiques (des capillaires) dans les poumons, et complète ainsi la boucle de la circulation sanguine imaginée par Harvey en comprenant qu'ils représentent la partie anatomique inconnue faisant la connexion entre les artères et les veines. A la même époque, Van Leeuwenhoek fait la même découverte²²⁶. Dès lors, l'étude anatomique et physiologique de la microcirculation a progressée grâce à l'amélioration des techniques de microscopie et au développement de techniques applicables *in vivo* de plus en plus performantes²²⁷. Dès le début du XX^{ème} siècle, des médecins et des physiologistes comprennent l'importance capitale de la microcirculation lors de maladies.

Freedlander et Lenhart, entre autres, décrivent en 1922 l'observation, chez l'Homme, de capillaires dans différents états de chocs (chocs traumatiques, septiques et cardiogéniques)²²⁸.

L'étude de la microcirculation semble particulièrement pertinente lors des états de choc. En effet, le choc se caractérise par une diminution de l'apport d'oxygène et de nutriments aux cellules de l'organisme. Or, c'est à l'échelle de la microcirculation que s'effectuent ces échanges. En outre, comme nous l'avons détaillé dans la partie III.A.2 de l'introduction, c'est le contrôle de la perfusion microcirculatoire qui permet la régulation de la quantité des apports en fonction des besoins locaux. Enfin, la microcirculation joue un rôle clef dans de nombreuses autres fonctions capitales de l'organisme : régulation de la quantité d'eau dans l'interstitium, voie de transport d'hormones ou de cellules immunitaires etc^{10,55}... Freedlander et Lenhart indiquent dans l'introduction d'un article, intitulé *Clinical observations on the capillary circulation*, qu'il est « évident qu'une observation directe de la partie la plus importante du système circulatoire [c'est à dire, les capillaires] pourrait être cliniquement intéressante »²²⁸. C'est également ce qu'affirment aujourd'hui les partisans de l'utilisation de la vidéomicroscopie en clinique, comme De Backer^{158,229,230229} et Ince⁶.

2. La vidéomicroscopie *in vivo*

Ces vingt dernières années, de gros progrès ont été réalisés concernant la microscopie, permettant la réduction de la taille des appareils et l'amélioration de la qualité des images rendant ainsi possible l'utilisation de vidéomicroscopes en conditions cliniques.

En 1999, Groner et col publient un article où ils décrivent la première génération de vidéomicroscopes, appelée OPS pour *orthogonal polarization spectral imaging*. Dans cette technologie, l'utilisation de lumière verte polarisée et d'un filtre orthogonal permettent d'éliminer la lumière réfléctée par la surface des tissus et ainsi d'améliorer la qualité des observations. La longueur d'onde choisie (548 nm) correspond à une lumière absorbée par l'oxy- et la désoxyhémoglobine. Ainsi, les vaisseaux apparaissent sombres sur un fond clair²³¹. Cet appareil a permis de réaliser les premières études cliniques des troubles de la microcirculation lors du sepsis^{115,147}. Néanmoins, des artefacts de flou, liés aux mouvements de l'appareil, des tissus et des globules rouges ont poussé les chercheurs à développer une nouvelle génération de vidéomicroscope²²⁷.

La deuxième génération, appelée SDF (*sidetream dark field imaging*), est la technologie que nous avons utilisée pour la réalisation de nos travaux de recherche, qui seront présentés ci-après. Cet appareil est composé d'une sonde à l'intérieure de laquelle se trouve une lentille derrière laquelle est disposée une caméra (figure 33). L'extrémité distale est équipée d'un anneau de LED émettant de la lumière verte (de longueur d'onde 530 nm). Cette lumière permet d'illuminer les tissus. Elle est dispersée par les différentes structures et renvoyée vers la lentille, ou alors absorbée par

l'hémoglobine présente dans les hématies. Ainsi, de la même manière que pour le système OPS, les vaisseaux (ou plutôt les hématies dans ce cas-là) apparaissent sombres sur un fond clair. La lentille est disposée de telle manière qu'elle est isolée des rayons lumineux réfléchis par la surface du tissu étudié. La lumière est stroboscopique. Cette émission pulsée, synchronisée à la fréquence d'enregistrement par la caméra disposée derrière la lentille, permet de réduire les artefacts de flou liés au déplacement des hématies²³². L'appareil est relié à un ordinateur permettant l'acquisition de vidéos courtes. Cette deuxième génération permet une meilleure visualisation des capillaires, comparativement à la technologie OPS²³².

Récemment, une troisième génération de vidéomicroscopes (IDF ; *incident dark field imaging*) a été mise au point²³³. Elle permet d'obtenir des vidéos de meilleure qualité : la résolution des images est supérieure à celle des images obtenues par SDF et le champ d'observation est plus large^{234,235}. Des études, chez l'homme, rapportent qu'elle permet de visualiser davantage de microvaisseaux que le SDF^{233,236}. Une étude réalisée sur le porc montre que la densité de vaisseaux et la vitesse du flux ne sont pas significativement différentes lorsqu'on utilise l'IDF ou le SDF²³⁵. En outre, les vidéos semblent de meilleure qualité et contiennent moins d'artefacts²³⁷ (la nature des artefacts observable avec le SDF et l'IDF sera détaillée dans une prochaine partie). Malgré l'apparition de l'IDF, le SDF reste très largement utilisé aujourd'hui^{108,238}. Une liste plus exhaustive des caractéristiques techniques du SDF et de l'IDF est disponible dans la littérature^{235,238}.

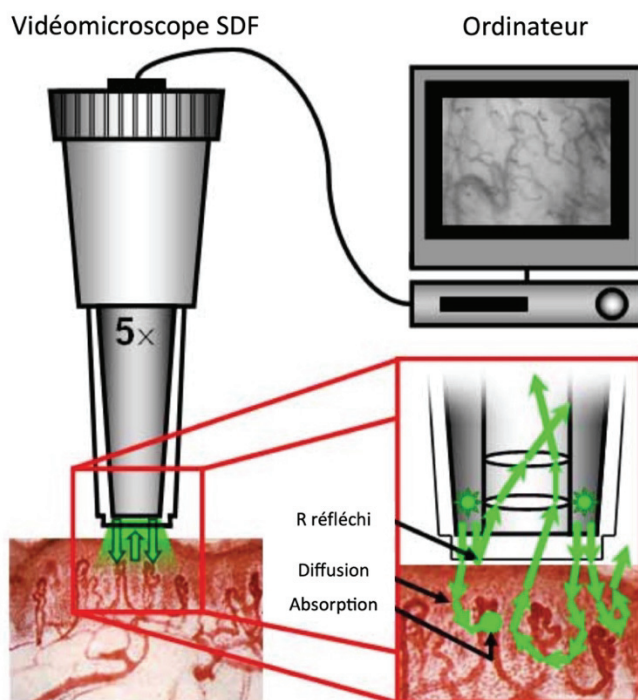


Figure 33 : La vidéomicroscopie par *sidestream dark field imaging* (SDF). La lumière verte émise par l'anneau entourant l'extrémité du microscope diffuse dans les tissus où elle est absorbée par l'hémoglobine ou renvoyée vers la lentille et la caméra d'enregistrement, permettant ainsi l'observation d'hématies sombres sur un fond clair. Les rayons réfléchis (R réfléchi) par la surface du tissu sont déviés et ne sont pas enregistrés. Modifié d'après [232].

3. Pourquoi et comment évaluer la microcirculation en région sublinguale ?

Si la vidéomicroscopie permet l'étude de la microcirculation de nombreux organes, la région sublinguale reste la localisation la plus étudiée. Initialement, plusieurs auteurs argumentaient ce choix en avançant que la perfusion de cette région était le reflet de la perfusion digestive, dont l'étude semble particulièrement intéressante chez les patients en choc (Introduction.III.B.1). Cet argument reposait sur l'origine embryologique commune des muqueuses sublinguales et digestives^{115,239}. Si certaines observations expérimentales vont dans ce sens, d'autres mettent plutôt en évidence une discordance entre ces territoires, nous reviendrons sur ce point plus loin. Il semble plus rationnel de conforter ce choix en déclarant qu'il repose principalement sur des arguments pratiques : cette région est facile d'accès et la surface n'est pas kératinisée. En outre, l'étude de la microcirculation sublinguale s'est avérée être à l'origine de résultats intéressants dans différentes situations de choc, nous les décrivons prochainement^{17,235}. De nombreuses autres muqueuses et organes peuvent et ont été étudiés à l'aide de vidéomicroscopes : des territoires digestifs, la muqueuse génitale, nasale, la microcirculation cutanée etc. Néanmoins, la grande majorité des outils développés (notamment les logiciels) est destinée à étudier la microcirculation sublinguale²³⁵.

La réalisation des enregistrements est assez simple : il faut introduire le vidéomicroscope dans la cavité buccale et le mettre délicatement au contact de la muqueuse sublinguale, sans trop appuyer, pour limiter la compression des microvaisseaux. L'obtention de vidéos de bonne qualité demande cependant un entraînement pratique et théorique, comme recommandé par le second consensus sur l'évaluation de la microcirculation sublinguale²⁴⁰. Une liste détaillée des procédures recommandées pour l'enregistrement des vidéos a été publiée en annexe d'une étude de Trzeciak et col²³⁹.

Compte tenu de l'hétérogénéité du réseau microvasculaire sublingual, il est recommandé de réaliser plusieurs vidéos et de moyenniser les résultats obtenus dans les différentes zones étudiées. Le consensus recommande un minimum de 3 vidéos. Il est aussi possible de réaliser un enregistrement d'une seule zone, avant et après un essai thérapeutique, en fixant le vidéomicroscope pour ne pas le déplacer²⁴⁰.

4. Quelles sont les procédures de l'analyse des vidéos de microcirculation sublinguale ?

Le second consensus concernant l'étude de la microcirculation sublinguale, publié récemment, donne la liste des bonnes pratiques concernant l'analyse des vidéos obtenues par

vidéomicroscopie²⁴⁰. Nous résumerons ici celles qui concernent le SDF, qui ont été appliquées dans nos travaux de recherche.

a. Analyse préalable de la qualité des vidéos

La première étape est un tri des vidéos en fonction de leur qualité. Seules les vidéos de bonne qualité doivent être conservées pour l'analyse subsidiaire. Pour ce faire, le consensus recommande de s'appuyer sur un score de qualité publié par Massey et col^{240,241}.

Ce score repose sur 6 critères de qualité²⁴¹ : l'éclairage de la vidéo, la durée de la vidéo, la qualité de la mise au point (focus), le contenu de la vidéo (la nature des vaisseaux observés), la stabilité de l'enregistrement et l'absence d'artefacts de compression des vaisseaux. Pour chaque critère, la qualité de la vidéo peut être jugée bonne, acceptable ou alors mauvaise (non acceptable). Si une vidéo présente est jugée de mauvaise qualité sur un de ces critères, elle ne doit pas être conservée pour l'analyse. La liste des éléments de jugement pour chaque critère est présentée dans le tableau 5. Si les critères de jugement du score peuvent, pour certains, apparaître relativement flous, l'étude réalisée par Massey et col rapporte tout de même une bonne reproductibilité de ce score lorsqu'il est calculé par différents observateurs.

Les recommandations du consensus diffèrent légèrement des critères de jugement du score de qualité concernant la durée des vidéos. Ils recommandent une durée minimale de 4 s et encouragent la réalisation de vidéos plus longues (environ 20 s)²⁴⁰. Cependant, les enregistrements longs de bonne qualité ne sont pas toujours faciles à réaliser. En effet, les risques de bouger sont accrus ce qui favorise les artefacts de compression ou l'instabilité de l'image. En outre, le logiciel couramment utilisé pour l'analyse des vidéos (Automated Vascular Analysis, AVA) supporte mal le traitement de ce genre de vidéo et leur analyse est particulièrement chronophage.

Les vidéos doivent contenir un mélange des différents types de vaisseaux (veinules, capillaires et artérioles)^{240,241}. Les vidéos contenant trop de vaisseaux formant des boucles doivent être exclues car il est difficile de bien apprécier la vitesse du flux sanguin qui les parcourt²⁴¹.

Les artefacts de compression des vaisseaux sont liés à une pression trop importante exercée par le vidéomicroscope sur les structures sous-jacentes. Cette compression des vaisseaux est particulièrement embêtante car elle peut être à l'origine d'obstruction et de ralentissement du flux venant fausser l'interprétation de la vidéo. L'identification de ce type d'artefact se fait grâce à l'observation de veinules larges, dont la paroi est particulièrement compressible. On reconnaît ce type d'artefact lorsque le flux est altéré dans ces vaisseaux alors qu'il semble normal dans les plus petits vaisseaux (capillaires, artérioles). Il est primordial de limiter les vidéos contenant des artefacts de compression lors de l'enregistrement des vidéos. Pour ce faire, il faut suivre les procédures

publiées par Trzeciak²³⁹ : appliquer le vidéomicroscope jusqu'à l'apparition de signes de compression puis le retirer doucement jusqu'à disparition de ces signes. Les auteurs du consensus considèrent que ces artefacts représentent le défi technique majeur de la mesure de la microcirculation sublinguale par vidéomicroscopie²⁴⁰.

Tableau 5 : Les critères de jugement du score de qualité des vidéos de microcirculation (d'après (ref))

	Bonne qualité	Qualité acceptable	Qualité non-acceptable
Éclairage : luminosité et contraste de la vidéo	Éclairage uniforme sur l'ensemble du champ. Contraste suffisant pour voir les petits vaisseaux se distinguer du fond tissulaire.	La vidéo est à la limite d'être trop sombre ou trop claire pour distinguer les vaisseaux des tissus, mais les vaisseaux sont toujours identifiables.	La vidéo est trop lumineuse ou trop sombre pour distinguer vaisseaux.
Durée : nombre d'images dans le clip vidéo.	Le segment vidéo analysable dure ≥ 5 s (≥ 150 images).	Le segment vidéo analysable dure de 3 à 5 s (entre 90 et 150 images).	Le segment vidéo analysable dure < 3 s (< 90 images).
Mise au point : netteté de l'image dans la région d'intérêt.	Bonne mise au point pour tous les vaisseaux (petits et grands) dans tout le champ de vision. Les hématies sont identifiables.	Moins de la moitié du champ de vision est flou ou les bords des vaisseaux sont légèrement flous.	La vidéo est complètement floue, de sorte qu'aucun petit vaisseau ne peut être observé.
Contenu : détermination des types de vaisseaux et absence d'éléments masquant le champ de vision (salive, bulles).	La vidéo n'est pas masquée par des éléments figurés. Bonne distribution des grands et petits vaisseaux. Moins de 30 % des vaisseaux forment des boucles.	La vidéo peut contenir quelques éléments figurés (< 30 % du champ de vision). Présence de grands et de petits vaisseaux. Environ 30 % à 50 % des vaisseaux forment des boucles.	Le champ de vision est masqué par des éléments figurés sur plus de 30 % de sa surface. Plus de 50 % des vaisseaux forment des boucles.
Stabilité : mouvements d'images potentiellement à l'origine de flou.	Le mouvement est inférieur à 1/4 du champ de vision. Pas de flou de mouvement.	Le mouvement est inférieur à 1/2 du champ de vision. Pas de flou de mouvement.	Le mouvement est supérieur à la moitié du champ de vision et / ou présence de flou de mouvement dans l'image.
Compression : compression mécanique iatrogène à l'origine d'une fausse représentation du flux.	Le flux est constant tout au long de la vidéo. Aucun signe évident de débit artificiellement lent ou arrêté. Bon débit dans les plus gros vaisseaux.	Signes de compression (écoulement lent localisé dans un gros vaisseau spécifique), mais globalement l'écoulement semble ne pas être entravé, sur la base d'un bon écoulement dans la plupart des grands vaisseaux.	Artefacts de compression évidents associés au mouvement de la sonde et/ou débit qui démarre et s'arrête, inversion du débit, écoulement faible ou changeant dans les veinules.

b. Analyse et interprétation des vidéos de microcirculation

L'analyse des vidéos de microcirculation peut être faite directement à « l'œil nu », en se focalisant principalement sur la vitesse du flux, ou alors après l'enregistrement, manuellement ou à l'aide d'un logiciel comme AVA. La méthode la plus utilisée dans la littérature est celle recourant au logiciel AVA, c'est également celle que nous avons réalisée dans nos études.

De nombreux paramètres de microcirculation peuvent être fournis par ces diverses méthodes. Ces paramètres sont classés en deux catégories : les paramètres de convection, reflète de la qualité du flux microcirculatoire et du transport convectif de l'oxygène par les hématies, et les paramètres de diffusion, reflète de la densité de vaisseaux perfusés dans la zone observée et du transport diffusif de l'oxygène des vaisseaux jusqu'aux cellules (plus la densité est élevée, moins la distance de diffusion de l'oxygène du vaisseau vers les cellules est grande). Le tableau 6 résume les différents paramètres de microcirculation qui peuvent être obtenus²⁴⁰.

Le logiciel AVA, dans sa version la plus récente (version 4.3C), qui est celle que nous avons utilisée, fournit 5 paramètres qu'il classe en paramètres de densité et en paramètres de perfusion. Avant de les décrire, il est indispensable d'expliquer brièvement comment cet outil fonctionne. En premier lieu, AVA réalise une augmentation du contraste et une stabilisation de l'image. L'algorithme détecte ensuite le centre des vaisseaux et leur largeur, et trace leur contour (figure 34). Il est également capable de discerner les zones perfusées de celles qui ne le sont pas. Une grille composée de 3 lignes équidistantes verticales et de 3 lignes équidistantes horizontales est alors tracée. Le logiciel détecte le nombre de vaisseaux qui croisent cette grille (*number of crossings*) et identifie parmi eux ceux qui sont perfusés (*perfused number of crossings*). La variable de densité calculée est le De Backer score. Elle est calculée en divisant le nombre de vaisseaux croisant la grille par la longueur de la grille, son unité est donc un nombre de vaisseaux par millimètre (n/mm).

Les paramètres de perfusion calculés sont :

- le Perfused De Backer score, obtenu en divisant le nombre de vaisseaux perfusés croisant la grille par la longueur de la grille,
- La proportion de vaisseaux perfusés (*proportion of perfused vessels*, PPV, %). Il est calculé en divisant le Perfused De Backer score par le De Backer score.

Chaque paramètre fourni par AVA est donné pour l'ensemble des vaisseaux et pour les petits vaisseaux seuls (ceux dont le diamètre est inférieur à 20 μm).

Le De Backer score et le Perfused De Backer score sont respectivement proches du TVD (*total vessel density*) et du PVD (*perfused vessel density*) présentés dans le tableau 6 mais ne sont pas identiques. Ces derniers sont calculés à partir de la surface de l'image recouverte par des vaisseaux, et non grâce au nombre de vaisseaux croisant la grille. Ils ne sont pas fournis par la dernière version de AVA.

D'autres paramètres sont utilisés, mais doivent être calculés manuellement. La vitesse du flux est évaluée de manière semi quantitative grâce au calcul du MFI (*microvascular flow index* : index de vitesse du flux microcirculatoire). Il existe différentes méthodes de calcul. La plus couramment utilisée est la méthode des quadrants : l'image est divisée en 4 quadrants. L'observateur attribue une note pour évaluer la vitesse du flux dans chacun d'entre eux : 0 si le flux est arrêté, 1 si le flux est intermittent, 2 s'il est ralenti et 3 s'il est normal. Le MFI est calculé en faisant la moyenne de ces 4 notes. D'après les auteurs du consensus, un MFI inférieur à 2,6 est le signe d'une altération microcirculatoire. Le second paramètre calculé manuellement est l'index d'hétérogénéité du flux (*heterogeneity index*, HI). Il est obtenu à partir des notes données à chaque quadrant. La note minimale est soustraite à la note maximale puis le résultat est divisé par le MFI. Ce paramètre est particulièrement intéressant lors de sepsis et de chocs distributifs, conditions fortement associées à un risque d'hétérogénéité de la perfusion (voir Introduction.III.A.2)²⁴⁰.

Enfin, le consensus donne des recommandations concernant les paramètres à privilégier en fonction des situations cliniques. Ces consignes sont disponibles dans les tableaux 6, 7 et 8 de l'article et ne seront pas reproduites ici²⁴⁰.

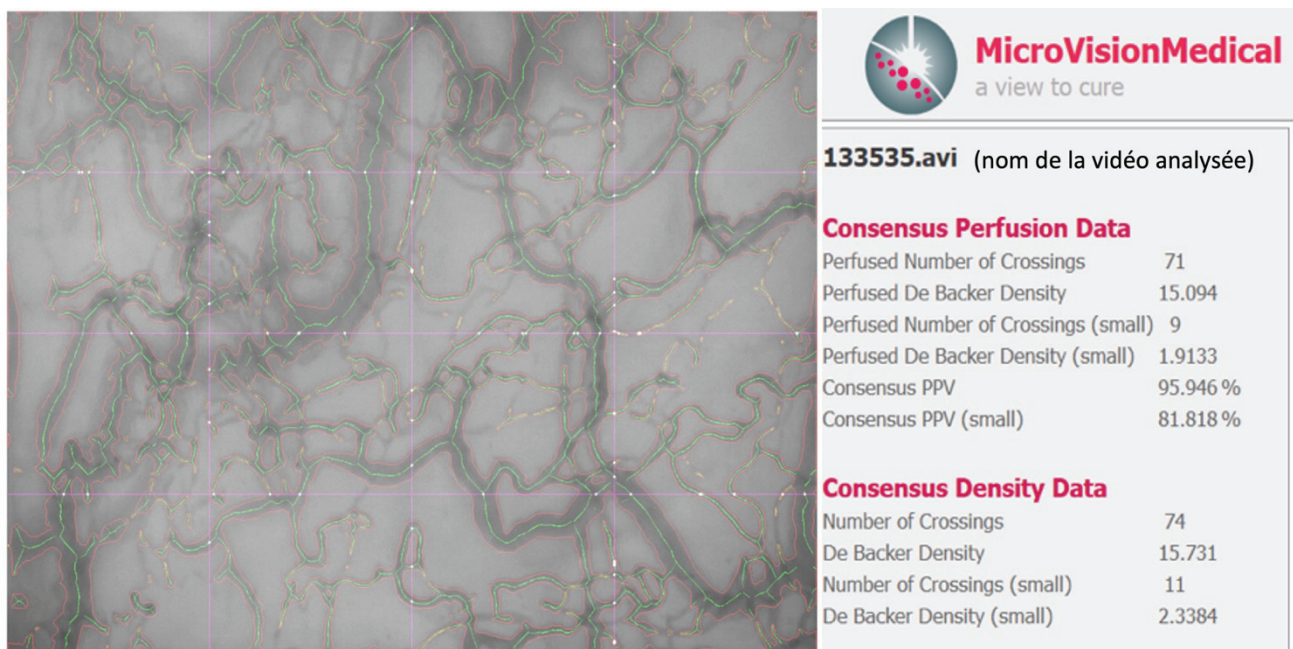


Figure 34 : Exemple des résultats fournis par le logiciel AVA lors de l'analyse d'une vidéo de microcirculation. Les traits verts correspondent aux centres des vaisseaux, les traits rouges aux contours des vaisseaux, la grille rose est la grille d'analyse. Perfused number of crossings : nombre de vaisseaux perfusés croisant la grille, number of crossings : nombre total de vaisseaux croisant la grille, PPV : proportion of perfused vessels ou proportion de vaisseaux perfusés, small : résultats ne concernant que les petits vaisseaux (diamètre < 20 µm).

Tableau 6 : Caractéristiques des paramètres microcirculatoires (d'après [240])

Paramètre	Définition	Caractéristiques	Unité	Commentaires
<i>Proportion of perfused vessels</i> (PPV)	Pourcentage de vaisseaux perfusés divisé par le nombre total de vaisseaux croisant la grille d'analyse 3x3.	Déterminant binomial de la vitesse des globules rouges : présence de flux ou absence. Paramètre de convection.	%	Bonne reproductibilité. Basé sur la tradition de la recherche préclinique. Le score est sensible à l'isotropie (changement de la taille de l'image lors du grossissement optique).
De Backer score	Nombre de vaisseaux croisant la grille d'analyse 3x3 divisé par la longueur totale de la grille.	Proche du TVD. Paramètre de diffusion.	n/mm	
<i>Micronascular Flow Index</i> (MFI)	Calculé en moyennant les notes données aux 4 quadrants d'une vidéo (0 : flux arrêté, 1 : flux intermittent, 2 : flux ralenti, 3 : flux normal).	Approche semi quantitative de la vitesse globale du flux. Paramètre de convection.	UA	Bonne reproductibilité. D'autres méthodes de calcul existent.
<i>Heterogeneity index</i> (HI)	Analyse par quadrant ((note maximum – note minimum)/MFI).	Index d'hétérogénéité du flux.	UA	Le calcul peut se faire sur la base du MFI ou du PPV. Particulièrement intéressant lors de choc distributif.
<i>Total Vessel Density</i> (TVD)	Surface totale des vaisseaux divisée par la surface totale de l'image.	Paramètre de diffusion.	mm ² /mm ²	Nécessite une correction manuelle des contours des vaisseaux tracés par le logiciel.
Perfused Vessel Density (PVD)	PPV x TVD	Paramètre de diffusion et de convection.	mm ² /mm ²	
Diagrammes espace-temps	Mesure exacte de la vitesse des globules rouges.	Paramètre de convection.	mm/s	

n : nombres de vaisseaux, UA : unité arbitraire.

B. Les apports de la recherche préclinique

De nombreuses études sont disponibles dans la littérature concernant les troubles microcirculatoires observés par vidéomicroscopie, dans les états de choc, et plus particulièrement lors de sepsis. Nous présenterons ici quelques résultats qui nous semblent intéressants.

Des troubles de la microcirculation ont été observés sur plusieurs organes dans différents modèles de sepsis. Chez des rats ayant subi une ligature-ponction caecale (CLP), on observe, dans un muscle, une réduction de 36 % de la densité capillaire perfusée et une augmentation de 265 % des capillaires au seins desquels le flux est stoppé. En outre la perfusion est particulièrement hétérogène : la distribution spatiale des capillaires perfusés est 72 % plus hétérogène que dans le

groupe contrôle²⁴². Piper et col confirment ces résultats et montrent que l'apparition de ces anomalies est précoce (dès 6 h post-CLP) et qu'elles persistent dans le temps. Ils rapportent également qu'elles ne sont pas secondaires à une compression par de l'œdème interstitiel²⁴³. Des études décrivent la présence de troubles microcirculatoires digestifs : le nombre de capillaires perfusés est diminué dans un groupe de rats post-CLP²⁴⁴. Drazenovic et col décrivent les mêmes observations sur des chiens chez lesquels une endotoxémie a été induite expérimentalement²⁴⁵. Dans les modèles de sepsis, la défaillance macrocirculatoire ne semble pas être le mécanisme principalement à l'origine des troubles microcirculatoires. En effet, les études réalisées sur des rats, citées ci-dessus, correspondent à des modèles de sepsis normotensif. En outre, Nakajima et col décrivent que pour une même valeur d'hypotension, les troubles microcirculatoires sont bien plus importants chez des souris en sepsis que chez des souris en choc hémorragique²⁴⁶. Cependant, il est possible que les souris et rats ayant subi des CLP présentent une hypovolémie (secondaire à des troubles digestifs, à l'épanchement abdominal ou encore à la diminution de la prise de boisson) d'apparition plus progressive qu'une hémorragie et compensée par les mécanismes de réponse, donc non associée à une hypotension, et qui pourrait participer à l'installation des troubles microcirculatoires.

Dans un modèle de sepsis induit par la perfusion de bactéries dans la vésicule biliaire chez des porcs, Verdant et col montrent une nette réduction de la proportion de microvaisseaux perfusés dès 4 h post-sepsis. Cette réduction concerne à la fois la microcirculation sublinguale et intestinale avec une forte corrélation des résultats observés entre ces deux sites¹¹¹. Pranskunas et col ont comparé la microcirculation sublinguale, conjonctivale, jéjunale et rectale chez des porcs, après administration intraveineuse de bactéries. Ils observent une réduction du MFI et du PPV pour chaque site, dès 3 h. Le HI est significativement augmenté pour les muqueuses jéjunale et rectale. Enfin, les auteurs rapportent une corrélation forte après 3 h d'expérimentation entre le MFI mesuré en région sublinguale et le MFI des autres sites. Ces corrélations ne sont plus présentes à T+5 h. Cette perte de corrélation pourrait être le reflet de l'installation d'une hétérogénéité de perfusion entre les différents organes, liée à des réponses physiopathologiques différentes dans ces zones étudiées. Ces résultats supportent l'utilisation de la région sublinguale comme région pertinente d'étude lors de sepsis : en effet, les altérations microcirculatoires sublinguales sont plus prononcées que celles observées dans les autres régions étudiées²⁴⁷. Hessler et col comparent la microcirculation sublinguale et conjonctivale chez des moutons, dans un modèle de choc hémorragique et un modèle de choc septique. Ils observent dans les deux cas une baisse majeure du MFI et du PVD. Ces réductions sont plus importantes dans le groupe de choc septique alors que les valeurs des

paramètres macrocirculatoires sont sensiblement les mêmes au moment du choc, confirmant ce qui est décrit par Nakajima²⁴⁶ sur des souris. Enfin, ils rapportent une bonne corrélation entre les résultats obtenus en régions sublinguale et conjonctivale²⁴⁸. D'autres études réalisées sur des porcs^{249,250} et des chiens²⁵¹ en choc hémorragique rapportent des résultats concordants avec ceux de Hessler et col, avec une baisse du MFI et du nombre de capillaires perfusés.

En résumé, la vidéomicroscopie permet d'identifier des anomalies de la perfusion microcirculatoire lors de sepsis ou de choc hémorragique. Ces anomalies semblent relativement similaires : baisse de la vitesse du flux, réduction du nombre de vaisseaux perfusés. Une des caractéristiques les plus observées lors de sepsis est l'augmentation de l'hétérogénéité de la perfusion. Si les altérations apparaissent globalement de même nature, elles semblent plus prononcées dans les cas de sepsis et ce, alors que la défaillance hémodynamique n'est pas plus sévère. Ce résultat suggère l'importance de mécanismes locaux, notamment la dysfonction endothéliale (Introduction.III.B.2), dans la survenue des troubles microcirculatoires en conditions septiques.

C. Applications cliniques

Les altérations de la microcirculation sublinguale ont initialement été décrites lors de sepsis chez l'homme. Les anomalies chez les patients sont les mêmes que celles observées expérimentalement chez l'animal : réduction de la proportion de vaisseaux perfusés, augmentation de l'hétérogénéité de la perfusion se manifestant notamment par la présence de vaisseaux dans lesquels le flux est anormal (flux arrêté, flux intermittent, flux ralenti) à côté de vaisseaux perfusés normalement¹⁰⁰.

La première étude concernant les anomalies microcirculatoires sublinguales lors de sepsis est celle publiée par De Backer et col en 2002. Ils rapportent une réduction du PPV et une augmentation de la fraction de vaisseaux mal perfusés chez les patients en sepsis, comparativement à des volontaires sains. Ils montrent, parmi les patients septiques, que la baisse du PPV est plus marquée chez les non survivants. Enfin, ils rapportent une réversion des anomalies consécutive à l'application locale d'un vasodilatateur, suggérant ainsi la possibilité de corriger médicalement ces troubles¹¹⁵.

Deux ans après cette étude, Sakr et col décrivent l'évolution des paramètres microcirculatoires au cours du temps chez des patients en choc septique¹¹⁴. Ils montrent que, si les valeurs du PPV sont similaires pour les survivants et les non survivants au moment du choc, on observe au cours du temps une dissociation entre ces deux groupes (figure 35). Ainsi, les survivants sont associés à

une amélioration du PPV alors que les non survivants voient leur PPV diminuer. Parmi ces derniers, le PPV est sensiblement plus faible chez les patients qui décèdent des suites d'un syndrome de défaillance multi-organique. Cette étude met donc en exergue les liens qui existent entre anomalie de la perfusion microcirculatoire, réduction de l'apport d'oxygène aux cellules et défaillance d'organe. D'autres éléments vont également dans ce sens : Trzeciak et col rapportent une corrélation forte entre le pourcentage d'extraction de l'oxygène et la densité microcirculatoire²³⁹. Les mêmes auteurs rapportent dans une autre étude une association entre l'amélioration du MFI et la réduction du score SOFA¹²³. D'autres études décrivent l'intérêt pronostique des paramètres de la microcirculation : la réduction du MFI et l'augmentation de l'HI sont associés à la mortalité dans l'une²³⁹, la baisse du PPV est un facteur pronostique négatif dans l'autre²⁵². Dans toutes ces études, les analyses de la microcirculation sont généralement réalisées sur des patients qui présentent des paramètres macrocirculatoires dans les limites de la normale. Cette dissociation est une illustration de l'incohérence hémodynamique qui a été définie précédemment.

Des résultats similaires à ceux décrits ci-avant sont rapportés dans d'autres contextes que le choc septique. Domizi et col décrivent une association entre réduction du TVD et du PVD et augmentation du score SOFA lors de polytraumatismes²⁵³. De même, une association est observée entre le nombre de défaillances d'organes et le PVD ou le MFI lors de choc hémorragique d'origine traumatique¹³². Enfin, des publications rapportent la présence d'anomalies microcirculatoires chez des patients en choc cardiogénique^{133,254} et l'intérêt de ce monitoring lors de chirurgies cardiaques²⁵⁵.

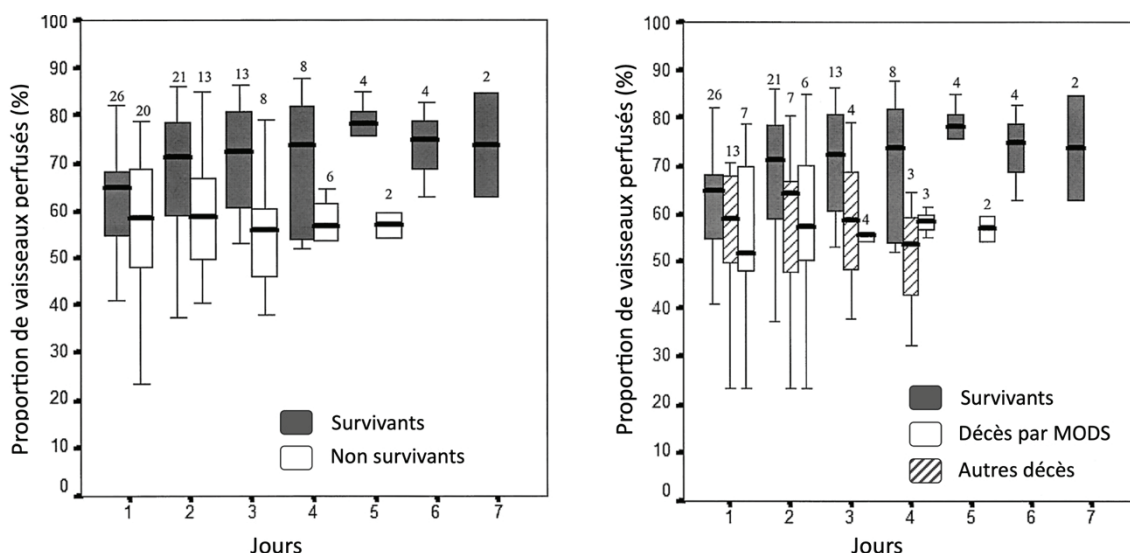


Figure 35 : Évolution de la proportion de vaisseaux perfusés au cours du temps dans une population de patients en choc septique (MODS : syndrome de défaillance multi-organique, d'après [114])

D. Les limites de la vidéomicroscopie

1. Impact de la qualité des vidéos sur l'interprétation des résultats

Si l'enregistrement des vidéos apparaît simple de prime abord, la réalisation de films de bonne qualité demande un certain entraînement et peut dépendre de facteurs associés au patient, comme un manque de coopération par exemple.

Une étude publiée par Sallisimi et col révèle que la proportion de vidéos de mauvaise qualité enregistrées par des personnes entraînées chez des patients hospitalisés en réanimation, n'est pas anodine. En effet, parmi les 240 vidéos enregistrées au cours de 82 sessions, 36 % présentent des artefacts de compression des vaisseaux, 9 % sont partiellement masquées par de la salive, 5 % par du sang et 7 % présentent un problème de luminosité. Au final, seulement 31 % des vidéos enregistrées sont de bonne qualité. En outre, l'obtention d'un triplet de vidéos de bonne qualité pour un même patient n'est possible que dans 8,5 % (7/82) des cas. L'évolution de la qualité des enregistrements (courbe d'apprentissage) est également étudiée au cours de la période d'étude chez les patients ventilés. On observe globalement une amélioration de la qualité des vidéos. Néanmoins, en fin d'étude, la proportion de vidéos de bonne qualité reste faible (50 %) et les artefacts de compression ou associés à la salive restent élevés (18 %)²⁵⁶. Bemelmans et col rapportent une proportion d'échecs moindre : dans leur étude, réalisée chez des patients hémodialysés suite à la survenue d'une insuffisance rénale chronique, des vidéos de bonne qualité ne sont pas obtenues pour 18 % des patients (5/39)²⁵⁷.

Damiani et col décrivent la qualité de 2455 vidéos (soit 853 triplets) obtenues sur des patients en réanimation²⁵⁸. Pour l'évaluer, ils réalisent le score de qualité évoqué précédemment (1^{ère} Partie.III.A.4). Au final, 56 % des vidéos sont acceptables mais 67 % des enregistrements réalisés sur chacun des patients ne peuvent être utilisés, soit parce que les triplets sont incomplets, soit parce qu'ils contiennent des vidéos de mauvaise qualité. Enfin, pour 20 des 100 patients étudiés, aucune vidéo n'est utilisable. Les auteurs montrent que l'utilisation de mauvaise qualité dans l'analyse peut être à l'origine de biais : en effet, la mauvaise qualité est associée à une réduction du TVD, du PPV et du MFI. Enfin, dans leur étude, la qualité semble dépendre à la fois du niveau d'entraînement de l'opérateur et du niveau de coopération des patients : les vidéos de bonne qualité

étant plus fréquentes sur des patients ayant reçu une sédation ou présentant des troubles marqués de la vigilance.

Nous avons réalisé une étude²⁵⁹ qui confirme l'impact de la mauvaise qualité des vidéos sur les résultats obtenus en étudiant plus particulièrement le rôle des artefacts de compression des vaisseaux. Nous avons également identifié d'autres paramètres associés à l'enregistrement de mauvaises vidéos. L'article complet est présenté en annexe 4. Les principaux résultats sont résumés ci-après.

Article n°4 : Évaluation de la microcirculation par vidéomicroscopie SDF : impact du statut hémodynamique sur la présence d'artefacts de compression

L'objectif de cette étude est de vérifier deux hypothèses de travail :

1. La présence des artefacts de compression des vaisseaux dépend de la pression intravasculaire et donc du statut hémodynamique des patients,
2. La présence d'artefacts de compression, même acceptables, influence les résultats de l'analyse de la microcirculation.

- *Protocole expérimental*

Nous avons utilisé 684 vidéos enregistrées à l'aide d'un vidéomicroscope de type SDF sur 7 cochons. Ces cochons ont subi des variations de pression artérielle induites pharmacologiquement par l'administration d'un surdosage en sévoflurane ou de noradrénaline, comme détaillé dans la figure 18. Les vidéos ont été réalisées en suivant les procédures recommandées par Trzeciak et col²³⁹ et par le consensus²⁴⁰. Pour chaque vidéo, le score de qualité a été réalisé par deux opérateurs, comme détaillé dans le tableau 5. Les vidéos présentant une qualité jugée inacceptable pour les critères autres que « compression » ont été exclues de l'étude. Pour chaque vidéo, nous avons conservé la note obtenue pour le critère « compression » du score. Les vidéos pour lesquelles ce critère était jugé « bon » ou « acceptable » ont été qualifiées de vidéos « acceptées », celles avec un critère de compression « non acceptable » ont été considérées comme « rejetées ». Les vidéos ont ensuite été analysées à l'aide du logiciel AVA 4.3C, comme détaillé précédemment. Des illustrations de vidéos présentant des artefacts de compression sont disponibles en ligne, en annexe de l'article (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026286220300856#s0045>).

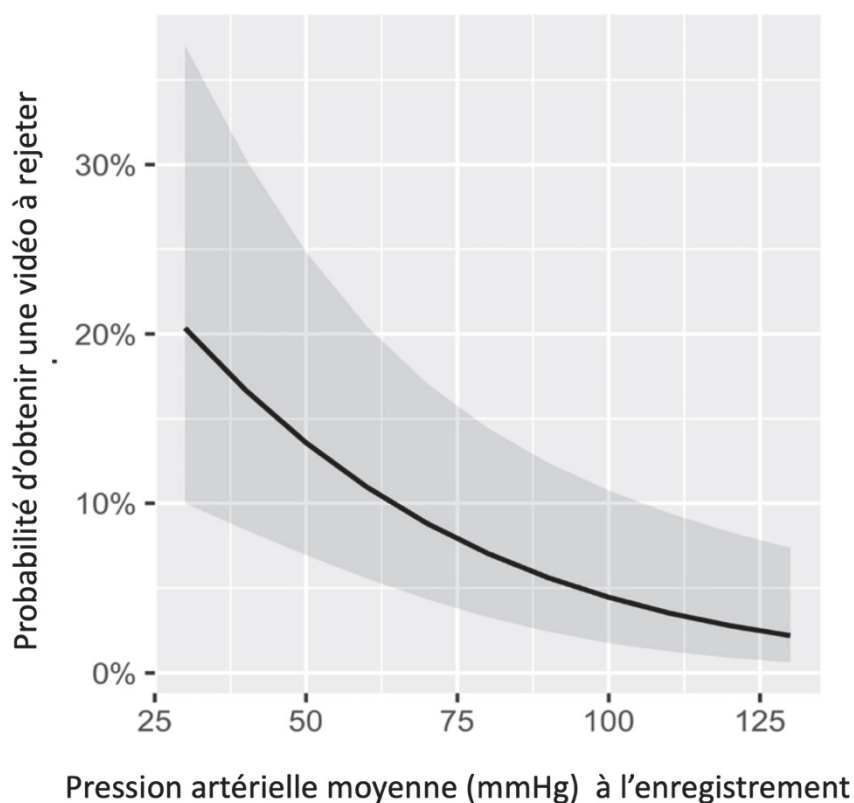
Le κ de Cohen a été calculé pour évaluer la concordance inter-observateurs. Afin d'évaluer l'impact des variables macrocirculatoires sur la présence d'artefacts de compression et donc sur la qualité (« acceptée » ou « rejetée ») des vidéos, nous avons construit une régression logistique multivariante incluant la qualité des vidéos comme variable binomiale à prédire, les paramètres macrocirculatoires (IC : index cardiaque, PAM : pression artérielle moyenne, VPP : variation de la pression pulsée) et leurs interactions comme effets fixes, et les individus comme effet aléatoire (qualité de la vidéo (acceptée or rejetée) \sim IC * PAM * VPP + (1 | individu)). Nous avons ensuite calculé l'AICc (critère d'Akaike corrigé) de tous les sous modèles puis nous avons sélectionné le modèle avec le moins de perte d'information, c'est à dire le modèle le plus parcimonieux parmi ceux présentant l'AICc le plus faible. Pour tester l'impact des artefacts de compression sur la valeur des paramètres de microcirculation nous avons construit des modèles linéaires mixtes en incluant la variable microcirculatoire comme variable à prédire, les artefacts de compression comme effet fixe (absence d'artefacts, artefacts acceptables ou artefacts non acceptables) et l'effet aléatoire individu, nous avons également ajusté les modèles avec les paramètres macrocirculatoires (variable microcirculatoire \sim artefact de compression + IC + PAM + VPP + (1 | individu)).

- *Résultats*

La réalisation du score de qualité était bien reproductible ($\kappa = 0,71$). Soixante-sept pour cent des vidéos ne présentaient pas d'artefacts de compression, 20 % étaient associés à des artefacts acceptables et 13 % à des artefacts non-acceptables : 87 % des vidéos étaient à accepter et 13 % étaient à rejeter.

Le modèle sélectionné concernant la qualité des vidéos était celui qui n'incluait que la PAM comme prédicteur (qualité de la vidéo (acceptée or rejetée) \sim PAM + (1 | individu)). La PAM avait une influence significative sur la qualité de la vidéo (OR = 0,98, IC95 % [0,96 – 0,99], P = 0,0008). La figure 36 illustre, pour une vidéo, la probabilité d'être rejetée en fonction de la PAM au moment de l'enregistrement : plus la PAM est faible et plus la probabilité d'observer des artefacts de compression non acceptable est grande.

Figure 36 : Probabilité d'obtenir une vidéo à rejeter, c'est à dire contenant des artefacts de compression non-acceptables en fonction de la pression artérielle moyenne de l'individu lors de l'enregistrement (la ligne noire modélise la probabilité moyenne, la zone grise correspond à son intervalle de confiance à 95 %)



Le *Perfused De Backer* score pour les petits vaisseaux, le PPV pour les petits vaisseaux et l'ensemble des vaisseaux et le MFI étaient significativement plus faibles lorsque des artefacts de compression (même acceptables) étaient présents. Le HI était significativement plus élevé lorsque des artefacts de compression étaient présents (même acceptables). Le *Perfused De Backer* score pour l'ensemble des vaisseaux était significativement plus faible lorsque des artefacts de compression, non acceptables, étaient présents (figure 37). L'ensemble des résultats concernant les modèles linéaires est disponible dans le tableau 3 de l'article présenté en annexe.

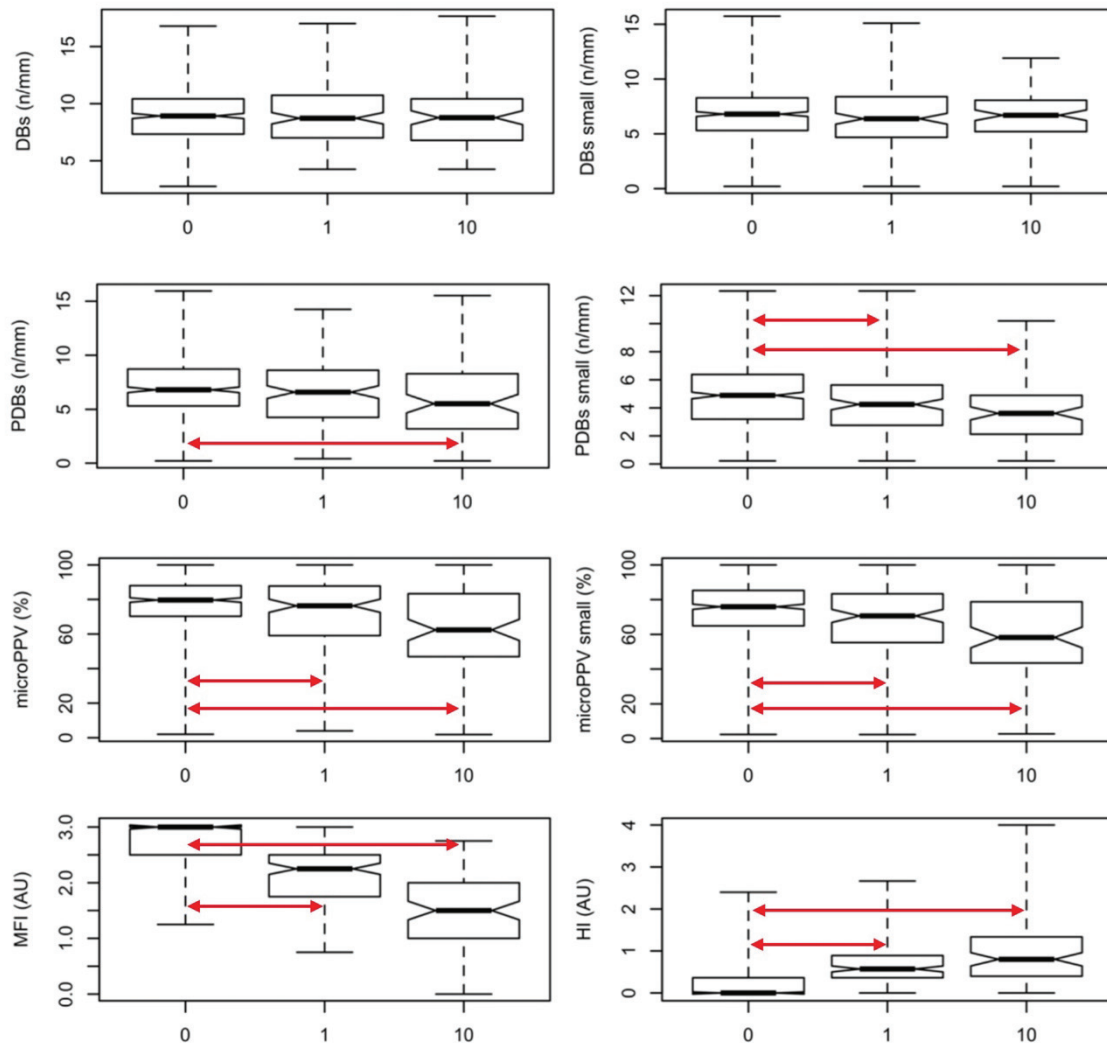


Figure 37 : Visualisation de la valeur des paramètres de microcirculation en fonction des artefacts de compression (DBs : De Backer score, PDBs : Perfused De Backer, microPPV = PPV : proportion de vaisseaux perfusés, MFI : microvascular flow index, HI : index d'hétérogénéité, small : diamètre < 20 μm, AU : unités arbitraires, en abscisse : 0 : absence d'artefacts, 1 : présence d'artefacts acceptables, 10 : présence d'artefacts non-acceptables, les flèches rouges mettent en évidence les différences statistiquement significatives entre groupes, c'est à dire lorsque $P < 0,05$)

• Conclusions

A notre connaissance, cette étude est la première à mettre en évidence un lien entre la présence d'artefacts de compression (et donc la mauvaise qualité d'une vidéo) et le statut hémodynamique d'un patient. Le résultat observé est assez logique : plus la pression dans un tuyau est faible, plus ce dernier est compressible. Or, la pression dans les microvaisseaux, plus particulièrement dans les artérioles et les capillaires, est proportionnelle à la pression artérielle systémique, d'après la loi de Poiseuille. Ce résultat suggère qu'il est nécessaire, au moment de l'enregistrement d'une vidéo sur un patient hypotendu, de faire particulièrement attention à ce genre d'artefacts. Cet élément, associé

à ceux déjà identifiés par Damiani et col²⁵⁸, pourrait expliquer pourquoi ce type d'artefacts est particulièrement présent chez les patients hospitalisés en réanimation.

Le deuxième résultat intéressant est la mise en évidence de l'impact des artefacts de compression sur la valeur des paramètres microcircatoires obtenus. Ce résultat suggère que l'analyse de vidéos contenant des artefacts de compression acceptables pourrait être biaisée par ces derniers. Il serait donc peut-être plus prudent de retirer complètement ces vidéos, plutôt que de les conserver, comme cela est fait lorsque l'on réalise le score de Massey et col²⁴¹, recommandé par le consensus²⁴⁰. En outre, l'association entre la baisse du MFI et la présence d'artefacts de compression souligne un autre point, relativement problématique : les anomalies du flux associées aux artefacts de compression et celles d'origine pathologique sont relativement similaires. Il n'est donc pas forcément évident de les différencier a posteriori. Il semble donc capital de ne pas enregistrer de vidéo dès qu'un doute persiste sur la présence de ce genre d'artefacts. Si cette recommandation semble aller de soi, elle n'est pas toujours évidente à appliquer en pratique, encore moins dans un contexte clinique où le temps est parfois compté.

Certaines mesures peuvent limiter la présence de ces artefacts : Balestra et col décrivent notamment l'utilisation d'un stabilisateur à appliquer au bout de la sonde du vidéomicroscope. Ce dernier permet de réduire significativement la présence d'artefacts²⁶⁰. Malheureusement, ce dispositif n'est pas commercialisé. Enfin, l'utilisation de la dernière génération de vidéomicroscope (IDF) semble associée à moins d'artefacts, notamment de compression, probablement car l'appareil est beaucoup plus léger que le vidéomicroscope SDF (120 g *versus* 320 g)²³⁷.

Si ces résultats semblent intéressants, ils doivent tout de même être confirmés chez des patients humains et dans d'autres types d'instabilités hémodynamiques.

2. La perfusion sublinguale : reflet des territoires splanchniques ?

Un des arguments avancés initialement soutenait que l'étude de la microcirculation en région sublinguale reflétait l'état de la microcirculation digestive dont la défaillance est particulièrement importante dans la physiopathologie des états de choc. Plusieurs éléments empiriques vont dans ce sens, notamment l'étude expérimentale réalisée par Verdant et col qui met en évidence une corrélation forte entre le PPV sublingual et le PPV intestinal¹¹¹.

Néanmoins, plusieurs études concernant l'Homme rapportent plutôt une dissociation entre les données obtenues en régions sublinguale et intestinale, notamment lors de sepsis d'origine abdominale. Boerma et col rapportent une absence de corrélation à J1. Une corrélation est cependant présente à J3 mais semble davantage liée à une amélioration globale de l'état des patients

faisant suite aux traitements administrés qu'à un réel lien entre ces territoires²⁶¹. L'amélioration de la microcirculation sublinguale consécutive à la prise en charge thérapeutique ne semble pas non plus pouvoir témoigner d'une correction des troubles de la perfusion digestive. Edul et col décrivent une dissociation entre la microcirculation de ces deux territoires après l'administration d'un bolus de soluté : si la microcirculation sublinguale semble répondre positivement, ils n'observent pas d'amélioration de la perfusion intestinale²⁶².

Le fait que la microcirculation sublinguale ne soit pas nécessairement le reflet des territoires splanchniques n'est pas une limite absolue de la vidéomicroscopie sublinguale : l'étude de la région sublinguale semble donner des résultats intéressants dont on ne peut nier l'existence. Elle représente cependant une limite majeure si l'objectif est d'approcher facilement, de manière non invasive, la microcirculation digestive.

3. La grande variabilité des résultats

Une grande variabilité des résultats obtenus à un moment donné, sur un même individu ou entre individus est parfois observée. Hutchings et col décrivent une grande variabilité interindividuelle dans un modèle expérimental de choc hémorragique²⁶³. Chez l'homme, Hubble et col décrivent également cette variabilité chez des sujets sains²⁶⁴.

Nous avons comparé les données obtenues après induction d'une anesthésie sur des cochons utilisés dans différents protocoles de recherche et l'on constate une forte variabilité inter et intra-individuelle, illustrée en figure 38. Tous les cochons étaient anesthésiés avec le même protocole et la mesure de microcirculation sublinguale avait lieu après induction, suite à une phase de stabilisation hémodynamique d'environ 30 minutes. La variabilité interindividuelle observée pourrait être liée à la variabilité des paramètres hémodynamiques obtenus après induction de l'anesthésie. Malheureusement ces données ne sont pas disponibles pour notre exemple. En outre, cela ne semblait pas être le cas dans l'étude de Hutchings et col²⁶³.

Il est fort probable que ces variabilités soient le reflet de l'hétérogénéité du réseau microcirculatoire sublingual. Le champ d'observation du vidéomicroscope étant petit (de l'ordre du mm²), il est possible qu'en raison de l'hétérogénéité du réseau sublingual, les résultats obtenus diffèrent significativement d'une zone à l'autre, même si elles sont très proches. C'est la raison pour laquelle le consensus recommande la réalisation d'au moins trois vidéos dont les résultats doivent

être moyennés. Le choix arbitraire de ce chiffre, par le collège des auteurs du consensus, est cependant remis en cause par une étude utilisant la vidéomicroscopie SDF. Néanmoins, dans cette étude, le logiciel d'analyse est différent de celui classiquement utilisé et il est possible que les variations obtenues entre vidéos enregistrées chez un même individu soient liées à la méthode utilisée²⁶⁵. De nouvelles études semblent nécessaires pour identifier quel est le nombre de sites à enregistrer pour réduire l'influence de ce facteur.

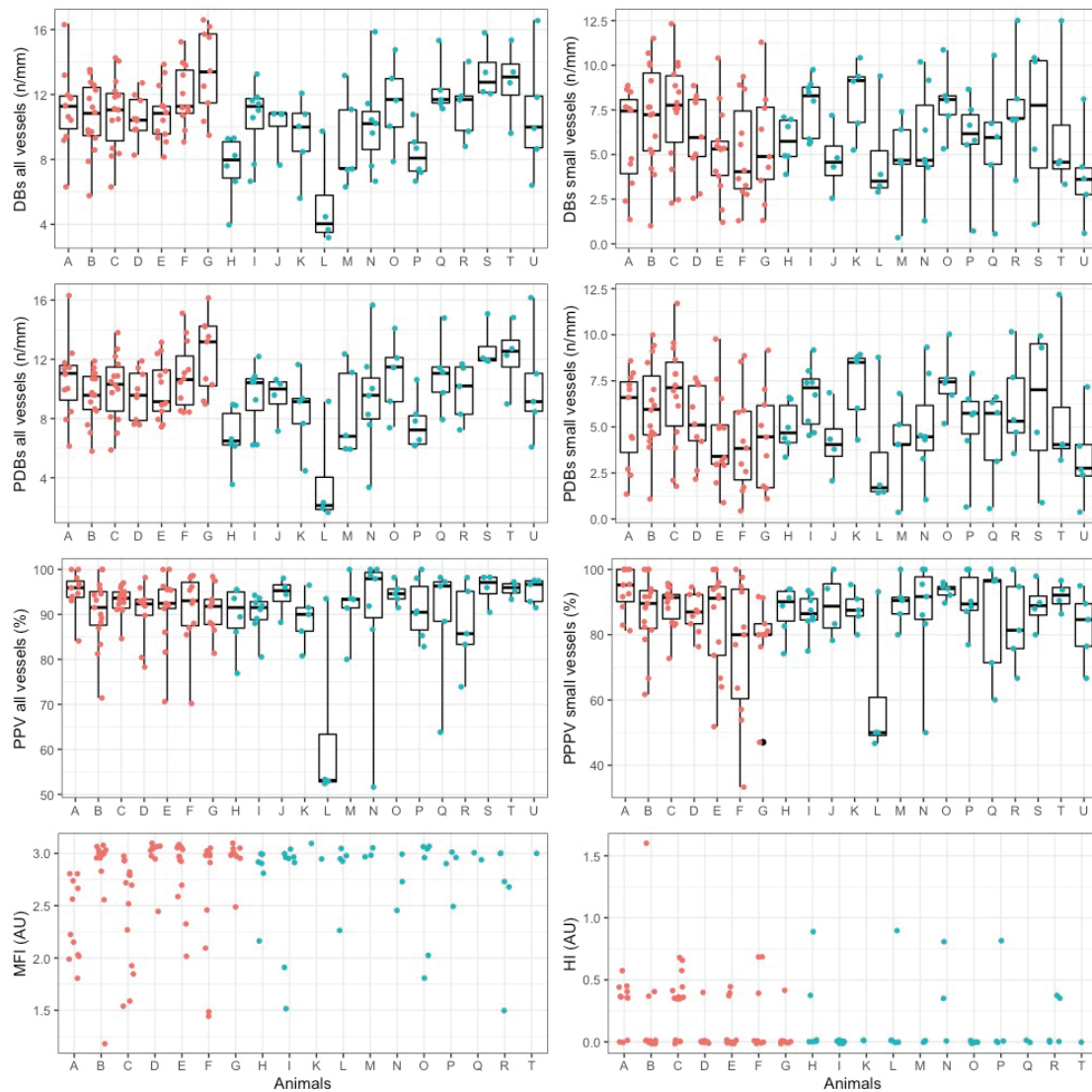


Figure 38 : Variabilité intra et interindividuelle des paramètres de microcirculation enregistrés par vidéomicroscopie sur des porcs après induction d'une anesthésie générale et stabilisation. Les couleurs permettent d'identifier des deux études d'où sont extraites les données. Les lettres en abscisse correspondent à l'identification des individus (DBs : De Backer score, PDBs : Perfused De Backer, PPV : proportion de vaisseaux perfusés, MFI : microvascular flow index, HI : index d'hétérogénéité, small : diamètre < 20 μ m, AU : unités arbitraires).

4. Les limites liées aux méthodes d'analyse des résultats

Comme évoqué précédemment, la méthode d'analyse couramment utilisée (*via* le logiciel AVA) est chronophage et l'obtention des résultats n'est pas instantanée. Dans la plupart des études, l'analyse des vidéos se fait a posteriori. En outre, le logiciel ne permet pas d'évaluer la vitesse du flux microcirculatoire. Le MFI est mesuré manuellement, généralement par la méthode des quadrants, et ne correspond pas à une détermination précise de cette dernière. En outre, cette méthode semble assez grossière puisqu'au sein d'un même quadrant le flux peut différer d'un vaisseau à l'autre. Pozo et col proposent d'améliorer cette évaluation du MFI en notant la vitesse de manière semi-quantitative vaisseau par vaisseau (plutôt que par quadrant) puis en calculant la moyenne²⁶⁶. Si cette approche semble attractive de prime abord, elle est en réalité presque impossible à mettre en œuvre. En effet, il est très compliqué de distinguer chacun des vaisseaux (la microcirculation étant organisée en réseaux) et ainsi d'évaluer la vitesse du flux vaisseau par vaisseau. Après plusieurs tentatives nous avons constaté qu'il était difficile (voire impossible) de déterminer où débutait et où se terminait chaque microvaisseau et que le risque de comptabiliser un vaisseau à plusieurs reprises était très élevé. Pour appliquer cette méthode il faudrait, par exemple, utiliser un logiciel qui nous permette de « surligner » les vaisseaux déjà étudiés. Dans leur étude, Pozo et col ne donnent pas de précision supplémentaire quant à l'utilisation d'un tel outil qui rendrait applicable leur méthode. En outre, cette méthode est encore plus chronophage que les méthodes plus classiques.

Hilty et col décrivent la mise au point récente d'un outil permettant une analyse complètement automatisée des vidéos de microcirculation (MicroTools), fournissant des variables morphologiques et fonctionnelles, qui semblent particulièrement intéressantes^{27,267}. Malheureusement, d'après notre expérience, cet outil n'est pas disponible. Pour utiliser ce logiciel, développé par Can Ince et présenté sur son site internet (<https://www.microcirculationacademy.org/>), il faut faire la demande au préalable, en ligne. Nous avons fait cette requête à plusieurs reprises au cours de la thèse mais nos demandes n'ont malheureusement jamais abouti.

Indéniablement, la vidéomicroscopie est à l'origine d'une avancée majeure concernant l'organisation et le fonctionnement de la microcirculation en conditions critiques, en permettant son étude directe. Son introduction en clinique est associée à de nombreux résultats intéressants, principalement lors de choc septique, qui mettent en exergue l'importance de la microcirculation

et de la perfusion des organes chez les patients en état de choc. Cet outil présente tout de même des limites qui doivent être clairement identifiées et étudiées afin d'améliorer son utilisation et avant d'envisager son emploi dans la pratique clinique.

2ème partie.
**Évaluation de l'intérêt du
pimobendane dans le
traitement des troubles de la
perfusion tissulaire lors de
choc septique**

Considérant les données mettant en évidence l'importance physiopathologique des troubles de la perfusion tissulaire, et notamment les associations décrites entre les troubles hémodynamiques microcirculatoires, les défaillances d'organes et les décès, de nombreux auteurs postulent que l'identification de thérapeutiques permettant d'optimiser la microcirculation permettrait d'améliorer la prise en charge des patients en réduisant la survenue des défaillances d'organes et en améliorant leur pronostic vital. Parmi les médicaments candidats, les molécules présentant des propriétés vasodilatatrices (dont les inodilatateurs) ont particulièrement attiré l'attention au cours de ces 20 dernières années. Ainsi, nous avons cherché à évaluer l'intérêt thérapeutique d'un inodilatateur : le pimobendane. Avant de présenter les résultats de nos travaux nous détaillerons les raisons qui justifient l'évaluation de ce traitement dans le contexte du choc septique.

I. Le rationnel scientifique

A. Intérêts théoriques des inodilatateurs

Les inodilatateurs sont des molécules qui présentent des propriétés vasodilatatrices associées à un effet inotrope positif. L'association de ces effets semble théoriquement intéressante dans la prise en charge des troubles de la perfusion tissulaire.

1. Intérêts de la vasodilatation

Plusieurs arguments, parfois contre-intuitifs, sont en faveur d'un effet bénéfique de la vasodilatation sur l'amélioration de la perfusion microcirculatoire^{268,269}.

D'après la loi de Poiseuille, le débit sanguin microcirculatoire dans les capillaires est proportionnel (entre autres) à la différence entre la pression pré-capillaire et la pression post-capillaire et au rayon du vaisseau à la puissance 4. L'équation complète de cette loi est présentée ci-dessous :

$$Q = \frac{(P_{pré-capillaire} - P_{post-capillaire}) \cdot \pi \cdot r^4}{8 \cdot L \cdot \mu}$$

Q : débit, P : pression, r : rayon du vaisseau, L : longueur du vaisseau, μ : viscosité du sang.

Contrairement à ce que l'on pourrait imaginer de prime abord, l'induction d'une vasodilatation serait à l'origine d'une augmentation de la pression pré-capillaire. A l'inverse, une vasoconstriction

serait à l'origine d'une réduction de ce paramètre faisant suite à une perte de pression rapide dans les territoires artériolaires, liée à l'augmentation des résistances (figure 39). Ainsi, la vasodilatation permettrait d'améliorer le débit sanguin capillaire en augmentant $P_{\text{pré-capillaire}}$ et le rayon du vaisseau. Néanmoins, l'augmentation de $P_{\text{pré-capillaire}}$ peut également induire une augmentation de la filtration capillaire, de la quantité de liquide interstitiel et ainsi une compression délétère des microvaisseaux. Ces éléments sont très théoriques ; ils sont issus d'un *textbook* de physiologie et nous ne disposons pas de références expérimentales associées^{55,270} ; ainsi, nous ne savons pas si ces informations sont déduites de modélisations biophysiques ou si elles correspondent aux résultats d'expériences pratiques.

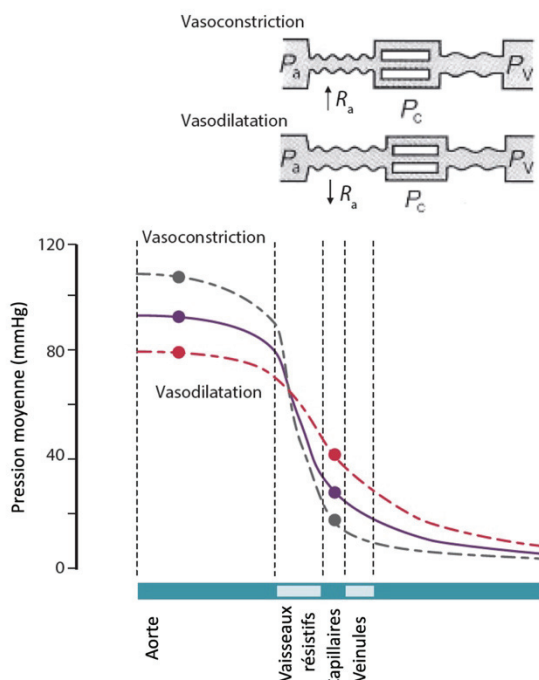


Figure 39 : Variations de la pression au sein de la circulation sanguine et effets d'une vasoconstriction ou d'une vasodilatation généralisée (R_a : résistances artérielles, P_c : pression capillaire, P_v pression veineuse, d'après [55]).

La microcirculation est constituée d'unités fonctionnelles (UFM pour unités fonctionnelles microcirculatoires). Ces UFM comprennent deux versants adjacents au lit capillaire (figure 40). Le versant artériel est constitué de petites artérioles dont la vasomotricité permet de réguler la perfusion. Après le réseau capillaire, le pôle veineux est constitué de veinules. Outre les lits capillaires, des shunts artérioveineux relient également le pôle artériel et le pôle veineux. A l'entrée du lit capillaire on observe une réduction de l'hématocrite du sang circulant proportionnelle à la réduction du diamètre du vaisseau ; en effet, la diminution de la section capillaire est à l'origine d'une séparation du plasma et des érythrocytes qui ne peuvent circuler dans les vaisseaux de plus faible diamètre. Ceci est appelé l'effet Fahraeus^{271,272}. Ainsi, la modulation du diamètre artériolaire par l'administration de vasodilatateurs et de vasoconstricteurs aura un impact sur l'hématocrite

présent dans les capillaires : *in vitro*, il a été montré qu'à partir d'un sang artériolaire dont l'hématocrite était de 50 %, une vasoconstriction était à l'origine d'une réduction majeure de l'hématocrite capillaire (7 %) alors que la vasodilatation artériolaire réduisait la chute de l'hématocrite capillaire (38 %) ²⁷³ (figure 41). La séparation des constituants sanguins lors d'une bifurcation dépend également d'autres facteurs, notamment de la composition sanguine. En outre, la propension à constituer des agrégats oriente beaucoup d'hématies vers les shunts et provoque ce qu'on appelle le *plasma skimming*, entraînant l'absence d'hématies dans certains capillaires ²⁷¹. Cette réduction de l'hématocrite pourrait avoir des conséquences sur l'apport d'oxygène dans les territoires adjacents. Il est tout de même fort probable que l'administration de vasopresseurs *in vivo* ne soit pas à l'origine d'une réduction nécessaire de l'hématocrite capillaire. En effet, comme nous l'avons précisé dans l'introduction, le contrôle de la perfusion locale est complexe et dépend notamment des besoins en oxygène des tissus. Ainsi, il est possible que malgré l'administration de vasoconstricteurs, l'entrée de certains lits capillaires soit dilatée suite à la libération locale de vasodilatateurs. Il est cependant également possible que ces mécanismes de régulation soient perturbés lors de sepsis, notamment suite aux anomalies du métabolisme du NO ou encore suite à des problèmes de transmission de l'information secondaires à la dégradation de l'endothélium.

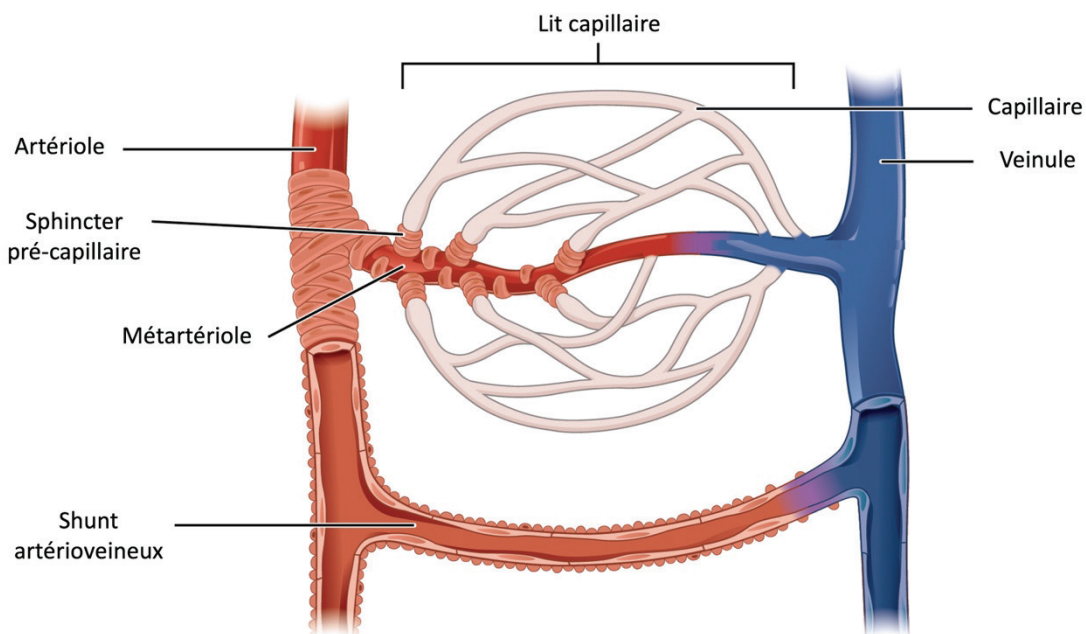


Figure 40 : Exemple d'organisation d'une unité fonctionnelle microcirculatoire (d'après [ref](#))

Dans une théorie appelée « théorie du shunt lors de sepsis », Can Ince propose l'idée que les déficits d'extraction de l'oxygène lors de sepsis seraient secondaires à une hétérogénéité de perfusion entre différentes UFM. Des unités, bien perfusées, shunteraient d'autres unités, appelées unités faibles. De la même manière, les unités bien perfusées profiteraient des mesures de réanimation au détriment des unités faibles^{77,269}. L'auteur postule que l'administration de vasodilatateurs pourrait permettre de recruter ces unités faibles en les ouvrant à la circulation sanguine²⁶⁹. Mais pour que le traitement soit vraiment efficace il faudrait que les vasodilatateurs n'agissent que sur les unités faibles. En effet, la vasodilatation d'unités déjà bien perfusées pourrait maintenir l'effet de shunt de ces dernières. L'argumentation développée est donc contradictoire : si les mesures de réanimation classiques profitent davantage aux unités bien perfusées plutôt qu'aux unités faibles, pourquoi en serait-il autrement pour les vasodilatateurs ? En effet, comme le souligne l'auteur de cette étude, il est fort probable que les médicaments administrés agissent davantage au niveau des zones bien perfusées plutôt que sur ces unités faibles.

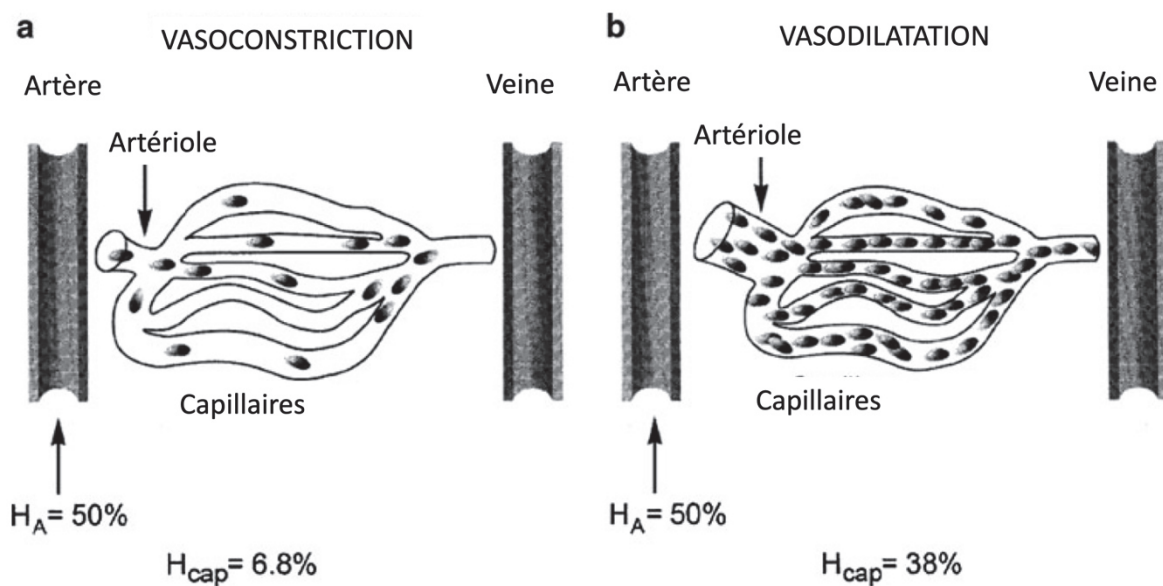


Figure 41 : Illustration de l'effet Fahraeus : l'hématocrite capillaire est proportionnel au diamètre de l'artériole pré-capillaire (H_A : hématocrite artère, H_{cap} : hématocrite capillaire, d'après [269])

Si ces arguments théoriques sont relativement pertinents il faut tout de même préciser que la microcirculation s'organise en réseau et que son fonctionnement est très complexe et fait intervenir de nombreux mécanismes intriqués les uns dans les autres. Il devient alors extrêmement difficile de prédire l'effet global que pourrait avoir un vasodilatateur ou un vasoconstricteur, d'autant plus que l'hétérogénéité de l'organisation du réseau pourrait induire des variations

régionales des effets observés. En outre, il convient également de confronter ces arguments théoriques aux résultats empiriques observés. Or, comme nous l'avons précisé dans la partie IV.D.2 de l'introduction, les observations faisant suite à l'administration de vasodilatateurs lors de choc septique sont contradictoires et ne sont pas clairement en faveur d'un effet bénéfique.

2. Intérêt de la combinaison vasodilatation-inotropisme positif

Si elle peut être à l'origine d'effets bénéfiques pour la microcirculation, la vasodilatation peut également être délétère. En effet, elle peut induire une hypotension plus ou moins marquée. Or, même si les organes « vitaux » possèdent des mécanismes d'autorégulation permettant de maintenir leur perfusion lorsque la pression artérielle systémique chute, il existe un seuil en dessous duquel la perfusion tissulaire chute proportionnellement (figure 15). Plusieurs études rétrospectives mettent en évidence une association entre la durée d'une hypotension (PAM < 65 mmHg) et la mortalité lors de choc septique^{113,274}. Une étude réalisée récemment sur 8 782 patients rapporte également une association entre le temps passé en hypotension et le risque de développer une insuffisance rénale aiguë ou une altération myocardique. Dans cette étude, plus le seuil d'hypotension est bas et plus les risques sont augmentés²⁷⁴.

L'addition d'un effet inotrope positif à un effet vasodilatateur présente donc l'intérêt de limiter la chute de pression artérielle systémique en augmentant le débit cardiaque. Dans une modélisation informatique de choc septique, Gazmuri et col montrent que l'association entre l'augmentation du débit cardiaque et la baisse des résistances périphériques serait particulièrement intéressante d'un point de vue microcirculatoire puisqu'elle permettrait de maintenir la pression de perfusion microcirculatoire tout en maintenant relativement stable la PAM¹⁴².

Plusieurs études concernant l'utilisation de la dobutamine, un inodilatateur, rapportent des résultats contradictoires. Dans la première, la dobutamine est associée à une amélioration du flux microcirculatoire et à une baisse de la lactatémie¹⁵⁴. Dans une autre, on observe d'amélioration microcirculatoire uniquement chez les patients présentant initialement une altération du flux²⁷⁵. Dans une troisième, particulièrement bien réalisée, dans laquelle ont été recrutés uniquement les patients présentant des anomalies du flux microcirculatoire, aucune amélioration n'est observée suite à l'administration de dobutamine. Dans cette dernière, la perfusion tissulaire était évaluée par vidéomicroscopie, tonométrie gastrique, gradients de température et mesure de la PO₂ microcirculatoire¹⁵⁵. Cependant, il faut préciser que la dobutamine est associée à des effets secondaires parfois délétères chez les patients instables comme des arythmies d'origine multifactorielle²⁷⁶. D'autres inodilatateurs, agissant différemment pourraient donc d'avérer intéressants. Nous reviendrons sur l'exemple du levosimendan dans une prochaine partie.

3. Améliorer la perfusion tissulaire en corrigeant la défaillance cardiaque

Le choc septique peut être associé à une défaillance myocardique (cardiomyopathie induite par le sepsis, Introduction.III.A.4) qui peut participer à l'apparition de troubles de la perfusion tissulaire. La correction de cette défaillance pourrait donc s'avérer intéressante pour lutter contre l'hypoperfusion. Les inodilatateurs présentent plusieurs propriétés qui s'avèrent particulièrement intéressantes dans le traitement des défaillances cardiaques. L'effet sur le compartiment veineux permet de réduire le retour veineux et ainsi la précharge ventriculaire gauche. Ceci permet de réduire le travail ventriculaire tout en limitant les conséquences congestives de la défaillance du cœur gauche. La vasodilatation artérielle et l'effet cardiaque direct permettent une amélioration de l'éjection ventriculaire gauche grâce à la combinaison des effets inotropes et chronotropes positifs et à la réduction de la postcharge. La réduction de la postcharge est particulièrement intéressante lorsque le cœur est défaillant : dans ce cas, de petites variations de la postcharge peuvent induire des modifications significatives du volume d'éjection systolique²⁷⁷ (figure 42).

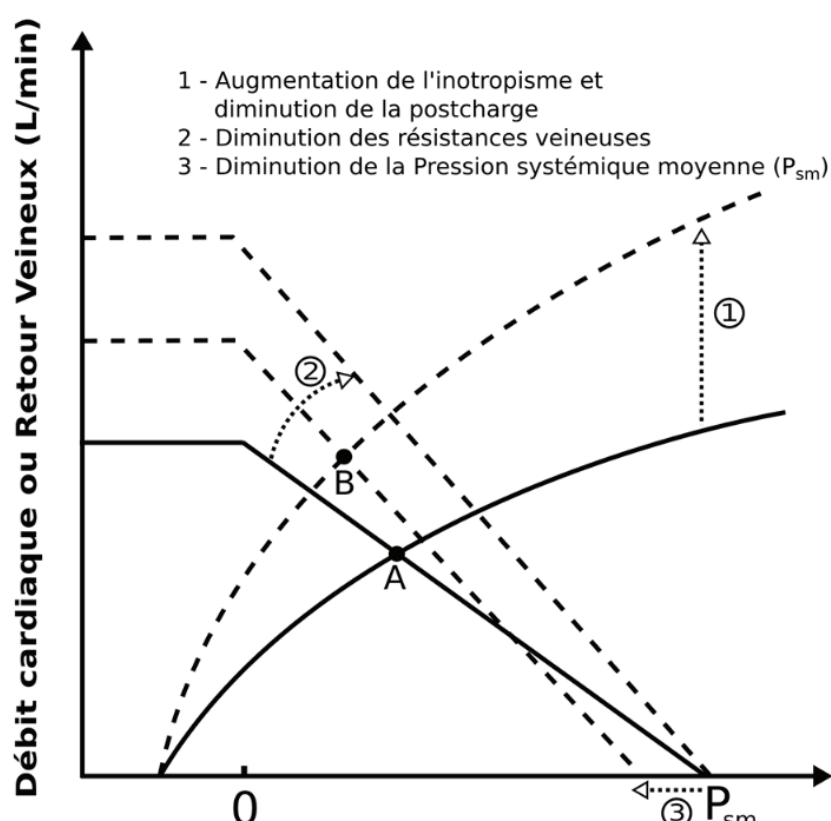


Figure 42 : Effet des inodilatateurs sur le retour veineux et le débit cardiaque. On observe une superposition de la courbe de Frank-Starling avec retour veineux en fonction de la pression auriculaire droite. L'inodilatateur, en entraînant la modification de ces courbes (étapes 1 à 3) permet d'améliorer le débit cardiaque (passage de A à B) (P_{sm} : pression systémique moyenne, d'après [277])

Maintenant qu'ont été présentés les arguments théoriques soutenant l'administration d'inodilatateurs lors de choc septique (mais aussi les limites de ces arguments), il est temps de présenter les propriétés de la molécule que nous avons étudiée : le pimobendane.

B. Les propriétés du pimobendane

Le pimobendane est un inodilatateur dérivé de la benzimidazole-pyridazinone. Il exerce ses propriétés inodilatatrices grâce à une combinaison d'effets dont les principaux sont l'effet inhibiteur de la phosphodiesterase 3 (PDE3) et l'effet sensibilisateur calcique. Ce médicament est classé comme un inotrope non-sympathomimétique et non-glycosidique. En effet, ses mécanismes d'action ne font pas intervenir les catécholamines endogènes, la stimulation des récepteurs β -adrénergiques ou l'inhibition de la pompe Na^+/K^+ ATPase. Pour comprendre l'intérêt que pourrait avoir cette substance dans la prise en charge du choc septique, nous présenterons ici ses principales propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques.

1. Les propriétés pharmacodynamiques

a. La vasodilatation

Le pimobendane (et son métabolite actif : UD-CG 212) présentent des propriétés vasodilatatrices affectant les territoires veineux et artériels. Cette action est principalement due à l'inhibition des PDE3 des cellules musculaires vasculaires. L'inhibition des PDE3 induit une augmentation des concentrations en AMPc et GMPc dans le cytoplasme, activant ainsi deux voies permettant de faciliter l'évacuation du calcium dans le milieu extracellulaire et dans son site de stockage, le réticulum sarcoplasmique, voies également impliquées dans l'effet vasodilatateur du NO et des prostaglandines (voir Introduction.III.A.2). Il semble également que le métabolite actif du pimobendane puisse directement activer des canaux potassiques, induisant une sortie de potassium hors de la cellule, une hyperpolarisation membranaire et une inhibition de l'entrée de calcium *via* les canaux calciques voltage dépendant²⁷⁸. La réduction de la concentration en calcium dans le cytosol qui résulte de ces mécanismes permet la vasodilatation^{279,280}.

L'effet vasodilatateur est décrit dans de nombreuses espèces : lapin, chat, chien, cochon et homme²⁷⁹. Dans un modèle de porcs anesthésiés, une vasodilatation est observée dans l'ensemble des régions de l'organisme après l'administration intraveineuse de pimobendane à des concentrations comprises entre 0,1 et 1 mg/kg mais semble plus marquée dans les circulations splanchnique, myocardique et cérébrale²⁸¹⁻²⁸³.

L'effet prédominant concerne les territoires veineux lorsque les concentrations administrées sont inférieures ou égale à 0,3 mg/kg et les territoires artériels pour des concentrations plus élevées. Ainsi, l'augmentation de la perfusion rénale et splénique observée pour de faibles doses (< 0,3 mg/kg) semble compensée par la vasoconstriction secondaire à la baisse de la pression artérielle liée à l'effet vasodilatateur artériel, lorsque des doses plus élevées sont administrées^{281,284}.

La vasodilatation est également à l'origine d'une baisse de la précharge et de la postcharge permettant une amélioration des performances cardiaques²⁷⁹.

b. L'effet inotrope positif

L'effet inotrope positif du pimobendane (et de son métabolite actif) résulte de la combinaison de plusieurs propriétés (figure 43).

Premièrement, le pimobendane est à l'origine d'une sensibilisation calcique des myofibrilles des cardiomyocytes ; c'est à dire qu'il est à l'origine d'une augmentation de l'affinité pour le calcium des troponines cardiaques C (TnC). Or, la fixation du calcium à la TnC des myofilaments module l'interaction entre l'actine et la myosine et donc la contraction et la relaxation cardiaque. L'augmentation de l'occupation des sites de la TnC par le calcium lors de la systole augmente ainsi la contractilité cardiaque et la force de tension produite pour une concentration en calcium cytoplasmique donnée^{279,280}. Cet effet semble particulièrement intéressant dans les contextes cliniques où le myocarde est défaillant car l'affinité pour le calcium des myofibrilles est réduit en conséquence de l'acidose intracellulaire et de l'accumulation de phosphates inorganiques²⁷⁹.

L'effet inotrope est également lié à l'inhibition des PDE3 des cardiomyocytes. Cette inhibition est à l'origine d'une augmentation de l'AMPc puisque les PDE3 permettent normalement de réguler la concentration de ce second messenger en le dégradant en 5'AMP (forme inactive). Cette augmentation de la concentration en AMPc cytosolique entraîne une activation protéines kinases qui catalysent le transfert de groupements phosphates de l'ATP vers d'autres substrats. Ainsi, l'inhibition des PDE3 active la phosphorylation des récepteurs à la ryanodine myocardiques (RyR2), entraînant une augmentation du relargage de calcium depuis le réticulum sarcoplasmique pendant la systole, et la phosphorylation des canaux calciques de type L, induisant une augmentation de l'influx de calcium depuis le milieu extracellulaire. L'augmentation de la disponibilité du calcium cytoplasmique permet ainsi d'améliorer la contractilité cardiaque. Enfin, l'activation des protéines kinases est également à l'origine d'une phosphorylation du phospholamban présent dans les canaux calciques de type SERCA2 (sarco-endoplasmic reticulum calcium ATPase) qui permettent de pomper le calcium cytosolique pour le stocker dans le réticulum sarcoplasmique en diastole. Cette phosphorylation du phospholamban est donc à l'origine d'une

amélioration de la relaxation cardiaque lors de la diastole et ainsi de l'effet lusitrope positif du pimobendane^{279,280,285}.

Enfin, le métabolite actif du pimobendane (UD-CG 212) a montré un effet compétitif antagoniste pour les récepteurs cardiaques à l'adénosine A1. Le blocage de ces récepteurs stimule de manière indirecte la synthèse d'AMPc en s'opposant à l'effet inhibiteur de ces récepteurs sur l'activité de l'adénylate cyclase. Cet effet pourrait contribuer à l'augmentation de la contractilité cardiaque. Cependant, l'importance des effets de ce métabolite *in vivo* ne sont pas clairement élucidés²⁷⁹..

L'inhibition des PDE3 semble largement responsable de l'effet inotrope positif du pimobendane sur un cœur fonctionnel. Certaines études suggèrent que l'effet sensibilisateur calcique serait prédominant lorsque le cœur est dysfonctionnel²⁸⁰.

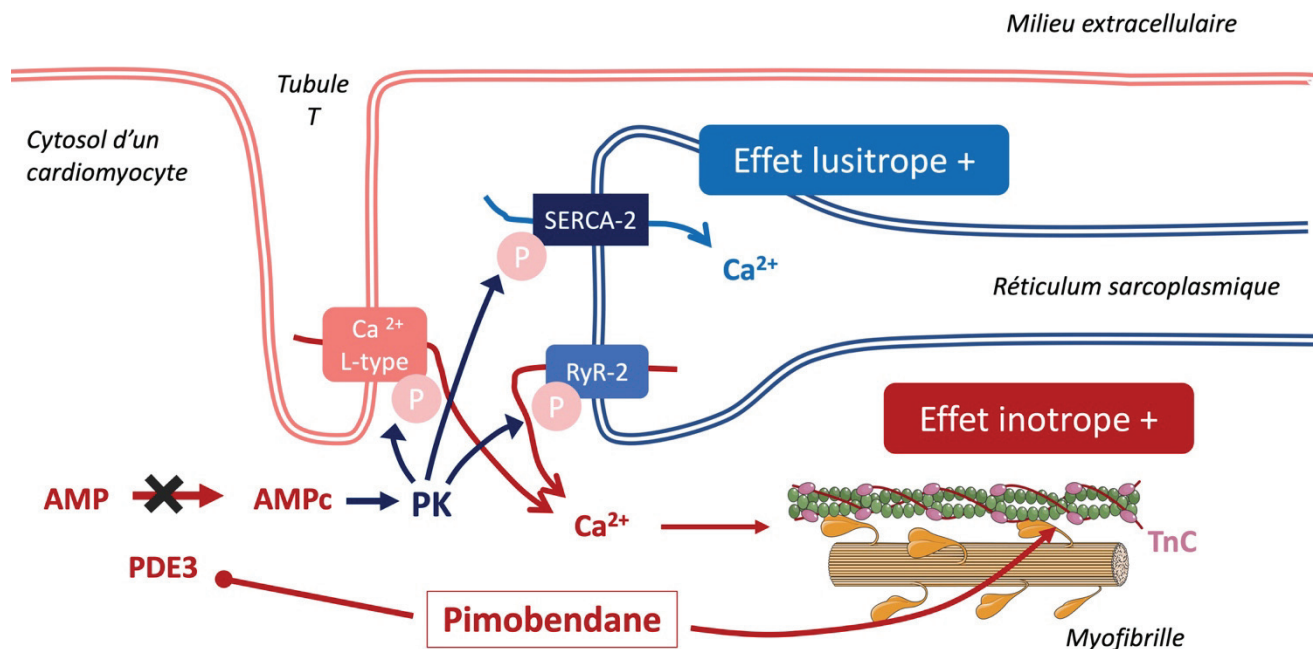


Figure 43 : Mécanismes d'action du pimobendane sur les cardiomyocytes. Le pimobendane augmente l'affinité de la TnC pour le calcium (effet inotrope positif). Il inhibe les PDE3 induisant une augmentation de l'AMPc activant des PK qui vont catalyser la phosphorylation des différents canaux calciques permettant une augmentation du calcium cytoplasmique en systole (effet inotrope positif) et une optimisation du recapture du calcium en diastole (effet lusitrope) (AMP : adénosine monophosphate, c : cyclique, Ca²⁺ : calcium, Ca²⁺-L-type : canaux calciques de type L, PDE3 : phosphodiesterase 3, P : phosphorylation, PK : protéines kinases, RyR-2 : récepteurs à la ryanodine 2, SERCA 2 : sarco-endoplasmic reticulum calcium ATPase 2, TnC : troponine C).

L'augmentation de la contractilité cardiaque est proportionnelle à la dose administrée²⁸⁰. L'effet sensibilisateur calcique du pimobendane permet à la molécule d'augmenter la contractilité cardiaque sans augmenter nécessairement la concentration du calcium cytosolique. Pour cette

raison, il semblerait que son utilisation soit associée à une augmentation de la concentration en oxygène par le myocarde moindre comparativement à la plupart des inotropes, réduisant ainsi le risque d'arythmies iatrogènes²⁷⁹.

c. Les autres propriétés intéressantes du pimobendane

Le pimobendane présenterait des propriétés anti-inflammatoires potentiellement intéressantes *via* l'inhibition de la voie NF- κ B qui régule l'expression des gènes codant pour les interleukines IL-1B, IL-6 et le TNF- α . Il pourrait également réduire la production de NO en inhibant la iNOS. Le pimobendane est associé à une réduction de la production de catécholamines par des cellules surrénaliennes en culture. Il posséderait également des propriétés anti-thrombotiques²⁸⁰.

2. Les propriétés pharmacocinétiques

Chez l'homme, le pimobendane est rapidement distribué dans les tissus après son administration. Le pic d'action est inférieur à 1h après absorption par voie orale. La fixation aux protéines plasmatiques est forte (97 à 99 %). Il est métabolisé en son métabolite actif dans le foie. Le temps de demi-vie du pimobendane est inférieure à 1,4 h chez l'homme et inférieure 0,5 h chez le chien. Le temps de demi-vie de son métabolite actif est inférieur à 4 h chez l'homme et à 2 h chez le chien. Le pimobendane est principalement éliminé dans les fèces. Chez l'homme, moins de 5 % sont éliminés par voie urinaire. Il ne semble donc pas nécessaire d'ajuster la dose administrée en présence d'insuffisance rénale^{279,280}.

En conclusion, le pimobendane présente des propriétés qui apparaissent intéressantes dans le cadre du traitement du choc septique : son effet inotrope et les mécanismes qui le soutiennent pourraient s'avérer particulièrement pertinent dans le traitement des cardiomyopathies induites par le sepsis. En effet, il semble associé à une consommation moindre en oxygène par le myocarde. En outre, il n'utilise pas les voies métaboliques β -adrénergiques qui sont généralement altérées au cours du choc septique. Enfin, son effet sensibilisateur calcique pourrait contrebalancer la baisse d'affinité des myofilaments pour le calcium, observée dans cet état pathologique et qui semble être un des mécanismes majeurs dans la réduction de la contractilité cardiaque. Le pimobendane pourrait également s'avérer intéressant dans l'amélioration des troubles de la perfusion tissulaire grâce à son effet inodilatateur. Cette molécule n'ayant jamais été utilisée lors de choc septique (chez l'homme ou l'animal), il nous semble pertinent, avant de présenter les résultats de nos études, de

détailler les conclusions des études décrivant les effets du levosimendan lors de choc septique, une molécule partageant de nombreuses propriétés avec le pimobendane.

C. Retour d'expérience sur l'utilisation du levosimendan lors de choc septique

1. Les propriétés pharmacodynamiques du levosimendan

Le levosimendan possède un effet inotrope positif et vasodilatateur (figure 44). L'effet vasodilatateur semble principalement associé à l'activation de canaux potassiques. Cette ouverture induit une hyperpolarisation membranaire qui inhibe les canaux calciques voltage dépendant (type L) et active l'efflux de calcium *via* les pompes $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$, le tout induisant une réduction de la concentration en calcium dans le cytoplasme des cellules musculaires vasculaires et une relaxation. L'effet vasodilatateur est également associé à l'inhibition des PDE3. Ce mécanisme semble impliqué uniquement lorsque les doses administrées sont importantes²⁸⁶.

L'effet inotrope positif du levosimendan est lié à la sensibilisation calcique et à son effet inhibiteur des PDE3. Il semblerait que la sensibilisation calcique soit le mécanisme sous-jacent prépondérant²⁸⁶. Néanmoins, les données publiées à ce sujet sont parfois contradictoires et la question semble encore faire polémique^{287,288}. Comme pour le pimobendane, l'effet sensibilisateur calcique dépend de la concentration cytoplasmique en calcium. Ainsi, il ne s'exerce que lors de la systole et n'entrave pas la relaxation diastolique. En outre, l'activation des canaux potassiques présents dans la membrane des cardiomyocytes et dans celle des mitochondries pourrait avoir un effet bénéfique en réduisant les lésions lors d'ischémie-reperfusion et en limitant la surcharge calcique des mitochondries, délétère pour leur fonctionnement²⁸⁶.

Une méta-analyse publiée en 2015 révélait un bénéfice sur la mortalité lors de l'utilisation du levosimendan dans le traitement du choc septique²⁸⁹. Cependant, le nombre d'études et de patients inclus était faible. Une méta-analyse plus récente réalisée sur un plus grand échantillon ne confirme pas ce résultat²⁹⁰. Nous reviendrons ci-dessous sur les résultats de cette molécule dans le traitement de la cardiomyopathie et des troubles de la perfusion tissulaire associés au sepsis.

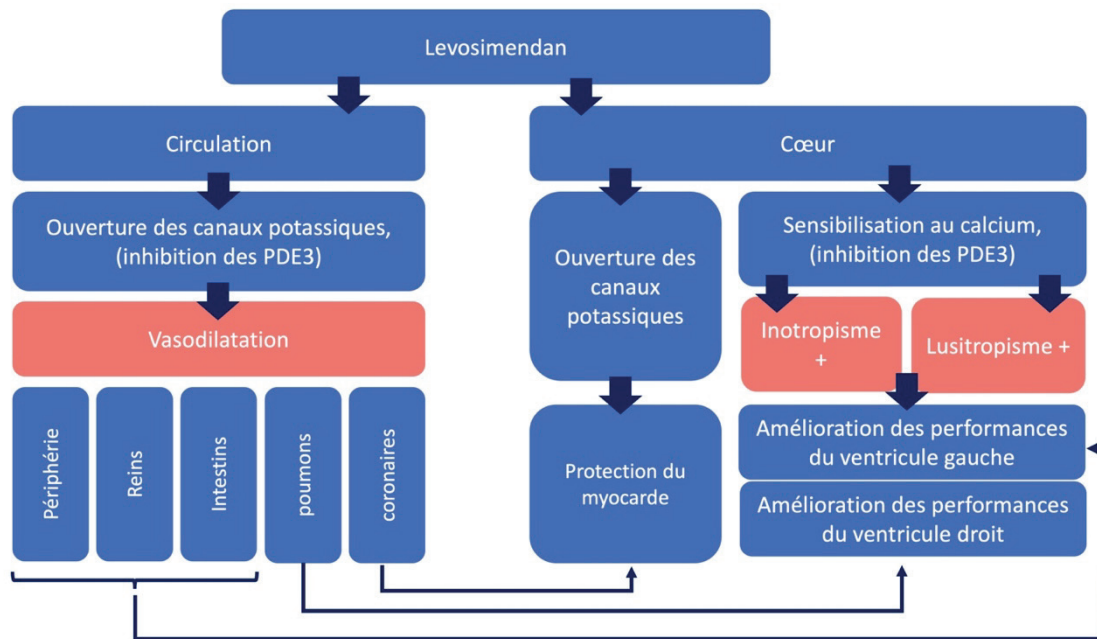


Figure 44 : Mécanismes d'action du levosimendan sur l'appareil cardiovasculaire (PDE3 : phosphodiesterase 3, modifié d'après [286])

2. Levosimendan et cardiomyopathie induite par le sepsis

De nombreuses études précliniques rapportent une amélioration de la fonction cardiaque dans différents modèles animaux de sepsis ou d'endotoxémie. Chez des porcs ayant reçu du LPS, le levosimendan est associé à une amélioration du DC et à une augmentation non significative du VES²⁹¹. Sur de cœurs isolés de cobayes avec endotoxémie, on observe une amélioration de la fonction systolique et diastolique²⁹². L'amélioration de la fonction diastolique est également rapportée chez des lapins, alors qu'elle n'est pas décrite suite à l'administration de milrinone ou de dobutamine²⁹³. Toutes les études précliniques évaluant l'effet de ce médicament sur l'hémodynamique systémique indiquent qu'une hypotension, généralement modérée, est observée²⁸⁶.

Dans l'essai randomisé-contrôle publié par Gordon et col, l'utilisation du levosimendan était associée à une instabilité hémodynamique accrue, nécessitant l'administration de noradrénaline en plus grande quantité que dans le groupe contrôle. En outre, le traitement était associé à davantage d'effets secondaires, notamment une augmentation de la fréquence des arythmies supraventriculaires²⁹⁴. Il faut cependant noter que les patients inclus dans cette étude ne présentaient pas nécessairement de défaillance cardiaque à l'inclusion. La méta-analyse de Chang et col rapporte une amélioration significative de la fonction cardiaque chez les patients septiques recevant le levosimendan, se manifestant notamment par une amélioration du DC et de la fraction

d'éjection du ventricule droit. Les besoins en noradrénaline étaient légèrement réduits dans le groupe recevant le médicament, néanmoins la quantité de solutés administrés était supérieure. La mortalité n'était pas moins élevée lorsque les patients étaient traités par le levosimendan, comparativement à la dobutamine. Enfin, la mortalité n'était pas réduite dans le sous-groupe présentant une dysfonction cardiaque à l'inclusion²⁹⁰.

3. Levosimendan et troubles de la perfusion tissulaire

Plusieurs études précliniques rapportent une amélioration de la perfusion tissulaire, notamment de la perfusion digestive²⁹⁵. Chez des chiens anesthésiés, le levosimendan s'est montré supérieur à la dobutamine et à la milrinone concernant l'oxygénation de la muqueuse gastrique. On observe également une amélioration de la perfusion splanchnique dans des modèles d'endotoxémie chez des moutons^{296,297} et chez des cochons²⁹¹. D'autres études expérimentales rapportent des résultats contradictoires, cependant, dans ces dernières, le levosimendan était utilisé seul et n'était pas associé à un vasopresseur, ou alors était administré à des doses très élevées et induisait des hypotensions²⁸⁶.

Morelli et col rapportent une amélioration de la microcirculation sublinguale (évaluée par vidéomicroscopie) associée au levosimendan chez des patients en choc septique. Malheureusement cette étude ne détaille pas l'impact clinique que cette amélioration pourrait avoir : les auteurs ne décrivent ni les scores de défaillance d'organes, ni la proportion de décès¹⁵⁶. Dans l'étude de Gordon et col, dont l'objectif était précisément d'évaluer l'impact du levosimendan sur la survenue de défaillances d'organes, le score SOFA n'était pas réduit dans le groupe recevant le traitement, même lorsque la composante cardiovasculaire était retirée du calcul²⁹⁴. Enfin, la méta-analyse de Chang et col rapporte une réduction de la lactatémie associée à l'administration du levosimendan²⁹⁰.

En conclusion, l'administration de levosimendan lors de choc septique semble être à l'origine de résultats contrastés et parfois contradictoires. Il est possible que ces différences soient le reflet de différences concernant les critères d'inclusion des patients. Chang et col suggèrent qu'il est possible que son administration bénéficie aux patients les plus sévères, c'est à dire à ceux présentant une défaillance cardiaque associée à des troubles de la perfusion tissulaire²⁹⁰. Ces résultats nous encouragent à étudier l'effet du pimobendane lors de choc septique. En effet, si les deux molécules inodilatatrices présentent des propriétés relativement similaires, leur mécanisme d'action diverge, notamment concernant l'activation des canaux potassiques. En outre, il est probable que les effets d'inhibition de la PDE3 soient plus importants pour le pimobendane. De plus, il semble que l'effet inotrope du levosimendan soit fortement réduit dans un contexte d'hypoxie, cette particularité

n'étant pas connue pour le pimobendane. Ainsi, il est possible que le pimobendane soit moins hypotenseur que le levosimendan.

II. Évaluation préliminaire de l'effet du pimobendane sur la microcirculation sublinguale

Nous avons réalisé une étude préliminaire pour évaluer l'effet du pimobendane dans un modèle simple d'hypotension induite pharmacologiquement chez des cochons. L'article est disponible en annexe 5. Un résumé long est présenté ci-dessous. Au moment de la rédaction de la thèse, l'article était soumis au journal *Microcirculation* et en cours de relecture par les pairs.

A. Objectif de l'étude

À notre connaissance, les effets microcirculatoires du pimobendane n'ont jamais été étudiés. Par conséquent, les objectifs de cette étude préliminaire étaient d'explorer les effets microcirculatoires et macrocirculatoires du pimobendane dans un modèle porcin expérimental simple associant vasoplégie et diminution de l'inotropisme induit pharmacologiquement. Notre hypothèse était que ce médicament pourrait permettre, par ses propriétés inodilatatrices, une amélioration de la microcirculation tout en préservant l'hémodynamique systémique.

B. Matériels et méthodes

Huit truies prématures (30 – 60 kg) ont été utilisées pour cette étude.

1. Anesthésie et équipement

Le protocole anesthésique consistait en une prémédication avec un mélange 1:1 de tilétamine-zolazépam 3,0 mg/kg IM associé à la morphine 0,2 mg/kg IM, suivie d'une induction au propofol 4,0 mg / kg IV, et d'un entretien au sévoflurane dans 30 % d'oxygène. Une fois le porc anesthésié, sa veine jugulaire externe gauche était disséquée pour la mise en place d'un cathéter veineux central permettant l'administration des solutés. Une sonde de Swan Ganz était insérée dans

la veine jugulaire droite jusqu'à l'artère pulmonaire. L'emplacement approprié de l'extrémité du cathéter était déterminé grâce à l'observation des caractéristiques de la courbe de pression. La sonde était utilisée également pour la mesure du débit cardiaque par la technique de thermodilution. Un cathéter artériel était inséré dans l'artère fémorale droite pour la mesure de la pression artérielle invasive.

2. Synopsis de l'étude

Après instrumentation et stabilisation de l'animal, un bolus de fluide initial (Ringer Lactate, 10 mL/kg pendant 20 minutes) était administré pour s'assurer de l'absence précharge-dépendance. Ensuite, une hypotension était induite par surdosage de sévoflurane, la pression artérielle moyenne ciblée était comprise entre 40 et 45 mm Hg. L'hypotension était maintenue approximativement pendant 45 minutes. Après la période d'hypotension, un bolus de pimobendane (0,25 mg/kg) était administré par voie intraveineuse pendant 10 minutes. Les paramètres hémodynamiques et microcirculatoires étaient enregistrés à la période de référence (A, après le bolus de fluide), à la fin de la période d'hypotension (B, immédiatement avant la perfusion de pimobendane) et immédiatement après l'administration de pimobendane (C). Les paramètres macrocirculatoires (fréquence cardiaque : FC, pression artérielle moyenne : PAM, débit cardiaque indexé : IC, résistances vasculaires systémiques indexées : RVSI, volume d'éjection systolique indexé : VESI) et microcirculatoires (microcirculation sublinguale) étaient enregistrés à ces temps d'intérêt.

3. La microcirculation sublinguale

La microcirculation sublinguale était évaluée en utilisant un dispositif d'imagerie SDF. Pour chaque période, cinq vidéos étaient enregistrées en suivant les recommandations publiées²⁴⁰. Seules les vidéos de bonne qualité ont été analysées.

Les paramètres de microcirculation étudiés étaient les suivants :

- La proportion de vaisseaux perfusés (PPV, %) et le score De Backer (DB, n/mm) ont été calculés par le logiciel AVA. Ces paramètres ont été calculés pour tous vaisseaux et pour les petits vaisseaux, caractérisés par un diamètre inférieur à 20 μm .
- L'indice de flux microcirculatoire (MFI) a été déterminé par un évaluateur en aveugle à l'aide de la méthode de calcul par quadrants.
- L'indice d'hétérogénéité (HI)
- Le nombre de vaisseaux (NC) traversant la grille d'analyse 3 x 3 a également été déterminé pour les petits vaisseaux (diamètre < 20 μm) et pour les gros vaisseaux (diamètre > 20 μm).

4. Analyses statistiques

Toutes les variables ont été présentées en médiane (quartile 25 % - quartile 75 %). Afin de tester l'évolution des paramètres microcirculatoires, des modèles linéaires mixtes ont été réalisés pour les variables microcirculatoires. Ils incluait la période (A ou B, B ou C) comme effet fixe et les individus comme effets aléatoires (variable microcirculatoire \sim période + (1 | individu)). Les comparaisons des variables macrocirculatoires a été réalisées à l'aide du test de Wilcoxon. Pour tester l'influence des paramètres hémodynamiques sur l'évolution de la microcirculation, un modèle linéaire mixte multivariable a été construit pour tous les paramètres. Le modèle complet incluait l'IC, la PAM et les RVSI comme effets fixes et les individus comme effet aléatoire microcirculatoires (variable microcirculatoire \sim IC + PAM + RVSI + (1/ individu)). Avec la fonction *dredge* du package «MuMin», le critère d'Akaiké corrigé (AICc) a été calculé pour tous les sous-modèles possibles. Pour chacune des variables microcirculatoires étudiées, le modèle retenu qui explique le mieux l'évolution de la microcirculation correspondait au modèle le plus parcimonieux parmi ceux présentant le plus faible AICc (Δ AICc = 2).

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel R 3.5.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Autriche). Les packages «ggplot2», «Lme4», «Lmertest », « MuMIn », « dplyr » et « gridExtra » ont été utilisés. Une valeur de P de 0,05 a été considérée comme le niveau de significativité.

C. Résultats

1. Altérations macro et microcirculatoires associées à l'hypotension

L'hypotension était associée à une diminution significative de l'IC (P = 0,04). L'évolution de FC, VESI et RSVI était non significative (respectivement P = 0,21, P = 0,31, P = 0,74). Les évolutions de ces paramètres sont présentées sur la figure 44.

L'hypotension était associée à une diminution significative du PPV (estimation = -12% [-18; -6], P = 0,0003), du PPV pour les petits vaisseaux (estimation = -11% [-19; -4], P = 0,003), du MFI (estimation = -0,57 AU [-0,85; -0,29], P = 0,0002), du DB (estimation = -1,30 n / mm [-2,01; -0,55], P = 0,0001) et une augmentation significative de l'HI (estimation = + 0,45 AU [0,12; 0,78], p = 0,009). La réduction du DB pour les petits vaisseaux n'était pas significative (estimation = -0,16 n / mm [-1,43; 1,08], P = 0,8). Les évolutions de ces paramètres sont présentées sur la figure 45.

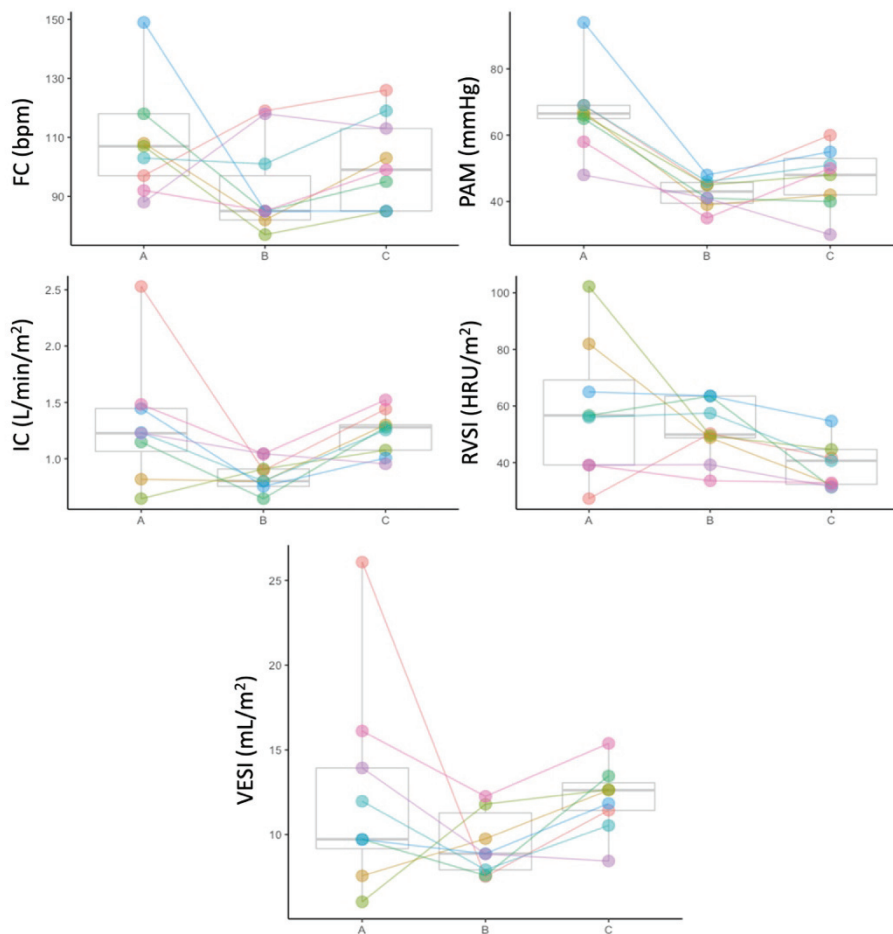


Figure 45 : Évolution des paramètres macrocirculatoires au cours du temps (A : temps initial de référence, B : après induction de l'hypotension, C : après administration du pimobendane, IC : index cardiaque, FC : fréquence cardiaque, PAM : pression artérielle moyenne, RVSI : résistances vasculaires systémiques indexées, VESI : volume d'éjection systolique indexé)

2. Évolution des paramètres macrocirculatoires après l'administration de pimobendane

Après l'administration de pimobendane, FC, IC et VESI ont augmenté de manière significative ($P = 0,03$, $P = 0,02$ et $P = 0,02$ respectivement). Une diminution significative des RVSI ($P = 0,01$) a également été observée. Graphiquement, la PAM semble stable. La comparaison n'a montré aucune différence significative ($P = 0,14$).

3. Évolution des paramètres microcirculatoires après l'administration de pimobendane

On observait une augmentation du PPV ($P = 0,01$), du PPV pour les petits vaisseaux ($P = 0,03$) et du MFI ($P = 0,03$) après administration de l'inodilatateur. Parallèlement, le HI était significativement diminué ($P = 0,04$).

Concernant le MFI, il est resté stable (à 3/3) pour 3 porcs, il a diminué chez 2 porcs et augmenté pour 3 porcs (figure 45). Selon le modèle statistique, l'augmentation moyenne après administration de pimobendane était de $+0,31$ [$0,04$; $0,58$]. De même, le HI est resté stable (à 0) chez 3 porcs, a augmenté chez 2 porcs, et a diminué chez 3 porcs. Selon le modèle statistique, la réduction moyenne du HI après l'administration de pimobendane était de $-0,85$ [$-1,52$; $-0,12$].

Le DB étaient significativement réduits pour l'ensemble des vaisseaux ($P = 0,02$) tandis que la diminution du DB pour les petits vaisseaux n'était pas significative ($P = 0,08$). Le NC pour les petits vaisseaux était diminué de manière non significative ($P = 0,08$) après l'administration de pimobendane (figure 46).

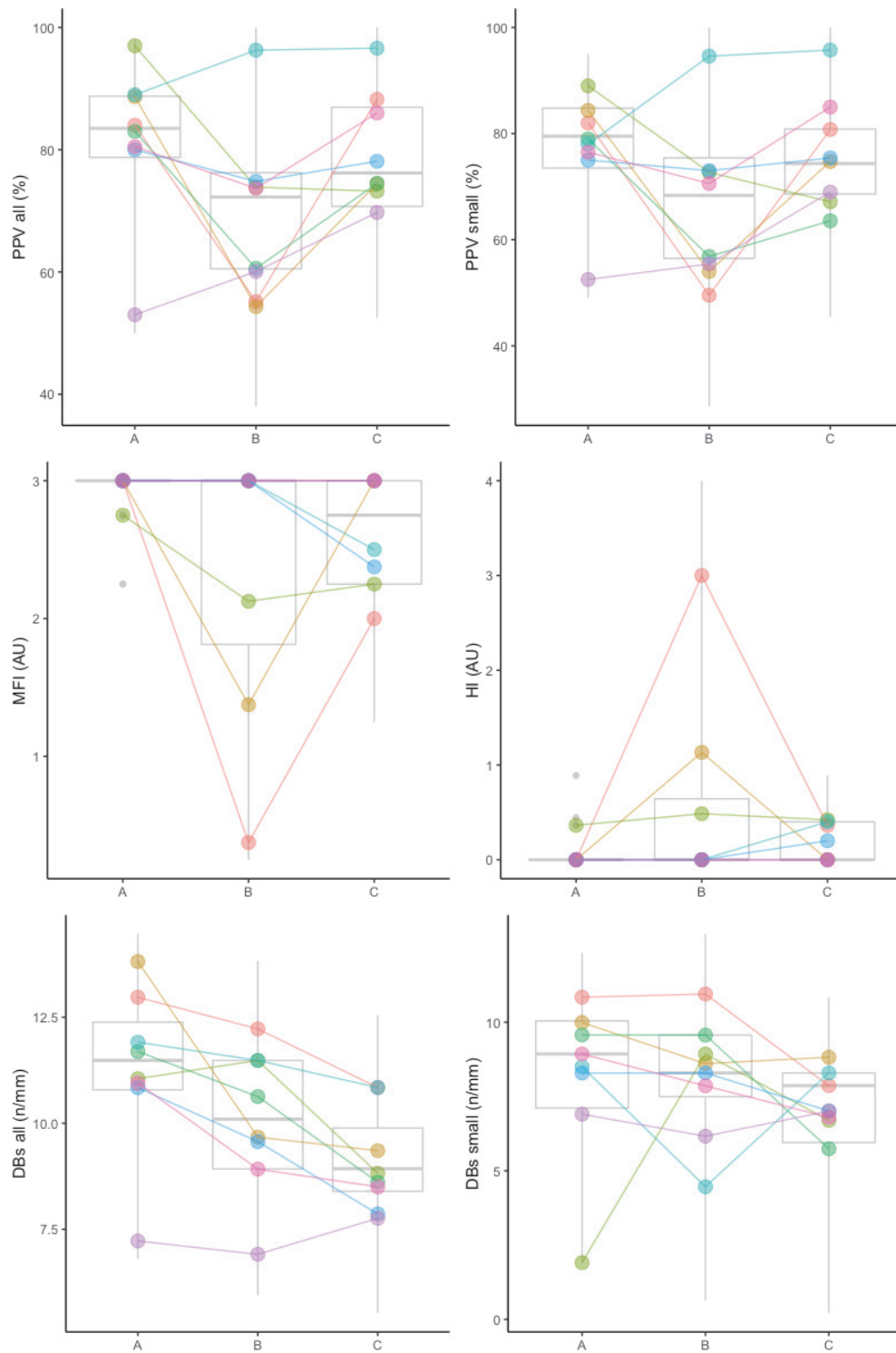


Figure 46 : Évolution des paramètres microcirculatoires au cours du temps (A : temps initial de référence, B : après induction de l'hypotension, C : après administration du pimobendane, DBs : De Backer score, HI : index d'hétérogénéité, MFI : index de flux microcirculatoire, PPV : proportion de vaisseaux perfusés, *all* : paramètre calculé pour l'ensemble des vaisseaux, *small* : paramètre calculé pour les vaisseaux dont le diamètre est inférieur à 20 μm)

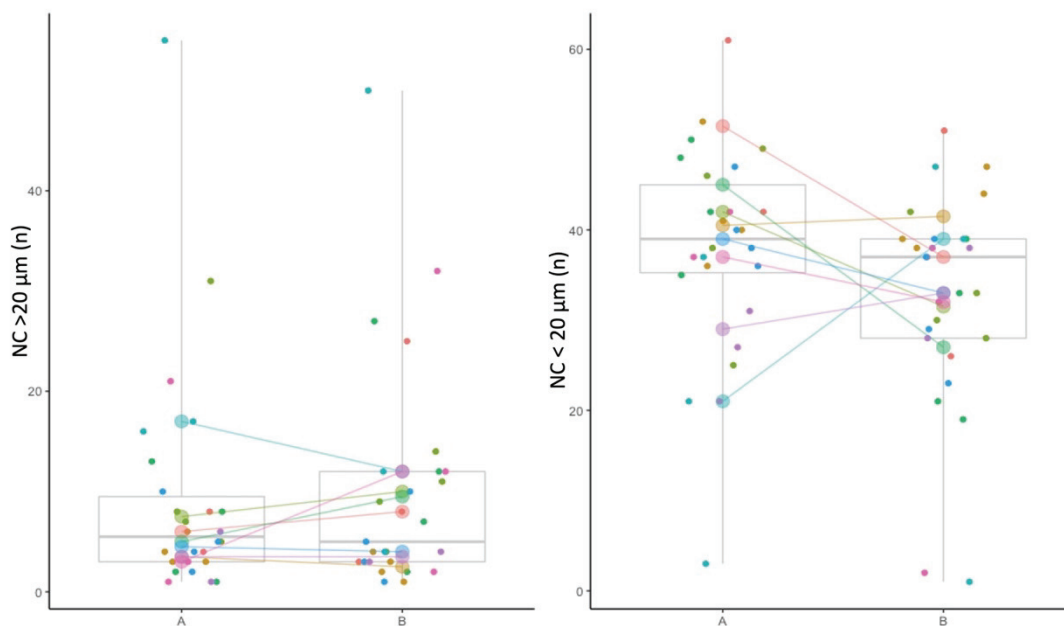


Figure 47 : Nombre de vaisseaux croisant la grille d'analyse (A : temps initial de référence, B : après induction de l'hypotension, C : après administration du pimobendane, NC > 20 μm : nombre de vaisseaux croisant la grille et dont le diamètre est supérieur à 20 μm, NC < 20 μm : nombre de vaisseaux croisant la grille et dont le diamètre est inférieur à 20 μm)

4. Association entre microcirculation et macrocirculation lors de l'administration de pimobendane

Les modèles explicatifs sélectionnés pour chacune des variables microcirculatoires étudiées n'incluaient que l'IC comme effet fixe (tableau 7). L'IC était significativement associé au PPV pour l'ensemble des vaisseaux et pour les petits vaisseaux, au MFI, au HI et au DB pour l'ensemble des vaisseaux.

Tableau 7 : Associations entre les paramètres microcirculatoires et macrocirculatoires

Variable microcirculatoire	Variable macrocirculatoire sélectionnée	Taille de l'effet	Intervalle de confiance à 95 %	P
PPV	IC	19.9	[6.6 ; 32.8]	0.004
PPV petits vaisseaux	IC	20.5	[4.9 ; 35.6]	0.01
MFI	IC	0.87	[0.26 ; 1.45]	0.005
HI	IC	-0.85	[-1.52 ; -0.12]	0.02
DB	IC	-2.1	[-3.8 ; -0.3]	0.02
DB petits vaisseaux	IC	-2.7	[-5.4 ; 0.0]	0.06

DB : De Backer score, HI : index d'hétérogénéité, MFI : index de flux microcirculatoire, PPV : proportion de vaisseaux perfusés.

D. Conclusions et discussion

Les principaux résultats étaient une augmentation de certaines variables microcirculatoires (PPV, PPV pour les petits vaisseaux, MFI), une diminution de la variable d'hétérogénéité (HI) et une diminution du De Backer score après l'administration de pimobendane. En même temps, une augmentation du débit cardiaque associée à une diminution des résistances vasculaires systémiques était observée. L'amélioration des paramètres microcirculatoires était probablement liée à l'augmentation du débit cardiaque.

La présente étude a été conçue comme une première étape pour évaluer l'effet du médicament lors d'une hypotension contrôlée, avant un essai potentiel dans des conditions plus complexes, comme le choc septique. Nous avons choisi d'utiliser un modèle simple et reproductible associant vasoplégie et diminution de l'inotropisme, deux altérations hémodynamiques majeures pouvant être observées lors d'un choc septique. Pour cela, nous avons utilisé une surdose de sévoflurane pour obtenir une diminution réversible de la pression artérielle et induire des troubles microcirculatoires. En effet, même si la microcirculation est relativement indépendante hémodynamiquement de la macrocirculation, il semble qu'une hypotension marquée puisse être à l'origine de troubles microcirculatoires. Une étude réalisée sur des porcs a montré qu'en dessous d'un certain seuil de pression (entre 60 et 80 mmHg), la microcirculation sublinguale, évaluée par le MFI, diminuait de façon linéaire²⁹⁸. Le sévoflurane est connu pour provoquer une hypotension lorsqu'il est administré en surdosage par vasodilatation périphérique et diminution de l'inotropisme, comme dans l'étude actuelle^{299,300}. Ce modèle a été choisi pour sa simplicité et sa reproductibilité, il ne prétend pas imiter la complexité physiopathologique du choc septique.

Concernant la macrocirculation, on observe une augmentation du débit cardiaque suite à l'administration du médicament. En outre, les résistances vasculaires systémiques étaient diminuées mais la pression artérielle moyenne restait stable, probablement en raison de l'augmentation compensatoire du débit cardiaque. Une aggravation de l'hypotension n'a pas été observée en raison de l'effet vasodilatateur du pimobendane, comme décrite suite à l'utilisation du levosimendan. Ces effets hémodynamiques pourraient être intéressants dans le traitement des cardiomyopathies liées au sepsis. En effet, les effets inotropes positifs du pimobendane semblent associés à une augmentation moindre de la consommation en oxygène du myocarde, contrairement à d'autres inodilatateurs comme la dobutamine^{279,280}.

Parallèlement aux effets macrocirculatoires, une augmentation des variables microcirculatoires convectives a été observée après l'administration de pimobendane. Ces résultats sont en accord avec ceux décrits faisant suite à l'utilisation du levosimendan dans le choc septique. L'augmentation du débit cardiaque est probablement le mécanisme prédominant de l'amélioration de la microcirculation dans l'étude actuelle. L'effet vasodilatateur associé peut également avoir contribué à l'amélioration observée de la microcirculation, comme nous l'avons détaillé au début de cette partie. Une augmentation du volume circulant associée à l'administration du médicament est peu probablement à l'origine des effets microcirculatoires, le volume du médicament administré étant très faible (0,33 mL/kg).

La diminution du De Backer score observée dans notre étude était inattendue et semble associée à l'effet vasodilatateur du pimobendane. Une réduction de la densité totale des vaisseaux (un paramètre de substitution du DB) a également été décrite à la suite d'une perfusion de levosimendan chez un patient³⁰¹. Les auteurs de ce papier décrivent une réduction substantielle des petits vaisseaux et émettent l'hypothèse que cette réduction est liée à la vasodilatation, les petits vaisseaux dilatés n'étant plus comptabilisés comme tels. Les auteurs suggèrent que cette observation pourrait conduire à une mauvaise interprétation, car elle ne semble pas associée à un dysfonctionnement microcirculatoire. Cette hypothèse peut probablement être extrapolée au pimobendane et expliquer la réduction des DB observée dans notre étude puisque ces deux médicaments inodilatateurs partagent des propriétés similaires. Graphiquement, nous avons observé une réduction du nombre de petits vaisseaux, alors que le nombre de vaisseaux de plus gros diamètre semblait légèrement augmenté (figure 46), mais les différences n'étaient pas statistiquement significatives. Néanmoins, compte tenu de ces observations, il semble que la réduction du DB pour l'ensemble des vaisseaux et les petits vaisseaux soit très probablement consécutive à la réduction du nombre de petits vaisseaux uniquement. Cependant, cette réduction n'a pas été observée chez les patients septiques après administration du levosimendan¹⁵⁶. Ainsi, d'autres études sont nécessaires pour explorer et confirmer cette hypothèse. Si ces observations étaient confirmées à plus grande échelle, cela suggérerait que les indicateurs diffusifs tels que le DB ou le TVD devraient être interprétés avec prudence lors de l'évaluation des effets microcirculatoires de molécules inodilatatrices ou vasodilatatrices.

Notre étude présente plusieurs limites toutes détaillées dans l'annexe 6. La limitation la plus importante de cette étude est probablement liée au modèle expérimental choisi. Comme discuté précédemment, la vasoplégie et la diminution de la contractilité myocardique sont un

moyen simpliste d'obtenir des altérations hémodynamiques microcirculatoires et n'imitent pas des processus physiopathologiques plus complexes rencontrés dans des conditions plus compliquées, telles que le choc septique. Cependant, il avait l'avantage d'être reproductible et simplement réalisable. Ces résultats encourageants doivent donc être confirmés dans un modèle plus complexe de choc septique.

En conclusion, cette étude préliminaire a décrit pour la première fois les effets microcirculatoires du pimobendane. Dans un modèle simple d'hypotension induite pharmacologiquement avec vasoplégie et diminution du débit cardiaque, le pimobendane a induit une augmentation des variables microcirculatoires convectives et une diminution d'une variable de densité, probablement artefactuelle et secondaire à la vasodilatation. Ces résultats suggèrent un effet bénéfique potentiel du pimobendane sur la microcirculation sublinguale. Dans ce modèle, l'amélioration microcirculatoire était probablement consécutive à une augmentation du débit cardiaque et à l'effet vasodilatateur du médicament. Ces résultats encourageants ont motivé la réalisation d'une nouvelle étude, sur un modèle expérimental de choc septique. Les résultats préliminaires de cette dernière sont présentés ci-après.

III. Évaluation de l'intérêt thérapeutique du pimobendane dans un modèle expérimental de choc septique

L'étude visant à évaluer l'intérêt thérapeutique du pimobendane lors de choc septique a été réalisée 3 mois avant la soutenance de la thèse. Pour cette raison, seuls les résultats préliminaires seront présentés ici. Une analyse plus aboutie sera réalisée afin de soumettre les résultats de ce travail à un journal scientifique.

A. Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'intérêt du pimobendane dans le traitement des troubles de la perfusion tissulaire associés au choc septique dans un modèle expérimental chez le porc. Nos hypothèses étaient que cette molécule serait associée à une augmentation du DC, à une préservation de perfusion tissulaire (évaluée par une approche multimodale) et à une réduction de la quantité de catécholamines administrées.

B. Matériels et méthodes

1. Équipement hémodynamique

Dix-huit cochons âgés de 2 à 3 mois et pesant de 25 à 40 kg ont été utilisés pour cette étude. Chaque jour, deux animaux étaient étudiés (un porc recevait du pimobendane et un porc recevait un placebo). Chaque animal était anesthésié et équipé de cathéters permettant l'enregistrement de paramètres hémodynamiques. Le protocole anesthésique et chirurgical était le même que celui détaillé dans la partie précédente (2^{ème} partie, II, B, 1). Les paramètres hémodynamiques enregistrés étaient les suivants : FC, DC, PAD, PAS, PAM, VPP (variation de pression pulsée) et PAPS (pression artérielle pulmonaire systolique). L'IC était calculé de la manière suivante : $IC = DC / \text{surface totale corporelle}$.

2. Synopsis de l'étude

Chaque cochon était aléatoirement placé dans un groupe : soit le groupe Pimobendane (n = 9), soit le groupe Contrôle (n = 9). Après induction de l'anesthésie et équipement chirurgical chaque cochon recevait un ou plusieurs bolus de Ringer Lactate (10 mL/kg). Les bolus étaient administrés jusqu'à disparition de la précharge dépendance (définie par une augmentation de plus de 15 % du DC). Une fois les bolus administrés et après une période de stabilisation hémodynamique de 20 minutes, les paramètres macrocirculatoires et les paramètres de perfusion tissulaire étaient enregistrés pour le premier temps d'intérêt : Tbaseline. Un choc septique était alors induit *via* l'administration d'une perfusion de bactéries (*Pseudomonas aeruginosa*). La perfusion était stoppée au moment de l'induction du choc septique, défini par la présence d'une PAM inférieure à 40 mmHg. Après l'induction du choc, les animaux du groupe Pimobendane recevaient par administration intraveineuse rapide un bolus de 0,25 mg/kg de l'inodilatateur (soit 1 mL pour 3 kg de poids vif), les animaux du groupe contrôle recevaient un placebo (NaCl 0,9%, 1 mL pour 3 kg de poids vif).

Les animaux étaient ensuite réanimés en suivant l'algorithme présenté ci-dessous.

- Étape 1 : Initier la perfusion de noradrénaline. Commencer à la dose de 0.05 µg/kg/min IV puis augmenter au besoin (maximum 2 µg/kg/min). Cibler une PAM à 60 mmHg. En cas d'hypotension sévère (PAM < 20 mmHg) associée à une bradycardie (FC < 30 bpm) ou un arrêt cardiaque : administrer de l'adrénaline (0,01 mg/kg IV) et réaliser un massage cardiaque (objectif : 120 battements par minute).
- Étape 2 : Si le débit cardiaque reste inférieur à 50 % de sa valeur basale, administrer un inotrope positif.
 - Groupe Pimobendane : administrer une deuxième fois du pimobendane à la même dose. Si cela ne suffit pas, initier une perfusion de dobutamine (dose initiale 2.5 µg/kg/ min IV, maximum : 20 µg/kg/ min IV).
 - Groupe Contrôle : initier la perfusion de dobutamine (dose initiale 2.5 µg/kg/ min IV, maximum : 20 µg/kg/ min IV).

Le cochon était considéré comme stable lorsque les objectifs thérapeutiques étaient atteints (PAM = 60 mmHg, DC > 50 % de la valeur basale) et maintenus pendant 20 minutes. Une fois stabilisé, chaque animal était suivi pendant 2h30. Les nouvelles dégradations hémodynamiques étaient gérées d'après l'algorithme ci-dessus, *via* la modulation de la concentration de noradrénaline administrée en cas d'hypotension et *via* l'administration d'un inotrope en cas de baisse du débit cardiaque. En outre, de nouveaux bolus de fluides étaient administrés lorsque le VPP était supérieur à 13 %.

La perfusion tissulaire et les paramètres hémodynamiques étaient enregistrés pour 9 temps d'intérêt (figure 48) :

- Tbaseline : temps initial, après disparition de la précharge dépendance et stabilisation hémodynamique.
- Tbactéries : pendant la perfusion de *Pseudomonas aeruginosa*, lorsque la PAPS atteignait 45 mmHg.
- Tchoc : au moment du choc défini par une baisse de la PAM < 40 mm Hg
- Tstabilisation : une fois l'animal réanimé, au moment de la stabilisation
- Puis toutes les 30 minutes, pendant 2h30 (Tsuivi₁₋₅)

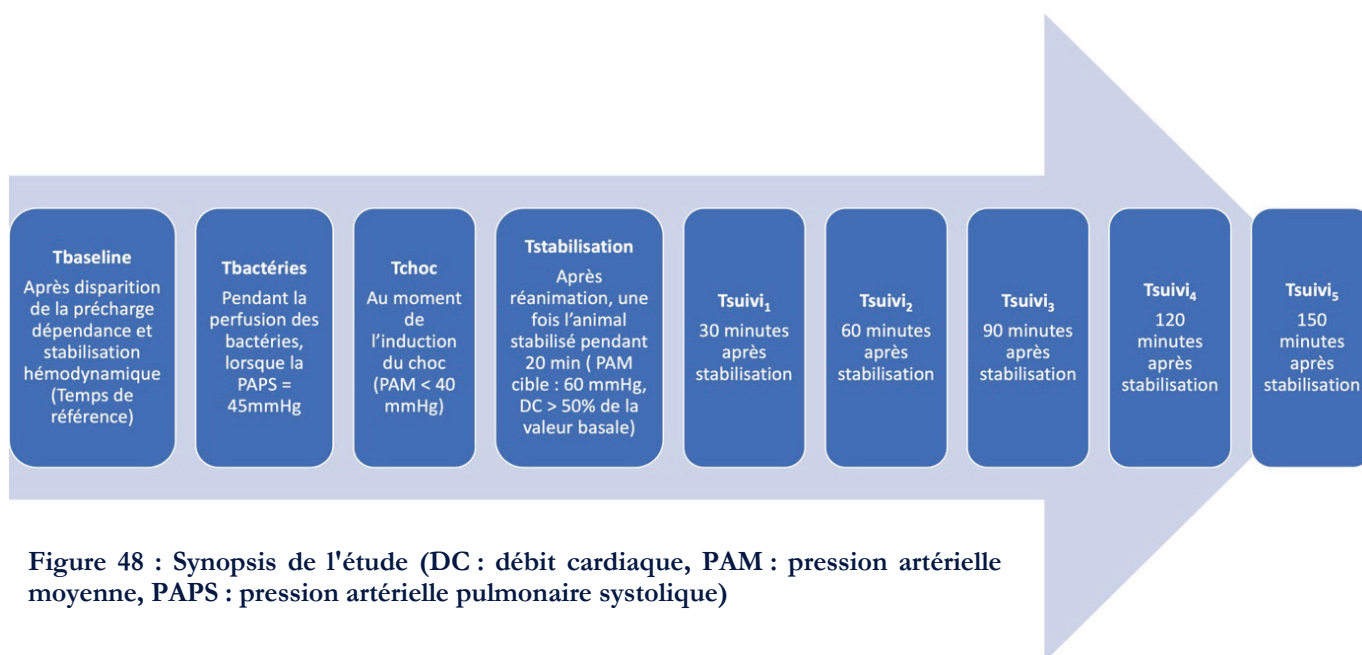


Figure 48 : Synopsis de l'étude (DC : débit cardiaque, PAM : pression artérielle moyenne, PAPS : pression artérielle pulmonaire systolique)

3. Induction du choc septique

Le choc septique était induit par l'administration d'une perfusion de *Pseudomonas aeruginosa* (souche ATCC ® 27853) *via* le cathéter veineux central. Le protocole est adapté d'après le modèle publié par Rimmelé et col³⁰². La solution bactérienne utilisée était concentrée à 5×10^8 CFU/mL, le débit de perfusion était fixé initialement à 0.15 mL/20 kg/min et maintenu à ce rythme pendant 15 minutes, puis le débit était doublé (0.3 mL/20 kg/min) jusqu'à ce que la PAPS atteigne 45 mmHg. Le débit était ensuite réduit et modulé pour que la PAPS reste inférieure à 50 mmHg, jusqu'à l'induction du choc. Enfin, la perfusion était stoppée au moment du choc.

4. Mesure de la perfusion tissulaire

La perfusion tissulaire était évaluée de manière multimodale en combinant une approche régionale et une approche systémique (mesure de la lactatémie). L'approche régionale incluait le calcul de gradients de température mesurés par thermographie infrarouge, la mesure de la perfusion urétrale évaluée par photopléthysmographie et l'étude de la microcirculation sublinguale par vidéomicroscopie.

a. Calcul des gradients de température par thermographie infrarouge

A chaque temps d'intérêt un thermogramme du bas du corps (ventre, membres postérieurs) des cochons était enregistré. La caméra infrarouge utilisée correspond à celle qui a été utilisée pour

la première étude présentée dans cette thèse. Ses caractéristiques sont présentées en annexe 1. Le membre postérieur droit était maintenu tendu grâce à un lien fixé au niveau des onglons afin de ne pas réaliser un garrot autour du membre. Les thermogrammes ont été analysés a posteriori grâce au logiciel FlirTools. Deux cercles étaient tracés : l'un à l'extrémité du membre postérieur droit, en regard du carpe et un au niveau de l'abdomen, à droite, en regard des mamelles 5 et 6. Ces cercles permettent de connaître la température cutanée minimale, moyenne et maximale des zones tracées. La température centrale était mesurée *via* le cathéter artériel pulmonaire. Plusieurs gradients de température ont été calculés :

- $GT1 = T_{centrale} - T_{carpe_{moyenne}}$
- $GT2 = T_{centrale} - T_{carpe_{minimale}}$
- $GT3 = T_{ventrale_{moyenne}} - T_{carpe_{moyenne}}$
- $GT4 = T_{ventrale_{maximale}} - T_{carpe_{minimale}}$

b. Mesure de la perfusion urétrale par photopléthysmographie

La perfusion urétrale était mesurée par photopléthysmographie grâce au dispositif IKORUS présenté précédemment (voir partie I, II et annexe 3). La sonde était insérée dans le méat urinaire par voie rétrograde. L'uPI mesuré grâce à la sonde était enregistré à chaque temps d'intérêt.

c. Étude de la microcirculation sublinguale

Cinq à dix vidéos de la microcirculation sublinguale étaient enregistrées par un vidéomicroscope SDF (voir partie I, III) à chacun des temps de l'étude. Les trois vidéos les meilleurs étaient conservées pour l'analyse. L'analyse réalisée a posteriori suit les mêmes procédures que celles présentées en annexe 4.

d. Mesure des biomarqueurs systémiques

A chaque temps, un prélèvement sanguin artériel (*via* le cathéter artériel fémoral) et veineux central (*via* le cathéter veineux central inséré à gauche). Ces prélèvements ont permis la mesure des gaz du sang et le dosage des lactates.

5. Analyse statistique

Considérant la petitesse de l'échantillon et les difficultés intrinsèques de l'étude de la distribution des variables, les données présentées le seront sous la forme médiane (minimum, maximum).

Pour étudier l'évolution des différents paramètres au cours du temps dans chaque groupe, nous avons construit des modèles linéaires mixtes pour chaque variable d'intérêt (variable expliquée) incluant les temps d'étude comme effet fixe et les individus comme effet aléatoire. Les résultats relatifs à ce type d'analyse seront présentés comme suit : coefficient de régression, intervalle de confiance à 95 % du coefficient de régression (IC95), P-value.

Pour comparer les paramètres entre groupes à un temps donné, des tests de Mann-Whitney-Wilcoxon ont été utilisés. Le seuil de significativité était fixé à 0,05.

C. Résultats

Les figures 49 à 67 illustrent l'évolution des paramètres d'intérêt au cours de l'étude. Pour plus de clarté, nous avons séparé la présentation des résultats dans quatre sous-parties. La première vise à caractériser l'induction du choc septique d'un point de vue macro et microcirculatoire (de Tbaseline à Tchoc). Dans la seconde sous-partie, nous présentons l'évolution des différents paramètres d'intérêt au cours de la réanimation (de Tchoc à Tstabilisation) et nous comparons les groupes afin d'étudier l'effet du pimobendane. La troisième sous-partie s'intéressera au suivi post-réanimation (de Tstabilisation à Tsuivi₅). Enfin, dans la dernière, nous étudierons l'impact de l'administration de pimobendane sur les mesures thérapeutiques mises en œuvre.

1. Induction du choc septique

a. Hémodynamique systémique

▪ Évolution au cours du temps

Dans le groupe Contrôle, on observe une réduction de la PAM (-28 mmHg, IC95 = [-40, -22], $P < 0,0001$) et de l'IC (-0,49 L/min/m², IC95 = [-0,67, -0,32], $P < 0,0001$) à Tchoc comparativement à Tbaseline. De plus, la FC est significativement augmentée (+19 bpm, IC95 = [3, 35], $P = 0,04$). Dans le groupe Pimobendane, on observe une réduction de la PAM (-31 mmHg, IC95 = [-36, -20], $P < 0,0001$) et de l'IC (-0,59 L/min/m², IC95 = [-0,73, -0,45], $P < 0,0001$) à Tchoc comparativement à Tbaseline. La FC n'augmente pas de manière significative.

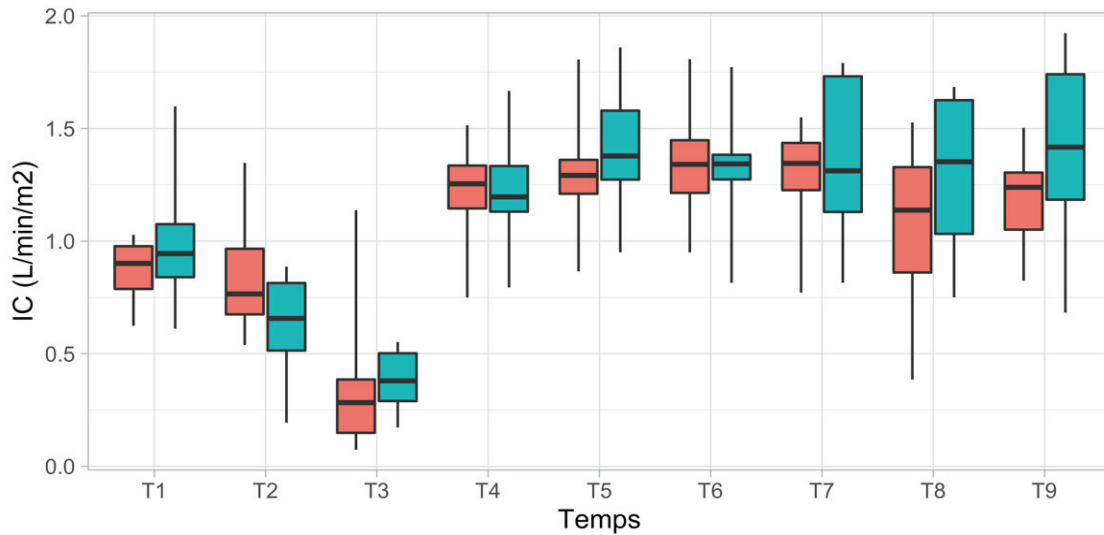


Figure 49 : Évolution de l'index cardiaque au cours de l'étude (IC : index cardiaque, T1 : Tbaseline, T2 : Tbactéries, T3 : Tchoc, T4 : Tstabilisation, T5 : Tsuivi1, T6 : Tsuivi2, T7 : Tsuivi3, T8 : Tsuivi4, T9 : Tsuivi5, groupe Contrôle : figures rouges, groupe Pimobendane : figures bleues)

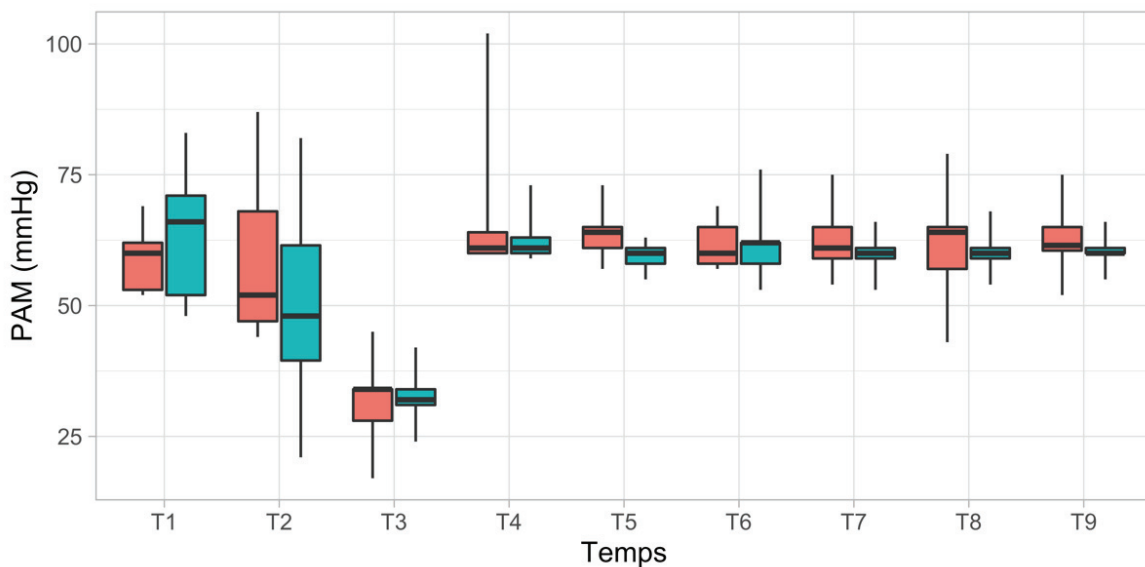


Figure 50 : Évolution de la pression artérielle moyenne au cours de l'étude (PAM : pression artérielle moyenne, T1 : Tbaseline, T2 : Tbactéries, T3 : Tchoc, T4 : Tstabilisation, T5 : Tsuivi1, T6 : Tsuivi2, T7 : Tsuivi3, T8 : Tsuivi4, T9 : Tsuivi5, groupe Contrôle : figures rouges, groupe Pimobendane : figures bleues)

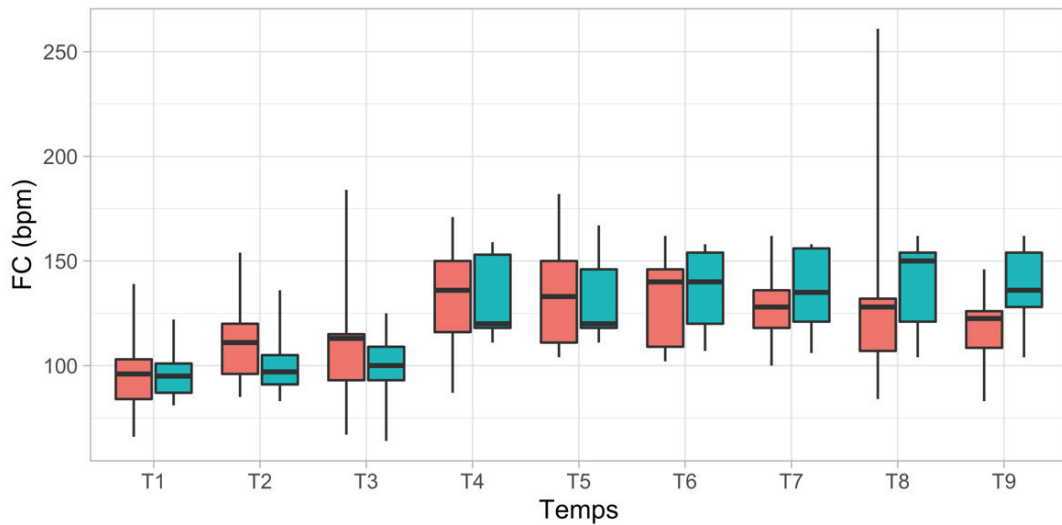


Figure 51 : Évolution de la fréquence cardiaque au cours de l'étude (FC : fréquence cardiaque, bpm : battements par minute, T1 : Tbaseline, T2 : Tbactéries, T3 : Tchoc, T4 : Tstabilisation, T5 : Tsuivi1, T6 : Tsuivi2, T7 : Tsuivi3, T8 : Tsuivi4, T9 : Tsuivi5, groupe Contrôle : figures rouges, groupe Pimobendane : figures bleues)

▪ Comparaisons des groupes

Les valeurs de PAM et d'IC semblent graphiquement similaires entre les groupes que ce soit à Tbaseline ou à Tchoc (figures 49 et 50). Le test de Mann-Whitney ne révèle pas de différence significative. La FC semble discrètement plus basse dans le groupe Pimobendane à Tbactéries et Tchoc mais ces différences ne sont pas statistiquement significatives (figure 51).

b. Perfusion tissulaire

i. Les gradients de température

▪ Évolution au cours du temps

Dans le groupe Contrôle, on observe une augmentation significative de GT1 (+1,9°C, IC95 = [0,5, 3,2], P = 0,02) GT2 (+2,0°C, IC95 = [0,5, 3,5], P = 0,02), GT3 (+1,6°C, IC95 = [0,7, 2,5], P = 0,003) et GT4 (+1,9°C, IC95 = [0,9, 2,9], P = 0,002) à Tchoc comparativement à Tbaseline. Dans le groupe Pimobendane, on observe une augmentation significative de GT1 (+0,9°C, IC95 = [0,1, 1,7], P = 0,04) et GT3 (+0,7°C, IC95 = [0,1, 1,3], P = 0,04) à Tchoc comparativement à Tbaseline. Les variations de GT2 et GT4 ne sont pas statistiquement significatives (figure 52).

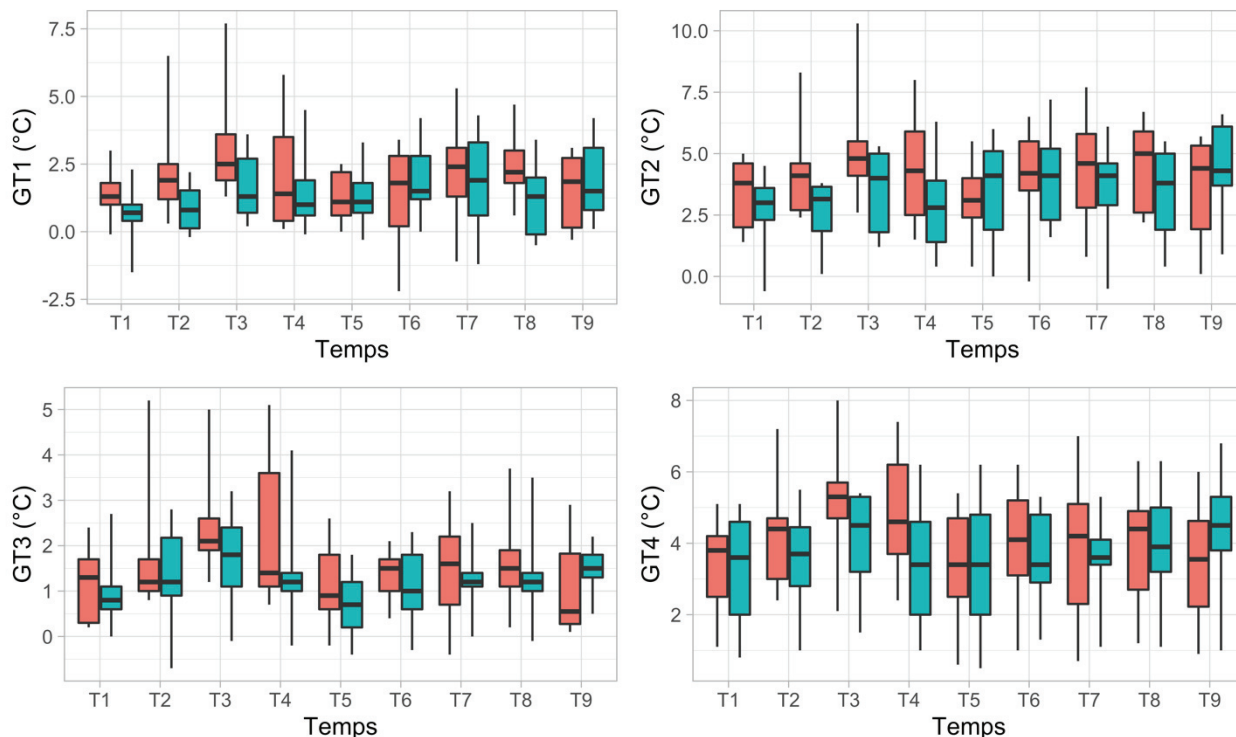


Figure 52 : Évolution des gradients de température au cours de l'étude (T1 : Tbaseline, T2 : Tbactéries, T3 : Tchoc, T4 : Tstabilisation, T5 : Tsuivi1, T6 : Tsuivi2, T7 : Tsuivi3, T8 : Tsuivi4, T9 : Tsuivi5, groupe Contrôle : figures rouges, groupe Pimobendane : figures bleues)

■ Comparaison des groupes

Graphiquement (figure 52) les gradients de température semblent discrètement plus élevés dans le groupe contrôle pour les trois temps (Tbaseline, Tbactéries, Tchoc). Seule la supériorité de GT2 à Tbactéries dans le groupe Contrôle est statistiquement significative ($P = 0,04$).

ii. L'index de perfusion urétrale

■ Évolution au cours du temps

Graphiquement on observe une réduction rapide de l'uPI après de début de la perfusion de bactéries dans les deux groupes (figure 53). Dans le groupe Contrôle, l'uPI est significativement réduit à Tbactéries (-4,6 UA, [-8,2, -1,1], $P = 0,03$) et Tchoc (-4,5 [-8,1, -1,0], $P = 0,03$) comparativement à Tbaseline. Les réductions de l'uPI ne sont pas significatives dans le groupe Pimobendane (pour Tbactéries : -3,0 UA, [-7,5, -1,6], $P = 0,21$; pour Tchoc : -4,6 UA, [-8,8, -0,1], $P = 0,07$).

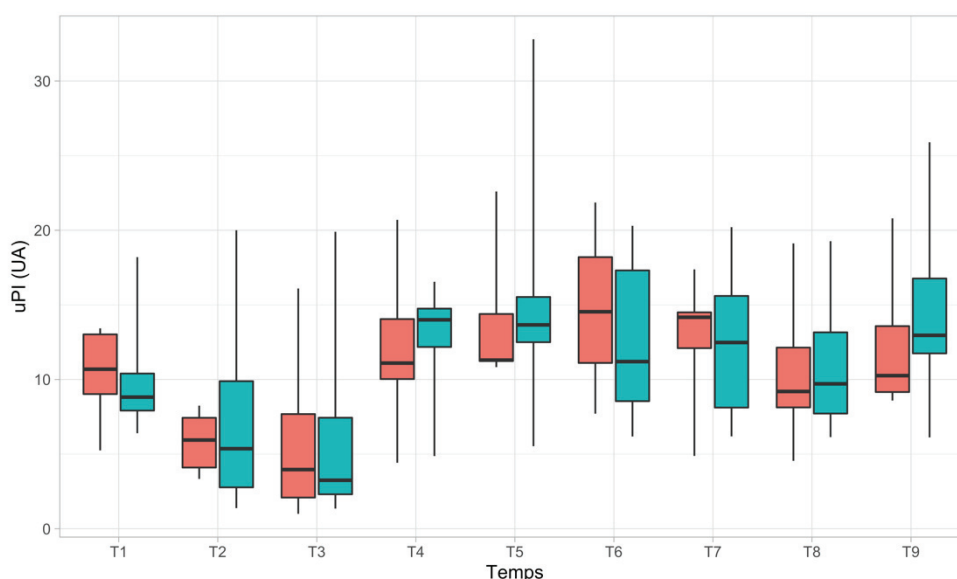


Figure 53 : Évolution de l'uPI au cours du temps (uPI : index de perfusion urétrale, T1 : Tbaseline, T2 : Tbactéries, T3 : Tchoc, T4 : Tstabilisation, T5 : Tsuivi1, T6 : Tsuivi2, T7 : Tsuivi3, T8 : Tsuivi4, T9 : Tsuivi5, groupe Contrôle : figures rouges, groupe Pimobendane : figures bleues)

▪ Comparaisons des groupes

Les différences entre groupes aux trois temps étudiés ici (Tbaseline, Tbactéries et Tchoc) ne sont pas significatives.

iii. La vidéomicroscopie sublinguale

• Le De Backer score

▪ Évolution au cours du temps

Dans les deux groupes, nous ne mettons pas en évidence de variations statistiquement significatives du DBS et du DBSsmall au cours de l'induction du choc. Ce résultat semble concordant avec les observations graphiques (figure 54), même s'il semble que le DBSsmall chute légèrement dans le groupe Contrôle.

▪ Comparaison des groupes

Le DBSsmall est significativement plus bas dans le groupe Pimobendane que dans le groupe Contrôle à Tbaseline ($P = 0,04$). Les autres différences observées (figure 54) concernant DBS et DBSsmall ne sont pas significatives statistiquement.

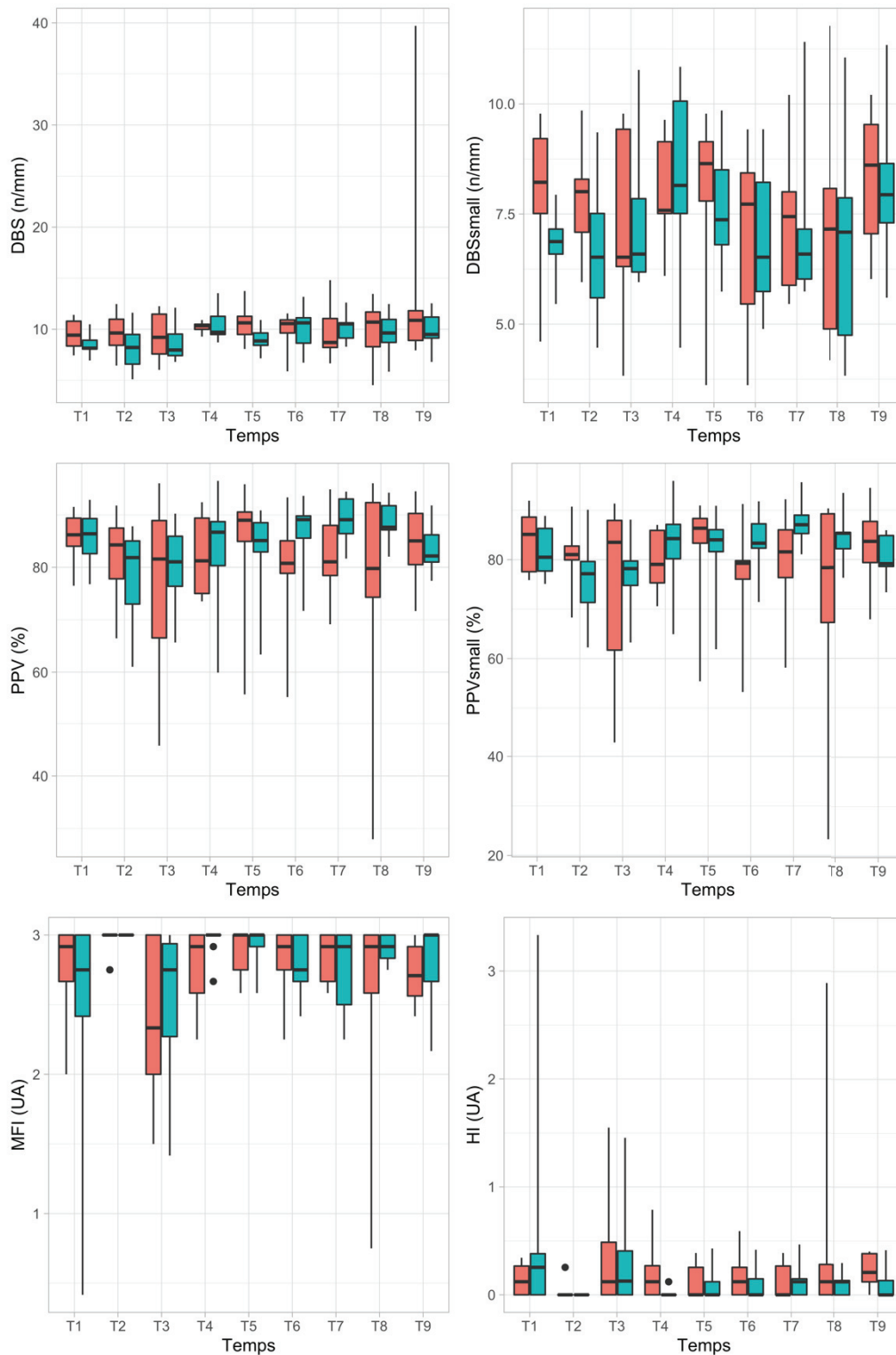


Figure 54 : Évolution des paramètres de vidéomicroscopie sublinguale au cours de l'étude (DBS : De Backer score, PPV : proportion de vaisseaux perfusés, small : paramètre évalué pour les vaisseaux de moins de 20 μ m de diamètre, MFI : index de flux microcirculatoire, HI : index d'hétérogénéité, T1 : Tbaseline, T2 : Tbactéries, T3 : Tchoc, T4 : Tstabilisation, T5 : Tsuivi1, T6 : Tsuivi2, T7 : Tsuivi3, T8 : Tsuivi4, T9 : Tsuivi5, groupe Contrôle : figures rouges, groupe Pimobendane : figures bleues)

- **La proportion de vaisseaux perfusés**

- **Évolution au cours du temps**

Dans le groupe Contrôle, on observe une diminution significative du PPV (-10 %, IC95 = [-17, -3], P = 0,02) et du PPVsmall (-10%, IC95 = [-18, -2], P = 0,03) à Tchoc comparativement à Tbaseline. S'il semble que l'on observe les mêmes tendances dans le groupe Pimobendane (figure 54), ces réductions ne sont pas statistiquement significatives. En revanche, on observe une réduction à la limite de la significativité pour PPV à Tbactéries (-7 %, IC95 = [-12, 1], P = 0,054).

- **Comparaison des groupes**

Les tests statistiques ne mettent pas en évidence de différences significatives concernant le PPV et le PPVsmall entre groupes aux trois temps étudiés (Tbaseline, Tbactéries, Tchoc).

- **L'index de flux microcirculatoire**

- **Évolution au cours du temps**

Graphiquement (figure 54) on observe une tendance à l'augmentation du MFI à Tbactéries mais ces variations ne sont pas statistiquement significatives (pour le groupe Contrôle : + 0,22 UA, IC95 = [- 0,15, 0,60], P = 0,27 ; pour le groupe Pimobendane : + 0,55 [- 0,47, 1,08], P = 0,07). Dans le groupe Contrôle, le MFI semble graphiquement inférieur à Tchoc comparativement à Tbaseline mais ce résultat n'est pas confirmé statistiquement (-0,35 UA, IC95 = [-0,73, 0,03], P = 0,09).

- **Comparaison des groupes**

Les tests statistiques ne mettent pas en évidence de différences significatives concernant le MFI entre groupes aux trois temps étudiés (Tbaseline, Tbactéries, Tchoc).

- **L'index d'hétérogénéité du flux microcirculatoire**

- **Évolution au cours du temps**

Graphiquement (figure 54) on observe une tendance à la diminution du HI à Tbactéries mais ces variations ne sont pas statistiquement significatives (pour le groupe Contrôle : -0,11 UA, IC95 = [- 0,41, 0,19], P = 0,49 ; pour le groupe Pimobendane : - 0,54 [- 1,15, 0,08], P = 0,11).

- **Comparaison des groupes**

Les tests statistiques ne mettent pas en évidence de différences significatives concernant le HI entre groupes aux trois temps étudiés (Tbaseline, Tbactéries, Tchoc).

iv. La lactatémie artérielle

▪ Évolution au cours du temps

Les variations de la lactatémie artérielle au cours du temps ne sont pas significatives dans le groupe Contrôle (figure 55). En revanche, on observe une réduction modérée significative de cette dernière à T_{bactéries} dans le groupe Pimobendane (-0,50 mmol/L, IC95 = [-0,90, -0,10], P = 0,03).

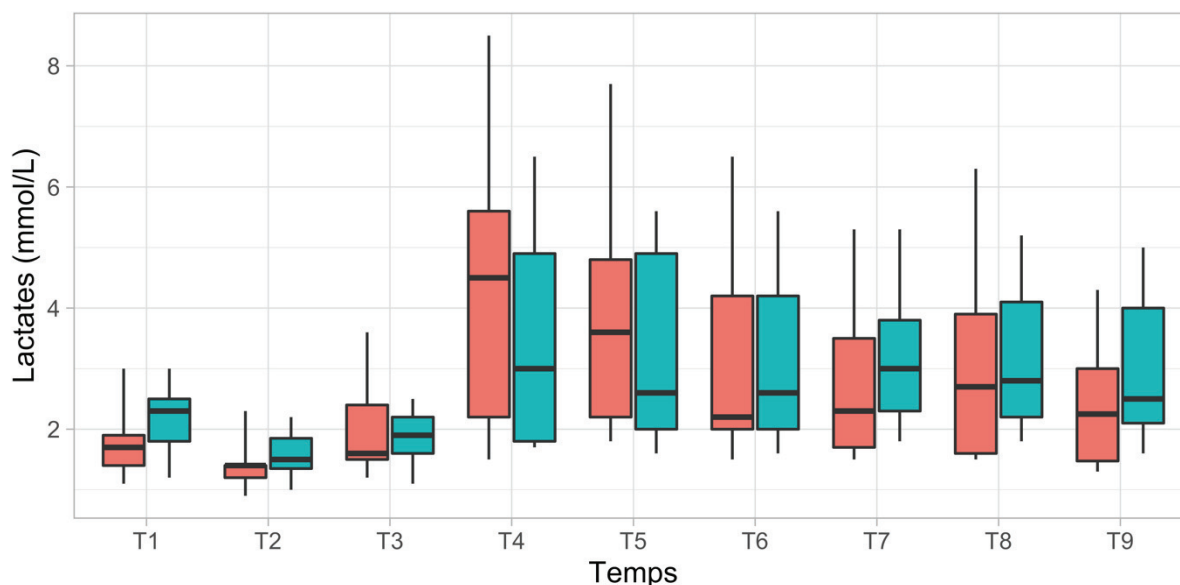


Figure 55 : Évolution de la lactatémie artérielle au cours de l'étude (T1 : T_{baseline}, T2 : T_{bactéries}, T3 : T_{choc}, T4 : T_{stabilisation}, T5 : T_{suivi1}, T6 : T_{suivi2}, T7 : T_{suivi3}, T8 : T_{suivi4}, T9 : T_{suivi5}, groupe Contrôle : figures rouges, groupe Pimobendane : figures bleues)

▪ Comparaison des groupes

Les tests statistiques ne mettent pas en évidence de différence significatives concernant la lactatémie artérielle entre groupes aux trois temps étudiés (T_{baseline}, T_{bactéries}, T_{choc}).

2. Réanimation des animaux

a. Hémodynamique systémique

On observe assez logiquement une augmentation significative de la PAM et de l'IC entre T_{choc} et T_{stabilisation} dans les deux groupes.

- Pour la PAM : groupe Contrôle, + 38 mmHg, IC95 = [20, 55], P = 0,01 ; groupe Pimobendane, + 28 mmHg, IC95 = [21, 36], P = 0,0003.

- Pour l'IC : groupe Contrôle, + 0,84 L/min/m², IC95 = [0,45, 1,22], P = 0,009 ; groupe Pimobendane, + 0,83 L/min/m², IC95 = [0,68, 0,97], P = 0,001

Les valeurs de PAM et d'IC ne sont pas statistiquement différentes entre les groupes à Tstabilisation (ce qui semble flagrant visuellement, figure 49 et 50).

Concernant la fréquence cardiaque, on observe une augmentation significative entre Tchoc et Tstabilisation dans le groupe Pimobendane (+ 33 bpm, IC95 = [17, 48], P = 0,02). On ne retrouve pas ce résultat dans le groupe Contrôle (+ 10 bpm, IC95 = [-11, 32], P = 0,35) alors que la figure 51 pourrait le laisser supposer. Ceci s'explique par le fait que les diagrammes en boîte gomment les trajectoires individuelles et font apparaître une tendance globale. Si pour le groupe Pimobendane, cette tendance globale est bien le reflet des trajectoires individuelles (tous les porcs voient leur FC augmenter nettement entre ces deux temps, figure 56) ce n'est en revanche pas le cas dans le groupe Contrôle où les variations de FC sont plus diverses : la FC reste stable chez plusieurs individus alors qu'elle augmente chez certains et inversement chez d'autres (figure 56). Il n'y a pas de différence concernant les valeurs de FC à Tstabilisation entre les deux groupes.

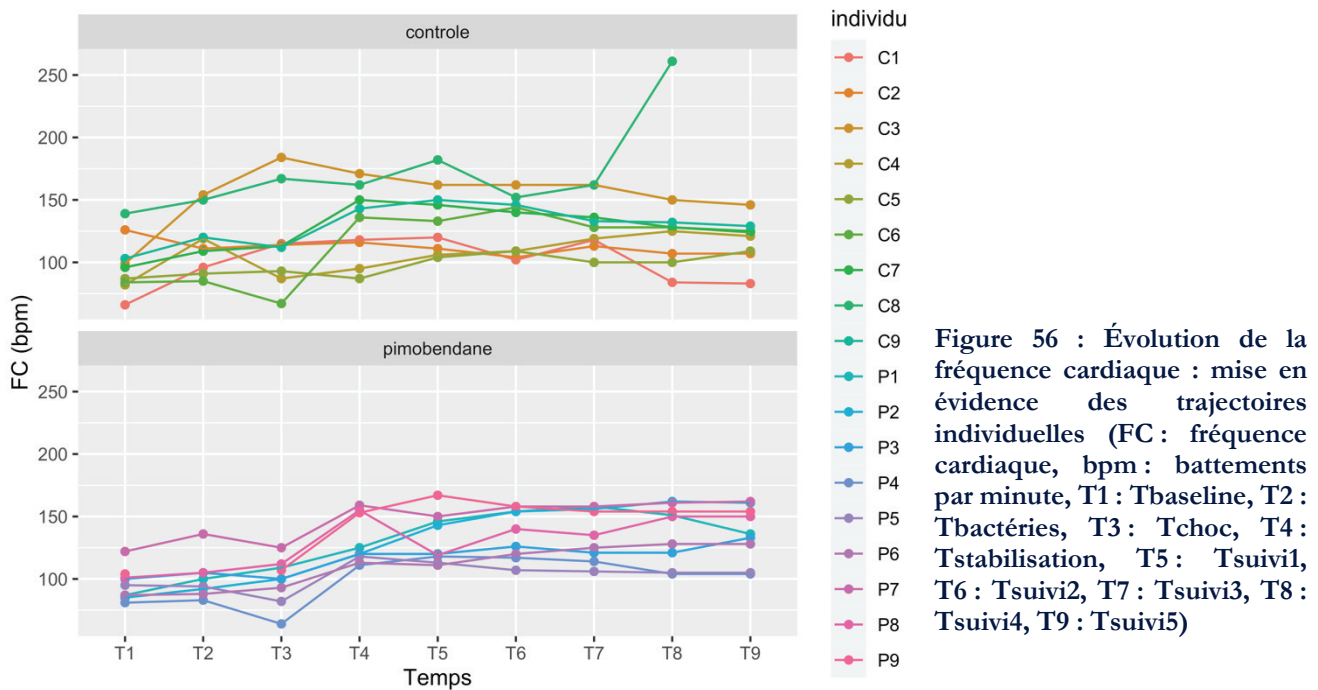


Figure 56 : Évolution de la fréquence cardiaque : mise en évidence des trajectoires individuelles (FC : fréquence cardiaque, bpm : battements par minute, T1 : Tbaseline, T2 : Tbactéries, T3 : Tchoc, T4 : Tstabilisation, T5 : Tsuivi1, T6 : Tsuivi2, T7 : Tsuivi3, T8 : Tsuivi4, T9 : Tsuivi5)

b. La perfusion tissulaire

i. Les gradients de température

Nous n'observons pas d'évolution significative des gradients de température entre Tchoc et Tstabilisation :

- GT1 : groupe Contrôle, - 1,0°C, IC95 = [-3,2, 1,2], P = 0,39 ; groupe Pimobendane, - 0,7°C, IC95 = [-2,2, 1,0], P = 0,44.
- GT2 : groupe Contrôle, - 1,0°C, IC95 = [-3,1, 1,0], P = 0,35 ; groupe Pimobendane, - 0,4°C, IC95 = [-2,9, 2,1], P = 0,77.
- GT3 : groupe Contrôle, - 0,3°C, IC95 = [-2,0, 1,3], P = 0,68 ; groupe Pimobendane, - 0,8°C, IC95 = [-2,0, 0,3], P = 0,21.
- GT4 : groupe Contrôle, - 0,5°C, IC95 = [-2,0, 1,0], P = 0,51 ; groupe Pimobendane, - 0,7°C, IC95 = [-2,9, 1,5], P = 0,58.

Ces résultats sont concordants avec la grande variabilité interindividuelle des évolutions de ces paramètres observés entre Tchoc et la fin de l'étude, comme illustré en figure 57.

Il n'y a pas de différence significative à Tstabilisation entre groupes concernant les valeurs des différents gradients de température.

ii. L'index de perfusion urétrale

Si graphiquement les variations de l'uPI observées semblent intéressantes (figure 53), elles ne sont pas statistiquement significatives dans les deux groupes :

- Groupe Contrôle : + 7,8 UA, IC95 = [-2,2, 17,7], P = 0,27
- Groupe Pimobendane : + 5,9 UA, IC95 = [-2,0, 13,8], P = 0,22

S'il semble globalement que l'indice augmente entre Tchoc et Tstabilisation dans les deux groupes, 3 individus expriment une baisse du paramètre, ce qui peut expliquer le résultat statistique (figure 58). En outre, une perte de puissance statistique liée à la présence de données manquantes pour 4 individus du groupe Contrôle (secondaire à un problème technique du moniteur Ikorus) peut également avoir impacté les résultats statistiques.

La valeur de l'uPI n'est pas statistiquement supérieure dans le groupe Pimobendane comparativement au groupe Contrôle à Tstabilisation.

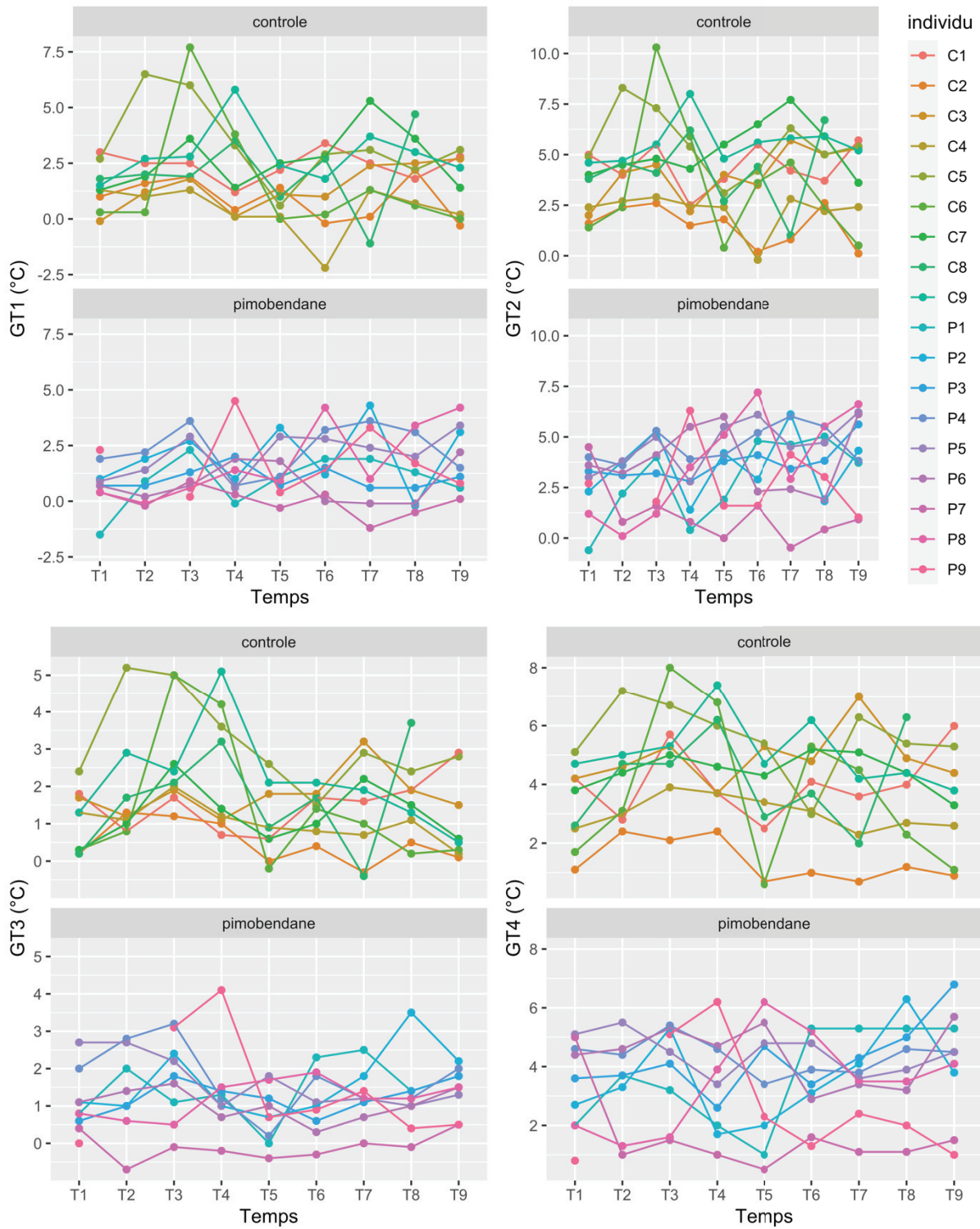


Figure 57 : Évolution des gradients de température : mise en évidence des trajectoires individuelles (T1 : Tbaseline, T2 : Tbactéries, T3 : Tchoc, T4 : Tstabilisation, T5 : Tsuivi1, T6 : Tsuivi2, T7 : Tsuivi3, T8 : Tsuivi4, T9 : Tsuivi5)

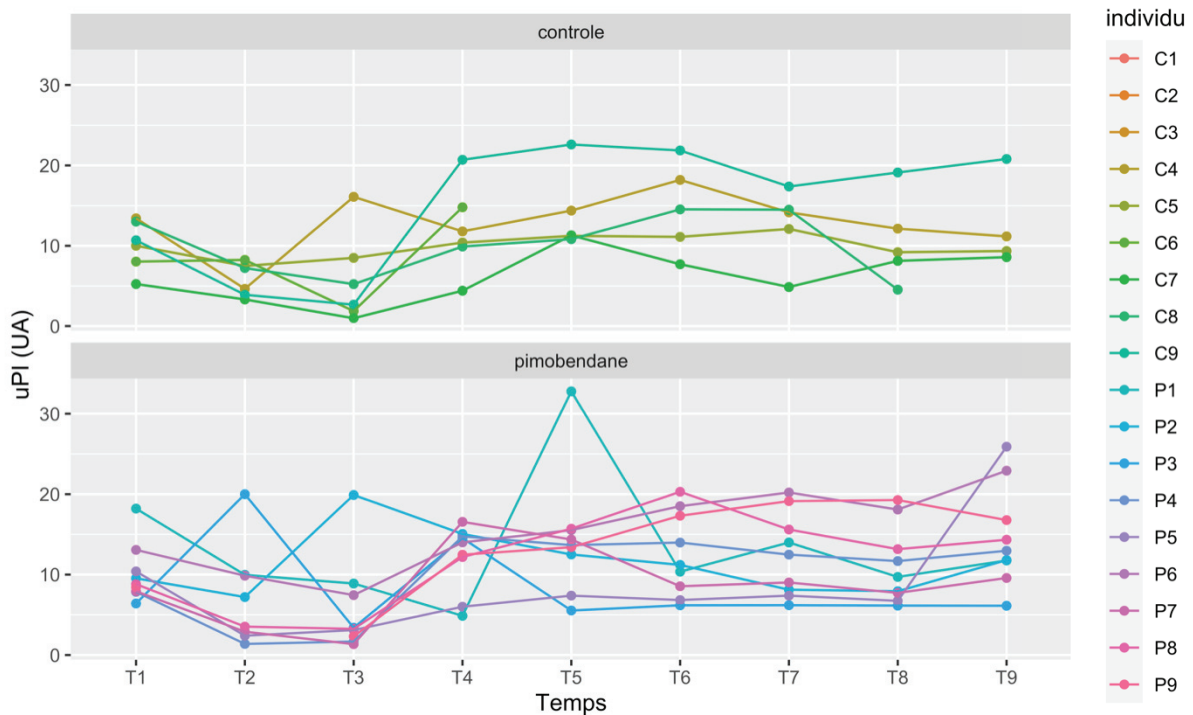


Figure 58 : Évolution de l'index de perfusion urétrale : mise en évidence des trajectoires individuelles (uPI : index de perfusion urétrale, T1 : Tbaseline, T2 : Tbactéries, T3 : Tchoc, T4 : Tstabilisation, T5 : Tsuivi1, T6 : Tsuivi2, T7 : Tsuivi3, T8 : Tsuivi4, T9 : Tsuivi5)

iii. La vidéomicroscopie sublinguale

▪ Le De Backer score

Malgré les discrètes augmentations du DBS et du DBSsmall observées graphiquement entre Tchoc et Tstabilisation, les variations ne sont pas statistiquement confirmées, probablement du fait de la grande variabilité interindividuelle des variations de ces paramètres au cours du temps (figure 59) :

- DBS : groupe Contrôle, +1,84 n/mm, IC95 = [non calculable], P = 0,08 ; groupe Pimobendane, +2,26 n/mm, IC95 = [-0,93, 5,46], P = 0,25
- DBSsmall : groupe Contrôle, +1,21 n/mm, IC95 = [-0,60, 3,01], P = 0,22 ; groupe Pimobendane, +1,56 n/mm, IC95 = [-1,49, 4,60], P = 0,36

Les valeurs de ces paramètres ne sont pas différentes entre groupes à Tstabilisation.

▪ La proportion de vaisseaux perfusés

On observe une tendance générale à l'augmentation du PPV et du PPVsmall entre Tchoc et Tstabilisation (figure 54), que l'on retrouve sur les trajectoires individuelles (figure 59), dans le groupe Pimobendane. En revanche, dans le groupe Contrôle, les variations des deux paramètres sont plutôt différentes d'un individu à l'autre : les individus pour lesquels l'on observait une baisse

des paramètres à T_{choc} voient leur PPV et leur PPV_{small} augmenter entre T_{choc} et T_{stabilisation}, alors que ceux qui présentaient des valeurs élevées à T_{choc} voient plutôt leur PPV et leur PPV_{small} diminuer entre T_{choc} et T_{stabilisation}.

D'un point de vue statistique, seule l'augmentation du PPV_{small} du groupe Pimobendane semble significative :

- PPV : groupe Contrôle, +13 %, IC95 = [-3, 29], P = 0,16 ; groupe Pimobendane, +8 %, IC95 = [-3, 19], P = 0,22
- PPV_{small} : groupe Contrôle, +14 %, IC95 = [-3, 30], P = 0,16 ; groupe Pimobendane, +12 %, IC95 = [4, 19], P = 0,04

Les valeurs de PPV et PPV_{small} ne sont pas statistiquement différentes entre groupes à T_{stabilisation}. Si elles semblent discrètement supérieures dans le groupe Pimobendane on observe également davantage de variabilité (figure 54).

▪ L'index de flux microcirculatoire

Sur la figure 59, on observe une augmentation du MFI entre T_{choc} et T_{stabilisation} dans les deux groupes chez les individus qui présentaient une baisse de ce paramètre à T_{choc}. Cependant cette tendance n'est confirmée statistiquement dans aucun groupe :

- Groupe Contrôle : +0,33 UA, IC95 = [-0,33, 0,93], P = 0,38
- Groupe Pimobendane : +0,23 UA, IC95 = [-0,05, 0,52], P = 0,38

Les valeurs de MFI ne sont pas différentes entre groupes à T_{stabilisation}.

▪ L'index d'hétérogénéité du flux microcirculatoire

En symétrie des observations relatives au MFI, on constate une baisse du HI entre T_{choc} et T_{stabilisation} chez les individus des deux groupes qui voyaient leur HI augmenter à T_{choc} (figure 59). Aucune de ces variations n'est validée par l'analyse statistique :

- Groupe Contrôle : -0,26 UA, IC95 = [-0,85, 0,34], P = 0,43
- Groupe Pimobendane : -0,23 UA, IC95 = [-0,51, 0,05], P = 0,20

Le HI est significativement plus bas dans le groupe Pimobendane à T_{stabilisation} (groupe Contrôle : médiane = 0,12 (minimum = 0,00, maximum = 0,79), groupe Pimobendane : médiane = 0,00 (minimum = 0,00, maximum = 0,12), P = 0,04).

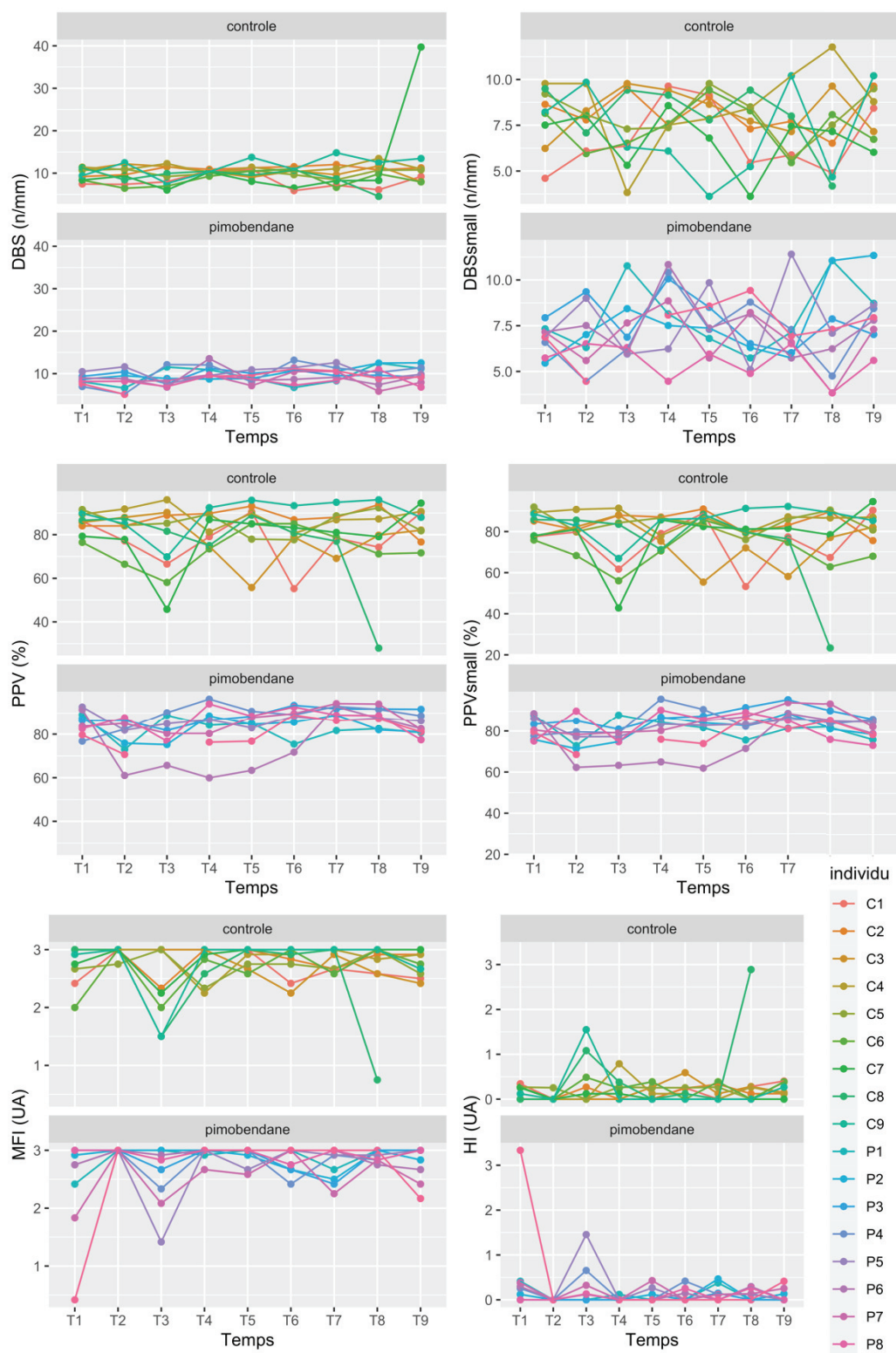


Figure 59 : Évolution des paramètres de vidéomicroscopie sublinguale : mise en évidence des trajectoires individuelles (DBS : De Backer score, PPV : proportion de vaisseaux perfusés, small : paramètre évalué pour les vaisseaux de moins de 20 μ m de diamètre, MFI : index de flux microcirculatoire, HI : index d'hétérogénéité, T1 : Tbaseline, T2 : Tbactéries, T3 : Tchoc, T4 : Tstabilisation, T5 : Tsuivi1, T6 : Tsuivi2, T7 : Tsuivi3, T8 : Tsuivi4, T9 : Tsuivi5)

iv. La lactatémie artérielle

Si la lactatémie n'était pas augmentée à Tchoc, elle semble l'être à Tstabilisation. L'augmentation semble plus marquée graphiquement dans le groupe Contrôle : les lactates restent inférieurs à 3 mmol/L chez 3 individus du groupe Contrôle et 6 individus du groupe Pimobendane (figure 60). L'analyse statistique rapporte une augmentation significative entre Tchoc et Tstabilisation dans le groupe Contrôle, alors que cette augmentation n'est pas significative dans le groupe Pimobendane :

- Groupe Contrôle : +2,4 mmol/L, IC95 = [1,0, 3,8], P = 0,02
- Groupe Pimobendane : +1,3 mmol/L, IC95 = [-0,7, 3,3], P = 0,26

Malgré les différences évoquées, le test de Mann-Whitney ne révèle pas de différence entre les groupes à Tstabilisation (groupe Contrôle : médiane = 4,5 mmol/L (minimum = 1,5, maximum = 8,5), groupe Pimobendane : médiane = 3,0 mmol/L (minimum = 1,7, maximum = 6,5), P = 0,43).

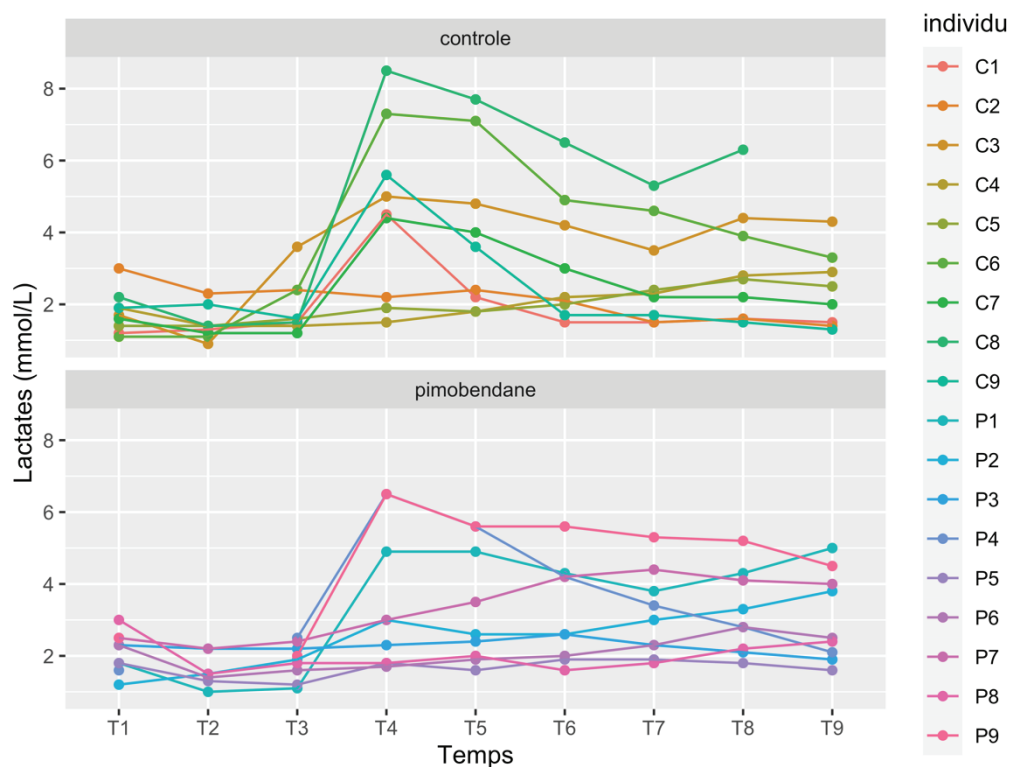


Figure 60 : Évolution de la lactatémie artérielle : mise en évidence des trajectoires individuelles (T1 : Tbaseline, T2 : Tbactéries, T3 : Tchoc, T4 : Tstabilisation, T5 : Tsuivi1, T6 : Tsuivi2, T7 : Tsuivi3, T8 : Tsuivi4, T9 : Tsuivi5)

3. Suivi post-réanimation

Dans cette partie, nous nous focaliserons sur les comparaisons entre groupes aux différents temps de suivi (Tsuivi₁₋₅). Au cours de cette période, un porc du groupe contrôle (C8) est décédé juste après l'enregistrement de Tsuivi₄. Cet événement est clairement visible sur les figures 56 à 60.

a. Hémodynamique systémique

L'IC et la FC semblent (figures 49 et 51) discrètement supérieures dans le groupe Pimobendane aux deux derniers temps de l'étude (Tsuivi₄, Tsuivi₅) mais ces différences ne sont pas statistiquement significatives. L'analyse statistique ne révèle aucune différence entre le groupe Contrôle et le groupe Pimobendane aux 5 temps de suivi pour les trois paramètres hémodynamiques (PAM, IC, FC).

b. La perfusion tissulaire

i. Les gradients de température

Graphiquement (figure 52) il est difficile d'observer une tendance se dégager dans la comparaison des groupes pendant le suivi : en fonction des temps, les différents gradients sont parfois légèrement inférieurs ou supérieurs dans le groupe Pimobendane. En outre, il n'existe pas de cohérence entre les différents gradients. L'analyse statistique confirme l'absence de différence significative entre groupes pour les 4 gradients aux 5 temps du suivi.

ii. L'index de perfusion urétrale

Comme pour les gradients de température, aucune tendance générale ne se dégage de l'observation concernant la comparaison de l'uPI entre les deux groupes pendant le suivi (figure 53). Aucune différence statistique n'est retrouvée.

iii. La vidéomicroscopie sublinguale

▪ Le De Backer score

Graphiquement, aucune tendance ne se dégage pour le DBS alors que le DBS_{small} semble discrètement inférieur dans le groupe Pimobendane (figure 54). Cependant il faut se rappeler que le DBS_{small} était déjà significativement plus bas au premier temps de l'étude (cf *supra*). L'analyse statistique rapporte une réduction significative du DBS dans le groupe Pimobendane à Tsuivi₁

(groupe Contrôle : médiane = 10,63 n/mm (minimum = 8,07, maximum = 13,75), groupe Pimobendane : médiane = 8,85 n/mm (minimum = 7,15, maximum = 10,91), $P = 0,04$). Les autres différences ne sont pas significatives.

▪ La proportion de vaisseaux perfusés

Graphiquement, le PPV et le PPV_{small} semblent légèrement supérieurs dans le groupe Pimobendane aux temps $T_{\text{suivi}_{2-4}}$ et discrètement inférieurs aux temps T_{suivi_1} et T_{suivi_5} (figure 54). L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative ; néanmoins les tendances concernant la supériorité du PPV et du PPV_{small} dans le groupe Pimobendane se retrouvent dans les résultats des analyses puisque pour chacune de ces comparaisons la valeur de P est comprise entre 0,05 et 0,10, malgré la faible puissance statistique.

▪ L'index de flux microcirculatoire et l'index d'hétérogénéité du flux

Il est difficile d'envisager une tendance globale concernant la comparaison des valeurs de MFI et de HI dans les deux groupes aux temps de suivi. Il semble tout de même que le MFI soit légèrement supérieur dans le groupe Pimobendane à T_{suivi_5} et le HI légèrement inférieur. L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative mais confirme la tendance pour le HI à T_{suivi_5} ($P = 0,08$).

iv. La lactatémie artérielle

Alors que la lactatémie à $T_{\text{stabilisation}}$ semblait plus basse dans le groupe Pimobendane à $T_{\text{stabilisation}}$, elle semble discrètement supérieure dans ce groupe pour 3 derniers temps de l'étude. Les comparaisons des groupes aux temps de suivi ne révèlent pas de différence significative.

La clairance des lactates au cours du suivi (calculée de la manière suivante : $\text{Lactate}_{T_{\text{stabilisation}}} - \text{Lactate}_{T_{\text{suivi}_5}}$) semble plus élevée dans le groupe Contrôle que dans le groupe Pimobendane (figure 61), mais cette différence n'est pas statistiquement significative.

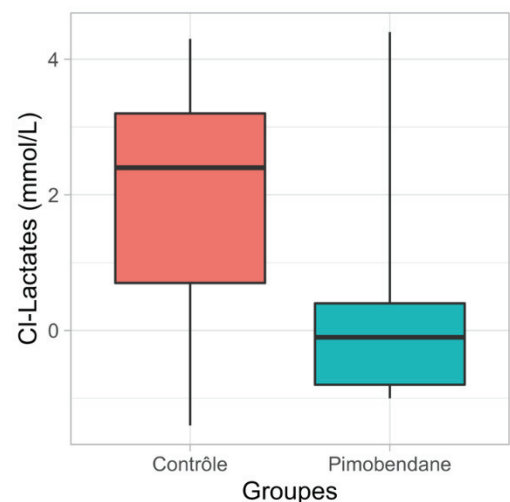


Figure 61 : Comparaison de la clairance des lactates au cours du suivi dans les deux groupes (Cl-Lactates : clairance des lactates calculée ainsi : $\text{Lactate}_{T_{\text{stabilisation}}} - \text{Lactate}_{T_{\text{suivi}_5}}$)

4. Mesures thérapeutiques

a. Adrénaline

Sept cochons ont reçu de l'adrénaline suite à une défaillance cardiocirculatoire sévère au moment du choc ou juste après le choc : 4 dans le groupe Contrôle et 3 dans le groupe Pimobendane. La dose d'adrénaline administrée et la fréquence d'administration par groupe ne sont pas statistiquement différentes d'un groupe à l'autre. La figure 62 illustre la quantité d'adrénaline administrée par individu dans chaque groupe.

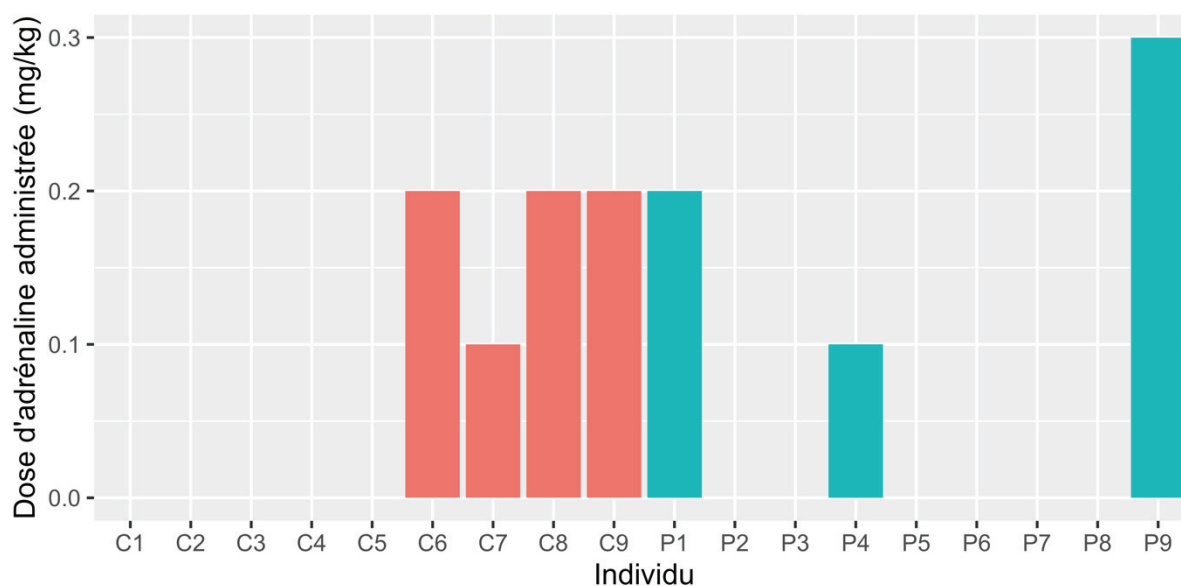


Figure 62 : Dose d'adrénaline administrée par individu (groupe Contrôle : rouge, groupe Pimobendane : bleu)

b. Noradrénaline

La quantité de noradrénaline administrée ne semble pas différente d'un groupe à l'autre (figure 63). La comparaison statistique ne met pas en évidence de différence. La figure 64 illustre la grande variabilité des quantités de noradrénaline administrée entre les différents individus.

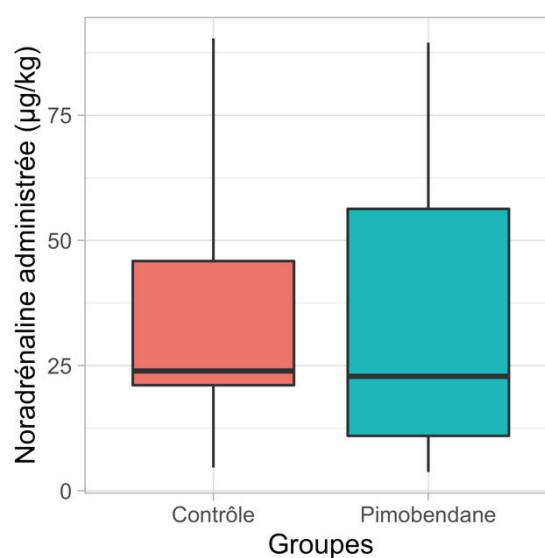


Figure 63 : Quantité de noradrénaline administrée par groupe

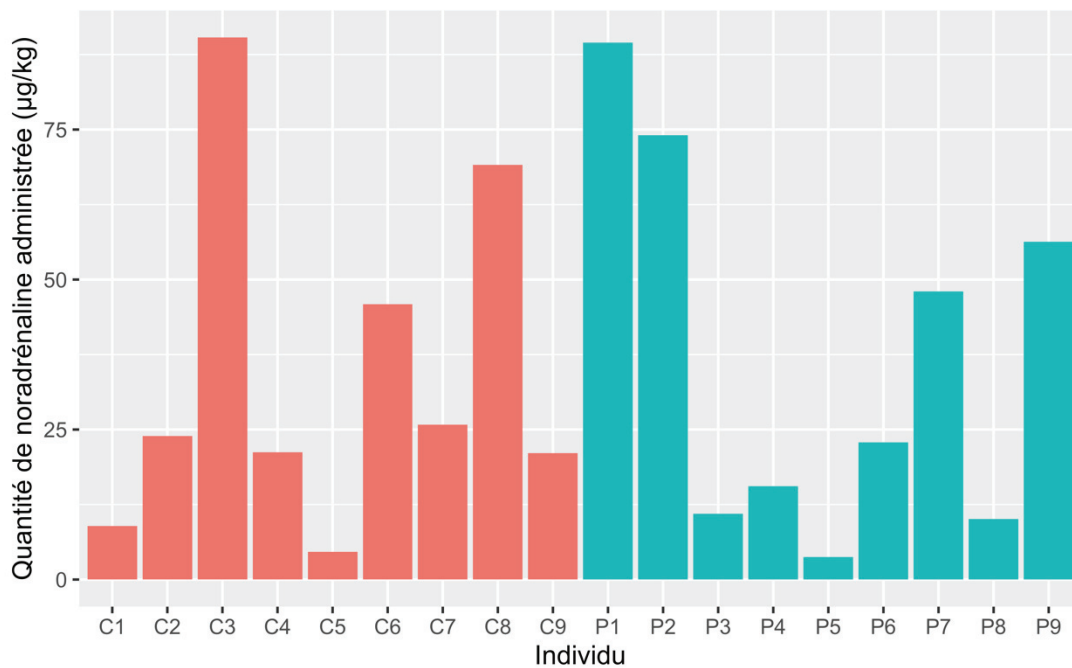


Figure 64 : Quantité de noradrénaline administrée par individu (groupe Contrôle : rouge, groupe Pimobendane : bleu)

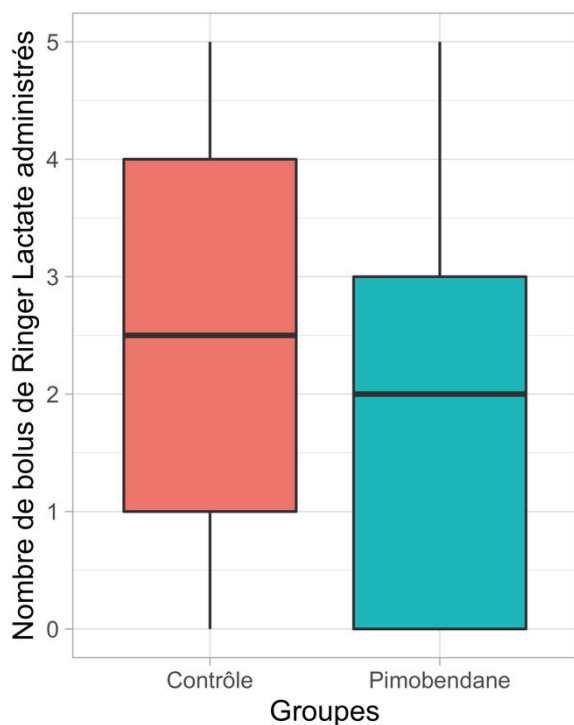


Figure 65 : Nombre de bolus de Ringer Lactate administrés par groupe

c. Bolus de fluides

La quantité de bolus de Ringer Lactate (10 mL/kg en 15 minutes) administrée au cours de la réanimation et du suivi ne semble pas différente d'un groupe à l'autre (figure 65). La comparaison statistique ne met pas en évidence de différence. La figure 66 illustre la grande variabilité des quantités de noradrénaline administrée entre les différents individus.

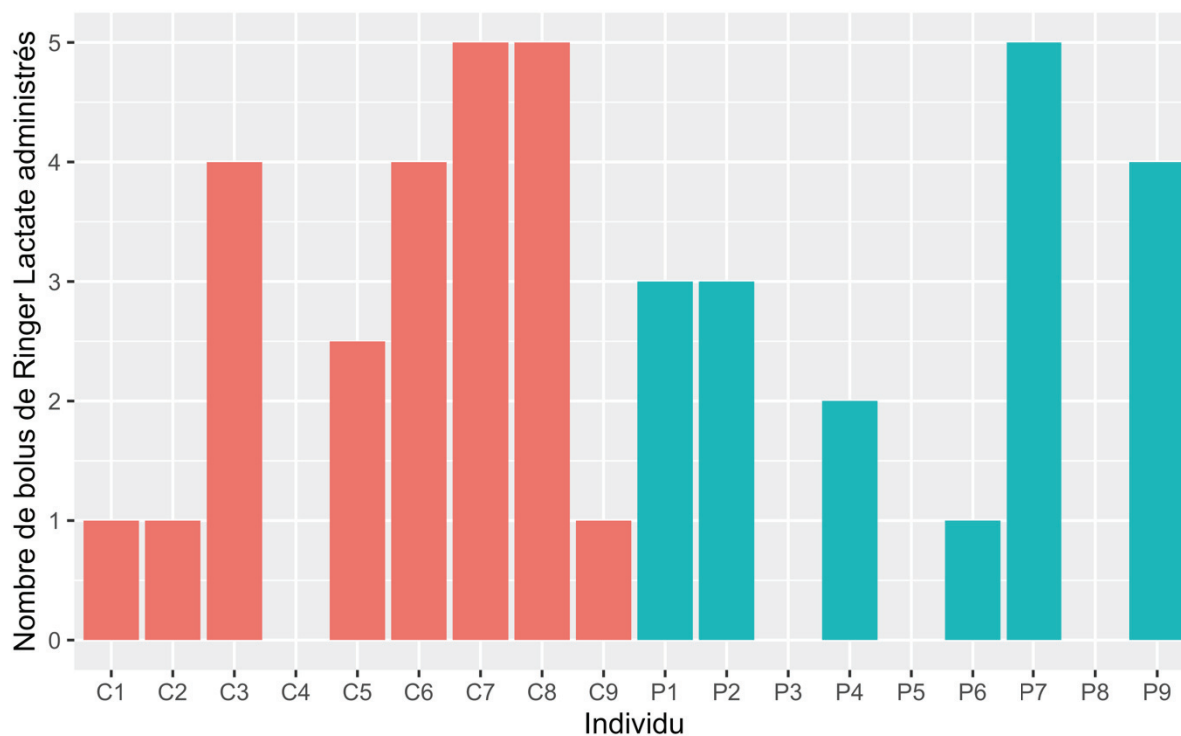


Figure 66 : Nombre de bolus de Ringer Lactate administrés par individu (groupe Contrôle : rouge, groupe Pimobendane : bleu)

D. Discussion et conclusion

En résumé, la perfusion de bactéries vivantes est associée à une baisse de la PAM, une baisse de l'IC et une tendance à l'augmentation de la fréquence cardiaque. Deux individus du groupe Contrôle (C3 et C4) expriment une augmentation majeure de l'IC associé à une augmentation franche de la FC dans le groupe contrôle, profil caractéristique d'une réponse hyperdynamique. Les autres individus semblent exprimer un profil hypodynamique mais il est possible qu'une réponse similaire à celle des deux individus C3 et C4 ait eu lieu mais qu'elle n'ait pas été enregistrée car exprimée en dehors des temps d'enregistrement des données. Cette défaillance hémodynamique, définie comme étant le reflet d'un choc septique, semble globalement associée à une altération modérée de la perfusion tissulaire se manifestant par une augmentation modérée des gradients de température et une réduction de l'uPI (dont la significativité statistique n'est observée que dans le groupe Contrôle malgré une tendance graphique bien observable). L'altération de la microcirculation sublinguale semble graphiquement de très faible envergure, et potentiellement inexistante ou alors biologiquement négligeable : seules les réductions du PPV et PPVsmall sont mises en évidence par l'analyse statistique. Enfin, la lactatémie artérielle semble plutôt stable au cours des trois premiers temps de l'étude. Paradoxalement, on observe une

réduction de cette dernière chez certains individus à T bactéries, principalement dans le groupe Pimobendane. L'augmentation de la lactatémie associée à l'hypofusion mise en évidence par les signes d'altération de la perfusion tissulaire évoquée précédemment est observable « décalée » dans le temps et se manifeste réellement qu'à partir de T stabilisation, après la mise en place des premières mesures thérapeutiques.

Globalement les résultats ne sont pas en faveur de l'utilisation du pimobendane. D'un point de vue macrocirculaire, le pouvoir inotrope positif du pimobendane semble modéré dans notre étude : le débit cardiaque semble discrètement supérieur dans le groupe Pimobendane aux derniers temps de l'étude sans que ce résultat soit validé statistiquement. L'une des explications les plus probables concernant ce résultat pourrait être l'impact de l'acidémie. En effet, des études révèlent que le pouvoir inotrope positif du pimobendane³⁰³ (et du levosimendan^{285,286}) est fortement réduit dans cette condition. Cette condition est, de base, déjà à l'origine d'une baisse de la contractilité du myocarde liée à la baisse de l'affinité des récepteurs adrénergiques, à une baisse de la production d'ATP, à une inhibition des échanges calciques et à une hyporéactivité des myofilaments³⁰⁴. La baisse d'efficacité du pimobendane serait associée à une réduction de son effet sensibilisateur calcique. Dans notre étude, la majorité des porcs du groupe Pimobendane sont en acidémie entre T stabilisation et T suivi₅ (figure 67). Cette acidémie doit être secondaire à la production de lactates mais également à une acidose respiratoire liée aux réglages de la ventilation assistée ; en effet, la production de lactate reste modérée dans le groupe Pimobendane (figure 67).

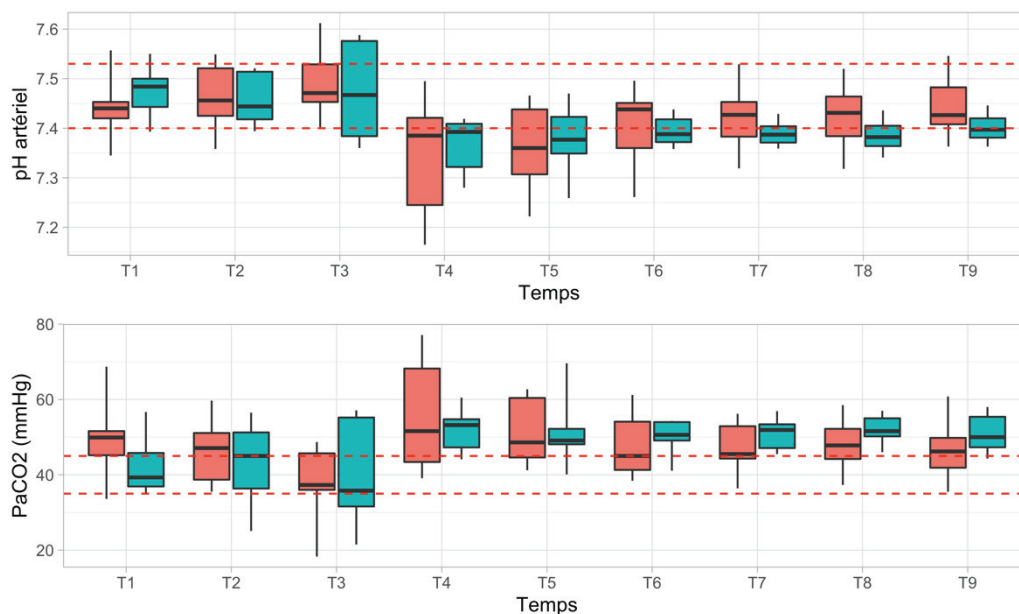


Figure 67 : Évolution du pH et du dioxyde de carbone artériel au cours de l'étude (PaCO₂ : pression partielle artérielle en CO₂, T1 : Tbaseline, T2 : T bactéries, T3 : Tchoc, T4 : T stabilisation, T5 : T suivi₁, T6 : T suivi₂, T7 : T suivi₃, T8 : T suivi₄, T9 : T suivi₅, groupe Contrôle : figures rouges, groupe Pimobendane : figures bleues, les lignes rouges délimitent les valeurs usuelles décrites chez le porc (d'après [ref hannou](#)))

En termes de perfusion tissulaire les résultats sont également décevants et il ne semble pas que le pimobendane soit associé à une amélioration de cette dernière dans notre étude. Il semble peu probable d'imaginer que l'augmentation plus marquée de la lactatémie dans le groupe Contrôle comparativement au groupe Pimobendane à Tstabilisation soit à mettre sur le compte d'une amélioration de la perfusion tissulaire liée au médicament. Il est fort possible qu'elle soit plutôt liée à une hétérogénéité dans l'intensité des chocs obtenus dans les deux groupes : le groupe Pimobendane présenterait globalement une intensité de choc plus modérée que le groupe Contrôle. Un autre élément est en faveur de cette hypothèse : le gradient de température GT2 est significativement plus bas dans ce groupe à Tchoc. Autre élément en défaveur du Pimobendane : il semblerait que la clairance du lactate soit plus faible dans le groupe interventionnel, néanmoins cette observation n'est pas validée par l'analyse statistique.

Enfin, concernant les mesures thérapeutiques, le pimobendane n'est pas associé à une réduction de la quantité de noradrénaline ou de fluides administrée.

Malgré ces résultats négatifs, nous ne pouvons conclure catégoriquement à l'inutilité du pimobendane dans l'indication envisagée. Plusieurs éléments, de différentes natures, peuvent expliquer les résultats obtenus. La première explication, la plus radicale, serait que l'hypothèse *a priori* soit fautive : le pimobendane ne présenterait pas d'intérêt dans le traitement du choc septique. Et ainsi, même si les arguments théoriques développés précédemment en faveur du pimobendane apparaissent intéressants de prime abord, la confrontation au réel *via* l'expérimentation reste une étape de corroboration du raisonnement indispensable. Si le raisonnement pré-expérimental est indispensable, il faut bien avoir conscience de sa faillibilité. Dès les débuts de la médecine expérimentale, Claude Bernard mettait en garde contre une foi trop grande dans les idées *a priori* : « Nous devons avoir conscience de l'incertitude de nos raisonnements à cause de l'obscurité de leur point de départ. [...] Cette foi trop grande dans le raisonnement, qui conduit le physiologiste à une fautive simplification des choses, tient d'une part à l'ignorance de la science dont il parle, et d'autre part à l'absence du sentiment de complexité des phénomènes naturels. »³⁰⁵. Si cette explication est possible, de nombreuses autres, d'ordre expérimental, sont également fortement probables. Ainsi, la procédure expérimentale utilisée dans cette étude pourrait, de par ses défauts, ne pas être en mesure de répondre aux questionnements initiaux : « Des causes d'erreurs sans nombre peuvent se glisser dans nos observations, et, malgré toute notre attention et notre sagacité, nous ne sommes jamais sûrs d'avoir tout vu, parce que les moyens de constatation nous manquent ou sont trop imparfaits »³⁰⁵. Plusieurs points doivent être relevés :

- Il est possible, comme évoqué précédemment, que les groupes ne soient pas vraiment comparables. Cette absence de comparabilité est sans doute le fait d'une limite majeure du modèle utilisé : son manque de reproductibilité. En effet, il est très difficile d'obtenir des états de choc de même intensité entre différents individus, et ce alors même que la nature des bactéries perfusées est exactement la même. Cette hétérogénéité de réaction semble donc liée à une variabilité interindividuelle de la réponse physiologique face à l'agression. Au-delà même du choix du modèle de sepsis, ce manque de reproductibilité est sans doute associé à la complexité physiologique du syndrome étudié (voir Introduction). Dès lors, n'est-il pas illusoire d'imaginer trouver un modèle parfait et reproductible de choc septique ? Et si c'était le cas, ce modèle ne serait-il pas bien éloigné de la réalité clinique des patients en choc septique ?
- Si le modèle de choc septique parfait n'existe sûrement pas, il est tout de même possible d'imaginer en trouver un meilleur que celui utilisé ici, du moins pour l'étude des troubles de la perfusion tissulaire. En effet, il est possible que ce modèle très aigu ne soit pas pertinent pour étudier les troubles de la perfusion tissulaire et microcirculatoire. On peut imaginer que, dans notre modèle, les troubles de la perfusion tissulaire soient essentiellement la conséquence de la défaillance macrocirculatoire et peu liés à des anomalies microcirculatoires d'ordre inflammatoire, hémostatique et à une vraie dysfonction endothéliale, comme il semble que ce soit le cas en pratique.
- L'explication pourrait venir du manque de pertinence des modalités pratiques du protocole expérimental. La dose administrée est-elle la bonne ? Le choix de cette dernière reposait sur des données bibliographiques présentées précédemment. Le moment d'administration de la molécule est-il le bon ? On pourrait imaginer qu'une administration du pimobendane après stabilisation n'ait pas les mêmes effets que ceux observés ici. Les modes d'évaluation de la perfusion tissulaire sont-ils les bons ? A cette question nous pouvons répondre qu'une approche multimodale comme celle utilisée présente l'avantage d'évaluer la perfusion à différentes échelles et dans différentes régions, ce qui semble plutôt pertinent, d'autant plus que les résultats semblent cohérents entre les différentes modalités d'évaluation : aucune méthode ne semble se montrer supérieure ou inférieure. Enfin, le choix des temps d'enregistrement peut également être remis en question. Pour optimiser ce genre d'étude il faudrait un dispositif d'enregistrement continu, qui permettrait d'étudier les aires sous la courbe des différents paramètres, qui sont probablement des paramètres plus appropriés que des paramètres ponctuels.

- Enfin, comme précisé précédemment, l'étude a été réalisée 3 mois avant la fin de cette thèse. Ainsi, nous disposons de peu de temps pour l'analyse des données et il est possible qu'une analyse statistique plus subtile des données révèle la présence de différences significatives qui n'ont pas été mises en évidence ici. Mais le salut par les mathématiques nous semble illusoire et nous croyons qu'il est peu raisonnable d'imaginer renverser complètement les conclusions sur la base des statistiques, d'autant plus lorsque l'on regarde les graphiques des données et que l'on connaît le faible nombre des animaux utilisés. Les statistiques ne peuvent être la clef de voute d'une conclusion scientifique, ils ne sont qu'un argument (dont le poids est parfois immense) parmi d'autres au sein du raisonnement expérimental.

Conclusions et perspectives.

“The history of intensive care has been littered with too many false dawns. Old management dogma, now derided, have been replaced by new and equally resolute convictions, many of which will, in time, undoubtedly follow a similar course. Retired bundles of care have been replaced by new bundles driven by clinical evangelists and government diktat. Yet these too lack a strong evidence base and can be readily challenged. Homogenizing treatment given to a highly heterogenous patient population that fall under the wide syndromic umbrella of sepsis may offer a minimum standard of care though at the potential cost of compromising outcomes in an individual patient. Likewise, the repeated multicentre trial failures of novel interventional strategies over many decades highlight the need to focus more precisely on the individual’s biological phenotype and adopt a personalized treatment approach.”

Mervyn Singer³⁰⁶

Cette thèse avait pour objectifs de faire une synthèse des données de la littérature concernant la mesure de la perfusion tissulaire (par l’intermédiaire de la thermographie infrarouge, de la photopléthysmographie urétrale et par vidéomicroscopie sublinguale), sur l’intérêt thérapeutique du pimobendane (et du levosimendan) dans le traitement de ces troubles lors de choc septique, et, enfin, de présenter le résultat de nos travaux de recherche relatifs à ces sujets. Nous avons tenté, tout au long de ce travail, de présenter le plus objectivement possible, les informations publiées et le résultat de nos études. Nous avons essayé, régulièrement, de tirer des conclusions de ces informations ; ainsi, il nous semble qu’il serait redondant de terminer ce travail par une conclusion très factuelle, consistant à faire une nouvelle synthèse de l’ensemble des connaissances présentées ultérieurement. A la place, nous souhaiterions, humblement, prendre un peu de recul, contextualiser ce travail et proposer quelques pistes de réflexion (dont la plupart ont déjà été énoncées par d’autres auteurs).

I. La recherche illusoire de la machine miracle

La recherche d'une technique optimale d'évaluation de la perfusion tissulaire est, comme nous l'avons vu, un sujet de recherche d'actualité. De nombreuses équipes mettent au point de nouvelles technologies permettant d'approcher plus au moins directement la perfusion tissulaire avec peut être l'espoir de développer LA technique « parfaite ». Cette recherche répond à des enjeux médicaux et économiques réels : comme nous l'avons vu, les états de choc sont associés à un mauvais pronostic et les survivants peuvent hériter de séquelles handicapantes sur le long terme, comme une insuffisance rénale chronique par exemple. Sur le plan économique, la prise en charge médicale des patients en réanimation est très onéreuse et les frais peuvent perdurer après l'hospitalisation pour les patients handicapés³⁰⁷. Mais malgré les trésors d'ingéniosité déployés par les chercheurs, force est de constater qu'aucune méthode miracle n'a actuellement vu le jour.

Si la machine miracle n'existe pas, de nombreux appareils se sont pourtant révélés intéressants, c'est le cas des trois dispositifs présentés dans cette thèse, mais également de nombreux autres. Chacun dispose d'avantages pratiques (disponibilité, simplicité d'utilisation, reproductibilité, etc...) ou épistémiques (l'observation directe de la microcirculation par vidéomicroscopie comparativement à une mesure indirecte de la perfusion par relevé de température par exemple) mais aussi de limites : en effet, l'emploi d'aucun de ces appareils n'est actuellement associé à une baisse radicale de la morbidité ou de la mortalité dans les états de choc (quand bien même leur utilisation permettrait une amélioration de la qualité des soins).

Et pourtant, certains auteurs (c'est principalement le cas de Can Ince), présentent la vidéomicroscopie comme une révolution technologique, la méthode de référence, lui conférant des qualités bien supérieures à ce qui a été démontré et manquant bien souvent de pondération dans les conclusions qu'ils tirent des synthèses de la bibliographie, nous reviendrons sur ce point plus bas^{26,27,234,235,240,308}. Néanmoins, on ne peut nier l'intérêt de la vidéomicroscopie et les progrès (au moins en termes de connaissances) réalisés suite à son introduction en pratique clinique, nous les avons abordés dans la première partie de cette thèse. De même, on ne peut nier l'intérêt de nombreuses publications de Can Ince, des concepts qu'il développe (cohérence hémodynamique, théorie du shunt dans le sepsis, etc.), et des pistes de réflexion qu'il initie (nouvelle typologie des chocs basée sur la nature des anomalies microcirculatoires). Le problème vient de la manière dont

les informations sont présentées. Can Ince (et ses collaborateurs) multiplient les articles de synthèse dans lesquels ils répètent toujours la même chose, présentent les propriétés de la microcirculation comme ils les envisagent, décrivent la vidéomicroscopie sans souligner suffisamment ses défauts, s'auto-citent abondamment, créant ainsi une boucle argumentative dont il est parfois difficile de s'extraire tant leurs articles sont nombreux (ils représentent plus de 20 % des articles référencés sur Pubmed lorsqu'on lance une recherche pour le mot clef « sublingual microcirculation »). En outre, ces boucles associées aux auto-citations font qu'il est souvent difficile de retrouver le support expérimental des arguments développés. Ils imposent ainsi leurs concepts par la force plutôt que par des démonstrations réellement convaincantes. Pour que ma critique ne paraisse pas infondée, il me semble qu'il est nécessaire de présenter quelques exemples qui illustrent les reproches que je leur adresse. Dans un article récent, intitulé à tort « *Assessment of sublingual microcirculation in critically ill patients: consensus and debate* »²³⁴, parce qu'il n'est ni un consensus, ni ne développe réellement les sujets caution à débat, Dilken, Ergin et Ince introduisent les vidéomicroscopes ainsi (après traduction) : « Pendant des décennies, de nouveaux outils et méthodes ont été développés pour évaluer la microcirculation chez les patients gravement malades. Cependant, aucune de ces méthodes n'a réussi à faire la distinction entre les différents types de chocs et n'a permis d'identifier la pathologie microcirculatoire sous-jacente, à l'exception de la surveillance de la microcirculation sublinguale à l'aide de vidéomicroscopes. À cet égard, l'évaluation de la microcirculation sublinguale pour diagnostiquer une pathologie sous-jacente ou pour guider la thérapeutique mérite une attention particulière lors de l'examen hémodynamique du patient gravement malade ». Aucune source bibliographique n'est associée à cette affirmation outrancière. A ma connaissance il n'existe aucune preuve (mais peut-être me que je me trompe) soutenant l'idée qu'il soit possible de diagnostiquer le type de choc à l'aide de cette outil (encore faudrait-il savoir à quelle typologie les auteurs font référence : celle de Weil et Shubbin ? A leur propre typologie des chocs basée sur la nature des anomalies microcirculatoires ?). De même, si des études décrivent l'évolution de la microcirculation évaluée par vidéomicroscopie lors d'épreuve thérapeutiques (nombreuses sont citées dans la deuxième partie de la thèse), il n'existe (à ma connaissance) aucune donnée publiée montrant qu'il est possible, actuellement, en pratique, de diriger la prise en charge thérapeutique grâce à la vidéomicroscopie. Plus loin dans l'article, ils précisent « Cette technique, aujourd'hui largement utilisée, permet d'identifier la pathologie sous-jacente au point de service au chevet du patient (1). » en s'appuyant sur l'article de consensus, qui n'est clairement pas une source adéquate pour ce genre d'affirmation. De plus, il n'existe pas de données publiées concernant la fréquence d'utilisation de cet appareil. En regard du nombre total de réanimateurs, le nombre de ceux utilisant un vidéomicroscope doit être bien faible et doit sûrement se cantonner à une activité de recherche,

plutôt qu'à une véritable utilisation clinique. Les auteurs concluent ainsi cet article de mauvaise facture : « L'évaluation de la microcirculation sublinguale avec des vidéomicroscopes peut fournir des informations physiopathologiques précieuses concernant les mécanismes sous-jacents, au type et à la gravité du choc, et fournir des indications sur le type et la quantité des traitements à administrer. On s'attend à ce que la stratégie microcirculatoire axée sur les objectifs dans un lieu de soins, avec la technologie améliorée nouvellement introduite, puisse fournir une nouvelle génération de plateforme de réanimation hémodynamique ». En 2018, le journal *Intensive Care Medicine*, organisait un exercice intéressant : un débat autour de la question « Est ce que la réanimation peut être guidée par la microcirculation ? » sous la forme de trois éditoriaux (« oui »³⁰⁸, « non »³⁰⁹, « nous ne sommes pas sûrs »³¹⁰). Dans la réponse « oui », co-écrite par Legrand, Ait-Oufella et Ince, on peut de nouveau lire la liste des bienfaits de la vidéomicroscopie et notamment sa capacité à identifier les différents types de chocs et les traitements optimaux associés, sans qu'aucune référence convaincante ne soit utilisée. Les auteurs terminent leur argumentaire plus prudemment que dans l'article de Dilken et col : « Il faut cependant souligner que le sujet présenté dans cet article concernant l'efficacité clinique de la correction de troubles de microcirculation devra être démontré dans de futures investigations cliniques. Cibler la microcirculation en tant qu'objectif clinique manque actuellement de données cliniques et devrait être considéré comme un programme de recherche dans un proche avenir où des études cliniques devront être menées ». Précisons que cette idée de « programme de recherche à développer » n'a rien de récent et qu'elle est avancée depuis plus de 20 ans, sans qu'aucune découverte réellement révolutionnaire en termes de thérapeutique n'ait été faite (comme le souligne Naumann et Lima dans la réponse « non »³⁰⁹), et sans que cela n'altère (visiblement) la foi des auteurs dans cet outil. Pourtant, je le répète, il ne me semble pas qu'il faille abandonner complètement l'idée et enterrer définitivement les vidéomicroscopes. Il faudrait en revanche réduire le niveau de *lobbying* idéologique réalisé autour de cette technologie et ajuster l'intensité de l'argumentation au niveau de preuve, car, « les hommes qui ont une foi excessive dans leur théorie ou dans leurs idées sont non seulement mal disposés pour faire des découvertes, mais ils font aussi de très mauvaises observations »³⁰⁵. L'éditorial « nous ne sommes pas sûrs »³¹⁰ de Monnet et Saugel apporte une réponse pondérée à la question posée par le journal *Intensive Care Medicine* et est sûrement la plus intéressante des trois.

Au cours de mon travail de thèse j'ai vécu une véritable conversion idéologique concernant la vidéomicroscopie. Initialement très enthousiaste, d'autant plus après la lecture des nombreux articles qui présentent à l'excès les vertus de l'outil, je termine cette thèse, très circonspect, après un peu plus de deux années de pratique, comme cela a pu transparaître précédemment. Les limites

pratiques à son utilisation me semblent immenses et insurmontables dans l'état actuel des choses. Ces limites, dont certaines ont été présentées dans la première partie de la thèse, sont bien résumées dans le papier de Naumann et Lima³⁰⁹, je ne les rappellerai pas ici. Je me suis donc demandé quelles étaient les raisons pour lesquelles des auteurs comme Can Ince pouvaient, après plus de 25 ans de recherche sur le sujet, persister à faire une promotion sans borne de cette technique. Les réponses que j'envisage sont les suivantes : premièrement, je pourrais me fourvoyer complètement et ne pas parvenir, a tort, à comprendre toutes les subtilités de l'utilisation du vidéomicroscope. Je pourrais ne pas être un bon technicien, malgré la formation qui m'a été apportée, et ainsi ne pas disposer d'une bonne maîtrise de l'appareil. Je pourrais ainsi ne pas percevoir tout le potentiel pratique de la vidéomicroscopie.

La persistance des croyances fortes autour de la vidéomicroscopie pourrait également s'expliquer par des raisons d'ordre cognitif et notamment par un « biais cognitif » rattaché à la notion de dépense gâchée (ou coûts irrécupérables). Pour le résumé simplement, l'effet de coût irrécupérable se manifeste par une plus grande tendance à poursuivre une entreprise, à persister dans une croyance, une fois qu'un investissement en argent, en effort ou en temps a été fait³¹¹.

Une troisième possibilité reposerait sur des motivations d'ordre non scientifique potentiellement associées au fonctionnement actuel de la recherche. Je m'explique : pour le dire très (trop) simplement, il me semble que l'objectif d'un chercheur est de résoudre des énigmes, comprendre et expliquer des phénomènes par des déterminismes naturels et que sa motivation doit reposer (entre autres) sur la volonté de comprendre. Aujourd'hui, je crois que les politiques d'orientation et de financement de la recherche peuvent induire un changement dans les motivations des chercheurs. Ces derniers sont poussés à publier plus et doivent développer, lorsqu'ils répondent à des appels à projet par exemple, une argumentation appuyée dans laquelle il leur est demandé de démontrer l'originalité et l'intérêt pratique de leur sujet de recherche s'ils souhaitent obtenir des financements, tout cela dans un contexte de compétition intense. Ces politiques, qui reposent initialement sur de « bonnes intentions » (favoriser la recherche la plus utile, réalisée par les personnes les plus aptes) peuvent, *in fine*, s'avérer contre-productives en encourageant des comportements délétères (« l'enfer est pavé de bonnes intentions »). Ainsi, il est facile de comprendre pourquoi l'on peut être amené à publier massivement les mêmes informations et à mettre en avant, sans pondération, les thèses que l'on soutient.

Enfin, d'autres forces peuvent influencer la recherche et le comportement des chercheurs : c'est par exemple le cas des enjeux financiers. Une personne qui développe une nouvelle technique et qui profite financièrement des retombées de sa découverte a tout intérêt à ce qu'elle se diffuse largement. Je ne sous-entends pas par-là que Can Ince ait nécessairement des conflits d'intérêt,

j'essaie simplement d'envisager la liste des possibles. Sans être des preuves irréfutables, certains éléments éveillent la curiosité : Can Ince est déclaré comme l'inventeur du vidéomicroscope SDF développé par MicroVision medical et la société Braedius medical, qui a mis au point le vidéomicroscope IDF appartient, en partie, à un de ses parents. Cependant, Can Ince déclare n'avoir aucune relation financière avec ces sociétés. Il a également créé la « Microcirculation Academy » (<https://www.microcirculationacademy.org/book-training>)²⁴⁰ qui dispense des formations payantes à l'utilisation du vidéomicroscope et qui correspondent au type de formation qu'il est recommandé de faire dans le consensus dont il est le premier auteur.

Les preuves en faveur de l'importance physiologique des troubles de la perfusion tissulaire dans les états de choc sont plutôt fortes, j'ai essayé de les présenter dans l'introduction de ce travail. Mon avis concernant leur évaluation est qu'il est fort probable qu'on ne puisse pas trouver une technologie miracle sur laquelle serait basée, seule, la prise en charge des patients (en tous cas pas dans celle que j'ai évoquée précédemment). D'autant plus que toutes ces technologies n'étudient pas la même chose et sont quasiment incomparables puisqu'elles travaillent à des échelles différentes : la thermographie (utilisée comme évoqué précédemment) étudie la perfusion d'un membre ; la photopléthysmographie, celle d'un petit volume tissulaire et la vidéomicroscopie évalue la perfusion des microvaisseaux. Il me semble plus raisonnable d'imaginer pouvoir optimiser la prise en charge thérapeutique par des approches multimodales, comme évoqué dans la théorie holistique d'Hernandez⁸⁶, de mesure de la perfusion tissulaire, en réévaluant les recommandations de prise en charge actuelle (par exemple sur les objectifs thérapeutiques de l'EGDT) et en réussissant à trouver un équilibre entre le soutien de la macrocirculation et celui de la perfusion tissulaire^{312,313} : autant dire qu'il s'agit d'un projet vaste et complexe. Enfin, il est possible que des outils simples, comme la mesure du TRC ou du *mottling score*, s'avèrent finalement aussi utiles que des technologies complexes.

II. La quête de la pierre philosophale

Partant du constat qu'un lien de causalité devait exister entre les troubles perfusionnels, les défaillances d'organes et les décès, de nombreuses études ont eu pour objet la recherche d'un médicament visant à corriger les troubles de la perfusion tissulaire et particulièrement de la

microcirculation lors de choc septique. Ces études (dont les nôtres) partent souvent du principe qu'il est possible de découvrir un médicament universel, efficace chez tous les patients en choc septique. Malheureusement, la grande majorité de ces études se sont révélées être des échecs ou des faux espoirs, et c'est notamment le cas de notre étude sur le pimobendane.

La difficulté sous-jacente à ce constat d'échec est la suivante : doit-on abandonner les substances qui ne se sont pas révélées efficaces, changer les modalités d'administration, les critères d'inclusion des patients ou encore la nature des modèles expérimentaux utilisés. Dans le cas de la fameuse étude sur le levosimendan réalisée par Gordon et col, il est fort probable que les critères d'inclusion utilisés (c'est à dire tout adulte en choc septique) n'ait pas été des plus adéquats²⁹⁴. Dans notre étude évaluant l'effet du pimobendane dans un modèle porcin de choc septique, il est très possible que le choix du modèle n'ait pas été pertinent, comme argumenté à la fin de la deuxième partie. Mais dans ces deux exemples il est aussi possible que le médicament évalué n'ait pas vraiment l'intérêt thérapeutique escompté.

Compte tenu de la complexité des origines physiopathologiques envisagées des troubles de la perfusion tissulaire et microcirculatoire il me paraît difficile d'envisager qu'un seul traitement puisse corriger tous les types de troubles de la perfusion tissulaire/microcirculatoire, chez tous les patients, particulièrement lors de syndromes septiques. Plusieurs voies de recherche me semblent plus rationnelles : identifier des biomarqueurs permettant de connaître l'origine des troubles microcirculatoires, patient par patient, et les corriger avec le traitement le plus adapté, ou envisager une approche thérapeutique d'emblée multimodale, administrée à tous les patients et agissant sur l'ensemble des mécanismes les plus probablement en jeu dans l'installation des anomalies perfusionnelles. Ces idées correspondent aux deux philosophies opposées d'un débat : une thérapie complètement individualisée *versus* une thérapie complètement protocolaire, débat clairement d'actualité, notamment dans le cadre du choc septique^{306,314,315}.

III. La complexité du biologique comme obstacle à la connaissance

Les états de choc en général et le sepsis (choc septique) en particulier, sont des syndromes d'une complexité incommensurable. L'introduction avait pour objectif de tenter d'illustrer cette complexité, sans avoir la prétention d'en dépendre la réalité vraie. Dès les débuts de la physiologie moderne, Claude Bernard soulignait l'immense complexité du vivant et les difficultés expérimentales qui en découlent : « L'analyse expérimentale est le seul moyen que nous ayons pour aller à la recherche de la vérité dans les sciences naturelles ; le *déterminisme absolu* des phénomènes dont nous avons conscience a priori est le seul criterium ou le seul principe qui nous dirige et nous soutienne. Malgré nos efforts, nous sommes encore bien loin de cette vérité absolue ; et il est probable, surtout dans les sciences biologiques, qu'il ne nous sera jamais donné de la voir dans sa nudité. Mais cela n'a pas de quoi nous décourager [...] ». Si cette citation date de 1865, elle semble pourtant toujours d'actualité, notamment pour les syndromes dont nous traitons.

La complexité du sepsis se manifeste par une multitude d'interactions, parfois agonistes, parfois antagonistes, entre une multitude d'acteurs biologiques dans l'ensemble de l'organisme puisqu'il s'agit d'un syndrome complètement systémique. Comme le dit Claude Bernard, cette complexité est un obstacle à l'accroissement des savoirs puisqu'elle nous limite, voire nous interdit, la connaissance de l'ensemble des interactions physiologiques qui constituent la structure physiopathologique du syndrome. En outre, les définitions issues de consensus et présentées dans l'introduction reposent sur des critères cliniques et biologiques et non sur les mécanismes physiopathologiques sous-jacents. Ainsi, on regroupe dans le même syndrome des patients qui expriment des tableaux cliniques et biologiques qui présentent, *in fine*, de grandes similitudes, mais dont les réalités physiologiques, c'est à dire les trajectoires qui ont conduit à l'apparition du tableau caractéristique du syndrome, pourraient bien être très différentes d'un patient à l'autre. Autrement dit, nous définissons les choses sur la base de leur apparence plutôt que sur celle de leur constitution. Cette affirmation semble évidente et ne surprendra personne puisque l'on sait bien que les patients en choc sepsis présentent des types d'infection différents, des sites d'origine différents, des caractéristiques épidémiologiques différentes etc...

En outre, cette complexité s'oppose à la mise au point de modèles animaux parfaitement adaptés. Et ainsi, il est fort probable que la succession des échecs qui jalonnent l'histoire de la recherche d'une meilleure prise en charge thérapeutique du sepsis soit le fait de cette complexité biologique, obstacle qui peut sembler insurmontable. Cependant, depuis quelques années, plusieurs auteurs étudient l'existence et la caractérisation de phénotypes différents du sepsis, chez l'homme ou dans les modèles animaux^{316,317}. L'identification de ces phénotypes pourrait nous aider à mieux

sélectionner les patients/modèles sur lesquels travailler. Il est possible que de nouvelles méthodes d'investigation, basées sur les nouvelles technologies et l'intelligence artificielle, puissent nous aider à surmonter ces difficultés et transcendent la méthode expérimentale si chère à Claude Bernard^{318,319}. Mais pour le moment, ne vendons pas la peau de l'ours avant de l'avoir tué. La méthode expérimentale reste la méthode de référence pour une médecine scientifique. Le travail concernant la compréhension des états de choc et leur prise en charge reste immense et les obstacles nombreux. Mais comme Claude Bernard, ne perdons pas l'espoir car, comme le dit un autre grand philosophe : « demain, les cerisiers seront en fleur, le soleil brillera, c'est le printemps [...], la vie vaut la peine d'être vécue »³²⁰.

Le 20 mars 2021.

Références

1. Manji RA, Wood KE, Kumar A. The History and Evolution of Circulatory Shock. *Crit Care Clin.* 2009 Jan 1;25(1):1–29.
2. Millham FH. A brief history of shock. *Surgery.* 2010 Nov;148(5):1026–37.
3. Blalock A. Shock and Hemorrhage. *Bull N Y Acad Med.* 1936 Nov;12(11):610–22.
4. Bloch JH, Dietzman RH, Pierce CH, Lillehei RC. THEORIES OF THE PRODUCTION OF SHOCK. *Br J Anaesth.* 1966 Apr;38(4):234–49.
5. Jordan F. On Shock after Surgical Operations and Injuries. *Br Med J.* 1867 Feb 23;1(321):192–3.
6. Ince C. Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation. *Crit Care.* 2015;19(Suppl 3):S8.
7. Kelm DJ, Perrin JT, Cartin-Ceba R, Gajic O, Schenck L, Kennedy CC. Fluid Overload in Patients with Severe Sepsis and Septic Shock Treated with Early-Goal Directed Therapy is Associated with Increased Acute Need for Fluid-Related Medical Interventions and Hospital Death. *Shock Augusta Ga.* 2015 Jan;43(1):68–73.
8. ARISE Investigators, ANZICS Clinical Trials Group, Peake SL, Delaney A, Bailey M, Bellomo R, et al. Goal-directed resuscitation for patients with early septic shock. *N Engl J Med.* 2014 Oct 16;371(16):1496–506.
9. Pascal Quignard. *Les ombres errantes.* Grasset. 2002.
10. Hall JE, Hall ME. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology E-Book.* Elsevier Health Sciences; 2020. 1156 p.
11. Vincent J-L, De Backer D. Circulatory Shock. *N Engl J Med.* 2013 Oct 31;369(18):1726–34.
12. Cecconi M, De Backer D, Antonelli M, Beale R, Bakker J, Hofer C, et al. Consensus on circulatory shock and hemodynamic monitoring. Task force of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 2014 Dec;40(12):1795–815.
13. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest.* 1992 Jun;101(6):1644–55.
14. Czura CJ. ‘Merinoff symposium 2010: sepsis’-speaking with one voice. *Mol Med Camb Mass.* 2011 Feb;17(1–2):2–3.
15. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016 Feb 23;315(8):801–10.
16. Ferraris A, Bouisse C, Mottard N, Thiollière F, Anselin S, Piriou V, et al. Mottling score and skin temperature in septic shock: Relation and impact on prognosis in ICU. *PLoS ONE.* 2018
17. Dubin A, Henriquez E, Hernández G. Monitoring peripheral perfusion and microcirculation. *Curr Opin Crit Care.* 2018;24(3):173–80.
18. Hariri G, Joffre J, Leblanc G, Bonsey M, Lavillegrand J-R, Urbina T, et al. Narrative review: clinical assessment of peripheral tissue perfusion in septic shock. *Ann Intensive Care.* 2019.
19. Kiyatkin ME, Bakker J. Lactate and microcirculation as suitable targets for hemodynamic optimization in resuscitation of circulatory shock. *Curr Opin Crit Care.* 2017 Aug;23(4):348–54.
20. Santos DM dos, Quintans JSS, Quintans-Junior LJ, Santana-Filho VJ, Cunha CLP da,

- Menezes IAC, et al. Association between peripheral perfusion, microcirculation and mortality in sepsis: a systematic review. *Rev Bras Anesthesiol*. 2019 Dec;69(6):605–21.
21. Lima AAP, Silva E, editors. *Monitoring Tissue Perfusion in Shock: From Physiology to the Bedside*. Springer International Publishing; 2018.
 22. Lima A, Bakker J. Clinical monitoring of peripheral perfusion: there is more to learn. *Crit Care*. 2014 Feb 21;18(1):113.
 23. Lima A, Bakker J. Noninvasive monitoring of peripheral perfusion. *Intensive Care Med*. 2005 Oct 1;31(10):1316–26.
 24. Johnson PC. Introduction. In: *Comprehensive Physiology* [Internet]. American Cancer Society; 2011. p. xi–xxiv. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cphy.cp0204fm02>
 25. Furst B. Microcirculation. In: Furst B, editor. *The Heart and Circulation: An Integrative Model* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [cited 2020 Sep 30]. p. 245–60. Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-030-25062-1_21
 26. Ince C, De Backer D, Mayeux PR. Microvascular Dysfunction in the Critically Ill. *Crit Care Clin*. 2020 Apr;36(2):323–31.
 27. Guven G, Hilty MP, Ince C. Microcirculation: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Application. *Blood Purif*. 2020;49(1–2):143–50.
 28. Weil MH, Shubin H. Proposed reclassification of shock states with special reference to distributive defects. *Adv Exp Med Biol*. 1971 Oct;23(0):13–23.
 29. Kislitsina ON, Rich JD, Wilcox JE, Pham DT, Churyla A, Vorovich EB, et al. Shock – Classification and Pathophysiological Principles of Therapeutics. *Curr Cardiol Rev*. 2019 May;15(2):102–13.
 30. Moranville MP, Mieure KD, Santayana EM. Evaluation and management of shock States: hypovolemic, distributive, and cardiogenic shock. *J Pharm Pract*. 2011 Feb;24(1):44–60.
 31. Tan JMT, Brunner MP. Shock. In: Askari AT, Messerli AW, editors. *Cardiovascular Hemodynamics: An Introductory Guide* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2019 [cited 2020 Oct 13]. p. 337–50. (Contemporary Cardiology). Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-030-19131-3_21
 32. Standl T, Annecke T, Cascorbi I, R. Heller A, Sabashnikov A, Teske W. The Nomenclature, Definition and Distinction of Types of Shock. *Dtsch Arztebl Int*. 2018 Nov;115(45):757–68.
 33. Lambden S, Creagh-Brown BC, Hunt J, Summers C, Forni LG. Definitions and pathophysiology of vasoplegic shock. *Crit Care* [Internet]. 2018 Jul 6 [cited 2018 Nov 7];22. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6035427/>
 34. Weil MH. Personal commentary on the diagnosis and treatment of circulatory shock states. *Curr Opin Crit Care*. 2004 Aug;10(4):246–9.
 35. Guyton AC, Crowell JW. Cardiac Deterioration in Shock: I. Its Progressive Nature. *Int Anesthesiol Clin*. 1999 Winter;37(1):119–28.
 36. Crowell JW, Smith EE. OXYGEN DEFICIT AND IRREVERSIBLE HEMORRHAGIC SHOCK. *Am J Physiol*. 1964 Feb;206:313–6.
 37. Holler JG, Henriksen DP, Mikkelsen S, Rasmussen LM, Pedersen C, Lassen AT. Shock in the emergency department; a 12 year population based cohort study. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2016 Jun 30;24(1):87.
 38. De Backer D, Biston P, Devriendt J, Madl C, Chochrad D, Aldecoa C, et al. Comparison of Dopamine and Norepinephrine in the Treatment of Shock. *N Engl J Med*. 2010 Mar 4;362(9):779–89.
 39. Berg David D., Bohula Erin A., van Diepen Sean, Katz Jason N., Alviar Carlos L., Baird-Zars Vivian M., et al. Epidemiology of Shock in Contemporary Cardiac Intensive Care Units. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2019 Mar 1;12(3):e005618.
 40. Russell JA, Rush B, Boyd J. Pathophysiology of Septic Shock. *Crit Care Clin*. 2018 Jan

1;34(1):43–61.

41. Vincent J-L, Jones G, David S, Olariu E, Cadwell KK. Frequency and mortality of septic shock in Europe and North America: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Lond Engl*. 2019 May 31;23(1):196.
42. Markwart R, Saito H, Harder T, Tomczyk S, Cassini A, Fleischmann-Struzek C, et al. Epidemiology and burden of sepsis acquired in hospitals and intensive care units: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*. 2020 Aug 1;46(8):1536–51.
43. Chioncel O, Parissis J, Mebazaa A, Thiele H, Desch S, Bauersachs J, et al. Epidemiology, pathophysiology and contemporary management of cardiogenic shock – a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail*. 2020;22(8):1315–41.
44. Kauvar DS, Lefering R, Wade CE. Impact of Hemorrhage on Trauma Outcome: An Overview of Epidemiology, Clinical Presentations, and Therapeutic Considerations. *J Trauma Acute Care Surg*. 2006 Jun;60(6):S3.
45. Moore KE, Murtaugh RJ. Pathophysiologic Characteristics Of Hypovolemic Shock. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2001 Nov 1;31(6):1115–28.
46. Schadt JC, Ludbrook J. Hemodynamic and neurohumoral responses to acute hypovolemia in conscious mammals. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol* [Internet]. 1991 Feb 1 [cited 2020 Oct 15]; Available from: <https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/ajpheart.1991.260.2.H305>
47. Martin C, Vallet B, Riou B. *Physiologie humaine appliquée (2e édition)*. ARNETTE. Available from: https://www.jle.com/fr/ouvrages/e-docs/physiologie_humaine_appliquee_2e_edition__307715/ouvrage.phtml
48. *Basic & Clinical Pharmacology, 14e | AccessMedicine | McGraw-Hill Medical*. Available from: <https://accessmedicine.mhmedical.com/book.aspx?bookID=2249>
49. Dudoignon E, Dépret F, Legrand M. Is the Renin-Angiotensin-Aldosterone System Good for the Kidney in Acute Settings? *Nephron*. 2019;143(3):179–83.
50. Groeneveld ABJ. Redistribution of blood flow in hypovolemic and septic shock: Clinical and animal studies. *Réanimation Urgences*. 1996 Jan 1;5(2, Part 2):224–37.
51. Filho IT. Hemorrhagic Shock and the Microvasculature. In: *Comprehensive Physiology*. American Cancer Society; 2017. p. 61–101. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cphy.c170006>
52. van Iterson M, Bezemer R, Heger M, Siegemund M, Ince C. Microcirculation follows macrocirculation in heart and gut in the acute phase of hemorrhagic shock and isovolemic autologous whole blood resuscitation in pigs. *Transfusion (Paris)*. 2012 Jul;52(7):1552–9.
53. Clifford PS. Local control of blood flow. *Adv Physiol Educ*. 2011 Mar 1;35(1):5–15.
54. Reglin B, Pries AR. Metabolic Control of Microvascular Networks: Oxygen Sensing and Beyond. *J Vasc Res*. 2014;51(5):376–92.
55. *Levick's Introduction to Cardiovascular Physiology*. Taylor & Francis Group. Available from: <https://www.taylorfrancis.com/books/9781351107754>
56. Bagher P, Segal SS. Regulation of blood flow in the microcirculation: role of conducted vasodilation. *Acta Physiol Oxf Engl*. 2011 Jul;202(3):271–84.
57. Segal SS. Regulation of blood flow in the microcirculation. *Microcirc N Y N* 1994. 2005 Feb;12(1):33–45.
58. Traber DL. Hypovolemia: An Integration of Organ System Physiology. In: Vincent J-L, editor. *Intensive Care Medicine*. New York, NY: Springer; 2003. p. 585–93.
59. Zhang C, Rogers PA, Merkus D, Muller-Delp JM, Tiefenbacher CP, Potter B, et al. Regulation of Coronary Microvascular Resistance in Health and Disease. In: *Comprehensive Physiology*. American Cancer Society; 2011. p. 521–49. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cphy.cp020412>
60. Fitzsimons JT. Angiotensin, Thirst, and Sodium Appetite. *Physiol Rev*. 1998 Jan

7;78(3):583–686.

61. Cannon JW. Hemorrhagic Shock. *N Engl J Med*. 2018 Jan 24; Available from: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1705649>
62. de Jong PR, González-Navajas JM, Jansen NJG. The digestive tract as the origin of systemic inflammation. *Crit Care*. 2016;20(1):279.
63. Foëx BA. Bacterial translocation in hemorrhagic shock: Are we any wiser? *Crit Care Med*. 2005 May;33(5):1166–7.
64. Chaudry IH, Ayala A. Mechanism of increased susceptibility to infection following hemorrhage. *Am J Surg*. 1993 Feb 1;165(2, Supplement):59S–67S.
65. Gong T, Liu L, Jiang W, Zhou R. DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(2):95–112.
66. Raymond SL, Holden DC, Mira JC, Stortz JA, Loftus TJ, Mohr AM, et al. Microbial recognition and danger signals in sepsis and trauma. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2017;1863(10 Pt B):2564–73.
67. Webb RC. Smooth muscle contraction and relaxation. *Adv Physiol Educ*. 2003 Dec;27(1–4):201–6.
68. Landry DW, Oliver JA. The pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med*. 2001 Aug 23;345(8):588–95.
69. Cauwels A. Nitric oxide in shock. *Kidney Int*. 2007 Sep 1;72(5):557–65.
70. Hirst DG, Robson T. Nitric oxide physiology and pathology. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2011;704:1–13.
71. Oudemans-van Straaten HM, Man AMS, de Waard MC. Vitamin C revisited. *Crit Care*. 2014;18. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4423646/>
72. Mombouli J-V, Vanhoutte PM. Endothelial Dysfunction: From Physiology to Therapy. *J Mol Cell Cardiol*. 1999 Jan 1;31(1):61–74.
73. Majed BH, Khalil RA. Molecular Mechanisms Regulating the Vascular Prostacyclin Pathways and Their Adaptation during Pregnancy and in the Newborn. *Pharmacol Rev*. 2012 Jul;64(3):540–82.
74. Drosatos K, Lymperopoulos A, Kennel PJ, Pollak N, Schulze PC, Goldberg IJ. Pathophysiology of Sepsis-Related Cardiac Dysfunction: Driven by Inflammation, Energy Mismanagement, or Both? *Curr Heart Fail Rep*. 2015 Apr;12(2):130–40.
75. Lahiry S, Thakur S, Chakraborty DS. Advances in Vasodilatory Shock: A Concise Review. *Indian J Crit Care Med Peer-Rev Off Publ Indian Soc Crit Care Med*. 2019 Oct;23(10):475–80.
76. Greer JR. Pathophysiology of cardiovascular dysfunction in sepsis. *BJA Educ*. 2015 Dec 1;15(6):316–21.
77. Ince C, Sinaasappel M. Microcirculatory oxygenation and shunting in sepsis and shock. *Crit Care Med*. 1999 Jul;27(7):1369–77.
78. Haren DFMP van, Sleigh JW, Pickkers R, Hoeven JGVD. Gastrointestinal Perfusion in Septic Shock: *Anaesth Intensive Care*. 2019 Jan 22; Available from: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0310057X0703500505?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed
79. O'Brien C, Beaubien-Souligny W, Amsallem M, Denault A, Haddad F. Cardiogenic Shock: Reflections at the Crossroad Between Perfusion, Tissue Hypoxia, and Mitochondrial Function. *Can J Cardiol*. 2020 Feb 1;36(2):184–96.
80. Parrillo JE. Cardiovascular dysfunction in septic shock: new insights into a deadly disease. *Int J Cardiol*. 1985 Mar 1;7(3):314–21.
81. Groeneveld AB, Bronsveld W, Thijs LG. Hemodynamic determinants of mortality in human septic shock. *Surgery*. 1986 Feb;99(2):140–53.
82. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med*. 2017 Mar;43(3):304–77.

83. Demiselle J, Fage N, Radermacher P, Asfar P. Vasopressin and its analogues in shock states: a review. *Ann Intensive Care*. 2020 Jan 22;10(1):9.
84. Corrêa TD, Takala J, Jakob SM. Angiotensin II in septic shock. *Crit Care*. 2015 Mar 16;19(1):98.
85. Rivers EP, Jaehne AK, Eichhorn-Wharry L, Brown S, Amponsah D. Fluid therapy in septic shock. *Curr Opin Crit Care*. 2010 Aug;16(4):297–308.
86. Hernandez G, Bruhn A, Castro R, Regueira T. The holistic view on perfusion monitoring in septic shock: *Curr Opin Crit Care*. 2012 Jun;18(3):280–6.
87. Kakihana Y, Ito T, Nakahara M, Yamaguchi K, Yasuda T. Sepsis-induced myocardial dysfunction: pathophysiology and management. *J Intensive Care*. 2016 Mar 23;4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4804632/>
88. Sato R, Nasu M. A review of sepsis-induced cardiomyopathy. *J Intensive Care*. 2015 Dec;3(1):48.
89. Parker MM, Shelhamer JH, Bacharach SL, Green MV, Natanson C, Frederick TM, et al. Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock. *Ann Intern Med*. 1984 Apr;100(4):483–90.
90. Charpentier J, Luyt C-E, Fulla Y, Vinsonneau C, Cariou A, Grabar S, et al. Brain natriuretic peptide: A marker of myocardial dysfunction and prognosis during severe sepsis. *Crit Care Med*. 2004 Mar;32(3):660–5.
91. Koziol JM, Rush BF, Smith SM, Machiedo GW. Occurrence of bacteremia during and after hemorrhagic shock. *J Trauma*. 1988 Jan;28(1):10–6.
92. Deitch EA, Xu D-Z, Lu Q. Gut lymph hypothesis of early shock and trauma-induced multiple organ dysfunction syndrome: A new look at gut origin sepsis. *J Organ Dysfunct*. 2006 Jan 1;2(2):70–9.
93. Kohsaka S, Menon V, Lowe AM, Lange M, Dzavik V, Sleeper LA, et al. Systemic inflammatory response syndrome after acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Arch Intern Med*. 2005 Jul 25;165(14):1643–50.
94. Prondzinsky R, Unverzagt S, Lemm H, Wegener N-A, Schlitt A, Heinroth KM, et al. Interleukin-6, -7, -8 and -10 predict outcome in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Clin Res Cardiol Off J Ger Card Soc*. 2012 May;101(5):375–84.
95. Parenica J, Jarkovsky J, Malaska J, Mebazaa A, Gottwaldova J, Helanova K, et al. Infectious Complications and Immune/Inflammatory Response in Cardiogenic Shock Patients: A Prospective Observational Study. *Shock Augusta Ga*. 2017;47(2):165–74.
96. Lim CL. Heat Sepsis Precedes Heat Toxicity in the Pathophysiology of Heat Stroke—A New Paradigm on an Ancient Disease. *Antioxidants*. 2018 Oct 25;7(11). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6262330/>
97. Sertaridou E, Papaioannou V, Kolios G, Pneumatikos I. Gut failure in critical care: old school versus new school. *Ann Gastroenterol*. 2015 Sep;28(3):309–22.
98. Otani S, Coopersmith CM. Gut integrity in critical illness. *J Intensive Care*. 2019 Mar 20;7(1):17.
99. Lelubre C, Vincent J-L. Mechanisms and treatment of organ failure in sepsis. *Nat Rev Nephrol*. 2018;14(7):417–27.
100. De Backer D, Orbegozo Cortes D, Donadello K, Vincent J-L. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. *Virulence*. 2014 Jan 1;5(1):73–9.
101. Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, Gomez H, Kellum JA, Ospina-Tascón GA, et al. THE ENDOTHELIUM IN SEPSIS. *Shock Augusta Ga*. 2016 Mar;45(3):259–70.
102. Camicia G, Pozner R, de Larrañaga G. Neutrophil Extracellular Traps in Sepsis. *Shock*. 2014 Oct;42(4):286–94.
103. Hotchkiss RS, Moldawer LL, Opal SM, Reinhart K, Turnbull IR, Vincent J-L. Sepsis and septic shock. *Nat Rev Dis Primer*. 2016 Jun 30;2(1):1–21.

104. Ince C. The microcirculation is the motor of sepsis. *Crit Care*. 2005;9(Suppl 4):S13–9.
105. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early Goal-Directed Therapy in the Treatment of Severe Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med*. 2001 Nov 8;345(19):1368–77.
106. ProCESS Investigators, Yealy DM, Kellum JA, Huang DT, Barnato AE, Weissfeld LA, et al. A randomized trial of protocol-based care for early septic shock. *N Engl J Med*. 2014 May 1;370(18):1683–93.
107. Mouncey PR, Osborn TM, Power GS, Harrison DA, Sadique MZ, Grieve RD, et al. Trial of early, goal-directed resuscitation for septic shock. *N Engl J Med*. 2015 Apr 2;372(14):1301–11.
108. Massey MJ, Hou PC, Filbin M, Wang H, Ngo L, Huang DT, et al. Microcirculatory perfusion disturbances in septic shock: results from the ProCESS trial. *Crit Care*. 2018 Nov 20;22. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6245723/>
109. Cinel I, Kasapoglu US, Gul F, Dellinger RP. The initial resuscitation of septic shock. *J Crit Care*. 2020 Jun 1;57:108–17.
110. Hamzaoui O, Teboul J-L. Importance of diastolic arterial pressure in septic shock: PRO. *J Crit Care*. 2019;51:238–40.
111. Verdant CL, De Backer D, Bruhn A, Clausi CM, Su F, Wang Z, et al. Evaluation of sublingual and gut mucosal microcirculation in sepsis: a quantitative analysis. *Crit Care Med*. 2009 Nov;37(11):2875–81.
112. van Genderen ME, Klijn E, Lima A, de Jonge J, Sleswijk Visser S, Voorbeijtel J, et al. Microvascular perfusion as a target for fluid resuscitation in experimental circulatory shock. *Crit Care Med*. 2014 Feb;42(2):e96–105.
113. Varpula M, Tallgren M, Saukkonen K, Voipio-Pulkki L-M, Pettilä V. Hemodynamic variables related to outcome in septic shock. *Intensive Care Med*. 2005 Aug 1;31(8):1066–71.
114. Sakr Y, Dubois M-J, De Backer D, Creteur J, Vincent J-L. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. *Crit Care Med*. 2004 Sep;32(9):1825–31.
115. De Backer D, Creteur J, Preiser J-C, Dubois M-J, Vincent J-L. Microvascular Blood Flow Is Altered in Patients with Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Jul 1;166(1):98–104.
116. Asfar P, Meziani F, Hamel J-F, Grelon F, Megarbane B, Anguel N, et al. High versus Low Blood-Pressure Target in Patients with Septic Shock. *N Engl J Med*. 2014 Apr 24;370(17):1583–93.
117. Slade E, Tamber PS, Vincent J-L. The Surviving Sepsis Campaign: raising awareness to reduce mortality. *Crit Care*. 2003;7(1):1–2.
118. Townsend SR, Schorr C, Levy MM, Dellinger RP. Reducing Mortality in Severe Sepsis: The Surviving Sepsis Campaign. *Clin Chest Med*. 2008 Dec 1;29(4):721–33.
119. De Backer D, Cecconi M, Lipman J, Machado F, Myatra SN, Ostermann M, et al. Challenges in the management of septic shock: a narrative review. *Intensive Care Med*. 2019;45(4):420–33.
120. Paoli CJ, Reynolds MA, Sinha M, Gitlin M, Crouser E. Epidemiology and Costs of Sepsis in the United States—An Analysis Based on Timing of Diagnosis and Severity Level*. *Crit Care Med*. 2018 Dec;46(12):1889–97.
121. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *The Lancet*. 2020 Jan 18;395(10219):200–11.
122. Edul VSK, Enrico C, Laviolle B, Vazquez AR, Ince C, Dubin A. Quantitative assessment of the microcirculation in healthy volunteers and in patients with septic shock. *Crit Care Med*. 2012 May;40(5):1443–8.
123. Trzeciak S, McCoy JV, Dellinger RP, Arnold RC, Rizzuto M, Abate NL, et al. Early Increases in Microcirculatory Perfusion During Protocol-Directed Resuscitation are Associated with Reduced Multi-Organ Failure at 24 hours in Patients with Sepsis. *Intensive Care Med*. 2008

Dec;34(12):2210–7.

124. Hernandez G, Boerma EC, Dubin A, Bruhn A, Koopmans M, Edul VK, et al. Severe abnormalities in microvascular perfused vessel density are associated to organ dysfunctions and mortality and can be predicted by hyperlactatemia and norepinephrine requirements in septic shock patients. *J Crit Care*. 2013 Aug;28(4):538.e9-14.
125. Hernández G, Teboul J-L. Is the macrocirculation really dissociated from the microcirculation in septic shock? *Intensive Care Med*. 2016 Oct;42(10):1621–4.
126. Klijn E, Den Uil CA, Bakker J, Ince C. The Heterogeneity of the Microcirculation in Critical Illness. *Clin Chest Med*. 2008 Dec 1;29(4):643–54.
127. Bakker J, Ince C. Monitoring coherence between the macro and microcirculation in septic shock. *Curr Opin Crit Care*. 2020;26(3):267–72.
128. Chhabra A, Gupta S, Sharma K, Sharma C, Jadeja M. Hemodynamic Coherence and the Microcirculation. 2019;3.
129. Morelli A, Passariello M. Hemodynamic coherence in sepsis. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2016 Dec;30(4):453–63.
130. Howell MD, Donnino M, Clardy P, Talmor D, Shapiro NI. Occult hypoperfusion and mortality in patients with suspected infection. *Intensive Care Med*. 2007 Nov 1;33(11):1892–9.
131. Hernández Poblete GW. A holistic approach for perfusion assessment in septic shock: Basic foundations and clinical applications. 2013. Available from: <https://dare.uva.nl/search?identifier=fbf40183-3534-417a-863d-7717e755795b>
132. Hutchings SD, Naumann DN, Hopkins P, Mellis C, Rizzo P, Sartini S, et al. Microcirculatory Impairment Is Associated With Multiple Organ Dysfunction Following Traumatic Hemorrhagic Shock: The MICROSHOCK Study. *Crit Care Med*. 2018;46(9):e889–96.
133. Jung C, Fuernau G, de Waha S, Eitel I, Desch S, Schuler G, et al. Intraaortic balloon counterpulsation and microcirculation in cardiogenic shock complicating myocardial infarction: an IABP-SHOCK II substudy. *Clin Res Cardiol Off J Ger Card Soc*. 2015 Aug;104(8):679–87.
134. Jouffroy R, Saade A, Tourtier JP, Gueye P, Bloch-Laine E, Ecollan P, et al. Skin mottling score and capillary refill time to assess mortality of septic shock since pre-hospital setting. *Am J Emerg Med*. 2019;37(4):664–71.
135. Ait-Oufella H, Lemoine S, Boelle PY, Galbois A, Baudel JL, Lemant J, et al. Mottling score predicts survival in septic shock. *Intensive Care Med*. 2011 May;37(5):801–7.
136. Ait-Oufella H, Bige N, Boelle PY, Pichereau C, Alves M, Bertinchamp R, et al. Capillary refill time exploration during septic shock. *Intensive Care Med*. 2014 Jul;40(7):958–64.
137. Hernandez G, Pedreros C, Veas E, Bruhn A, Romero C, Rovegno M, et al. Evolution of peripheral vs metabolic perfusion parameters during septic shock resuscitation. A clinical-physiologic study. *J Crit Care*. 2012 Jun 1;27(3):283–8.
138. van Genderen ME, Engels N, van der Valk RJP, Lima A, Klijn E, Bakker J, et al. Early Peripheral Perfusion-guided Fluid Therapy in Patients with Septic Shock. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015 Feb 15;191(4):477–80.
139. Hernández G, Ospina-Tascón GA, Damiani LP, Estenssoro E, Dubin A, Hurtado J, et al. Effect of a Resuscitation Strategy Targeting Peripheral Perfusion Status vs Serum Lactate Levels on 28-Day Mortality Among Patients With Septic Shock: The ANDROMEDA-SHOCK Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2019 Feb 19;321(7):654–64.
140. Zampieri FG, Damiani LP, Bakker J, Ospina-Tascón GA, Castro R, Cavalcanti AB, et al. Effects of a Resuscitation Strategy Targeting Peripheral Perfusion Status versus Serum Lactate Levels among Patients with Septic Shock. A Bayesian Reanalysis of the ANDROMEDA-SHOCK Trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020 15;201(4):423–9.
141. Hernández G, Cavalcanti AB, Ospina-Tascón G, Zampieri FG, Dubin A, Hurtado FJ, et al. Early goal-directed therapy using a physiological holistic view: the ANDROMEDA-SHOCK-a randomized controlled trial. *Ann Intensive Care*. 2018 Apr 23;8(1):52.
142. Gazmuri RJ, de Gomez CA. From a pressure-guided to a perfusion-centered resuscitation

- strategy in septic shock: Critical literature review and illustrative case. *J Crit Care.* 2020 Apr 1;56:294–304.
143. LeDoux D, Astiz ME, Carpati CM, Rackow EC. Effects of perfusion pressure on tissue perfusion in septic shock. *Crit Care Med.* 2000 Aug;28(8):2729–32.
144. Dubin A, Pozo MO, Casabella CA, Pálizas F, Murias G, Moseinco MC, et al. Increasing arterial blood pressure with norepinephrine does not improve microcirculatory blood flow: a prospective study. *Crit Care.* 2009;13(3):R92.
145. Jhanji S, Stirling S, Patel N, Hinds CJ, Pearse RM. The effect of increasing doses of norepinephrine on tissue oxygenation and microvascular flow in patients with septic shock. *Crit Care Med.* 2009 Jun;37(6):1961–6.
146. Morelli A, Donati A, Ertmer C, Rehberg S, Kampmeier T, Orecchioni A, et al. Effects of vasopressinergic receptor agonists on sublingual microcirculation in norepinephrine-dependent septic shock. *Crit Care.* 2011;15(5):R217.
147. Spronk PE, Ince C, Gardien MJ, Mathura KR, Straaten HMO, Zandstra DF. Nitroglycerin in septic shock after intravascular volume resuscitation. *The Lancet.* 2002 Nov 2;360(9343):1395–6.
148. van der Voort PHJ, van Zanten M, Bosman RJ, van Stijn I, Wester JPJ, van Raalte R, et al. Testing a conceptual model on early opening of the microcirculation in severe sepsis and septic shock: a randomised controlled pilot study. *Eur J Anaesthesiol.* 2015 Mar;32(3):189–98.
149. Boerma EC, Koopmans M, Konijn A, Kaiferova K, Bakker AJ, van Roon EN, et al. Effects of nitroglycerin on sublingual microcirculatory blood flow in patients with severe sepsis/septic shock after a strict resuscitation protocol: A double-blind randomized placebo controlled trial. *Crit Care Med.* 2010 Jan;38(1):93.
150. Trzeciak S, Glaspey LJ, Dellinger RP, Durlinger P, Anderson K, Dezfulian C, et al. Randomized controlled trial of inhaled nitric oxide for the treatment of microcirculatory dysfunction in patients with sepsis*. *Crit Care Med.* 2014 Dec;42(12):2482–92.
151. Pranskunas A, Vellinga NA, Pilvinis V, Koopmans M, Boerma EC. Microcirculatory changes during open label magnesium sulphate infusion in patients with severe sepsis and septic shock. *BMC Anesthesiol.* 2011 Jun 14;11:12.
152. Vellinga NAR, Veenstra G, Scorcella C, Koopmans M, van Roon EN, Ince C, et al. Effects of ketanserin on microcirculatory alterations in septic shock: An open-label pilot study. *J Crit Care.* 2015 Dec 1;30(6):1156–62.
153. Li H, Zhu X, Yao G, Wang Z. Papaverine improves sublingual blood flow in patients with septic shock. *J Surg Res.* 2015 May 1;195(1):271–6.
154. De Backer D, Creteur J, Dubois M-J, Sakr Y, Koch M, Verdant C, et al. The effects of dobutamine on microcirculatory alterations in patients with septic shock are independent of its systemic effects. *Crit Care Med.* 2006 Feb;34(2):403–8.
155. Hernandez G, Bruhn A, Luengo C, Regueira T, Kattan E, Fuentealba A, et al. Effects of dobutamine on systemic, regional and microcirculatory perfusion parameters in septic shock: a randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover study. *Intensive Care Med.* 2013 Aug 1;39(8):1435–43.
156. Morelli A, Donati A, Ertmer C, Rehberg S, Lange M, Orecchioni A, et al. Levosimendan for resuscitating the microcirculation in patients with septic shock: a randomized controlled study. *Crit Care.* 2010;14(6):R232.
157. Potter EK, Hodgson L, Creagh-Brown B, Forni LG. Manipulating the Microcirculation in Sepsis - the Impact of Vasoactive Medications on Microcirculatory Blood Flow: A Systematic Review. *Shock* Augusta Ga. 2019 Jul;52(1):5–12.
158. De Backer D, Donadello K, Cortes DO. Monitoring the microcirculation. *J Clin Monit Comput.* 2012 Oct;26(5):361–6.
159. Fasano A, Sequeira A. Blood and Heat Transfer. In: Fasano A, Sequeira A, editors. *Hemomath: The Mathematics of Blood.* Cham: Springer International Publishing; 2017. p. 227–

64. (MS&A). Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-319-60513-5_6
160. de Weerd L, Mercer JB, Weum S. Dynamic Infrared Thermography. *Clin Plast Surg*. 2011 Apr 1;38(2):277–92.
161. Jones BF. A reappraisal of the use of infrared thermal image analysis in medicine. *IEEE Trans Med Imaging*. 1998 Dec;17(6):1019–27.
162. Casas-Alvarado A, Mota-Rojas D, Hernández-Ávalos I, Mora-Medina P, Olmos-Hernández A, Verduzco-Mendoza A, et al. Advances in infrared thermography: Surgical aspects, vascular changes, and pain monitoring in veterinary medicine. *J Therm Biol*. 2020 Aug 1;92:102664.
163. Allen J, Howell K. Microvascular imaging: techniques and opportunities for clinical physiological measurements. *Physiol Meas*. 2014 Jul;35(7):R91–141.
164. Stoner HB, Barker P, Riding GS, Hazlehurst DE, Taylor L, Marcuson RW. Relationships between skin temperature and perfusion in the arm and leg. *Clin Physiol Oxf Engl*. 1991 Jan;11(1):27–40.
165. Ross BA, Brock L, Aynsley-Green A. Observations on central and peripheral temperatures in the understanding and management of shock. *Br J Surg*. 1969 Dec;56(12):877–82.
166. Ibsen B. Treatment of Shock with Vasodilators Measuring Skin Temperature on the Big Toe: Ten Years' Experience in 150 Cases. *Dis Chest*. 1967 Oct 1;52(4):425–9.
167. Joly Henri R., Weil Max Harry. Temperature of the Great Toe as an Indication of the Severity of Shock. *Circulation*. 1969 Jan 1;39(1):131–8.
168. Henning RJ, Wiener F, Valdes S, Weil MH. Measurement of toe temperature for assessing the severity of acute circulatory failure. *Surg Gynecol Obstet*. 1979 Jul;149(1):1–7.
169. Kholoussy AM, Sufian S, Pavlides C, Matsumoto T. Central peripheral temperature gradient. Its value and limitations in the management of critically ill surgical patients. *Am J Surg*. 1980 Nov;140(5):609–12.
170. Kaplan LJ, McPartland K, Santora TA, Trooskin SZ. Start with a subjective assessment of skin temperature to identify hypoperfusion in intensive care unit patients. *J Trauma*. 2001 Apr;50(4):620–7; discussion 627–628.
171. Bourcier S, Pichereau C, Boelle P-Y, Nemlaghi S, Dubée V, Lejour G, et al. Toe-to-room temperature gradient correlates with tissue perfusion and predicts outcome in selected critically ill patients with severe infections. *Ann Intensive Care*. 2016 Dec;6(1):63.
172. House JR, Tipton MJ. Using skin temperature gradients or skin heat flux measurements to determine thresholds of vasoconstriction and vasodilatation. *Eur J Appl Physiol*. 2002 Nov;88(1–2):141–5.
173. Rubinstein EH, Sessler DI. Skin-surface temperature gradients correlate with fingertip blood flow in humans. *Anesthesiology*. 1990 Sep;73(3):541–5.
174. Sessler DI. Skin-temperature gradients are a validated measure of fingertip perfusion. *Eur J Appl Physiol*. 2003 May;89(3–4):401–2; author reply 403–404.
175. Westermann S, Buchner HHF, Schramel JP, Tichy A, Stanek C. Effects of infrared camera angle and distance on measurement and reproducibility of thermographically determined temperatures of the distolateral aspects of the forelimbs in horses. *J Am Vet Med Assoc*. 2013 Jan 17;242(3):388–95.
176. Sanchez-Marin FJ, Calixto-Carrera S, Villaseñor-Mora C. Novel approach to assess the emissivity of the human skin. *J Biomed Opt*. 2009 Mar;14(2):024006.
177. Soerensen DD, Clausen S, Mercer JB, Pedersen LJ. Determining the emissivity of pig skin for accurate infrared thermography. *Comput Electron Agric*. 2014 Nov 1;109:52–8.
178. Charlton M, Stanley SA, Whitman Z, Wenn V, Coats TJ, Sims M, et al. The effect of constitutive pigmentation on the measured emissivity of human skin. *PLOS ONE*. 2020 Nov 25;15(11):e0241843.
179. Trubiano JA, Padiglione AA. Nosocomial infections in the intensive care unit. *Anaesth*

- Intensive Care Med. 2015 Dec 1;16(12):598–602.
180. Love TJ. Thermography as an Indicator of Blood Perfusion. *Ann N Y Acad Sci.* 1980;335(1):429–37.
181. Francis JE, Roggli R, Love TJ, Robinson CP. Thermography as a Means of Blood Perfusion Measurement. *J Biomech Eng.* 1979 Nov 1;101(4):246–9.
182. Merla A, Di Romualdo S, Di Donato L, Proietti M, Salsano F, Romani GL. Combined thermal and laser Doppler imaging in the assessment of cutaneous tissue perfusion. *Conf Proc Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Conf.* 2007;2007:2630–3.
183. Pauling JD, Shipley JA, Raper S, Watson ML, Ward SG, Harris ND, et al. Comparison of infrared thermography and laser speckle contrast imaging for the dynamic assessment of digital microvascular function. *Microvasc Res.* 2012 Mar 1;83(2):162–7.
184. John HE, Niumsawatt V, Rozen WM, Whitaker IS. Clinical applications of dynamic infrared thermography in plastic surgery: a systematic review. *Gland Surg.* 2016 Apr;5(2):122–32.
185. Motoyama H, Chen F, Hijiya K, Kondo T, Ohata K, Takahashi M, et al. Novel thermographic detection of regional malperfusion caused by a thrombosis during ex vivo lung perfusion. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2015 Feb 1;20(2):242–7.
186. Huang C-L, Wu Y-W, Hwang C-L, Jong Y-S, Chao C-L, Chen W-J, et al. The application of infrared thermography in evaluation of patients at high risk for lower extremity peripheral arterial disease. *J Vasc Surg.* 2011 Oct 1;54(4):1074–80.
187. Adam M, Ng EYK, Tan JH, Heng ML, Tong JWK, Acharya UR. Computer aided diagnosis of diabetic foot using infrared thermography: A review. *Comput Biol Med.* 2017 01;91:326–36.
188. Pouzot-Nevoret C, Barthélemy A, Goy-Thollot I, Boselli E, Cambournac M, Guillaumin J, et al. Infrared thermography: a rapid and accurate technique to detect feline aortic thromboembolism. *J Feline Med Surg.* 2018 Aug;20(8):780–5.
189. Herrick AL, Murray A. The role of capillaroscopy and thermography in the assessment and management of Raynaud's phenomenon. *Autoimmun Rev.* 2018 May;17(5):465–72.
190. Pereira CB, Czaplik M, Blanik N, Rossaint R, Blazek V, Leonhardt S. Contact-free monitoring of circulation and perfusion dynamics based on the analysis of thermal imagery. *Biomed Opt Express.* 2014 Mar 5;5(4):1075–89.
191. Magnin M, Junot S, Cardinali M, Ayoub JY, Paquet C, Louzier V, et al. Use of infrared thermography to detect early alterations of peripheral perfusion: evaluation in a porcine model. *Biomed Opt Express.* 2020 May 1;11(5):2431.
192. Ortiz-Dosal A, Kolosovas-Machuca ES, Rivera-Vega R, Simón J, González FJ. Use of infrared thermography in children with shock: A case series. *SAGE Open Med Case Rep.* 2014 Dec 10;2. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4857355/>
193. van Genderen ME, van Bommel J, Lima A. Monitoring peripheral perfusion in critically ill patients at the bedside. *Curr Opin Crit Care.* 2012 Jun;18(3):273–9.
194. Woods I, Wilkins RG, Edwards JD, Martin PD, Faragher EB. Danger of using core/peripheral temperature gradient as a guide to therapy in shock. *Crit Care Med.* 1987 Sep;15(9):850–2.
195. Duke T, Butt W, South M, Karl TR. Early markers of major adverse events in children after cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1997 Dec 1;114(6):1042–52.
196. Butt W, Shann F. Core-Peripheral Temperature Gradient Does Not Predict Cardiac Output or Systemic Vascular Resistance in Children. *Anaesth Intensive Care.* 1991 Feb 1;19(1):84–7.
197. Ryan CA, Soder CM. Relationship between core/peripheral temperature gradient and central hemodynamics in children after open heart surgery. *Crit Care Med.* 1989 Jul;17(7):638–40.
198. Krovetz LJ, McLoughlin TG, Mitchell MB, Schiebler GL. Hemodynamic findings in normal children. *Pediatr Res.* 1967 Mar;1(2):122–30.

199. Ruiz CE, Weil MH, Carlson RW. Treatment of Circulatory Shock With Dopamine: Studies on Survival. *JAMA*. 1979 Jul 13;242(2):165–8.
200. Vincent JL, Moraine JJ, van der Linden P. Toe temperature versus transcutaneous oxygen tension monitoring during acute circulatory failure. *Intensive Care Med*. 1988;14(1):64–8.
201. Schey BM, Williams DY, Bucknall T. Skin temperature and core-peripheral temperature gradient as markers of hemodynamic status in critically ill patients: a review. *Heart Lung J Crit Care*. 2010 Feb;39(1):27–40.
202. Nagori A, Dhingra LS, Bhatnagar A, Lodha R, Sethi T. Predicting Hemodynamic Shock from Thermal Images using Machine Learning. *Sci Rep*. 2019 Dec;9(1):91.
203. Richards RE, Allen J, Burnett S, Howell KJ, Smith RE. Evaluation of three thermal imaging cameras for skin temperature measurement using a blackbody reference source and a spatial resolution test object. *Thermol*. 2013; Available from: <https://eprint.ncl.ac.uk/193076>
204. Westermann S, Stanek C, Schramel JP, Ion A, Buchner HHF. The effect of airflow on thermographically determined temperature of the distal forelimb of the horse. *Equine Vet J*. 2013 Sep;45(5):637–41.
205. Amson H, Vacheron C-H, Thiollie F, Piriou V, Magnin M, Allaouchiche B. Core-to-skin temperature gradient measured by thermography predicts day-8 mortality in septic shock: A prospective observational study. *J Crit Care*. 2020 Dec 1;60:294–9.
206. Allen J. Photoplethysmography and its application in clinical physiological measurement. *Physiol Meas*. 2007 Feb;28(3):R1–39.
207. Moço AV, Stuijk S, de Haan G. New insights into the origin of remote PPG signals in visible light and infrared. *Sci Rep*. 2018 May 31;8(1):8501.
208. Abay TY, Kyriacou PA. Reflectance Photoplethysmography as Noninvasive Monitoring of Tissue Blood Perfusion. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2015 Sep;62(9):2187–95.
209. Budidha K, Abay TY, Kyriacou PA. Investigation of photoplethysmography, laser doppler flowmetry and near infrared spectroscopy during induced thermal stress. In: 2015 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC). 2015. p. 6417–20.
210. Sandberg M, Zhang Q, Styf J, Gerdle B, Lindberg L-G. Non-invasive monitoring of muscle blood perfusion by photoplethysmography: evaluation of a new application. *Acta Physiol Scand*. 2005 Apr;183(4):335–43.
211. Akl TJ, Wilson MA, Ericson MN, Côté GL. Intestinal perfusion monitoring using photoplethysmography. *J Biomed Opt*. 2013 Aug;18(8):87005.
212. Jacquet-Lagrèze M, Bonnet-Garin J-M, Allaouchiche B, Vassal O, Restagno D, Paquet C, et al. A new device for continuous assessment of gut perfusion: proof of concept on a porcine model of septic shock. *Crit Care Lond Engl*. 2014 Jul 16;18(4):R153.
213. Pearce WH, Jones DN, Warren GH, Bartle EJ, Whitehill TA, Rutherford RB. The use of infrared photoplethysmography in identifying early intestinal ischemia. *Arch Surg Chic Ill* 1960. 1987 Mar;122(3):308–10.
214. He H, Liu D, Long Y, Wang X. The peripheral perfusion index and transcutaneous oxygen challenge test are predictive of mortality in septic patients after resuscitation. *Crit Care Lond Engl*. 2013 Jun 20;17(3):R116.
215. Feiner JR, Severinghaus JW, Bickler PE. Dark skin decreases the accuracy of pulse oximeters at low oxygen saturation: the effects of oximeter probe type and gender. *Anesth Analg*. 2007 Dec;105(6 Suppl):S18-23, tables of contents.
216. Talja M, Schröder T, Lehtola A, Nuutinen P, Ruutu M, Alfthan O. Blood circulation in the urethra during hypovolemia — An experimental study. *Urol Res*. 1986 Nov 1;14(5):267–70.
217. Mayevsky A, Blum Y, Dekel N, Deutsch A, Halfon R, Kremer S, et al. The CritiView: a new fiber optic based optical device for the assessment of tissue vitality. In: *SPIE BiOS*. 2006.
218. Clavijo JA, van Bastelaar J, Pinsky MR, Puyana JC, Mayevsky A. Minimally invasive real time monitoring of mitochondrial NADH and tissue blood flow in the urethral wall during

- hemorrhage and resuscitation. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.* 2008 Sep;14(9):BR175-182.
219. Mayevsky A, Pewzner E, Deutsch A, Walden R, Heldenberg E, Lavee J, et al. Mitochondrial function and tissue vitality: bench-to-bedside real-time optical monitoring system. *J Biomed Opt.* 2011 Jun;16(6):067004.
220. Cardinali M, Magnin M, Bonnet-Garin J-M, Paquet C, Ayoub J-Y, Allaouchiche B, et al. A new photoplethysmographic device for continuous assessment of urethral mucosa perfusion: evaluation in a porcine model. *J Clin Monit Comput.* 2020 May 2;
221. Dépret F, Leone M, Duclos G, Futier E, Montagne M, Legrand M, et al. Monitoring tissue perfusion: a pilot clinical feasibility and safety study of a urethral photoplethysmography-derived perfusion device in high-risk patients. *J Clin Monit Comput.* 2020 Oct;34(5):961–9.
222. Addison PS. A review of signal processing used in the implementation of the pulse oximetry photoplethysmographic fluid responsiveness parameter. *Anesth Analg.* 2014 Dec;119(6):1293–306.
223. Antonsen LP, Kirkebøen KA. Evaluation of fluid responsiveness: is photoplethysmography a noninvasive alternative? *Anesthesiol Res Pract.* 2012;2012:617380.
224. Bouattour K, Teboul J-L, Varin L, Vicaut E, Duranteau J. Preload Dependence Is Associated with Reduced Sublingual Microcirculation during Major Abdominal Surgery. *Anesthesiology.* 2019 Apr 1;130(4):541–9.
225. Wilson BJ, Cowan HJ, Lord JA, Zuege DJ, Zygun DA. The accuracy of pulse oximetry in emergency department patients with severe sepsis and septic shock: a retrospective cohort study. *BMC Emerg Med.* 2010 May 5;10:9.
226. Pearce JMS. Malpighi and the discovery of capillaries. *Eur Neurol.* 2007;58(4):253–5.
227. Bezemer R, Bartels SA, Bakker J, Ince C. Clinical review: Clinical imaging of the sublingual microcirculation in the critically ill—where do we stand? *Crit Care Lond Engl.* 2012 Jun 19;16(3):224.
228. Freedlander SO, lenhart CH. Clinical observations on the capillary circulation. *Arch Intern Med.* 1922 Jan 1;29(1):12–32.
229. De Backer D, Ospina-Tascon G, Salgado D, Favory R, Creteur J, Vincent J-L. Monitoring the microcirculation in the critically ill patient: current methods and future approaches. *Intensive Care Med.* 2010 Nov;36(11):1813–25.
230. De Backer D. Is microcirculatory assessment ready for regular use in clinical practice? *Curr Opin Crit Care.* 2019 Jun;25(3):280.
231. Groner W, Winkelman JW, Harris AG, Ince C, Bouma GJ, Messmer K, et al. Orthogonal polarization spectral imaging: A new method for study of the microcirculation. *Nat Med.* 1999 Oct;5(10):1209–12.
232. Goedhart PT, Khalilzada M, Bezemer R, Merza J, Ince C. Sidestream Dark Field (SDF) imaging: a novel stroboscopic LED ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation. *Opt Express.* 2007 Nov 12;15(23):15101–14.
233. Aykut G, Veenstra G, Scorcella C, Ince C, Boerma C. Cytocam-IDF (incident dark field illumination) imaging for bedside monitoring of the microcirculation. *Intensive Care Med Exp.* 2015 Dec;3(1):40.
234. Dilken O, Ergin B, Ince C. Assessment of sublingual microcirculation in critically ill patients: consensus and debate. *Ann Transl Med.* 2020 Jun;8(12):793.
235. Ocak I, Kara A, Ince C. Monitoring microcirculation. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2016 Dec 1;30(4):407–18.
236. van Elteren HA, Ince C, Tibboel D, Reiss IKM, de Jonge RCJ. Cutaneous microcirculation in preterm neonates: comparison between sidestream dark field (SDF) and incident dark field (IDF) imaging. *J Clin Monit Comput.* 2015;29(5):543–8.
237. Gilbert-Kawai E, Coppel J, Bountziouka V, Ince C, Martin D. A comparison of the quality of image acquisition between the incident dark field and sidestream dark field video-

- microscopes. *BMC Med Imaging*. 2016 Jan 21;16. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4722634/>
238. Massey MJ, Shapiro NI. A guide to human in vivo microcirculatory flow image analysis. *Crit Care*. 2016 Feb 10;20(1):35.
239. Trzeciak S, Dellinger RP, Parrillo JE, Guglielmi M, Bajaj J, Abate NL, et al. Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: Relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival. *Ann Emerg Med*. 2007 Jan 1;49(1):88-98.e2.
240. Ince C, Boerma EC, Cecconi M, De Backer D, Shapiro NI, Duranteau J, et al. 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(3):281–99.
241. Massey MJ, LaRochelle E, Najarro G, Karmacharla A, Arnold R, Trzeciak S, et al. The microcirculation image quality score: Development and preliminary evaluation of a proposed approach to grading quality of image acquisition for bedside videomicroscopy. *J Crit Care*. 2013 Dec 1;28(6):913–7.
242. Lam C, Tynl K, Martin C, Sibbald W. Microvascular perfusion is impaired in a rat model of normotensive sepsis. *J Clin Invest*. 1994 Nov;94(5):2077–83.
243. Piper RD, Pitt-Hyde M, Li F, Sibbald WJ, Potter RF. Microcirculatory changes in rat skeletal muscle in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996 Oct;154(4 Pt 1):931–7.
244. Farquhar I, Martin CM, Lam C, Potter R, Ellis CG, Sibbald WJ. Decreased capillary density in vivo in bowel mucosa of rats with normotensive sepsis. *J Surg Res*. 1996 Feb 15;61(1):190–6.
245. Drazenovic R, Samsel RW, Wylam ME, Doerschuk CM, Schumacker PT. Regulation of perfused capillary density in canine intestinal mucosa during endotoxemia. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 1992 Jan;72(1):259–65.
246. Nakajima Y, Baudry N, Duranteau J, Vicaut E. Microcirculation in intestinal villi: a comparison between hemorrhagic and endotoxin shock. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Oct 15;164(8 Pt 1):1526–30.
247. Pranskunas A, Pilvinis V, Dambrauskas Z, Rasimaviciute R, Planciuniene R, Doboziuskas P, et al. Early course of microcirculatory perfusion in eye and digestive tract during hypodynamic sepsis. *Crit Care*. 2012;16(3):R83.
248. Hessler M, Arnemann P-H, Zamit F, Seidel L, Kampmeier T-G, Kathöfer U, et al. Monitoring of Conjunctival Microcirculation Reflects Sublingual Microcirculation in Ovine Septic and Hemorrhagic Shock. *Shock Augusta Ga*. 2019 Apr;51(4):479–86.
249. Dubin A, Pozo MO, Ferrara G, Murias G, Martins E, Canullán C, et al. Systemic and microcirculatory responses to progressive hemorrhage. *Intensive Care Med*. 2009 Mar;35(3):556–64.
250. Maier S, Holz-Hözl C, Pajk W, Ulmer H, Hengl C, Dünser M, et al. Microcirculatory parameters after isotonic and hypertonic colloidal fluid resuscitation in acute hemorrhagic shock. *J Trauma*. 2009 Feb;66(2):337–45.
251. Peruski AM, Cooper ES. Assessment of microcirculatory changes by use of sidestream dark field microscopy during hemorrhagic shock in dogs. *Am J Vet Res*. 2011 Apr 1;72(4):438–45.
252. De Backer D, Donadello K, Sakr Y, Ospina-Tascon G, Salgado D, Scolletta S, et al. Microcirculatory Alterations in Patients With Severe Sepsis: Impact of Time of Assessment and Relationship With Outcome*. *Crit Care Med*. 2013 Mar;41(3):791.
253. Domizi R, Damiani E, Scorcella C, Carsetti A, Castagnani R, Vannicola S, et al. Association between sublingual microcirculation, tissue perfusion and organ failure in major trauma: A subgroup analysis of a prospective observational study. :12.
254. Jung C, Ferrari M, Rödiger C, Fritzenwanger M, Goebel B, Lauten A, et al. Evaluation of

- the sublingual microcirculation in cardiogenic shock. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2009;42(2):141–8.
255. Flick M, Duranteau J, Scheeren TWL, Saugel B. Monitoring of the Sublingual Microcirculation During Cardiac Surgery: Current Knowledge and Future Directions. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2020 Oct;34(10):2754–65.
256. Sallisalmi M, Oksala N, Pettilä V, Tenhunen J. Evaluation of sublingual microcirculatory blood flow in the critically ill. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2012;56(3):298–306.
257. Bemelmans RHH, Boerma EC, Barendregt J, Ince C, Rommes JH, Spronk PE. Changes in the volume status of haemodialysis patients are reflected in sublingual microvascular perfusion. *Nephrol Dial Transplant.* 2009 Nov 1;24(11):3487–92.
258. Damiani E, Ince C, Scorcella C, Domizi R, Carsetti A, Mininno N, et al. Impact of microcirculatory video quality on the evaluation of sublingual microcirculation in critically ill patients. *J Clin Monit Comput.* 2017 Oct 1;31(5):981–8.
259. Magnin M, Foulon É, Lurier T, Allaouchiche B, Bonnet-Garin J-M, Junot S. Evaluation of microcirculation by Sidestream Dark Field imaging: Impact of hemodynamic status on the occurrence of pressure artifacts – A pilot study. *Microvasc Res.* 2020 Sep 1;131:104025.
260. Balestra GM, Bezemer R, Boerma EC, Yong Z-Y, Sjauw KD, Engstrom AE, et al. Improvement of Sidestream Dark Field Imaging with an Image Acquisition Stabilizer. *BMC Med Imaging.* 2010 Jul 13;10:15.
261. Boerma EC, van der Voort PHJ, Spronk PE, Ince C. Relationship between sublingual and intestinal microcirculatory perfusion in patients with abdominal sepsis. *Crit Care Med.* 2007 Apr;35(4):1055–60.
262. Edul VSK, Ince C, Navarro N, Previgliano L, Risso-Vazquez A, Rubatto PN, et al. Dissociation between sublingual and gut microcirculation in the response to a fluid challenge in postoperative patients with abdominal sepsis. *Ann Intensive Care.* 2014;4:39.
263. Hutchings SD, Naumann DN, Watts S, Wilson C, Burton C, Wendon J, et al. Microcirculatory perfusion shows wide inter-individual variation and is important in determining shock reversal during resuscitation in a porcine experimental model of complex traumatic hemorrhagic shock. *Intensive Care Med Exp.* 2016 Jun 24;4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4920780/>
264. Hubble SMA, Kyte HL, Gooding K, Shore AC. Variability in sublingual microvessel density and flow measurements in healthy volunteers. *Microcirc N Y N* 1994. 2009 Feb;16(2):183–91.
265. Valerio L, Peters RJ, Zwinderman AH, Pinto-Sietsma S-J. Reproducibility of sublingual microcirculation parameters obtained from sidestream darkfield imaging. *PLoS ONE.* 2019 Mar 14;14(3). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6417651/>
266. Pozo MO, Kanoore Edul VS, Ince C, Dubin A. Comparison of Different Methods for the Calculation of the Microvascular Flow Index. *Crit Care Res Pract.* 2012. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3347715/>
267. Hilty MP, Guerci P, Ince Y, Toraman F, Ince C. MicroTools enables automated quantification of capillary density and red blood cell velocity in handheld vital microscopy. *Commun Biol.* 2019 Jun 19;2(1):1–15.
268. Boerma EC, Ince C. The role of vasoactive agents in the resuscitation of microvascular perfusion and tissue oxygenation in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2010 Dec;36(12):2004–18.
269. Buwalda M, Ince C. Opening the microcirculation: can vasodilators be useful in sepsis? *Intensive Care Med.* 2002 Sep;28(9):1208–17.
270. Taylor AE, Moore TM. Capillary fluid exchange. *Am J Physiol.* 1999 Dec;277(6 Pt 2):S203-210.
271. Boisseau M-R. Hémorhéologie clinique. Concept, physiopathologie et applications aux maladies vasculaires. *EMC - Cardiol-Angéiologie.* 2004 Nov 1;1(4):364–81.

272. Pries AR, Secomb TW, Gaetgens P. Biophysical aspects of blood flow in the microvasculature. *Cardiovasc Res.* 1996 Oct 1;32(4):654–67.
273. Duling BR, Desjardins C. Capillary Hematokrit - What Does It Mean? *Physiology.* 1987 Apr 1; Available from: <https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/physiologyonline.1987.2.2.66>
274. Maheshwari K, Nathanson BH, Munson SH, Khangulov V, Stevens M, Badani H, et al. The relationship between ICU hypotension and in-hospital mortality and morbidity in septic patients. *Intensive Care Med.* 2018 Jun 1;44(6):857–67.
275. Enrico C, Kanoore Edul VS, Vazquez AR, Pein MC, Pérez de la Hoz RA, Ince C, et al. Systemic and microcirculatory effects of dobutamine in patients with septic shock. *J Crit Care.* 2012 Dec;27(6):630–8.
276. Geleijnse Marcel L., Krenning Boudewijn J., Nemes Attila, van Dalen Bas M., Soliman Osama I.I., ten Cate Folkert J., et al. Incidence, Pathophysiology, and Treatment of Complications During Dobutamine-Atropine Stress Echocardiography. *Circulation.* 2010 Apr 20;121(15):1756–67.
277. Duceau B, Pirracchio R. Choc cardiogénique sévère : quel régime thérapeutique médicamenteux optimal ? Intérêt de l'association vasopresseurs–inotropes avec effet vasodilatateur. 2017;12.
278. Chen CH, Nakaya Y, Minami K, Kubo M. Effects of pimobendan and its active metabolite, UD-CG 212 Cl, on Ca²⁺-activated K⁺ channels in vascular smooth-muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1997 Dec;30(6):739–43.
279. Fitton A, Brogden RN. Pimobendan. A review of its pharmacology and therapeutic potential in congestive heart failure. *Drugs Aging.* 1994 May;4(5):417–41.
280. Boyle KL, Leech E. A review of the pharmacology and clinical uses of pimobendan. *J Vet Emerg Crit Care.* 2012 Aug 1;22(4):398–408.
281. Verdouw PD, Hartog JM, Duncker DJ, Roth W, Saxena PR. Cardiovascular profile of pimobendan, a benzimidazole-pyridazinone derivative with vasodilating and inotropic properties. *Eur J Pharmacol.* 1986 Jul 15;126(1–2):21–30.
282. Verdouw PD, Levinsky L, Duncker DJ, Marita Rutteman A, Saxena PR. Cardiovascular effects of UD-CG 212 CL, a metabolite of pimobendan, in anaesthetized pigs. *Eur J Pharmacol.* 1987 Jun 4;137(2):219–26.
283. Duncker DJ, van Dalen FJ, Hartog JM, Lamers JM, Rensen RJ, Saxena PR, et al. Usefulness of pimobendan in the treatment of heart failure. *Arzneimittelforschung.* 1986 Dec;36(12):1740–4.
284. van Meel JC, Diederens W. Hemodynamic profile of the cardiotonic agent pimobendan. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1989;14 Suppl 2:S1–6.
285. Toller WG, Stranz C. Levosimendan, a new inotropic and vasodilator agent. *Anesthesiology.* 2006 Mar;104(3):556–69.
286. Pinto BB, Rehberg S, Ertmer C, Westphal M. Role of levosimendan in sepsis and septic shock. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2008 Apr;21(2):168–77.
287. Endoh M. Does levosimendan act as a Ca²⁺ sensitizer or PDE3 inhibitor?: Commentary on Orstavik et al., *Br J Pharmacol* 171: 5169–5181. *Br J Pharmacol.* 2015 Sep;172(18):4594–6.
288. Orstavik O, Ata SH, Riise J, Dahl CP, Andersen GØ, Levy FO, et al. Inhibition of phosphodiesterase-3 by levosimendan is sufficient to account for its inotropic effect in failing human heart. *Br J Pharmacol.* 2014 Dec;171(23):5169–81.
289. Zangrillo A, Putzu A, Monaco F, Oriani A, Frau G, De Luca M, et al. Levosimendan reduces mortality in patients with severe sepsis and septic shock: A meta-analysis of randomized trials. *J Crit Care.* 2015 Oct;30(5):908–13.
290. Chang W, Xie J-F, Xu J-Y, Yang Y. Effect of levosimendan on mortality in severe sepsis and septic shock: a meta-analysis of randomised trials. *BMJ Open.* 2018 Mar 1;8(3):e019338.
291. Oldner A, Konrad D, Weitzberg E, Rudehill A, Rossi P, Wanecek M. Effects of

- levosimendan, a novel inotropic calcium-sensitizing drug, in experimental septic shock. *Crit Care Med.* 2001 Nov;29(11):2185–93.
292. Behrends M, Peters J. The calcium sensitizer levosimendan attenuates endotoxin-evoked myocardial dysfunction in isolated guinea pig hearts. *Intensive Care Med.* 2003 Oct;29(10):1802–7.
293. Barraud D, Faivre V, Damy T, Welschbillig S, Gayat E, Heymes C, et al. Levosimendan restores both systolic and diastolic cardiac performance in lipopolysaccharide-treated rabbits: comparison with dobutamine and milrinone. *Crit Care Med.* 2007 May;35(5):1376–82.
294. Gordon AC, Perkins GD, Singer M, McAuley DF, Orme RML, Santhakumaran S, et al. Levosimendan for the Prevention of Acute Organ Dysfunction in Sepsis. *N Engl J Med.* 2016 27;375(17):1638–48.
295. Schwarte LA, Picker O, Bornstein SR, Fournell A, Scheeren TWL. Levosimendan is superior to milrinone and dobutamine in selectively increasing microvascular gastric mucosal oxygenation in dogs. *Crit Care Med.* 2005 Jan;33(1):135–42; discussion 246–247.
296. Dubin A, Murias G, Sottile JP, Pozo MO, Barán M, Edul VSK, et al. Effects of levosimendan and dobutamine in experimental acute endotoxemia: a preliminary controlled study. *Intensive Care Med.* 2007 Mar;33(3):485–94.
297. Rehberg S, Ertmer C, Vincent J-L, Spiegel H-U, Köhler G, Erren M, et al. Effects of combined arginine vasopressin and levosimendan on organ function in ovine septic shock. *Crit Care Med.* 2010 Oct;38(10):2016–23.
298. López A, Grignola JC, Angulo M, Alvez I, Nin N, Lacuesta G, et al. Effects of early hemodynamic resuscitation on left ventricular performance and microcirculatory function during endotoxic shock. *Intensive Care Med Exp.* 2015 Dec;3(1):14.
299. De Hert S, Moerman A. Sevoflurane. *F1000Research.* 2015;4(F1000 Faculty Rev):626.
300. Otsuki DA, Fantoni DT, Holms C, Auler Jr JOC. Minimum alveolar concentrations and hemodynamic effects of two different preparations of sevoflurane in pigs. *Clinics.* 2010;65(5):531–7.
301. Hessler M, Arnemann P-H, Rehberg S, Ertmer C. Misinterpretation of the sublingual microcirculation during therapy with levosimendan. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018;68(1):83–7.
302. Rimmelé T, Assadi A, Benatir F, Boselli E, Kaminski C, Arnal F, et al. Validation of a *Pseudomonas aeruginosa* porcine model of septic shock. *J Infect.* 2006 Sep 1;53(3):199–205.
303. Takahashi R, Shimazaki Y, Endoh M. Decrease in Ca(2+)-sensitizing effect of UD-CG 212 Cl, a metabolite of pimobendan, under acidotic condition in canine ventricular myocardium. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001 Sep;298(3):1060–6.
304. Toller W, Wölkart G, Stranz C, Metzler H, Brunner F. Contractile action of levosimendan and epinephrine during acidosis. *Eur J Pharmacol.* 2005 Jan 10;507(1–3):199–209.
305. Bernard C. Introduction à l'étude de la médecine expérimentale: édition intégrale. Ink book; 2013. 487 p.
306. Singer M. Sepsis: personalization v protocolization? *Crit Care.* 2019 Jun 14;23(1):127.
307. Tiru B, DiNino EK, Orenstein A, Mailloux PT, Pesaturo A, Gupta A, et al. The Economic and Humanistic Burden of Severe Sepsis. *Pharmacoeconomics.* 2015 Sep;33(9):925–37.
308. Legrand M, Ait-Oufella H, Ince C. Could resuscitation be based on microcirculation data? Yes. *Intensive Care Med.* 2018 Jun;44(6):944–6.
309. Naumann DN, Lima A. Could resuscitation be based on microcirculation data? No. *Intensive Care Med.* 2018 Jun;44(6):947–9.
310. Monnet X, Saugel B. Could resuscitation be based on microcirculation data? We are not sure. *Intensive Care Med.* 2018 Jun;44(6):950–3.
311. Arkes HR, Blumer C. The psychology of sunk cost. *Organ Behav Hum Decis Process.* 1985 Feb 1;35(1):124–40.
312. Dünser MW, Takala J, Brunauer A, Bakker J. Re-thinking resuscitation: leaving blood

- pressure cosmetics behind and moving forward to permissive hypotension and a tissue perfusion-based approach. *Crit Care Lond Engl*. 2013 Oct 8;17(5):326.
313. Lavillegrand J-R, Dumas G, Bigé N, Zafimahazo D, Guidet B, Maury E, et al. Should we treat mild hypotension in septic patients in the absence of peripheral tissue hypoperfusion? *Intensive Care Med*. 2018;44(9):1593–4.
314. László I, Trásy D, Molnár Z, Fazakas J. Sepsis: From Pathophysiology to Individualized Patient Care. *J Immunol Res*. 2015;2015:510436.
315. Sinapidis D, Kosmas V, Vittoros V, Koutelidakis IM, Pantazi A, Stefos A, et al. Progression into sepsis: an individualized process varying by the interaction of comorbidities with the underlying infection. *BMC Infect Dis*. 2018 May 29;18(1):242.
316. Seymour CW, Kerti SJ, Lewis AJ, Kennedy J, Brant E, Griepentrog JE, et al. Murine sepsis phenotypes and differential treatment effects in a randomized trial of prompt antibiotics and fluids. *Crit Care Lond Engl*. 2019 Nov 28;23(1):384.
317. Seymour CW, Kennedy JN, Wang S, Chang C-CH, Elliott CF, Xu Z, et al. Derivation, Validation, and Potential Treatment Implications of Novel Clinical Phenotypes for Sepsis. *JAMA*. 2019 May 28;321(20):2003–17.
318. Hasegawa D, Nishida O. Patient selection in sepsis: precision medicine using phenotypes and its implications for future clinical trial design. *J Thorac Dis*. 2019 Sep;11(9):3672–5.
319. Knaus WA, Marks RD. New Phenotypes for Sepsis: The Promise and Problem of Applying Machine Learning and Artificial Intelligence in Clinical Research. *JAMA*. 2019 May 28;321(20):1981–2.
320. Koenig E. *Neo Yokio* - Episode 1. Netflix

Annexes.



Use of infrared thermography to detect early alterations of peripheral perfusion: evaluation in a porcine model

MATHIEU MAGNIN,^{1,2}  STEPHANE JUNOT,^{1,3,*} MARTINA CARDINALI,^{1,3} JEAN YVES AYOUB,^{1,2} CHRISTIAN PAQUET,^{1,2} VANESSA LOUZIER,^{1,2} JEANNE MARIE BONNET GARIN,^{1,2} AND BERNARD ALLAOUCHICHE^{1,4}

¹Université de Lyon, APCSe Agressions Pulmonaires et Circulatoires dans le Sepsis, VetAgro Sup, F-69280 Marcy l'Etoile, France

²Université de Lyon, Vetagro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon, Unité de Physiologie, Pharmacodynamie et Thérapeutique, F-69280 Marcy l'Etoile, France

³Université de Lyon, VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon, Anesthésiologie, F-69280 Marcy l'Etoile, France

⁴Université de Lyon, Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon Sud, Réanimation Médicale, Unité APCSE, Pierre-Bénite, France

*stephane.junot@vetagro-sup.fr

Abstract: This study aimed to evaluate the variations of infrared thermography according to rapid hemodynamic changes, by measuring the peripheral skin temperature in a porcine model. Eight healthy piglets were anesthetized and exposed to different levels of arterial pressure. Thermography was performed on the left forelimb to measure carpus and elbow skin temperature and their associated gradient with the core temperature. Changes in skin temperature in response to variations of blood pressure were observed. A negative correlation between arterial pressure and temperature gradients between peripheral and core temperature and a negative correlation between cardiac index and these temperature gradients were observed. Thermography may serve as a tool to detect early changes in peripheral perfusion.

© 2020 Optical Society of America under the terms of the [OSA Open Access Publishing Agreement](#)

1. Introduction

Shock is defined as a life-threatening, generalized form of acute circulatory failure associated with inadequate oxygen utilization by the cells [1]. In this critical condition, circulation fails to deliver sufficient oxygen to meet the tissues demand. Circulatory failure may result from one, or an association, of the four following mechanisms: hypovolemia, cardiac dysfunction, generalized vasodilation or obstruction of blood circulation [1,2]. Circulatory shock is one of the leading causes of admission to intensive care unit with more than one third of the patients admitted with this condition [3]. In the time-course of circulatory failure, compensatory mechanisms occur to redistribute blood from non-vital organs to vital organs [1,4]. Clinically, this leads to signs of poor peripheral perfusion including decreased capillary refill time, cold extremities, skin mottling and decreased peripheral pulses [1,4–6]. An early recognition of these signs is important because the occurrence of a circulatory failure can rapidly lead to a multiple organ dysfunction syndrome and potential death [2]. For instance, the mortality rate associated with septic shock is about 30 to 80% [7].

Assessing early changes in peripheral perfusion can thus provide interesting information for the physician and allow a prompt initiation of supportive maneuvers. So far, the clinical signs afore-mentioned are performed at the patient's bedside and remain subjective. And objective means to assess peripheral perfusion with dedicated technologies are lacking.

Recently, the use of infrared thermography has been advocated to monitor peripheral perfusion: it has the advantage of being non-invasive, easy to use and cost-effective [4,8,9]. The measurement of peripheral and core temperature can allow the calculation of a gradient between both sites, with values between 3 and 7 °C considered as normal; any increase in this gradient may indicate a peripheral hypoperfusion [6].

Infrared thermography (IT) is a painless, non-ionizing, contact-free diagnostic imaging technique. It records the cutaneous thermal patterns generated by the emission of infrared radiation (IR). Every object whose temperature is greater than absolute zero carries energy in the form of IR. The emission of IR is proportional to the surface area of the object, its temperature, its environment and emissivity (ranging from 0 to 1). Human skin emissivity is about 0,98, which renders the human body an efficient infrared radiator [10,11]. This high emissivity of skin enables the use of thermography as a medical tool. It has been applied to assess organ perfusion during transplantation [12], thromboembolism [13,14] and vasculopathy secondary to diabetes [15] or Raynaud's disease [9].

The relationship between skin temperature and perfusion is complex. The skin temperature is the resultant balance between the heat transport within the peripheral tissues (dependent on blood circulation and local factors) and the heat loss to the environment (by radiation, conduction, convection and evaporation) [16,17]. The skin temperature is thus influenced by the core body temperature and environmental factors (ambient temperature, humidity). Consequently, any hemodynamic instability and its associated decrease in peripheral perfusion can cause changes in skin temperature, as illustrated by the coldness of the extremities observed during shock. Given these characteristics, the use of IT for the assessment peripheral perfusion in critical condition presents a potential interest.

This study aimed to evaluate the potential interest of IT as a tool to detect variations of peripheral perfusion associated with pharmacologically induced rapid hemodynamic changes, in a porcine model.

2. Materials and methods

2.1. Ethical statement

This study was conducted in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and approved by the Ethics Committee of our institution (VetAgroSup, Marcy l'Etoile, France, authorization number: 1819).

2.2. Animals

Eight healthy piglets, weighing between 35 and 45 kg, 2 to 3 months old were included in the study. They were housed for a 7 days acclimatization period in an individual box. They were fed with standard food, with *ad libitum* access to water. Eight hours before the beginning of the experimental phase, solid food was withdrawn while free access to water was allowed.

2.3. Anesthetic protocol and surgical preparation

The study was performed in a research institute with a controlled environment. The experimental conditions were similar for every pig, with an ambient temperature of 25°C and a relative humidity of 50%. Animals were premedicated with intramuscular (IM) administration of a mixture of tiletamine-zolazepam (Zoletil100, 100 mg.mL⁻¹, Virbac, Carros, France) 3.0 mg.kg⁻¹ and morphine (Morphine Aguettant, 10 mg/mL⁻¹, Laboratoire Aguettant, Lyon, France) 0.2 mg.kg⁻¹. Twenty minutes later, propofol (Propovet 10 mg.mL⁻¹, Zoetis, Malakoff, France) 4.0 mg.kg⁻¹, was administered intravenously (IV) to effect *via* a catheter (Insyte-W 1.1 × 30 mm, Beckton Dickinson Vascular Access, Sandy, Utah, USA) placed in an auricular vein. After induction of anesthesia, animals were orotracheally intubated and placed under mechanical ventilation with a

controlled tidal volume set at 8.0 mL.kg^{-1} and an initial respiratory rate of $16 \text{ breaths.min}^{-1}$. Anesthesia was maintained with sevoflurane (Sevoflo, Zoetis, Malakoff, France) in 30% oxygen, in association with an intravenous constant rate infusion (CRI) of morphine $0.1 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$. The respiratory rate and tidal volume were adjusted to obtain an end tidal CO_2 of 4.6-6.0 kPa (35-45 mmHg). Intravenous fluids (Lactated Ringer) were administered throughout the experiment at a basal rate of $5 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

After induction of anesthesia, the piglets were placed in dorsal recumbency on a heated table. It was ensured that the forelimbs of the animals were not in contact with the heating mattress. The external right jugular vein was dissected for placement of a central venous catheter (Multicath 3 7.5Fr, Vygon, Ecouen, France). A 4F thermodilution catheter (PiCCO catheter 5 Fr, Getinge, Orléans, France) was inserted into the lower abdominal aorta through the right femoral artery and connected to a PiCCO system.

2.4. Hemodynamics monitoring

The following hemodynamics parameters were measured: mean arterial pressure (MAP), systolic arterial pressure (SAP), diastolic arterial pressure (DAP), heart rate (HR), cardiac output (CO), systemic vascular resistance (SVR), global end-diastolic blood volume (GEDV), pulse pressure variation (PPV). Body surface area (BSA) was calculated as previously described [18]. Shock index (SI), cardiac index (CI), systemic vascular resistance index (SVRI) were calculated based on conventional equations ($\text{SI} = \text{HR}/\text{SAP}$; $\text{CI} = \text{CO}/\text{BSA}$; $\text{SVRI} = ((\text{MAP} - \text{CVP})/\text{CI}) \times 80$; CVP: central venous pressure). Global end-diastolic blood volume index (GEDVI) was calculated by indexing GEDV on the BSA. Hemodynamic parameters were continuously registered.

2.5. Study design

After equipment and stabilization of the animal, an initial fluid bolus (Ringer Lactate, 10 mL.kg^{-1} over 20 minutes) was administered to warrant the absence of preload dependence before the hemodynamic challenges. In case of fluid responsiveness, the fluid bolus was repeated, but only the last one was registered. A succession of hypotension and hypertension phases was then performed, as shown in Fig. 1. A hypotensive phase was induced by inhalation of an increased concentration of sevoflurane. Two hypertensive challenges were then performed by a CRI of norepinephrine. For each pig, 10 coupled thermographic and hemodynamic parameters were recorded over time at the following time-points of interest: baseline, bolus 1, hypotension 1, normotension 1, hypertension 1, normotension 2, hypotension 2, bolus 2, hypertension 2 and hypotension 3. The targeted MAP for hypotension ranged from 30 to 50 mmHg. The targeted MAP for normotension ranged from 60 to 80 mmHg. The targeted MAP for hypertension ranged from 90 to 110 mmHg.

2.6. Thermography acquisition and analysis

The left forelimb was held extended with the animal in dorsal recumbency, exposing the elbow and carpus (Fig. 2). These body areas were hairless and not in contact with the heating table. They were also cleaned to remove any residual dirt on the skin before the capture of images.

The thermographic camera (FLIR-E6, FLIR Systems Inc, Wilsonville, Oregon, USA) presented the following characteristics: detector type - uncooled microbolometer, infrared resolution - 160×120 pixels, spectral range - $7.5\text{--}13 \mu\text{m}$, spatial resolution - 5.2 mrad, field of view (FOV) - $45^\circ \times 34^\circ$, object temperature range - -20°C to $+250^\circ\text{C}$, noise equivalent temperature difference (NETD) < 60 mk, thermal Sensitivity < 0.06°C , accuracy $\pm 2\%$ of reading, minimum focus distance - 50 cm. The device was calibrated as recommended by the manufacturer. The camera was positioned and immobilized throughout the procedure 50 cm vertically above the left forelimb. The emissivity of the skin was not measured and was fixed at 0.98, as indicated by the literature in humans [11] and pigs [19]. The reflected apparent temperature was automatically corrected

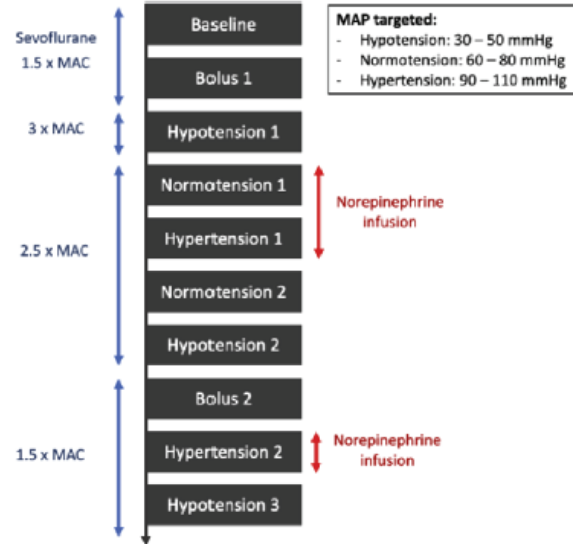


Fig. 1. Study design (MAC: minimum alveolar concentration, MAP: mean arterial pressure).



Fig. 2. Placement of the left foreleg during the study (white arrow: rope placed around the metacarpus to maintain the foreleg).

by the camera. A general description of the working principle of infrared thermography was available elsewhere [20].

Ten snapshots were taken for each pig over time, with one snapshot at each time-point of interest (Fig. 1). The images were taken directly after a fluid bolus or after the target MAP was reached and the hemodynamic parameters were recorded concomitantly.

The images were analyzed *a posteriori* using a dedicated software (Flirtools software). Before every image's analysis, the environmental conditions (humidity, ambient temperature) were recorded beforehand. For carrying out the analysis, a circle of 20 cm² was drawn on the elbow and a circle of 10 cm² was drawn on the carpus. For each zone, the average temperature was calculated by the software (Fig. 3). The core temperature was measured by the PiCCO catheter

and recorded. Gradients between skin temperature of the elbow (T_e) and carpus (T_{ca}) and the central temperature (T_c) were calculated to overcome the changes in skin temperature related to changes in core temperature ($T_c - T_e$) and ($T_c - T_{ca}$). The gradient ($T_e - T_{ca}$) was also calculated, similarly to the gradient $T_{skindiff} = T_{forearm} - T_{fingertip}$ described in human medicine [6]. Conversely to human literature, the peripheral temperature was measured at the carpus and not at the end of the finger to avoid any error due to the rope placed around the metacarpus to maintain the foreleg extended (Fig. 2, Fig. 3). This could have indeed created a tourniquet effect and biased the temperature measurement of the limb's extremity.

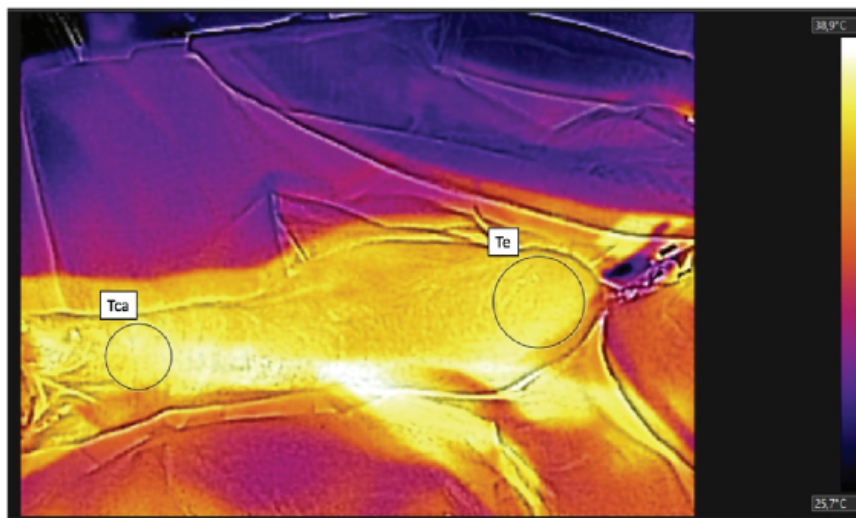


Fig. 3. Analysis of a thermographic image (A circle of 20 cm² was drawn on the elbow and a circle of 10 cm² was drawn over the *carpus* for the measure of the mean temperature; T_e : elbow mean temperature, T_{ca} : *carpus* mean temperature).

2.7. Statistical analysis

The statistical analysis was performed using R 3.5.2 software (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). The normality of distribution was assessed by using the Shapiro-Wilk normality test. As normal distribution was not corroborated, non-parametric tests were used. Spearman's method was applied to calculate the correlation coefficient between variables. Friedman tests were used for the assessment of intra-group differences. *A posteriori* Dunn's multiple comparisons test was applied to compare the differences between time-points, with a particular focus on "baseline" *versus* "bolus 1", "bolus 1" *versus* "hypotension 1", "hypotension 1" *versus* "hypertension 1", "hypertension 1" *versus* "hypotension 2", "hypotension 2" *versus* "bolus 2", and "hypertension 2" *versus* "hypotension 3". The Bonferroni correction was applied on the p-values generated. Univariate linear mixed models were performed using temperature gradients and T_c as dependent variables, the tested hemodynamic variables as fixed effect and individuals as random effects. Variables with a p-value lower than 0.10 in the univariate analysis were tested in a multivariate linear mixed model. Marginal R squared (R^2), evaluating the proportion of variance explaining by fixed effects, was calculated. To avoid multicollinearity, variables related to each other were not included in the same model. Therefore, hemodynamic variables were chosen over norepinephrine or sevoflurane, stroke volume (SV) and heart rate (HR) over cardiac output and arterial pressure and HR over SI. For every model, homoscedasticity and random distribution of residuals were checked by plotting residuals against fitted value. Random distribution of individual random effect was checked by visualizing the distribution of individual

random intercepts for each model. Data were expressed as median and interquartile range (IQR). A p-value of 0.05 was considered as level of significance.

3. Results

3.1. Descriptive data of hemodynamics and temperature derived parameters

The duration of the experimental procedure for each pig varied between 4 to 5 hours. The mean rate of variation in arterial pressure during the study was estimated at around 1.4 mmHg/min. The median values (IQR) of all variables are presented in Table 1. Due to a rapid change in blood pressure following norepinephrine administration, the measurements for the “normotension 1” period was not performed in two pigs.

3.2. Evolution of temperature gradients and hemodynamic parameters over time

The Friedman test indicated variations over time for (Tc – Te) (P = 0.0002), (Tc – Tca) (P < 0.0001) and every studied hemodynamics parameters (MAP, SAP, DAP, CI, SI, SVRI, GEDVI, PPV; P < 0.0001). No significant difference was found for the evolution of (Te – Tca) (P = 0.14).

- *Comparisons between “baseline” and “bolus 1”*

No significant variation was noticed for any parameter

- *Comparisons between “bolus 1” and “hypotension 1”*

A significant decrease of MAP (P = 0.02) and a significant increase in PPV (P = 0.02) were observed, with non-significant variations of CI, (Tc – Te) and (Tc – Tca) (P > 0.99).

- *Comparisons between “hypotension 1” and “hypertension 1”*

A significant increase of MAP (P = 0.0001), a significant increase of CI (P = 0.01) and a non-significant decrease in PPV (P = 0.07), were observed. They were associated with significant decrease of (Tc – Te) and (Tc – Tca) (P = 0.02).

- *Comparisons between “hypertension 1” and “hypotension 2”*

A significant decrease of MAP (P = 0.0001) was observed, with non-significant variations of CI (P = 0.13), PPV (P > 0.99), (Tc – Te) (P = 0.53) and (Tc – Tca) (P = 0.22).

- *Comparisons between “bolus 2” and “hypertension 2”*

A significant increase of MAP (P = 0.006), a non-significant increase of CI (P > 0.99) and a non-significant decrease in PPV (P > 0.99), were observed, associated with non-significant decrease of (Tc – Te) and (Tc – Tca) (respectively P = 0.67 and P = 0.08).

- *Comparisons between “hypertension 2” and “hypotension 3”*

A significant decrease of MAP (P = 0.002) was observed, with no significant variations of CI (P > 0.99), PPV (P > 0.99), (Tc – Te) (P = 0.93) and (Tc – Tca) (P = 0.47).

Figure 4 illustrates the evolution of (Tc - Tca), (Tc – Te), MAP, CI and PPV over time.

3.3. Correlations between temperature gradients and hemodynamic parameters

The correlation coefficients and levels of significance are described in Table 2. Among these results, the interesting elements observed are : a fair [21] negative significant correlations were found between MAP and (Tc – Tca) (r = -0.40), norepinephrine dose and (Tc – Tca) (r = -0.42), norepinephrine dose and (Tc – Te) (r = -0.40), CI and (Tc – Te) (r = -0.32), CI and (Tc – Tca) (r = -0.36), as well as a fair positive significant correlation between VPP and (Tc - Te) (r = 0.31).

Table 1. Evolution of the different study parameters over time

	Baseline	Bolus 1	Hypotension 1	Normotension 1	Hypertension 1	Normotension 2
Te-Tc °C	2.2 (2.0-2.9)	2.2 (0.6-2.5)	2.5 (1.4-4.1)	2.4 (2.2-3.2)	0.9 (0.2-1.3)^a	1.2 (0.8-2.2)
Tc-Tca °C	2.7 (1.9-3.0)	1.7 (0.5-2.7)	2.3 (1.2-3.7)	2.2 (1.4-2.9)	0.5 (0.00-1.2)^a	0.9 (0.4-2.0)
Te-Tca °C	0.2 (-0.4 -0.3)	-0.2 (-0.7 -0.5)	-0.2 (-0.4-0.1)	-0.6 (-0.9 -0.2)	-0.3 (-0.4 - 0.0)	-0.3 (-0.4-0.1)
MAP mmHg	63 (53-75)	72 (68-78)	42 (39-42)^a	74 (68-78)	103 (96-105)^a	77 (73-78)
CIL-min-m ²	1.37 (1.25-1.88)	1.66 (1.31-2.04)	1.34 (1.15-1.51)	1.48 (1.23-5.13)	2.55 (1.75-3.50)^a	2.92 (2.28-3.10)
SI	1.28 (0.87-1.62)	0.97 (0.90-1.25)	1.71 (1.51-2.17)	0.99 (0.91-1.13)	1.03 (0.94-1.24)	1.33 (1.12-1.56)
SVRI dynes-sec-cm ⁵ -m ²	3214 (2700-4289)	3662 (2811-4251)	2554 (2044-2874)	3883 (3083-5480)	3186 (2440-4591)	2137 (1760-2709)
GEDVI mL-m ²	189 (186-270)	226 (185-236)	230 (185-259)	248 (205-296)	240 (204-322)	216 (208-271)
PPV %	16 (12-22)	10 (8-12)	20 (19-22)^a	9 (8-10)	10 (8-18)	13 (11-19)
Norépinephrine dose µg.kg.min ⁻¹	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0.20 (0.15-0.35)	0.50 (0.25-0.80)	0.26 (0.11-0.40)
Sevoflurane dose %	3.5 (3.5-4.6)	3.5 (3.5-4)	8 (8-8)	5.0 (4.6-6.0)	5.0 (5.0-5.0)	5 (3.5-5)
			Hypotension 2	Bolus 2	Hypertension 2	Hypotension 3
Te-Tc °C			1.5 (1.2-3.0)	2.1 (1.5-3.3)	1.3 (0.2-1.8)	2.1 (1.8-3.5)
Tc-Tca °C			1.4 (0.9-2.6)	2.65 (1.2-3.4)	0.9 (0.3-1.5)	2.2 (1.6-2.9)
Te-Tca °C			-0.2 (-0.4-0.1)	0.1 (-0.5-0.3)	-0.3 (-0.6-0.7)	-0.1 (-0.6-0.1)
MAP mmHg			43 (30-45)^a	57 (49-60)	100 (100-108)^a	48 (46-50)^a
CIL-min-m ²			1.44 (1.29-1.75)	1.54 (1.32-1.76)	2.07 (1.50-2.76)	1.69 (1.39-2.22)
SI			1.85 (1.70-2.34)	1.28 (1.17-1.48)	0.91 (0.85-1.00)	1.79 (1.37-2.11)
SVRI dynes-sec-cm ⁵ -m ²			2459 (2050-2610))	2703 (2446-3542)	4065 (3059-5679)	2281 (1898-2756)
GEDVI mL-m ²			178 (172-220)	186 (180-249)	207 (182-239)	190 (171-245)
PPV %			18 (12-23)	7.5 (7-12)	11 (7-15)	11 (9-16)
Norépinephrine dose µg.kg.min ⁻¹			0 (0-0)	0 (0-0)	0.40 (0.20-0.48)	0 (0-0)
Sevoflurane dose %			5.0 (3.6-5.0)	4.0 (3.5-4.8)	3.75 (3.50-5.00)	3.75 (3.50-5.00)

Te: Central temperature. Tc: elbow temperature. Tca: carpus temperature. MAP: mean arterial pressure. MAP: mean arterial pressure. SAP: systolic arterial pressure. DAP: diastolic arterial pressure. CI: cardiac index. SI: shock index. SVRI: systemic vascular resistance in dex. GEDVI: global end-diastolic volume index. PPV: pulse pressure variation.

^a*p* < 0.05 for the comparisons of different times: "baseline" versus "bolus 1", "bolus 1" versus "hypotension 1", "hypotension 1" versus "hypertension 1", "hypertension 1" versus "hypotension 2", "hypotension 2" versus "hypertension 2" versus "bolus 2", and "hypertension 2" versus "hypotension 3". Significant results are presented in bold type.

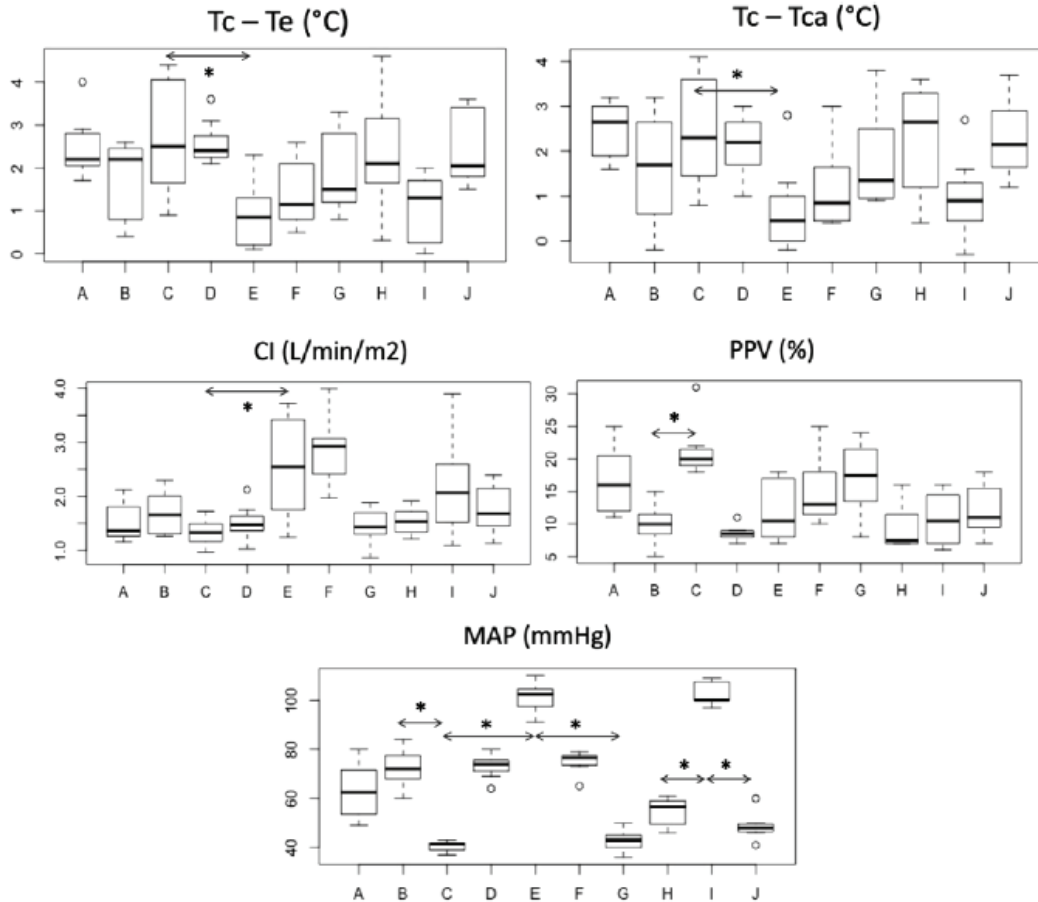


Fig. 4. Boxplots describing the course of ($Tc - Te$) (a), ($Tc - Tca$) (b), MAP (c), CI (d) and PPV (e) over time points. On the abscissa: Time points (A: Baseline, B: Bolus 1, C: Hypotension 1, D: Normotension 1, E: Hypertension 1, F: Normotension 2, G: Hypotension 2, H: Bolus 2, I: Hypertension 2, J: Hypotension 3). On ordinate: Tc : central temperature. Te : elbow temperature. Tca : carpus temperature; MAP : mean arterial pressure; CI : cardiac index; PPV : pulse pressure variation, * $P < 0.05$.

Regarding correlations between temperature gradients: there was a very strong positive correlation between ($Tc - Te$) and ($Tc - Tca$) and a fair positive correlation between ($Tc - Tca$) and ($Te - Tca$).

Figure 5 illustrates ($Tc - Te$)-($Tc - Tca$) as a function of MAP .

3.4. Influence of hemodynamic parameters on temperature gradient

Table 3 summarizes the results of univariate and multivariate linear mixed models. In multivariate analysis, ($Tc - Tca$) was associated with MAP ($P = 0.004$) and HR ($P = 0.03$), ($Tc - Te$) was associated with MAP ($P = 0.04$) and HR ($P = 0.01$). No association was demonstrated between hemodynamic parameters and core temperature or ($Te - Tca$). R^2 for the ($Tc - Tca$) model was 0.28. Thus, the variation of MAP and HR explain 28% of the variance of ($Tc - Tca$). R^2 for the ($Tc - Te$) model was about 0.27. Thus, the variation of SV , MAP and HR explain 27% of the variance of ($Tc - Te$).

Table 2. Correlations between parameters

		Tc - Te	Tc - Tca	Te - Tca	Tc	Te	Tca
MAP	<i>Spearman correlation</i>	-0.36*	-0.40*	-0.15	0.001	0.27	0.28
	<i>P-value</i>	0.007	0.002	1	1	0.14	0.10
SI	<i>Spearman correlation</i>	0.12	0.19	0.24	0.02	-0.09	-0.15
	<i>P-value</i>	1	0.63	1	1	1	1
CI	<i>Spearman correlation</i>	-0.32*	-0.36*	0.12	-0.007	0.47*	0.47*
	<i>P-value</i>	0.05	0.02	1	1	0.00008	0.00008
SVRI	<i>Spearman correlation</i>	-0.02	-0.05	-0.15	0.001	-0.15	-0.18
	<i>P-value</i>	1	1	1	1	1	1
GEDVI	<i>Spearman correlation</i>	-0.08	-0.001	-0.23	0.20	0.34*	0.40*
	<i>P-value</i>	1	1	0.42	0.78	0.032	0.006
VPP	<i>Spearman correlation</i>	0.31*	0.10	0.19	0.03	-0.28	-0.26
	<i>P-value</i>	0.04	1	0.63	1	0.20	0.30
Norepinephrine dose	<i>Spearman correlation</i>	-0.40*	-0.42*	-0.10	-0.04	0.23	0.25
	<i>P-value</i>	0.002	0.0007	1	1	0.5	0.35
Sevoflurane dose	<i>Spearman correlation</i>	0.07	0.05	-0.04	0.17	0.08	0.07
	<i>P-value</i>	1	1	1	1	1	1
Tc - Te	<i>Spearman correlation</i>	-	0.89*	-0.02	-	-	-
	<i>P-value</i>	-	0.0007	1	-	-	-
Tc - Tca	<i>Spearman correlation</i>	0.89*	-	0.40*	-	-	-
	<i>P-value</i>	0.0007	-	0.002	-	-	-

Tc: central temperature, Te: elbow temperature, Tca: carpus temperature. Correlation coefficient interpretation: fair correlation [0.30 < |r| < 0.50], very strong correlation [0.80 < |r| < 1] - According to Chan YH. [20]. * P < 0.05 (Significant results are presented in bold type)

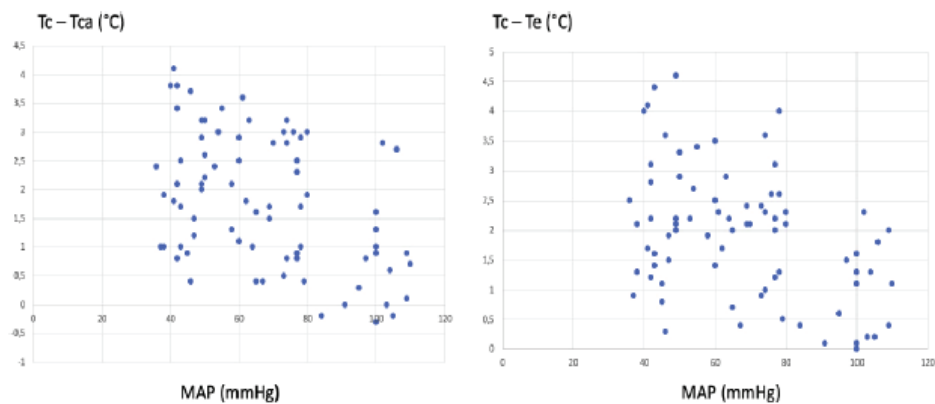


Fig. 5. Representation of (Tc - Tca) and (Tc - Te) as a function of MAP (Tc: central temperature, Te: elbow temperature, Tca: carpus temperature, MAP: mean arterial pressure).

Table 3. Hemodynamic determinants of temperature – Results of univariate and multivariate analysis

Dependent variable	Fixed effect	Univariate analysis		Multivariate analysis	
		Estimate	<i>P</i> -value	Estimate	<i>P</i> -value
Tc - Tca	MAP	-0.024	<0.0001	-0.017	0.004
	GEDVI	-0.005	0.18		
	SV	-0.014	0.12		
	SVRI	-0.0002	0.16		
	HR	-0.021	<0.0001	-0.012	0.03
Tc - Te	PPV	0.033	0.17		
	MAP	-0.024	<0.0001	-0.013	0.04
	GEDVI	-0.004	0.26		
	SV	-0.019	0.06	-0.011	0.19
	SVRI	-0.0001	0.34		
	HR	-0.023	<0.0001	-0.015	0.01
Te - Tca	PPV	0.018	0.46		
	MAP	-0.0006	0.23		
	GEDVI	-0.0008	0.60		
	SV	0.007	0.06		
	SVRI	<0.0001	0.12		
	HR	0.0008	0.67		
Tc	PPV	0.01	0.27		
	MAP	-0.002	0.58		
	GEDVI	-0.12	0.66		
	SV	-0.006	0.26		
	SVRI	<0.0001	0.46		
	HR	0.004	0.17		
	PPV	-0.0007	0.95		

Tc: Central temperature. Te: elbow temperature. Tca: carpus temperature. HR: heart rate. MAP: mean arterial pressure. SV: stroke volume. SVRI: systemic vascular resistance index. GEDVI: global end-diastolic volume index. PPV: pulse pressure variation. Significant results are presented in bold type.

4. Discussion

The current study aimed to evaluate the variation of IT according to hemodynamic changes in an experimental porcine model. The main results are significant associations between hemodynamic parameters and skin temperature gradients measured with IT. The relationship between IT and hemodynamics parameters were as followed: a fair negative correlation between MAP and (Tc - Tca), a fair negative correlation between norepinephrine dose and (Tc - Tca) and (Tc - Te), a fair negative correlation between MAP and (Tc - Te) and fair negative correlations between these two temperature gradients and CI. Furthermore, MAP and HR significantly influenced (Tc - Tca) and (Tc - Te).

In the current study, a piglet model was chosen as it allows better hemodynamic monitoring and presents physiological similarities with humans, especially regarding cardiovascular physiology [18]. Temperature gradients were chosen, following previous studies that reported the superiority of temperature gradients over single area measurement for the diagnosis of peripheral hypoperfusion in critical patients [6]. The three temperature gradients selected aimed to reproduce the gradients used in human clinical practice. The gradients between the central temperature and the peripheral temperature (elbow or carpus) are very similar to the “central-to-toe” gradient used for human patients. We measured the temperature next to the elbow and the carpus, and not at the end of a finger. As the extremity of the limb was tied to be maintained extended, the perfusion of the fingers and consequently their temperature could have been altered by the rope string acting as a tourniquet. Since a strong correlation between the gradients “Tc - Tca” and “Tc - Te” was noticed, it is probable that the measurement of the temperature at the finger level would have given similar results. In addition, former studies have reported the preponderance of heat brought by perfusion over local production [16]. It is now considered that the preponderant role of skin perfusion in the control of temperature is particularly relevant in the acral glabrous areas [10], which justifies the decision to study the cutaneous temperature around the elbow and carpus areas. The calculation of gradients overcomes the influence of central temperature variations that may occur in particular conditions such as anesthesia (excessive heat loss due to anesthetic drugs or heat gain associated with the use of active warming device). Unlike (Tc - Tca) and (Tc - Te), the calculated (Te - Tca) gradient was of little interest: it showed no significant variations over time and no correlation with hemodynamics. This gradient was calculated to reproduce the Tskindiff gradient used in humans as an index of hypoperfusion [6]. This observation confirms hereby previous reports indicating that this gradient lacks reliability to reflect real-time changes in peripheral perfusion [6]. The rapid changes in blood pressure in our experimental setting could explain this absence of significant change over time. Moreover, the (Te - Tca) gradient differed from the one described in human literature, which considers the most peripheral temperature at the end of a finger, whereas in our experimental setting, the carpal temperature was measured for the aforementioned reason.

Regarding hemodynamic variations, the hypotensive phases were performed to mimic the alterations observed during a circulatory shock [2]. The overdose of sevoflurane was chosen as it causes a decrease in systemic vascular resistance and a myocardial depression [22], similarly to the predominant mechanisms of hypotension encountered in septic shock that leads to tissue hypoperfusion [23–25]. To counteract these alterations and promote a progressive increase in blood pressure, norepinephrine was administered because of its predominant agonist effect on α 1-adreno-receptors and its weak agonist effect on β 1- β 2-adreno-receptors (at higher doses), in addition to its short half-life [26]. Fluid challenges were performed to ensure proper blood circulating volume during the pharmacological tests and to limit the dose of vasopressors.

Infrared thermography is easy to perform and does not require an intensive training. The camera used in this study gives instantly the average temperature of an area, allowing a quick calculation of temperature gradients between distinct zones. To date, only a few studies have focused on the use of IT for the diagnosis of peripheral hypoperfusion in critical condition. A

study performed on a porcine model of acute lung injury [27] reported similar results to the present ones. Nevertheless, in this study, the area of interest was different and potentially less appropriate, as it focused on the whole anterior area of the animals and required a complex image processing. Another study aimed to evaluate if IT could help to distinguish survivors and non-survivors during sepsis in human patients. It showed an association between the mottling score and the drop in cutaneous temperature of the knee [5], but thermography was not reported as an independent factor of mortality. In a case series of 8 children, IT was successfully used to distinguish children in shock from healthy children [4]. However, in the study cited previously, no temperature gradient was calculated and the authors did not compare the thermography data with the hemodynamic parameters. Finally, thermography was also studied for the prediction of shock conditions in infants [28]. The objective was to develop an automated system for predicting shock based on a thermal image of a whole infant. A gradient between peripheral to central temperature was calculated using abdominal temperature measured by IT, as a mean to reflect central temperature. Nevertheless, this way of assessing central temperature cannot be considered as a reference technique, contrary to the method used in our study. In this last study, the thermographic data were not compared to hemodynamic parameters and the image analysis procedures were very complex. Thus, our study provides new insights concerning the correlation between hemodynamic parameters and the temperature gradient, which is mostly used in a clinical setting. Furthermore, the technology used in our protocol did not require a complex processing to analyze the images: the results are obtained quickly which may be suitable for a medical practice.

In the current study, there was a significant correlation between the cooling of the extremities and the fall in blood pressure or in cardiac output (Table 2), despite the rapidity of this decline. Furthermore, MAP and HR significantly influence $(T_c - T_{ca})$ and $(T_c - T_e)$. These results confirm the link between blood flow and temperature. The cardiac output equals heart rate time stroke volume. From the results of the multivariate analysis showing the significant association between temperature and heart rate, it seems that the correlation observed with cardiac index is determined more by heart rate than by stroke volume. In addition, the present results suggest that the correlations between MAP, CI and temperature gradients are related to changes in elbow and *carpus* temperature rather than changes in central temperature. Hence, there was no correlation or association between the hemodynamic parameters and the T_c . An increase in MAP and CI may lead ameliorate global tissue perfusion, including skin and other peripheral areas, explaining the observed correlations. Thus, the increase in peripheral perfusion reduce the difference between the central temperature and the peripheral temperature. Furthermore, when blood is flowing from the inner part of the body to the periphery, it mediates a heat transfer. This explains the decrease in calculated temperature gradients reported in our study. In theory, core body heat is produced by basal metabolism and two other main mechanisms (digestion and muscle activity), it is transferred thereafter to the extremities with the bloodstream. The blood therefore gain heat in the core body and then loses thermal energy in peripheral regions, mainly in the skin [17]. In the current study, muscle activity was null and metabolism slowed down. The central temperature was partly maintained artificially by a heating mat placed in the back of the pigs.

Unexpectedly, the marginal R^2 for the models were about 0.28, indicating that only 28% of the cutaneous temperature variance was related to changes in mean arterial pressure, heart rate or stroke volume. This low participation can be explained by the existence of local factors influencing skin temperature, independently from changes in systemic blood pressure [17], but also the peripheral vasodilation caused by sevoflurane [22].

The strong negative correlations between norepinephrine dose and $(T_c - T_e)$ and $(T_c - T_{ca})$ may be explained by the fact that norepinephrine causes an increase in both MAP and CI in our study. A similar finding was observed in pigs undergoing different types of shock (cardiogenic [29], hemorrhagic [30], endotoxic [31]). The mechanisms underlying this raise in MAP are primarily

due to an increase in vascular resistance through α 1-adrenergic receptors stimulation. Regarding the increase in CI, this effect is considered to be mainly related to an increase in venous return and stroke volume following venoconstriction. In addition, β 1-adrenergic stimulation at higher dose may also induce an increase in cardiac contractility [32]. These hemodynamic changes may thus improve peripheral perfusion and explain the correlation observed between the amount of norepinephrine administered and the temperature gradients. The use of norepinephrine could have also caused an increase in peripheral vascular resistances and a potential decrease in the temperature gradient [33], but this was not observed in the present case, probably because of an insufficient dose administered or because of the vasodilation associated with sevoflurane.

Regarding the relationship with other hemodynamic parameters, a moderate positive correlation between PPV and $(T_c - T_e)$ was noticed. Pulse pressure variation results from the difference between the maximum and minimum arterial pressure variations over a single respiratory cycle, it is divided by the mean of the maximum and minimum variations and expressed as a percentage. An increased PPV indicates a relative hypovolemia and predicts fluid responsiveness in humans, but also in pigs [34]. This observation confirms the link between perfusion and temperature. However, despite the potential influence of volemia on the variations of temperature gradients, there was no significant difference between the temperature gradients before and after fluid bolus administration in our study. This counterintuitive result may be explained by the small sample size of our study, the absence of large variations in volemia, or the presence of artefactual increases in PPV related to norepinephrine administration. Indeed, in the pig, PPV has been significantly influenced by norepinephrine infusion [35].

We must acknowledge several limitations for the present study. The small number of animals limited the power of this study and probably explains the absence of significant differences between certain time-points. In particular, failure to observe a significant difference in temperature gradients between “hypertension 1” and “hypotension 2” and between “Hypertension 2” and “Hypotension 3” was an unexpected result. Since the experimental conditions were similar and constant for every animal (the experimental plan, duration of experimentation, environmental conditions and administration of medication), we do not believe that this observation can be explained by modifications of the experimental parameters. It is possible that the rapid successive hemodynamic changes triggered physiological local changes, particularly shear stress and myogenic response [36,37]. So, it is possible that the rapid variations on local vasoreactivity following the administration of sevoflurane and norepinephrine caused some endothelial dysfunction. The results of the linear mixed models were also suggesting the existence local factors influencing skin perfusion.

Another limitation is the absence of method of reference or comparative technique. Despite the fact that IT extremity temperature assessment seems more objective than a manual assessment, we did not compare both methods. Such comparisons were not performed in the afore-mentioned studies. Regarding peripheral perfusion, there is no gold-standard technique [4–6]. Other technologies have been developed, such as NIRS (Near-infrared spectroscopy) and PPI (Peripheral perfusion index) [6,38]. More recently, spectrometry has been used to demonstrate an alteration of peripheral perfusion in a porcine model of hemorrhagic shock [39]. These methods are still under development, but have brought some evidence of impaired peripheral perfusion in critical patients [6]. Unfortunately, we did not have access to these technologies.

The pigs were anesthetized with sevoflurane, an agent that may cause in very rare cases malignant hyperthermia in predisposed pigs [40,41]. An increase in temperature was observed in four piglets, although remaining within normal range, and could have produced a bias. This was limited by the calculation of temperature gradients, that aimed to limit the influence of the variations of central temperature. The occurrence of malignant hyperthermia in the present study is very unlikely, as an increase in EtCO₂ [42], muscle fasciculation and rigidity, which are particular signs of this pathological condition, were not observed in those animals. This

increase in central temperature is probably related to a bad adjustment of the heating mats placed under the pigs. If the use of the heating mats was associated with a risk of influencing the IT measurements, they were used to prevent a decrease of core temperature and were not in direct contact with the forelimb.

Finally, two different temperature measurement techniques were used: thermography for the peripheral temperature and the PiCCO catheter for the core temperature. The accuracy of the thermography camera is about 2% of the measured value (an accuracy of 0.6 to 0.7 °C), while the catheter is more precise (0.15 °C). Thus, in the present study, the accuracy of the calculated temperature gradient was limited by the accuracy of the thermography, that is 0.6 to 0.7 °C. The measurement by the catheter was chosen because of its accuracy and reliability in measuring the core temperature, in addition to its use for hemodynamic monitoring [43].

The impact of time on variations in temperature gradients was not evaluated in our study. There must be a period of time between hemodynamic variations and temperature variations, but this time period could not be evaluated. The experiment consisted in varying the blood pressure over time. The time variable and the pressure variable were likely to be collinear and the inclusion of the two would have reduced the power of the analysis. The average speed of variation of the pressure over time has nevertheless been calculated to illustrate the speed of the variation and provide information concerning the time.

5. Conclusion

The current study provides new insights on the correlation between systemic hemodynamic parameters and the peripheral to central temperature gradients. In the present experimental setting, the peripheral temperature of limb extremities varied according to changes in arterial pressure, heart rate and cardiac index. These temperature changes can be detected by infrared thermography, a non-invasive and easy-to-perform method, and after calculation of a temperature gradient with the central temperature as a reference. These results highlight the possibility of detecting changes of peripheral perfusion by measuring the skin temperature of the extremities by this technology.

Funding

VetAgro Sup.

Disclosures

The authors declare that there are no conflicts of interest related to this article.

References

1. M. Cecconi, D. De Backer, M. Antonelli, R. Beale, J. Bakker, C. Hofer, R. Jaeschke, A. Mebazaa, M. R. Pinsky, J. L. Teboul, J. L. Vincent, and A. Rhodes, "Consensus on circulatory shock and hemodynamic monitoring. Task force of the European Society of Intensive Care Medicine," *Intensive Care Med.* **40**(12), 1795–1815 (2014).
2. J.-L. Vincent and D. De Backer, "Circulatory Shock," *N. Engl. J. Med.* **369**(18), 1726–1734 (2013).
3. Y. Sakr, K. Reinhart, J.-L. Vincent, C. L. Sprung, R. Moreno, V. M. Ranieri, D. De Backer, and D. Payen, "Does dopamine administration in shock influence outcome? Results of the Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients (SOAP) Study," *Crit. Care Med.* **34**(3), 589–597 (2006).
4. A. Ortiz-Dosal, E. S. Kolosovas-Machuca, R. Rivera-Vega, J. Simón, and F. J. González, "Use of infrared thermography in children with shock: A case series," *SAGE Open Med. Case Rep.* **2**, 2050313X1456177 (2014).
5. A. Ferraris, C. Bouisse, N. Mottard, F. Thiollière, S. Anselin, V. Piriou, and B. Allaouchiche, "Mottling score and skin temperature in septic shock: Relation and impact on prognosis in ICU," *PLoS One* **13**(8), e0202329 (2018).
6. M. E. van Genderen, J. van Bommel, and A. Lima, "Monitoring peripheral perfusion in critically ill patients at the bedside," *Curr. Opin. Crit. Care* **18**(3), 273–279 (2012).
7. I. Jawad, I. Lukšić, and S. B. Rafnsson, "Assessing available information on the burden of sepsis: global estimates of incidence, prevalence and mortality," *J. Glob. Health* **2**(1), 010404 (2012).
8. M. Lokaj, N. Czaplá, A. Falkowski, and P. Prowans, "The use of thermography in early detection of tissue perfusion disorders in rats," *Videosurgery Miniinvasive Tech.* **3**(3), 329–336 (2014).

9. A. L. Herrick and A. Murray, "The role of capillaroscopy and thermography in the assessment and management of Raynaud's phenomenon," *Autoimmun. Rev.* **17**(5), 465–472 (2018).
10. J. Allen and K. Howell, "Microvascular imaging: techniques and opportunities for clinical physiological measurements," *Physiol. Meas.* **35**(7), R91–R141 (2014).
11. V. Bernard, E. Staffa, V. Mornstein, and A. Bourek, "Infrared camera assessment of skin surface temperature – Effect of emissivity," *Phys. Med.* **29**(6), 583–591 (2013).
12. H. Motoyama, F. Chen, K. Hijjiya, T. Kondo, K. Ohata, M. Takahashi, T. Yamada, M. Sato, A. Aoyama, and H. Date, "Novel thermographic detection of regional malperfusion caused by a thrombosis during ex vivo lung perfusion," *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* **20**(2), 242–247 (2015).
13. F. Deng, Q. Tang, Y. Zheng, G. Zeng, and N. Zhong, "Infrared thermal imaging as a novel evaluation method for deep vein thrombosis in lower limbs," *Med. Phys.* **39**(12), 7224–7231 (2012).
14. C. Pouzot-Nevolet, A. Barthélemy, I. Goy-Thollot, E. Boselli, M. Cambournac, J. Guillaumin, J.-M. Bonnet-Garin, and B. Allaouchiche, "Infrared thermography: a rapid and accurate technique to detect feline aortic thromboembolism," *J. Feline Med. Surg.* **20**(8), 780–785 (2018).
15. M. Adam, E. Y. K. Ng, J. H. Tan, M. L. Heng, J. W. K. Tong, and U. R. Acharya, "Computer aided diagnosis of diabetic foot using infrared thermography: A review," *Comput. Biol. Med.* **91**, 326–336 (2017).
16. T. J. Love, "Thermography as an Indicator of Blood Perfusion," *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **335**(1 Thermal Chara), 429–437 (1980).
17. B. F. Jones, "A reappraisal of the use of infrared thermal image analysis in medicine," *IEEE Trans. Med. Imaging* **17**(6), 1019–1027 (1998).
18. M. M. Swindle, A. Makin, A. J. Herron, F. J. Clubb, and K. S. Frazier, "Swine as Models in Biomedical Research and Toxicology Testing," *Vet. Pathol.* **49**(2), 344–356 (2012).
19. D. D. Soerensen, S. Clausen, J. B. Mercer, and L. J. Pedersen, "Determining the emissivity of pig skin for accurate infrared thermography," *Comput. Electron. Agric.* **109**, 52–58 (2014).
20. G. J. Tattersall, "Infrared thermography: A non-invasive window into thermal physiology," *Comp. Biochem. Physiol., Part A: Mol. Integr. Physiol.* **202**, 78–98 (2016).
21. Y. H. Chan, "Biostatistics 104: Correlational Analysis," *Singapore Med. J.* **44**(12), 614–619 (2003).
22. S. De Hert and A. Moerman, "Sevoflurane," *F1000Research* **4**, 626 (2015).
23. J. A. Russell, B. Rush, and J. Boyd, "Pathophysiology of Septic Shock," *Crit. Care Clin.* **34**(1), 43–61 (2018).
24. R. Sato and M. Nasu, "A review of sepsis-induced cardiomyopathy," *J. Intensive Care* **3**(1), 48 (2015).
25. M. M. Gamcrilidze, N. A. Intskirveli, K. D. Vardosanidze, K. E. Chikhladze, L. S. Goliadze, and L. R. Ratiani, "Vasoplegia in septic shock (review)," *Georgian Med. News* **239**, 56–62 (2015).
26. S. P. H. Alexander, A. Mathie, and J. A. Peters, "Guide to Receptors and Channels (GRAC), 5th edition," *Br. J. Pharmacol.* **164**(Suppl 1), S1–S2 (2011).
27. C. B. Pereira, M. Czaplik, N. Blanic, R. Rossaint, V. Blazek, and S. Leonhardt, "Contact-free monitoring of circulation and perfusion dynamics based on the analysis of thermal imaging," *Biomed. Opt. Express* **5**(4), 1075–1089 (2014).
28. A. Nagori, L. S. Dhingra, A. Bhatnagar, R. Lodha, and T. Sethi, "Predicting Hemodynamic Shock from Thermal Images using Machine Learning," *Sci. Rep.* **9**(1), 91 (2019).
29. A. Beurton, N. Ducrocq, T. Aucht, F. Joineau-Groubatch, A. Falanga, A. Kimmoun, N. Girerd, R. Fay, F. Vanhuysse, N. Tran, and B. Levy, "Beneficial Effects of Norepinephrine Alone on Cardiovascular Function and Tissue Oxygenation in a Pig Model of Cardiogenic Shock," *Shock* **46**(2), 214–218 (2016).
30. R. Giraud, N. Siegenthaler, D. Arroyo, and K. Bendjelid, "Impact of epinephrine and norepinephrine on two dynamic indices in a porcine hemorrhagic shock model," *J. Trauma Acute Care Surg.* **77**(4), 564–569 (2014).
31. M. M. Treggiari, J.-A. Romand, D. Burgener, P. M. Suter, and A. Aneman, "Effect of increasing norepinephrine dosage on regional blood flow in a porcine model of endotoxin shock," *Crit. Care Med.* **30**(6), 1334–1339 (2002).
32. R. Persichini, S. Silva, J.-L. Teboul, M. Jozwiak, D. Chemla, C. Richard, and X. Monnet, "Effects of norepinephrine on mean systemic pressure and venous return in human septic shock," *Crit. Care Med.* **40**(12), 3146–3153 (2012).
33. P. Foulon and D. De Backer, "The hemodynamic effects of norepinephrine: far more than an increase in blood pressure!" *Ann. Transl. Med.* **6**(S1), S25 (2018).
34. J. Noel-Morgan, D. Otsuki, J. O. Auler, J. Fukushima, and D. Fantoni, "Pulse Pressure Variation Is Comparable With Central Venous Pressure to Guide Fluid Resuscitation in Experimental Hemorrhagic Shock With Endotoxemia," *Shock* **40**(4), 303–311 (2013).
35. J. Renner, P. Meybohm, R. Hanss, M. Gruenewald, J. Scholz, and B. Bein, "Effects of norepinephrine on dynamic variables of fluid responsiveness during hemorrhage and after resuscitation in a pediatric porcine model," *Paediatr. Anaesth.* **19**(7), 688–694 (2009).
36. K. S. Cunningham and A. I. Gotlieb, "The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis," *Lab. Invest.* **85**(1), 9–23 (2005).
37. P. F. Davies, "Hemodynamic shear stress and the endothelium in cardiovascular pathophysiology," *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* **6**(1), 16–26 (2009).
38. T. Li, M. Duan, K. Li, G. Yu, and Z. Ruan, "Bedside monitoring of patients with shock using a portable spatially-resolved near-infrared spectroscopy," *Biomed. Opt. Express* **6**(9), 3431 (2015).
39. K. Vishwanath, R. Gurjar, D. Wolf, S. Riccardi, M. Duggan, and D. King, "Diffuse optical monitoring of peripheral tissues during uncontrolled internal hemorrhage in a porcine model," *Biomed. Opt. Express* **9**(2), 569–580 (2018).

40. G. A. Gronert and J. H. Milde, "Variations in onset of porcine malignant hyperthermia," *Anesth. Analg.* **60**(7), 499–503 (1981).
41. M. Shulman, B. Braverman, A. D. Ivankovich, and G. Gronert, "Sevoflurane triggers malignant hyperthermia in swine," *Anesthesiology* **54**(3), 259–260 (1981).
42. H. Rosenberg, N. Pollock, A. Schiemann, T. Bulger, and K. Stowell, "Malignant hyperthermia: a review," *Orphanet J. Rare Dis.* **10**(1), 93 (2015).
43. D. Krizanac, P. Stratil, D. Hoerburger, C. Testori, C. Wallmueller, A. Schober, M. Haugk, M. Haller, W. Behringer, H. Herkner, F. Sterz, and M. Holzer, "Femoro-iliacal artery versus pulmonary artery core temperature measurement during therapeutic hypothermia: an observational study," *Resuscitation* **84**(6), 805–809 (2013).



Core-to-skin temperature gradient measured by thermography predicts day-8 mortality in septic shock: A prospective observational study

Harry Amson, MD^{a,b,*}, Charles-Hervé Vacheron, MD^{a,b,c}, Fabrice Thiollere, MD^a, Vincent Piriou, MD, PhD^{a,b}, Mathieu Magnin, DVM^d, Bernard Allaouchiche, MD, PhD^{a,b,d}

^a Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon-Sud, Service de Réanimation, Pierre-Bénite F-69310, France

^b Université Claude Bernard, Lyon1, Villeurbanne, France

^c Service de Biostatistique-Bioinformatique, Pôle Santé Publique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

^d Pulmonary and Cardiovascular Aggression in Sepsis (APCSe), Université de Lyon, VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon, UPSP 2016A101, F-69280, Marcy l'Étoile, France

ARTICLE INFO

Available online xxx

Keywords:

Sepsis
Septic shock
Skin temperature
Thermography
Peripheral perfusion

ABSTRACT

Background: Septic shock is associated with altered peripheral perfusion. Core-to-skin temperature gradient depends on skin perfusion and microcirculatory function. We hypothesized that a high core-to-skin temperature gradient is correlated with mortality in septic shock.

Methods: We conducted a prospective observational study including 61 patients at the first 24 h of a septic shock in an intensive care unit. During the 24 first hours after norepinephrine administration, we collected clinical and circulatory characteristics, skin perfusion assessment (Capillary refill time (CRT), Mottling score) and we measured skin temperature with an infrared thermographic camera. We measured the Core-to-skin temperature gradient to evaluate if it is a predictor of day-8 mortality.

Results: Day-8 mortality was 16.3%. Core-to-index finger temperature gradient $>7^{\circ}\text{C}$ was associated with day-8 mortality (OR = 18.0, [3.02–346.14], $p = 0.002$). This association was still significant after adjustment to the SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) score. A model including a high SOFA score and a core-to-index finger temperature gradient $>7^{\circ}\text{C}$ was effective to predict day-8 mortality (c-statistic: 0.8735 [0.770–0.976]). Core-to-index finger temperature gradient was correlated with CRT, Mottling Score, and arterial lactate levels.

Conclusions: Core-to-index finger temperature gradient higher than 7°C predicts day-8 mortality in septic shock and is correlated with other tissue perfusion markers.

© 2020 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Sepsis is a life-threatening state caused by abnormal host response to an infection [1,2]. It is associated with altered peripheral perfusion. Septic shock is a frequent cause of admission in intensive care unit (ICU) with a high mortality of around 38% [3]. The international guidelines recommend to mainly aim the resuscitation at normalizing the macrocirculatory state and to use the sole arterial lactate levels as a marker of tissue perfusion [2]. However, restoring the macrocirculatory parameters is not always sufficient. In fact, despite hemodynamic stabilization, changes in peripheral perfusion may persist [4–6]. One of the leading research subjects in improving sepsis outcome is the study of peripheral perfusion and microcirculation. Indeed, during sepsis, altered

peripheral perfusion and microvascular impairment are associated with an alteration of tissue oxygenation and organ dysfunction [7]. Thus, the persistence of such anomalies is associated with mortality [8]. Therefore, the monitoring of peripheral perfusion is interesting in order to better understand septic shock and to improve patients' outcome. Several methods are used to study peripheral perfusion, including laser Doppler flowmetry [9], near infrared spectroscopy [10], or sublingual microscopy [11]. However, these techniques are expensive and require experienced physicians. The predominance of the sympathetic neurohumoral response is at the origin of a reduction of the cutaneous perfusion and therefore of a decrease in temperature [6]. Thus, the study of skin clinical state can be a surrogate to peripheral tissue perfusion analysis. Skin perfusion can be easily assessed clinically by studying mottling patterns on the legs, capillary refill time or skin temperature, which already have been associated with sepsis outcome [12–14].

The precise measurement of surface temperature without contact can be achieved with infrared thermography (IT). This technique was used in studies involving breast cancer and lower limbs arteriopathy [15]. Thermography allowed detection of peripheral perfusion disorders following rapid hemodynamic variations in pigs [16]. It was also used to

* Corresponding author at: Centre Hospitalier Lyon Sud, Service d'Anesthésie-Réanimation, 165 chemin du Grand Revoyet, Pierre-Bénite F-69495, France.

E-mail addresses: henry.amson@chu-lyon.fr (H. Amson), charles-herve.vacheron@chu-lyon.fr (C.-H. Vacheron), fabrice.thiollere01@chu-lyon.fr (F. Thiollere), vincent.piriou@chu-lyon.fr (V. Piriou), mathieu.magnin@vetagro-sup.fr (M. Magnin), bernard.allaouchiche@chu-lyon.fr (B. Allaouchiche).

assess skin temperature during sepsis in humans [17,18]. In order to avoid the influence of ambient temperature, the measure of temperature gradient (TG) between two points seems much more relevant than a single point temperature measure.

In the present study, we aimed to evaluate whether the core-to-skin temperature gradients, measured by IT, represent a predictive factor of short-term mortality during septic shock.

2. Material & methods

2.1. Study setting

We conducted a prospective observational study in a 27-bed ICU. All patients were included between June 2018 and June 2019.

Informed oral consent was obtained from all participants or from close relatives when the person was unable to give consent. All patients and family were informed that anonymous data and pictures would be used for academic research, and offered the possibility to retract the consent at any time. The study has been also approved by the appropriate ethics committee (*Comité de Protection des Personnes*, SUD-EST IV, Lyon, France, Ref L15-2013) and has therefore been performed in accordance with the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments.

2.2. Participants

We included adult patients (≥ 18 years) with septic shock admitted to the ICU requiring introduction of vasopressor in the last 24 h. Septic shock was defined, according to the latest international consensus definition as sepsis with persisting hypotension requiring vasopressors to maintain a mean arterial pressure (MAP) ≥ 65 mmHg and having a serum lactate level > 2 mmol/L [1].

Each participant had a follow-up for 8 days. When a patient was discharged from the ICU before the 9th day, the life/death status was checked and ascertained by all available means.

2.3. Hemodynamic management of patients

All patients were managed by local physicians according to local procedures adapted from international guidelines [2]. Fluid resuscitation was performed to optimize cardiac output. Then, after optimization of the volemic status, a vasopressor (norepinephrine) was used to maintain a MAP above 65 mmHg.

Cardiac output and macrocirculatory monitoring were performed by transthoracic echocardiography (Vivid S6, General Electric

Healthcare®) or thermodilution calibrated pulse contour analysis (PiCCO, Pulsion medical system®).

2.4. Data recording

The following clinical characteristics were collected: age, sex, body mass index, diabetes, vascular surgery, cirrhosis, solid cancer, hematologic cancer, mechanical ventilation, vasopressor dose, urine output and primary site of infection.

The Sepsis-related Organ Failure Assessment (SOFA) score, lactate measurement, and the Simplified Acute Physiology Score (SAPS) II score were calculated, with the worst values, from the first 24 h since inclusion.

2.5. Peripheral perfusion assessment

At the time of the inclusion, two physicians performed an acquisition of capillary refill time (CRT), a mottling assessment, and measure of skin temperature in several regions.

The CRT at the knee was measured by applying a firm pressure on the dorsomedial aspect of the knee of the patient using the finger of the physician for 15 s. The pressure applied was aimed at removing the blood at the physician's fingertip (blanching under the nail). The time of return to the normal color was recorded by a chronometer. The method and knee location of capillary refill time over the index location was chosen in this study according to results of a previous study [13]. This measure was done twice and only the longest time was further analyzed in this study.

The mottling pattern was quantified according to the mottling score, as described in Ait-Oufella et al. [12].

Core temperature was recorded with a tympanic (Genius 2 Accusystem™) or a urinal probe. The skin temperature of the forearm, the index finger, the knee and the hallux were measured by IT. The thermographic pictures of each limb were performed with an infrared thermographic camera (Fig. 1). The thermographic camera (FLIR-E4, FLIR Systems Inc, Wilsonville, Oregon, USA) presented the following characteristics: detector type, uncooled microbolometer; infrared resolution, $80^{\circ}60$ pixels; spectral range, 7.5–13 μm ; spatial resolution, 10.3 mrad; field of view (FOV), $55^{\circ} \times 43^{\circ}$; object temperature range, -20°C to $+250^{\circ}\text{C}$; noise equivalent temperature difference, $< 150\text{mk}$; thermal sensitivity, $< 0.15^{\circ}\text{C}$; accuracy, $\pm 2\%$; minimum focus distance, 50 cm. The device was calibrated as recommended by the manufacturer. The pictures were then treated with the software Flirtools® (Flirtools software®) to extract the mean temperature of the region of interest (ROI). For the skin temperature at the forearm, the ROI was placed mid-way between the wrist and the elbow. For the skin temperature at the

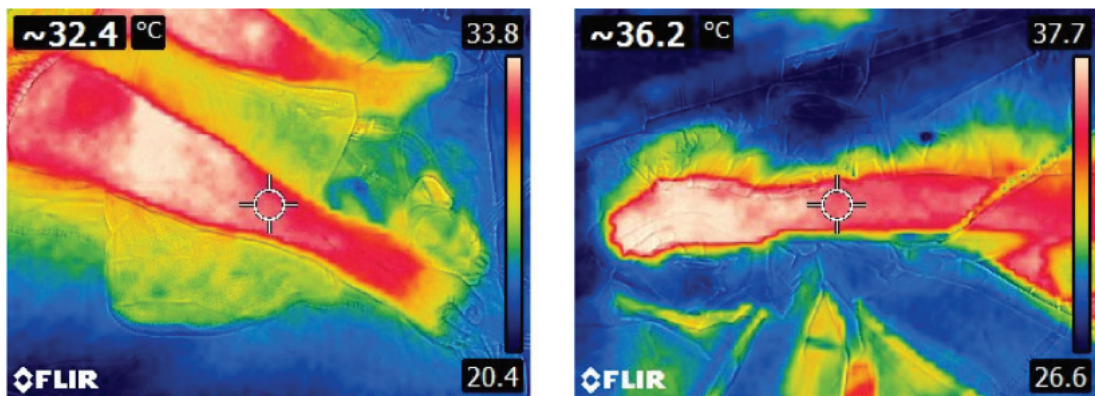


Fig. 1. Examples of infrared thermography. Left: leg of patient. Right: forearm of a patient.

toe, the ROI was placed at the extremity of the hallux. For the skin temperature at the index, the ROI was placed at the last phalanx of the index finger. For the skin temperature at the knee, the ROI was placed at the center of the dorsomedial aspect of the knee. The measure was taken on both left right sides. Then, the temperature gradient (TG) was calculated by subtracting the skin temperature to the core temperature. Only the highest gradient between the left and right sides was further analyzed.

2.6. Endpoints

The primary endpoint was to determine if the core-to-skin TG was associated with day-8 mortality.

The secondary endpoints were to determine a clinically relevant cut-off of the TG and to determine the correlation between TG and other hypoperfusion parameters (CRT, Mottling score, and arterial lactate level).

2.7. Statistical analysis

Based on extrapolation of previous work [19] associated with the clinician's experience, we hypothesized that a temperature gradient difference of 3 °C (standard deviation of 4 °C) will exist between the survivor and non-survivor with a 8th day mortality of 20%. The sample size of this study was calculated through 10,000 simulations of repeated logistic regression. A sample size of 54 patients was needed for a type I error of 5% and type II error of 20%. We included ten more patients for safety reasons, reaching a total of 64 patients.

Descriptive statistics were expressed by median associated with their interquartile range (median [IQR25-IQR75]) for quantitative variables and number of patients associated with their percentage for qualitative variables (n (%)). Comparisons between survivors and non-survivors were performed using the Wilcoxon rank test for quantitative variables and Spearman chi-squared test for qualitative variables.

2.7.1. Comparison of gradient sites

The association between each temperature gradient and the day-8 mortality was modeled through logistic regressions: day-8 mortality was used as the dependent variable and the different TGs were used in turn as independent variables. For each regression, the Akaike Information Criterion (AIC) was computed. The variable that minimizes the loss of information was identified as the one associated with the lowest AIC. Odds ratio of the gradient associated with their respective 95% confidence interval and *p*-value (OR [95%CI] *p*) were estimated.

2.7.2. Cut-off estimation

In order to select the best cut-off, the minimum *p*-value approach was used. For clinical reasons, the selected cut-off was rounded to the nearest integer. The sensitivity (Se), specificity (Sp), predictive positive value (PPV) and predictive negative value (PNV) of the selected cut-off were computed.

This was used to define two groups, the Low Temperature Gradient (LTG) and High Temperature Gradient (HTG) groups.

2.7.3. Relationship between TG groups and mortality

For these groups, three logistic regressions were modeled. First, a univariate logistic regression on the group of gradients on the mortality on the 8th day. Second, an Inverse Probability Weighting (IPW) analysis was applied to each observation in order to account for the main potential confounding factors. A propensity score (PS) was estimated for these factors (sex, age, height, weight, MAP and norepinephrine infusion rate at the time of the temperature measurement). Logistic regression was computed by weighting each patient according to their PS (1/PS for the HTG group and 1/(1-PS) for the LTG group). Results are expressed with OR [IC95%] and their respective *p*-values. In order to represent the discrimination of this final model, *c*-statistic associated with their 95% confidence interval was estimated (DeLong method).

2.7.4. Correlation of the other tissue perfusion variables and TG

The three other variables assessing tissue perfusion were compared between LTG and HTG groups using Fisher tests for qualitative variables and Wilcoxon tests for quantitative variables. Spearman correlation matrix was computed in order to visualize the correlation between each variable. Semi-quantitative *p* values were estimated.

A *p*-value lower than 0.05 was considered as statistically significant. All analyses were performed with R software (version 3.4.3) [20].

3. Results

3.1. Studied population

Between June 2018 to June 2019, 64 patients were included in our data collection. Three patients were excluded because of lack or loss of information leaving 61 patients for this study. Baseline characteristics are given in Table 1. Overall day-8 mortality rate was 16.3%. The median time between introduction of vasopressor and inclusion was 13 [6–23] hours.

The primary infection sites were the abdomen (52%), the lungs (26%) and the urinary tracts (7%). The highest dose of norepinephrine on the first day was 0.41 [0.22–0.95] µg/kg/min. The urinary output of the first 24 h was 0.68 [0.24–1.15] ml/kg/h. Forty patients (66%) had mechanical ventilation during the first day. The SOFA score was 12 [10–14] and the SAPS II score was 71 [63–82].

3.2. Comparison of the gradient sites

The site of skin temperature measurement found to yield the best correlation with mortality was the core-to-index temperature gradient (AIC of 51.3 versus 55.9, 56.5, 57.1 respectively for toe, knee and arm sites). Furthermore, the scaled core-to-index temperature gradient was found to be associated with day-8 mortality (OR: 1.35 [1.07–1.82] *p* = 0.0213).

3.3. Cut-off estimation

With the minimum *p*-value approach, the best cut-point of the core-to-index temperature gradient was 7.1 °C, which we rounded to 7 °C.

Table 1
Clinical and demographic characteristics of the patients.

Characteristics	n = 61
Age, in years	68 [60–80]
Sex, Female, n (%)	27 (44%)
Body Mass Index (kg/m ²)	24.3 [21.3–27.7]
Time between introduction of vasopressor and inclusion, hours	13 [6–23]
Comorbidities, n (%)	
Solid malignancies	24 (39%)
Hematologic malignancies	11 (18%)
Diabetes	9 (15%)
Cirrhosis	2 (3%)
Vascular surgery	1 (2%)
Primary site of infection, n (%)	
Abdomen	32 (52%)
Lung	16 (26%)
Urinary tract	7 (11%)
Soft tissue	4 (6%)
Other or unknown	3 (5%)
Day 1 severity	
SOFA score	12 [10–14]
SAPS II 1	71 [53–82]
Urinary output at H24, ml/kg/min	0.68 [0.24–1.15]
Norepinephrine dose, µg/kg/min	0.41 [0.22–0.95]
Mechanical ventilation, n (%)	40 (66%)

Values are either mean ± SD, median [25th quartile–75th quartile] or number of patients (percentage) - SOFA: sequential organ failure assessment - SAPS II: Simplified Acute Physiology Score.

Table 2
Relationship between core-to-index temperature gradient higher than 7.1 °C and day-8 mortality.

	Odds Ratio	Confidence interval 95%	p-value
Univariate analysis	18.00	[3.02–346.14]	0.002
IPW analysis	13.76	[3.40–108.81]	0.002
Multivariate Analysis			
HTG group	41.44	[7.06–509.94]	<0.001
HTG + SOFA Score	4.26	[2.06–10.77]	<0.001

IPW analysis: Inverse Probability Weighting analysis, which takes into consideration the main confounding factors (Sex, Age, Height, Weight, Mean Arterial Pressure and norepinephrine infusion rate at the time of the temperature measurement). HTG: High temperature gradient. SOFA: Sepsis-related Organ Failure Assessment.

Core-to-index temperature gradient higher than 7 °C predicted day-8 mortality with a sensitivity of 90% and a specificity of 66%. PPV and PNV were respectively 35% and 97%.

3.4. Relationship between TG groups and mortality

The HTG group (Gradient >7 °C) was associated with day-8 mortality OR = 18.0 [3.02–346.14] $p = 0.002$. This association was also significant after weighting the patient and the adjustment with the SOFA score (Table 2).

The model including the group of HTG and the SOFA score had strong discriminative characteristics (c-statistic: 0.8735 [0.770–0.976]; Fig. 2).

3.5. Correlation between the TG and tissue perfusion parameters

The HTG group was associated with other peripheral perfusion parameters: patients had significantly higher arterial lactate level ($p = 0.015$), knee-CRT ($p = 0.043$) and Mottling score ($p = 0.004$) (Table 3).

The correlation between these parameters ranged from –0.01 to 0.53 (Table 4).

4. Discussion

The current study aimed to assess the prognostic potential of core-to-skin temperature gradients, measured with the use of IT, during septic shock. The main result was the association between core-to-index temperature gradient and day-8 mortality. Secondary results were the correlations between this temperature gradient and other hypoperfusion parameters such as arterial lactate, CRT and Mottling score.

The patients included in the present study all had a septic shock according to the Sepsis-3 definition [1]. This choice implies that all patients had organ dysfunction, and therefore patients with less severe sepsis were not included in this study, contrary to other studies evaluating the association between skin hypoperfusion signs and mortality [12–14,21]. Results similar to ours may not be found in less severe patients. In fact, in a study carried out on 103 patients, the temperature gradients were higher in the most severe patients [14]. In the present study only two patients had cirrhosis and one had vascular disease which are known also to alter skin perfusion [22]. We chose to use an early mortality judgment criterion (day-8 mortality) because later mortality (day-14, day 28) would have been influenced by several other factors such as comorbidities or ICU-acquired infection and complications, not solely explained by the severity of the initial acute circulatory failure.

Skin evaluation for peripheral tissue perfusion assessment is a reliable method in the early stage of acute circulatory failure and it can inform the severity of the clinical state. Skin temperature evaluation in circulatory failure started in 1969, with the study of Joly et al. who found that cold big toe was associated to the severity of the shock [23]. In 2001, Kaplan et al. showed that patients with cool extremities had higher lactate levels in ICU [24]. In 2009, Lima et al. found that subjective assessment of peripheral perfusion (including CRT, and cool

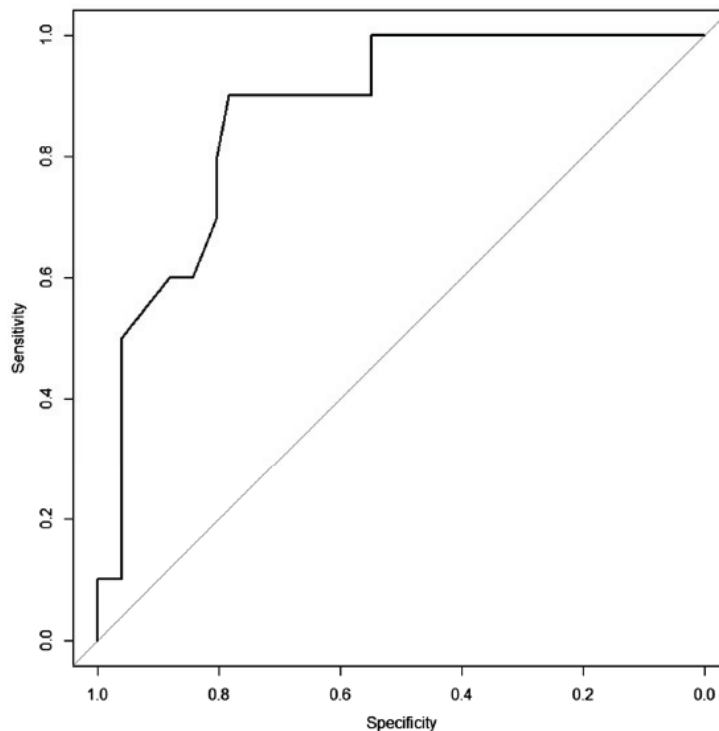


Fig. 2. Receiver operating characteristic of the model high temperature gradient and high SOFA score.

Table 3

Comparisons of hypoperfusion parameters between patients with low-temperature gradient and patients with high-temperature gradient.

	LTG group	HTG group	p-value
Arterial Lactate levels (mmol/L)	3.6 [2.6–6.2]	5.4 [3.5–8.1]	0.015
Knee-CRT	3.8 [3.0–5.2]	4.7 [3.7–6.6]	0.043
Mottling score			0.004
0–1	29 (48%)	13 (21%)	
2–3	4 (7%)	12 (20%)	
4–5	2 (3%)	1 (2%)	

Values are presented with median [25th quartile–75th quartile] -LTG: Low-Temperature gradient, HTG: high-temperature gradient, CRT: Capillary refill time.

Table 4

Matrix of correlation of the different peripheral perfusion parameters.

	Core-to-Index TG	Lactate Level	CRT	Mottling score
Core-to-Index TG	1	0.38**	0.36**	0.33**
Lactate Level	0.38**	1	−0.01	0.27*
CRT	0.36**	−0.01	1	0.53***
Mottling score	0.33**	0.27*	0.53***	1

TG: Temperature Gradient – CRT: Capillary Refill Time.

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

extremities) was associated with more severe organ dysfunction and higher lactate levels for ICU patients [25]. Later, Ait-Oufella et al. studied peripheral perfusion markers in sepsis. They have found that Mottling score [12], CRT [13] and toe-to-room temperature gradient [14] were associated with mortality in sepsis. More recently, Dumas et al. have demonstrated that the mottling score was associated with early mortality, independently from the vasopressor doses [21]. Moreover, core-to-peripheral temperature gradient has been analyzed in two reviews [26,27]. In Brigitte et al. review, the conclusion was a lack of evidence that skin temperature could be a marker of hypoperfusion due to the paucity of actual evidence [26]. In Schey et al. review which included twenty six studies examining skin temperature as a marker of hemodynamic status mainly after cardiac surgery, they also conclude in a lack of evidence and a need for more prospective studies [27].

In the present study, we evaluate skin temperature with IT. To our knowledge, it is the first time that this technology is used to evaluate peripheral perfusion in a prospective study in adults. IT was chosen because encouraging results were already published in an experimental pig model: IT seemed capable of detecting peripheral perfusion disorders secondary to hemodynamic variations [16]. Moreover, two studies carried out on children also reported its use in the detection of shock [28]. Thus, the use of the thermographic infrared technology proved to be an adequate approach as it provides a reliable, contact free, easy to record and inexpensive way to measure skin temperature.

In the current study, core-to-index finger appeared the best gradient to predict mortality compared to core-to-toe, core-to-knee or core-to-forearm. However, the difference between these gradients seems to be small, given the small difference between the AICs. To our knowledge, it is the first time that core-to-index finger gradient was successfully studied. The most studied core-to-skin gradient is the core-to-toe gradient [14,23]. This gradient was also evaluated in our study, but it was computed differently from previous studies. Indeed, the toe temperature in our study was measured on the dorsal side and not on the ventral side, as in the historical study of Joly et al [23]. However, both core-to-index and core-to-toe gradients seem to yield concordant results: in our study, the core-to-index finger gradient was associated with mortality, as previously found with the core-to-toe gradient [14].

A threshold of 7 °C of the core-to-index temperature gradient seems clinically relevant in order to discriminate the severity for patients with septic shock and could be easily used routinely at the bedside of the patients. Indeed, we found that a core-to-index finger temperature

gradient higher than 7 °C predicted day-8 mortality for ICU patients with septic shock independently from the SOFA score. We also found that a model, including a high SOFA score and a core-to-index temperature gradient higher than 7 °C, was effective in order to predict day-8 mortality (c-statistic: 0.8735 [0.770–0.976]). This result suggests that peripheral perfusion assessment gives another aspect of severity in septic shock that is not explored in the SOFA score parameters. Indeed, the increase in the temperature gradient reflects an abnormality in the peripheral perfusion which is not considered in the calculation of the SOFA score; the “cardiovascular” part of this score is concerned with blood pressure, and therefore corresponds to a macrocirculatory approach. Interestingly, a gradient between 3 and 7 °C was reported as corresponding to a stable state [6]. This suggests that IT gives results consistent with other temperature measurement techniques. This underlines the practical interest of thermography: it allows the temperature to be measured without contact, unlike other thermometers which require prolonged contact and sometimes stay in place for several hours. Restricting the devices to patient contact is not without interest since it can reduce the risk of nosocomial infection in patients with septic shock, who are predisposed to it [29].

We found significant correlations between the core-to-index temperature gradient and other tissue perfusion markers such as the arterial lactate levels, the CRT and the Mottling score. A correlation between peripheral perfusion markers and the arterial lactate levels has already been shown [12–14,24,25]. However, in our study, the correlation between TG and arterial lactate levels were weak, suggesting that the TG captures another aspect of peripheral perfusion disorder. Unexpectedly, the correlations between the different skin perfusion assessments were weak. This may show the complexity of microcirculation processes. For instance, TRC, Mottling and skin temperature may explore different aspects of peripheral perfusion alterations.

It should be taking into consideration that the CRT and the mottling score are difficult to measure in the case of patients with dark skin. In previous studies this was even considered as an exclusion criterion [12,13]. The skin gradient temperature can be objectively assessed with IT to all patients whatever their skin color because the emissivity of human skin is very high and is not dependent on its color [30].

This study has several limitations. Firstly, the trial was performed in a single ICU center. Only two physicians performed the inclusions and the measures. The reproducibility of the temperature gradient as a prognosis marker should therefore be further assessed. Secondly, the measures of the skin perfusion, lactate, and the infrared pictures were taken within the first 24 h of the shock with a median time of 13 [6–23] hours. There is therefore a heterogeneity in the time of inclusion: some of the patients were treated for a few hours and the severity of the shock could have been amended. This could also explain the lack of correlation between lactate level and CRT. Thirdly the assessment of the core temperature was performed using urinal probe, or if not available by tympanic way, which might be slightly different from core temperature. We conducted an observational pragmatic study and therefore, we did not choose to change the way the temperature was monitored. Fourthly, the number of subjects was insufficient to make an adjustment with norepinephrine infusion rate. Therefore, we made an Inverse Probability Weighting analysis, which is not as robust a method. Nevertheless, we cannot conclude on the independence between TG and vasopressor infusion as Dumas et al. have found for the mottling score [21].

In the future, it would be relevant to assess the evolution of TG throughout the resuscitation time. Furthermore, a resuscitation procedure guided by TG could help to manage patients with septic shock and abnormal peripheral perfusion as described in the case of CRT [31].

The current study provides new insights concerning the use of IT to detect peripheral perfusion abnormalities in septic shock patients. The current prospective observational study documented that thermographic imaging provides an objective, easy to perform, contact free and inexpensive method to measure skin temperature of the

extremities. We further showed that the core-to-index temperature gradient is a predictor of mortality, independently of the SOFA score and that it was correlated with other hypoperfusion parameters.

Declaration of Competing Interest

On behalf of all authors, the corresponding author states that there is no conflict of interest.

References

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for Sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016;315(8):801.
- [2] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis campaign: international guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med* 2017;43:304–77. <https://doi.org/10.1007/s00134-017-4683-6>.
- [3] Vincent J-L, Jones G, David S, Olariu E, Cadwell KK. Frequency and mortality of septic shock in Europe and North America: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care* 2019;23(1):1–11.
- [4] van Genderen ME, Paauwe J, de Jonge J, van der Valk RJ, Lima A, Bakker J, et al. Clinical assessment of peripheral perfusion to predict postoperative complications after major abdominal surgery early: a prospective observational study in adults. *Crit Care* 2014;18:R114. <https://doi.org/10.1186/cc13905>.
- [5] Poeze M, Solberg BJ, Greve JWM, Ramsay G. Monitoring global volume-related hemodynamic or regional variables after initial resuscitation: what is a better predictor of outcome in critically ill septic patients? *Crit Care Med* 2005;33:2494–500. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000185642.33586.9d>.
- [6] Lima A, Bakker J. Noninvasive monitoring of peripheral perfusion. *Intensive Care Med* 2005;31:1316–26. <https://doi.org/10.1007/s00134-005-2790-2>.
- [7] Ince C. The microcirculation is the motor of sepsis. *Crit Care Lond Engl* 2005;9(Suppl. 4):S13–9. <https://doi.org/10.1186/cc3753>.
- [8] van Genderen ME, van Bommel J, Lima A. Monitoring peripheral perfusion in critically ill patients at the bedside. *Curr Opin Crit Care* 2012;18:273–9. <https://doi.org/10.1097/MCC.0b013e3283533924>.
- [9] Carpenter RL, Kopacz DJ, Mackey DC. Accuracy of laser Doppler capillary flow measurements for predicting blood loss from skin incisions in pigs. *Anesth Analg* 1989;68:308–11.
- [10] Payen D, Luengo C, Heyer L, Resche-Rigon M, Kerever S, Damoiseil C, et al. Is the near tissue hemoglobin oxygen saturation in septic shock related to macrohemodynamic variables and outcome? *Crit Care Lond Engl* 2009;13(Suppl. 5):S6. <https://doi.org/10.1186/cc8004>.
- [11] On behalf of the Cardiovascular Dynamics Section of the ESICM, Ince C, Boerma EC, Cecconi M, De Backer D, Shapiro NI, et al. 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;44:281–99. <https://doi.org/10.1007/s00134-018-5070-7>.
- [12] Ait-Oufella H, Lemoine S, Boelle PY, Galbois A, Baudel JL, Lemant J, et al. Mottling score predicts survival in septic shock. *Intensive Care Med* 2011;37:801–7. <https://doi.org/10.1007/s00134-011-2163-y>.
- [13] Ait-Oufella H, Bige N, Boelle PY, Pichereau C, Alves M, Bertinchamp R, et al. Capillary refill time exploration during septic shock. *Intensive Care Med* 2014;40:958–64. <https://doi.org/10.1007/s00134-014-3326-4>.
- [14] Bourcier S, Pichereau C, Boelle P-Y, et al. Toe-to-room temperature gradient correlates with tissue perfusion and predicts outcome in selected critically ill patients with severe infections. *Ann Intensive Care* 2016;6(1):63.
- [15] Lahiri BB, Bagavathiappan S, Jayakumar T, Philip J. Medical applications of infrared thermography: a review. *Infrared Phys Technol* 2012;55:221–35. <https://doi.org/10.1016/j.infrared.2012.03.007>.
- [16] Magnin M, Junot S, Cardinali M, Ayoub J-Y, Paquet C, Louzier V, et al. Use of infrared thermography to detect early alterations of peripheral perfusion – evaluation in a porcine model. *Biomed Opt Express* 2020. <https://doi.org/10.1364/BOE.387481>.
- [17] Ortiz-Dosal A, Kolosovas-Machuca ES, Rivera-Vega R, Simón J, González FJ. Use of infrared thermography in children with shock: a case series. *SAGE Open Med Case Rep* 2014;2. <https://doi.org/10.1177/2050313X14561779>.
- [18] Ferraris A, Bouisse C, Mottard N, Thiollière F, Anselin S, Piriou V, et al. Mottling score and skin temperature in septic shock: relation and impact on prognosis in ICU. *PLOS ONE* 2018;13:e0202329. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202329>.
- [19] Daviaud F, Grimaldi D, Dechartres A, et al. Timing and causes of death in septic shock. *Ann Intensive Care* 2015;5(1):16.
- [20] R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2020 [n.d].
- [21] Dumas G, Lavillegrand J-R, Joffre J, et al. Mottling score is a strong predictor of 14-day mortality in septic patients whatever vasopressor doses and other tissue perfusion parameters. *Crit Care* 2019;23(1):211.
- [22] Galbois A, Bigé N, Pichereau C, Boelle P-Y, Baudel J-L, Bourcier S, et al. Exploration of skin perfusion in cirrhotic patients with septic shock. *J Hepatol* 2015;62:549–55. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.10.012>.
- [23] Joly HR, Weil MH. Temperature of the Great Toe as an indication of the severity of shock. *Circulation* 1969;39:131–8. <https://doi.org/10.1161/01.CR.39.1.131>.
- [24] Kaplan LJ, McPartland K, Santora TA, Trooskin SZ. Start with a subjective assessment of skin temperature to identify hypoperfusion in intensive care unit patients. *J Trauma* 2001;50:620–7 discussion 627–628. <https://doi.org/10.1097/00005373-200104000-00005>.
- [25] Lima A, Jansen TC, van Bommel J, Ince C, Bakker J. The prognostic value of the subjective assessment of peripheral perfusion in critically ill patients. *Crit Care Med* 2009;37:934–8. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e31819869db>.
- [26] Brigitte WFY, Childs C, Nurs B, Phil M. A systematic review on the role of extremity skin temperature as a non-invasive marker for hypoperfusion in critically ill adults in the intensive care setting, 45; 2012.
- [27] Schey BM, Williams DY, Bucknall T. Skin temperature and core-peripheral temperature gradient as markers of hemodynamic status in critically ill patients: a review. *Heart Lung* 2010;39:27–40. <https://doi.org/10.1016/j.hrtlng.2009.04.002>.
- [28] Nagori A, Dhingra LS, Bhatnagar A, Lodha R, Sethi T. Predicting hemodynamic shock from thermal images using machine learning. *Sci Rep* 2019;9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36586-8>.
- [29] Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2013;13:862–74. <https://doi.org/10.1038/nri3552>.
- [30] Steketee J. Spectral emissivity of skin and pericardium. *Phys Med Biol* 1973;18:686–94. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/18/5/307>.
- [31] Hernández G, Ospina-Tascón GA, Damiani LP, Estenssoro E, Dubin A, Hurtado J, et al. Effect of a resuscitation strategy targeting peripheral perfusion status vs serum lactate levels on 28-day mortality among patients with septic shock: the ANDROMEDA-SHOCK Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2019;321:654. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.0071>.



A new photoplethysmographic device for continuous assessment of urethral mucosa perfusion: evaluation in a porcine model

Martina Cardinali¹ · Mathieu Magnin¹ · Jeanne-Marie Bonnet-Garin¹ · Christian Paquet¹ · Jean-Yves Ayoub¹ · Bernard Allaouchiche² · Stephane Junot¹

Received: 18 July 2019 / Accepted: 27 April 2020
© Springer Nature B.V. 2020

Abstract

This study proposes to evaluate an innovative device consisting of an indwelling urinary catheter equipped with a photoplethysmography (PPG) sensor in contact with the urethral mucosa that provides a continuous index called urethral perfusion index (uPI). The goal of this study was to determine if the uPI could bring out tissue perfusion modifications induced by hypotension and vasopressors in a porcine model. Twelve piglets were equipped for heart rate, MAP, cardiac index, stroke volume index, systemic vascular resistance index and uPI monitoring. The animals were exposed to different levels of mean arterial pressure (MAP), ranging from low to high values. Friedman tests with a posteriori multiple comparison were performed and a generalized linear mixed model (GLMM) was used to assess the relationship between uPI and MAP. Urethral Perfusion Index and other haemodynamic parameters varied significantly at the different time-points of interest. There was a positive correlation between MAP and uPI below a specific MAP value, called dissociation threshold (DT). Above this threshold, uPI and MAP were negatively correlated. This relationship, assessed with the GLMM, yielded a significant positive fixed effect coefficient (+0.2, $P < 0.00001$) below the DT and a significant negative fixed effect (-0.14 , $P < 0.00001$) above DT. In an experimental setting, the PPG device and its index uPI permitted the detection of urethral mucosa perfusion alterations associated with hypotension or excessive doses of vasopressors. Further studies are needed to evaluate this device in a clinical context.

Keywords Microcirculation · Tissue perfusion · Monitoring · Photoplethysmography

Abbreviations

AC	Alternate current	IV	Intravenous
CI	Cardiac index	MAC	Minimal alveolar concentration
CRI	Intravenous constant rate infusion	MAP	Mean arterial pressure
DAP	Diastolic arterial pressure	NE	Norepinephrine
DC	Direct current	PPG	Photoplethysmography
DT	Dissociation threshold	PPV	Pulse pressure variation
GLMM	Generalized linear mixed model	SAP	Systolic arterial pressure
HR	Heart rate,	SVI	Stroke volume index,
IM	Intramuscular	SVRI	Systemic vascular resistance index,
		SVV	Stroke volume variation,
		uPI	Urethral perfusion index

✉ Stephane Junot
stephane.junot@vetagro-sup.fr

¹ VetAgro Sup, Université de Lyon, Unité APCSe, Campus Vétérinaire de Lyon, 1 Avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France

² Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon Sud, Réanimation Médicale, Université Claude Bernard Lyon 1, Unité APCSe, 5 place d'Arsonval, 69437 Lyon, Cedex 03, France

1 Introduction

Alterations of tissue perfusion and microcirculation are considered to play a key role in the development of multiple organ failure in the critically ill patient. In particular, during sepsis and shock, microcirculatory dysfunction may arise as a result of several factors, such as endothelial

dysfunction, leukocyte-endothelium interactions, coagulation and inflammatory disorders, hemorrheologic abnormalities, leading to a disturbed balance between oxygen delivery and oxygen consumption. In sepsis, persistent microcirculatory alterations, despite resuscitation manoeuvres, have been associated with poor outcomes [1]. Microcirculatory disorders have also been shown to predict mortality in patients with acute severe heart failure and cardiogenic shock [2], and impaired microvascular flow has been associated with the development of post-operative complications in patients undergoing major abdominal surgery [3].

Therefore, restoring effective tissue perfusion is the ultimate goal of resuscitation of critically-ill patients. While it traditionally targets optimization of macrocirculatory parameters, this approach has some limitations. Despite normalization of systemic haemodynamics (cardiac filling pressure, cardiac output, blood pressure, and central or mixed venous oxygen saturation), high mortality rates still persist [4]. In this light, it appears that improvement of macrocirculatory parameters does not guarantee improvement of the microcirculation [5]. Moreover, overuse of vasopressors and inotropes in order to normalize systemic haemodynamic parameters exposes the patient to lethal complications [6] and carries the risk of excessive vasoconstriction that would deteriorate tissue perfusion even more and lead to adverse events [7]. Thus, it seems relevant to include microcirculatory or tissue perfusion endpoints to guide resuscitation [8–10]. Recently, the concept of “haemodynamic coherence” guided resuscitation has been proposed. It aims at correcting systemic haemodynamic variables so that tissue perfusion and oxygen delivery to the parenchymal cells ensure proper organ function [11].

Despite the importance of evaluating tissue perfusion and microcirculation, there is still a lack of appropriate tools to assess these parameters in practice. Several techniques, including sublingual hand-held vital microscopy, have been developed to observe sublingual microcirculation as a surrogate of tissue perfusion; nevertheless, these methods are cumbersome, operator dependent and do not allow a continuous assessment of this specific sublingual perfusion [12].

This leads to a real interest in developing means of continuous monitoring of tissue perfusion at bedside. Recently, an innovative device using the photoplethysmography (PPG) technology has been validated in an experimental porcine model of septic shock [13]. It consists of a photoplethysmographic sensor on a balloon positioned at the tip of an enteral feeding tube. Even though it allows evaluation of gut perfusion, an interesting parameter during septic shock, it must be placed under endoscopic guidance, which may not be easily performed in daily routine. Thus, applying this technology to another clinically relevant and easier to access body site could be particularly useful.

In this regard, we present an experimental study to evaluate a new device enabling assessment of tissue perfusion of the urethral mucosa. It consists of a photoplethysmographic sensor positioned at the tip of an indwelling urinary catheter (Foley catheter), connected to a monitor providing a continuous index called urethral perfusion index (uPI). As urinary catheters are routinely used in intensive care units and during high-risk surgical procedures, with an easy positioning, this innovative device could be particularly useful in clinical practice, as it may facilitate the detection of alterations of tissue perfusion associated with critical condition. Therefore, it may help to guide the resuscitation manoeuvres, but also to titrate the dosage of norepinephrine to increase blood pressure without causing excessive vasoconstriction and subsequent decrease in tissue perfusion [14]. Thus, the primary goal of this study was to assess the variation of the urethral perfusion index in conjunction with haemodynamic modification in an experimental porcine model. The secondary goal was to determine whether this new index could be used to detect a decrease in tissue perfusion associated with excessive administration of vasopressors and thus serve as a guide for resuscitation.

2 Materials and methods

The study was approved by our local ethical board for animal research and care (Vet Agro Sup, Marcy l’Etoile, France, authorization number: 1819) in accordance with European regulations (Directive 2010/63/EU).

2.1 Photoplethysmography principle

Photoplethysmography is a simple optical technique used to detect volumetric changes in blood in peripheral circulation and in the microvascular bed. The PPG technology uses infrared light: when light travels through biological tissues it is absorbed by bones, skin pigments and both venous and arterial blood. Since light is more strongly absorbed by blood than the surrounding tissues, the changes in blood flow can be detected by PPG sensors as changes in the intensity of light. The voltage signal from PPG is proportional to the quantity of blood flowing through the blood vessels allowing the detection of small changes in blood volume.

The PPG waveform comprises a pulsatile (‘AC’ = alternate current) physiological waveform attributed to changes in the blood volume associated with each heartbeat and is superimposed on a slowly varying (‘DC’ = direct current) baseline with various lower frequency components attributed to breathing, sympathetic nervous system activity and thermoregulation. The DC component shows minor changes with breathing. The basic frequency of the AC component is related to the pulsating arteries and arterioles and varies

with the heart rate and is superimposed on the DC baseline [15]. It is generally accepted that the PPG technology can provide valuable information about the cardiovascular system [15]. Regarding assessment of tissue perfusion and microcirculation, PPG has been compared successfully to laser Doppler technology for the cutaneous area [16, 17] and the intestinal area [18, 19] to detect partial and total colonic ischemia. Thus, it is considered as a reliable technique to evaluate tissue perfusion.

2.2 The photoplethysmographic probe

The probe (IKORUS UP®, Advanced Perfusion Diagnostics, Villeurbanne, France) consists of a Foley catheter equipped with a photoplethysmographic sensor embedded in the external tube wall, below the balloon tip of the catheter (Fig. 1). The sensor consists of an infrared emitter and a sensor designed for shallow measurement. The device is positioned as follows: the Foley catheter is inserted in the urethra, it is advanced until its tip reaches the bladder and the proper placement can be confirmed by the drainage of urine into a collecting bag; the Foley catheter is then secured by inflation of the balloon with sterile water, the photoplethysmographic sensor remains consequently in close contact with the urethral mucosa. Reflectance PPG is believed to penetrate only a few millimetres [20] and focuses on the mucosa and submucosa layers. The probe is connected thereafter to a dedicated monitor (IKORUS monitor®, Advanced Perfusion Diagnostics, Villeurbanne, France). This monitor then computes the urethral perfusion index (uPI), which is

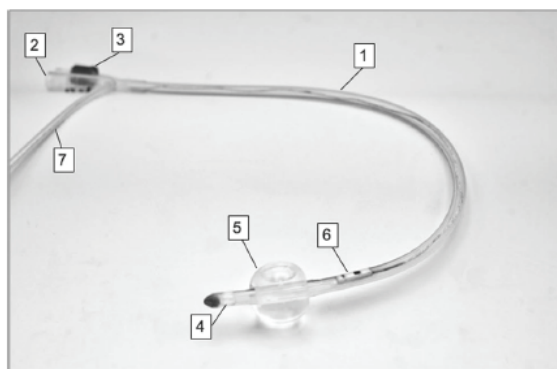


Fig. 1 Photo of the urethral photoplethysmographic probe. The probe (IKORUS UP, Advanced Perfusion Diagnostics, Villeurbanne, France) consists of a Foley catheter with an additional photoplethysmographic (PPG) sensor embedded into the tube wall, connected to a dedicated monitor (IKORUS monitor, Advanced Perfusion Diagnostics, Villeurbanne, France) for continuous reading of a urethral perfusion index (uPI). (1) Foley catheter, (2) Urinary drainage port, (3) Balloon inflation port, (4) Bladder opening, (5) Balloon, (6) PPG sensor, (7) Connection line to the monitor

closely related to standard Perfusion Index of pulse oximetry as it is based on an AC/DC ratio approach. The uPI is defined as the integral of the absorbance of the pulsatile blood on a given time window. Taking in account the design of the probe, this quantity is proportional to the integral of the variation of total haemoglobin concentration weighted by the tissue oxygen saturation.

2.3 Animals

Twelve healthy female piglets, weighing between 31 and 50 kg, 2 to 3 months old were enrolled in the study. They were housed for a 7 days acclimatization period in an individual box, in the preclinical research institute of VetAgro Sup and fed with standard food, with ad libitum access to water. Twelve hours before the beginning of the experimental phase, solid food was withdrawn while access to water was still allowed.

2.4 Experimental design

2.4.1 Anaesthetic protocol

Animals were premedicated with intramuscular (IM) administration of tiletamine/zolazepam (Zoletil100, 100 mg/mL, Virbac, Carros, France), 3.0 mg/kg and morphine 0.2 mg/kg. Twenty minutes later, propofol (Propofol 10 mg/mL, Zoetis, Malakoff, France) 4.0 mg/kg, was administered intravenously (IV) by a catheter (Insyte-W 1.1 × 30 mm, Becton Dickinson Vascular Access, Sandy, Utah, U.S.A.) placed in an auricular vein. Maintenance of anaesthesia was performed by volatile anaesthesia with sevoflurane given to effect (loss of palpebral reflex and jaw tone) in 30% oxygen until the beginning of the recording period, after which its administration was standardised. An intravenous constant rate infusion (CRI) of morphine 0.1 mg/kg/h was administered using a pump (Infusomat Space, BBraun, Boulogne-Billancourt, France). After induction of anaesthesia, animals were orotracheally intubated and placed under mechanical ventilation with controlled tidal volume set at 8.0 mL/kg with a respiratory rate of 16 breaths/min. The respiratory rate and Tidal volume were then adjusted to maintain an end-tidal CO₂ (ETCO₂) of 4.6–6.0 kPa (35–45 mmHg). Intravenous fluids (Lactated Ringer, Ceva, Libourne, France) were administered during the experiment at a basal rate of 5 mL/kg/h.

2.4.2 Equipment

Once anaesthetised, the animals were placed in dorsal recumbency on a heated table. The external left jugular vein was dissected to place a triple lumen central venous catheter (Multicath 3 7.5 Fr, Vygon, Ecoen, France) for fluid and

drug administration. The right femoral artery was catheterized (PiCCO catheter 5 Fr, Getinge, Aktiebolag, Sweden) for haemodynamic monitoring with a combination of transpulmonary thermodilution and pulse contour analysis. These measures included cardiac output (CO), cardiac index (CI), stroke volume index (SVI), stroke volume variation (SVV), pulse pressure variation (PPV), mean, systolic and diastolic arterial pressure (MAP, SAP and DAP respectively), heart rate (HR) and systemic vascular resistance index (SVRI).

The PPG-Foley catheter was positioned blindly, after palpation of the urinary meatus, and was advanced until its tip reached the bladder, as confirmed by urinary collection. The balloon was then inflated with 10 mL of saline solution and the catheter left in place and connected to a urinary collection bag. The proper position of the PPG sensor was assessed by visualization of a plethysmographic pulsatile curve.

2.4.3 Study design

Several haemodynamic conditions were studied, including hypotension, hypertension and fluid challenge (Fig. 2). After a 30-min stabilization period (T_{base}), anaesthesia was maintained at 1.5 times the minimal alveolar concentration

(MAC), estimated at 2.5% [21–23]. The animals were then submitted to initial fluid challenge ($T_{pre-fluid1}$ and $T_{post-fluid1}$) that consisted in a bolus of 10 mL/kg of lactated Ringer’s solution infused over 15 to 20 min. Sevoflurane was thereafter increased and maintained at 3 MAC to produce hypotension. Once MAP reached 40 mmHg, sevoflurane was then decreased to 2.5 MAC and norepinephrine (NE) was administered (T_{NE1}), starting at a rate of 0.04 microg/kg/min and then progressively increased until MAP reached a maximal value (95–115 mmHg). The norepinephrine infusion rate was then progressively decreased and stopped, so that a MAP value of 40–50 mmHg was obtained. The sevoflurane concentration was then decrease to 1.5 MAC and a second fluid challenge ($T_{pre-fluid2}$ and $T_{post-fluid2}$) was performed. This was followed by a second norepinephrine administration (T_{NE2}).

The following time-points of interest were defined:

- T_{base} : baseline values after equipment of the animal;
- $T_{pre-fluid1}$ and $T_{post-fluid1}$: values before and after the first fluid challenge respectively;
- $T_{hypo-start}$, $T_{hypo-MAP60}$, $T_{hypo-MAP50}$ and $T_{hypo-end}$: values respectively before increased sevoflurane concentration, at a MAP of 60 mmHg, at a MAP of 50 mmHg and at a MAP between 35 and 40 mmHg;

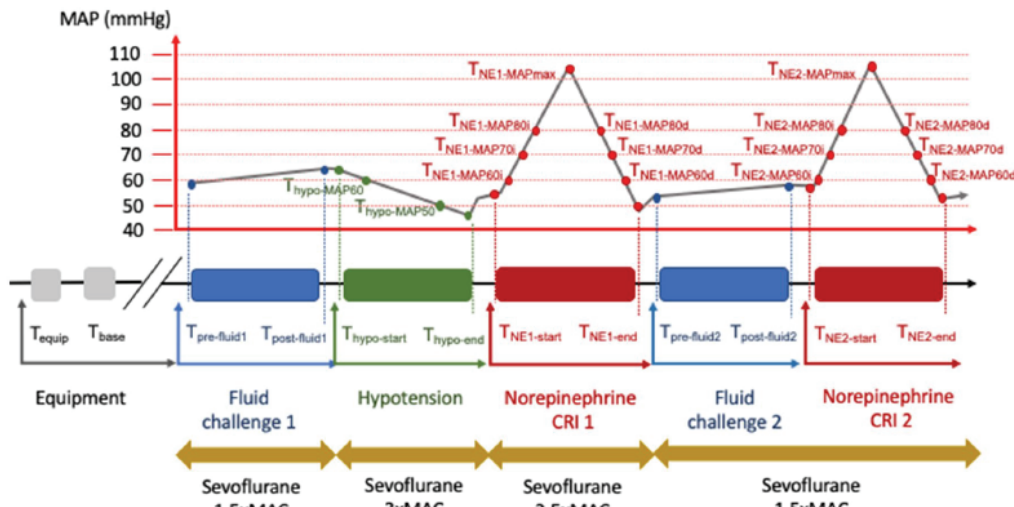


Fig. 2 Experimental design. Description of the different time-points of interest, MAP=mean arterial pressure, CRI=constant rate infusion. T_{equip} =Equipment of the animal; T_{base} =baseline values; $T_{pre-fluid1}$ and $T_{post-fluid1}$ =values before and after the first fluid challenge respectively; $T_{hypo-start}$, $T_{hypo-MAP60}$, $T_{hypo-MAP50}$ and $T_{hypo-end}$ =values respectively before increased sevoflurane concentration, at a MAP of 60 mmHg, at a MAP of 50 mmHg and at a MAP between 35 and 40 mmHg; $T_{NE1-start}$, $T_{NE1-MAP60i}$, $T_{NE1-MAP70i}$, $T_{NE1-MAP80i}$, $T_{NE1-MAPmax}$, $T_{NE1-MAP80d}$, $T_{NE1-MAP70d}$, $T_{NE1-MAP60d}$, $T_{NE1-end}$ =values respectively before the start of the first NE intravenous infusion, at a MAP of 60 mmHg, at a MAP of 70 mmHg, at

a MAP of 80 mmHg, at the maximal arterial pressure, at a MAP of 80 mmHg, 70 mmHg and 60 mmHg after the decrease of the NE infusion rate and after the stop of NE administration, $T_{pre-fluid2}$ and $T_{post-fluid2}$: values respectively before and after the second fluid challenge; $T_{NE2-start}$, $T_{NE2-MAP60i}$, $T_{NE2-MAP70i}$, $T_{NE2-MAP80i}$, $T_{NE2-MAPmax}$, $T_{NE2-MAP80d}$, $T_{NE2-MAP70d}$, $T_{NE2-MAP60d}$, $T_{NE2-end}$: values respectively before the start of the second NE intravenous infusion, at a MAP of 60 mmHg, at a MAP of 70 mmHg, at a MAP of 80 mmHg, at the maximal arterial pressure, at a MAP of 80 mmHg, 70 mmHg and 60 mmHg after the decrease of the NE infusion rate and after the stop of NE administration

at a MAP of 60 mmHg, at a MAP of 50 mmHg and at a MAP between 35 and 40 mmHg;

- $T_{NE1-start}$, $T_{NE1-MAP60i}$, $T_{NE1-MAP70i}$, $T_{NE1-MAP80i}$, $T_{NE1-PAMmax}$, $T_{NE1-MAP80d}$, $T_{NE1-MAP70d}$, $T_{NE1-MAP60d}$, $T_{NE1-end}$: values respectively before the start of the first NE intravenous infusion, after the start and increase of the NE infusion rate at a MAP of 60 mmHg, 70 mmHg, 80 mmHg, at the maximal arterial pressure, and after the decrease of the NE infusion rate at MAP of 80 mmHg, 70 mmHg and 60 mmHg and after the stop of NE administration;
- $T_{pre-fluid2}$ and $T_{post-fluid2}$: values before and after the second fluid challenge respectively;
- $T_{NE2-start}$, $T_{NE2-MAP60i}$, $T_{NE2-MAP70i}$, $T_{NE2-MAP80i}$, $T_{NE2-PAMmax}$, $T_{NE2-MAP80d}$, $T_{NE2-MAP70d}$, $T_{NE2-MAP60d}$, $T_{NE2-end}$: values respectively before the start of the second NE intravenous infusion, after the start and increase of the NE infusion rate at a MAP of 60 mmHg, 70 mmHg, 80 mmHg, at the maximal arterial pressure, and after the decrease of the NE infusion rate at MAP of 80 mmHg, 70 mmHg and 60 mmHg and after the stop of NE administration;

For each time period, macrocirculatory parameters and uPI values were recorded.

2.4.4 Data collection

Multiple haemodynamic parameters were collected. Blood pressure was measured with a reference level at the mid-chest. MAP, HR and SpO₂ were continuously recorded. CO was measured by transpulmonary thermodilution with three consecutive administrations of 15 mL of cold saline at the major end-points (T_{base} , $T_{post-fluid1}$, $T_{hypo-end}$, $T_{NE1-MAPmax}$, $T_{NE1-end}$, $T_{post-fluid2}$, $T_{NE2-MAPmax}$, $T_{NE2-end}$); it was continuously assessed between those time-points by pulse contour analysis. Cardiac output was then indexed to body surface area, calculated using the following formula [24]: $734 \times (\text{body weight})^{0.656}$.

In parallel, the urethral perfusion index was continuously recorded. Blood samplings were performed at the major end-points (T_{base} , $T_{post-fluid1}$, $T_{hypo-end}$, $T_{NE1-MAPmax}$, $T_{NE1-end}$, $T_{post-fluid2}$, $T_{NE2-MAPmax}$, $T_{NE2-end}$) to measure blood gas and plasma lactate.

2.5 Statistical analysis

Statistical analysis was performed with R software (<https://www.r-project.org>), using several packages of the CRAN R project. Computed descriptive statistics were performed for all the data. We used a Shapiro–Wilk test to check the normality of variables distribution, in case of non-normality, data were expressed as median [interquartile range].

Wilcoxon test was used to detect any difference on haemodynamic and tissue perfusion parameters before and after the fluid challenges. For the hypotensive and NE challenges, a Friedman test with repeated measures was used to detect if there was an effect of time on the recorded parameters. Paired t-tests were performed a posteriori with the Nemenyi correction to assess respective difference between values at time-points of interest if the Friedman test was significant.

Regarding the relationship between MAP and uPI, we hypothesized that it changed according to a dissociation threshold (DT), assuming that this threshold was in direct relation to the value of the MAP during the initial NE administration, as follows:

- Below DT, the Urethral Perfusion Index is increasing with MAP,
- Above DT, the Urethral Perfusion Index is decreasing whereas MAP is increasing,

As this dissociation threshold may be different between individuals, we used a Generalized Linear Mixed model (GLMM) to take in account the DT and the inter-individual variance. This hypothesis can be modelled as:

$$PI \sim MAP : MAPState + (1|MAPState/Pig) \quad (1)$$

With MAPstate a categorical variable corresponding to “Above the DT” or “Below the DT” and Pig the individual.

The model defined in (1) consists only in the interaction between MAP and the MAPstate (fixed effect) and the intercept varying among MAPstate and Pig among MAPstate (random effect).

We chose MAPstate as the first factor of the random effect since we were interested in the DT. Moreover, we chose to fit a model where the individual had no impact on the slope, thus the slopes were not considered as random effects.

The calculations for the GLMM were performed in R (3.4.3) using lme4 (1.1). The GLMM was fitted using maximum likelihood while t-tests used the Satterthwaite’s method. The models were validated by verifying the normality and homoscedasticity assumptions of the residuals.

Statistical significance was defined as a p-value lower than 0.05.

3 Results

Twelve piglets weighing 42 [7] kg, 0.85 [0.09] m², aged of 2.5 to 3 months were studied. The duration of the haemodynamic challenges were 19[7] minutes for the first fluid load, 46 [32] minutes for achievement of hypotension, 66 [24] minutes for the first NE administration, 19 [3] minutes

for the second fluid load and 54 [19] minutes for the second NE administration.

3.1 Biochemical parameters

No significant intra-group variation was found for lactates and blood gas parameters throughout the procedure.

3.2 Evolution of uPI and other haemodynamic variables during the fluid challenges

Data are summarized in Table 1 and Fig. 3.

No significant variation of uPI was noticed after the first fluid challenge, while a significant increase of CI (+5.0%, $P = 0.021$), MAP (+9%, $P = 0.002$) and SVI (+10.6%, $P = 0.014$) was recorded. For the same period of interest, HR, SVV and SVRI did not vary significantly.

Table 1 Variations of the haemodynamic and tissue perfusion parameters before and after the fluid challenges

	Pre-fluid 1	Post-fluid 1	P-value	Pre-fluid 2	Post-fluid 2	P-value
MAP	67 [11]	71 [14]	0.002*	50 [6]	58 [6]	0.039*
CI	5.0 [1.2]	6.1 [1.3]	0.021*	4.6 [2.1]	5.4 [1.9]	0.004*
HR	105 [14]	102 [10]	1.000	108 [6]	101 [5]	0.005*
SVI	52.3 [12.6]	58.6 [20.7]	0.014*	46.5 [19.2]	53.2 [16.4]	0.002*
SVRI	985.8 [211.3]	976.6 [171.0]	0.557	765.9 [443.7]	788.2 [358.9]	0.577
SVV	13 [5]	10 [1]	0.07	11 [4]	8 [2]	0.021*
PPV	16 [9]	12 [3]	0.004*	15 [6]	7 [2]	0.002*
uPI	8.1 [4.6]	8.2 [4.5]	0.754	9.2 [4.4]	12.1 [4.1]	0.002*

Data expressed as median [IQR]

MAP mean arterial pressure, CI cardiac index, HR heart rate, SVI stroke volume index, SVRI systemic vascular resistance index, SVV stroke volume variation, PPV pulse pressure variation, uPI urethral perfusion index

* $P < 0.05$, intra-group significant difference (pre vs post fluid challenge), Wilcoxon signed rank test

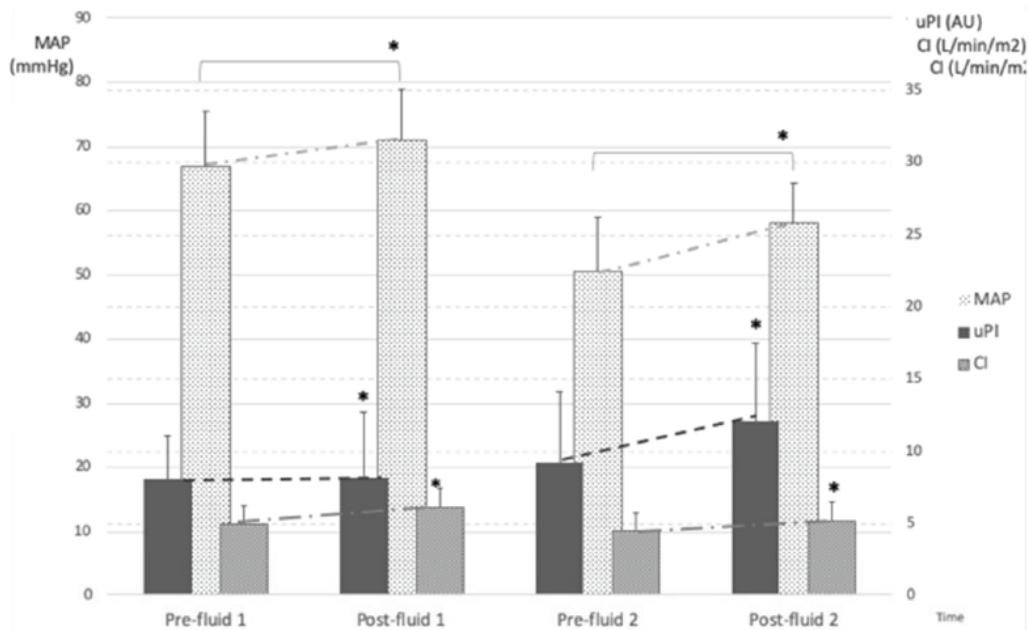


Fig. 3 Concomitant variations of the Urethral Perfusion Index, cardiac index and mean arterial pressure during the first and second fluid challenge. uPI Urethral Perfusion Index, CI cardiac index and MAP

mean arterial pressure, Data expressed as median [IQR], * $P < 0.05$, intra-group significant difference in comparison with baseline

At the second fluid challenge, uPI raised significantly (+ 30.31%, P = 0.002), concomitantly to the increase of CI (+ 16.5%, P = 0.004), MAP (+ 11%, P = 0.024) and SVI (+ 15.5%, P = 0.002), while SVV (− 29%, P = 0.021) and HR (− 4.6%, P = 0.002) decreased significantly.

3.3 Evolution of uPI and other haemodynamic variables during Hypotension

Data are summarized in Table 2 and Fig. 4.

The urethral perfusion index varied significantly over time, with a maximal value at T_{hypo-MAP50} and a minimal

Table 2 Variations of the haemodynamic and tissue perfusion parameters during the hypotensive challenge

	Hypo start	Hypo MAP60	Hypo MAP50	Hypo end	P-value
MAP	71 [7]	60 [1]	50 [0] [†]	37 [5] [†]	0.0001*
CI	7.1 [1.9]	7.1 [0.9]	6.2 [0.8]	4.7 [0.7] [†]	0.0001*
HR	106 [15]	107 [15]	104 [8]	95 [11] [†]	0.021*
SVI	66.4 [21.4]	62.9 [19.8]	58.1 [5.6] [†]	50.2 [10.3] [†]	0.0001*
SVRI	779.7 [116.9]	680.4 [86.7] [†]	645.4 [80.4] [†]	631.1 [168.1] [†]	0.03*
SVV	10 [2]	11 [4] [†]	12 [4] [†]	14 [6] [†]	0.026*
PPV	12 [6]	15 [10]	17 [3]	23 [10] [†]	0.005*
uPI	8.6 [2.9]	9.2 [2.4]	9.8 [4.4]	8.0 [4.1] [†]	0.046*

Data expressed as median [IQR]

MAP mean arterial pressure, CI cardiac index, HR heart rate, SVI stroke volume index, SVRI systemic vascular resistance index, SVV stroke volume variation, PPV pulse pressure variation, uPI urethral perfusion index

*P < 0.05, intra-group significant difference (Friedman test)

[†]P < 0.05, significant difference in comparison with baseline following a posteriori paired t-test

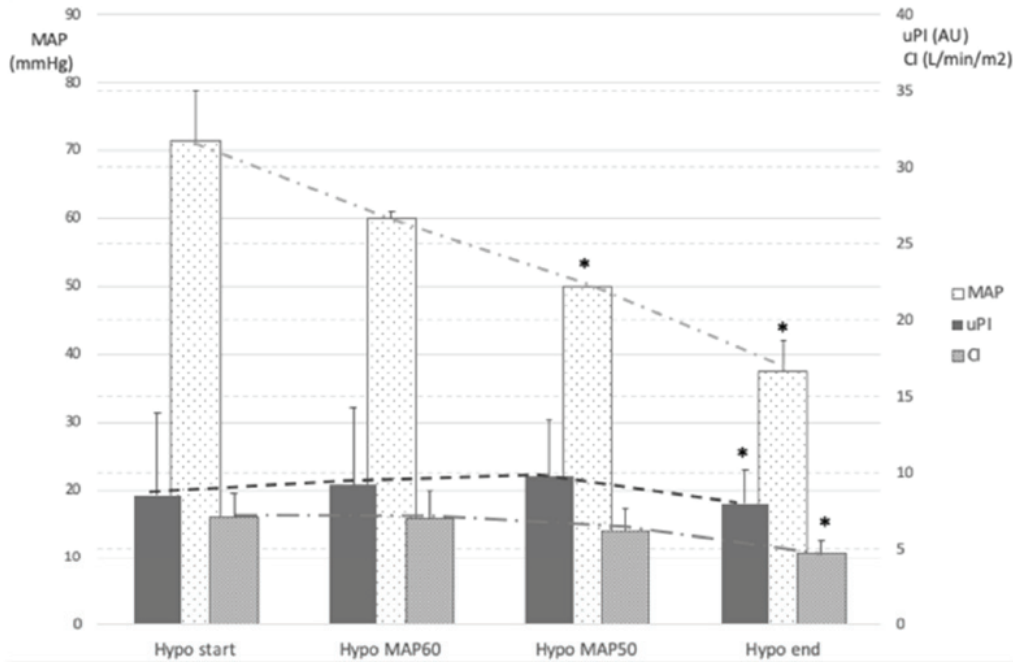


Fig. 4 Concomitant variations of the Urethral Perfusion Index, cardiac index and mean arterial pressure during the hypotensive challenge, uPI Urethral Perfusion Index, CI cardiac index and MAP mean

arterial pressure, Data expressed as median [IQR], *P < 0.05, intra-group significant difference in comparison with baseline

value at $T_{\text{hypo-end}}$ ($P=0.05$). Meanwhile, MAP, CI, SVI, HR and SVRI decreased significantly over time ($P<0.05$).

3.4 Evolution of uPI and other haemodynamic variables during norepinephrine infusion

Data are summarized in Tables 3 and 4 and Fig. 5a and b.

During the first norepinephrine infusion, uPI showed a significant variation ($P=0.001$), with a posteriori significant differences between values at $T_{\text{NE1-MAPmax}}$ and those at $T_{\text{NE1-MAP60i}}$ and $T_{\text{NE1-MAP70i}}$. Globally, following the start of norepinephrine administration ($T_{\text{NE1-start}}$), the uPI increased until $T_{\text{NE1-PAM70i}}$, and decreased thereafter to reach a minimal value at $T_{\text{NE1-MAPmax}}$. After this time-point, while MAP returned to basal value, the uPI showed symmetrical evolution with an initial raise (until $T_{\text{NE1-MAP60d}}$) followed by another decrease. Parallely, CI and SVI increased significantly ($P=0.0001$ and $P=0.002$ respectively) until $T_{\text{NE1-MAP80d}}$ and decreased thereafter. A similar trend was noticed for HR ($P=0.0001$) and SVRI ($P=0.0001$) with maximal increase at $T_{\text{NE1-MAPmax}}$ and $T_{\text{NE1-MAP80i}}$ respectively.

Regarding the second norepinephrine challenge, uPI variations were similar to first norepinephrine challenge. It decreased significantly over time after the start of NE administration ($P=0.0001$) until a minimal value was reached at $T_{\text{NE2-MAPmax}}$. The index raised thereafter (maximum at $T_{\text{NE2-MAP70d}}$) and then decreased until $T_{\text{NE2-end}}$. The a posteriori comparison revealed significant differences between $T_{\text{NE2-MAPmax}}$ and $T_{\text{NE2-start}}$, $T_{\text{NE2-MAP60i}}$, $T_{\text{NE2-MAP70i}}$, as well as significant differences between $T_{\text{NE2-end}}$ and $T_{\text{NE2-start}}$, $T_{\text{NE2-MAP60i}}$, $T_{\text{NE2-MAP70i}}$. During this second NE challenge, CI and HR varied significantly over time ($P=0.001$ for both parameters) to reach a maximal value at $T_{\text{NE2-MAP80d}}$. A similar profile was noticed for SVI, but with a maximal increase at $T_{\text{NE2-MAP70d}}$.

3.5 Relationship between uPI and MAP

The generalized linear mixed model assumed the existence of an individual threshold of MAP for each piglet, called dissociation threshold (DT), above which the uPI-MAP relationship is reversed.

The results of analysis of the fixed effect of the model are given in Tables 5, 6 and 7.

The GLMM gave significant positive coefficient below DT ($+0.2$, $P<0.00001$) for MAP below the DT and negative coefficient (-0.14 , $P<0.00001$) for MAP above the DT (Table 5, Fig. 6).

As the GLMM shows a variation in slope above and below DT, individuals correlation coefficient between uPI and MAP were performed (Tables 6 and 7), that gave a

Table 3 Variations of the haemodynamic and tissue perfusion parameters during the first norepinephrine challenge

	NE1 start	NE1 MAP60i	NE1 MAP70i	NE1 MAP80i	NE1 MAPmax	NE1 MAP80d	NE1 MAP70d	NE1 MAP60d	NE1 end	P-value
MAP	44 [9]	59 [4]	69 [2]	80 [1]†	102 [16]†	80 [1]†	70 [1]†	60 [2]	45 [7]	0.0001*
CI	4.7 [1.5]	5.1 [1.4]	4.9 [1.5]	4.8 [1.6]	7.2 [3.7]†	11.5 [5.1]†	9.3 [5.8]†	7.5 [4.3]†	5.7 [1.7]	0.0001*
HR	95 [12]	105 [10]	108 [9]	119 [14]†	161 [22]†	159 [23]†	147 [20]†	132 [11]†	112 [9]	0.002*
SVI	49.3 [11.2]	48.6 [12.5]	46.2 [14.3]	42.3 [14.3]	41.6 [27.2]	70.6 [32.1]	65.0 [34.2]†	55.2 [34.9]	51.8 [16.7]	0.0001*
SVRI	737.2 [313.4]	946.0 [277.3]	1131.2 [296.7]†	1341.3 [396.6]†	1150.2 [350.2]†	555.1 [316.4]	609.8 [352.7]	639.0 [292.5]	657.1 [288.1]	0.0001*
SVV	11 [5]	10 [3]	10 [3]	12 [3]	18 [12]†	13 [7]	12 [6]	12 [5]	11 [5]	0.001*
PPV	17 [6]	13 [8]	10 [5]†	11 [6]	15 [8]	17 [8]	16 [12]†	16 [11]	17 [10]	0.0001*
uPI	9.5 [2.5]	10.8 [1.4]†	10.4 [2.5]†	9.4 [2.1]	6.7 [3.5]	7.9 [3.1]	7.7 [2.6]	8.4 [3.3]	7.2 [4.4]	0.001*

MAP mean arterial pressure, CI cardiac index, HR heart rate, SVI stroke volume index, SVRI systemic vascular resistance index, SVV stroke volume variation, PPV pulse pressure variation, uPI urethral perfusion index

Data expressed as median [IQR]

* $P<0.05$, intra-group significant difference (Friedman test)

† $P<0.05$, significant difference in comparison with baseline following a posteriori paired t-test

Table 4 Variations of the haemodynamic and tissue perfusion parameters during the second norepinephrine challenge

	NE2 start	NE2 MAP60i	NE2 MAP70i	NE2 MAP80i	NE2 MAPmax	NE2 MAP80d	NE2 MAP70d	NE2 MAP60d	NE2 end	P-value
MAP	56 [7]	59 [2]	70 [2]	81 [2]	99 [4] [†]	80 [2]	70 [0]	60 [1]	48 [3] [†]	0.0001*
CI	5.7 [1.2]	6.0 [1.7]	5.9 [1.8]	6.0 [1.6]	7.4 [1.8]	10.8 [4.4] [†]	10.1 [5.6] [†]	8.1 [2.8] [†]	6.5 [4.5]	0.0001*
HR	101 [7]	104 [3]	109 [5]	111 [12]	146 [20] [†]	152 [19] [†]	141 [15] [†]	130 [14] [†]	114 [11]	0.0001*
SVI	54.8 [13.1]	57.8 [15.4]	55.4 [14.8]	50.9 [15.3]	50.3 [25.8]	70.6 [33.4] [†]	65.6 [37.7] [†]	69.3 [16.6] [†]	61.4 [41.1]	0.0001*
SVRI	792.9 [168.5]	810.3 [259.6]	926.0 [283.6] [†]	1074.3 [283.2] [†]	1032.8 [299.6] [†]	600.3 [230.4]	579.3 [273.4]	577.8 [177.6]	594.1 [360.6]	0.0001*
SVV	7 [3]	7 [3]	8 [3]	8 [4]	16 [9] [†]	14 [7] [†]	14.5 [†]	12 [5]	10 [4]	0.0001*
PPV	9 [4]	9.2	8 [2]	9.2	11.7	19 [13] [†]	18 [9] [†]	17 [8] [†]	14.5 [†]	0.0001*
uPI	11.4 [4.0]	11.2 [5.7]	9.8 [5.1]	9.9 [5.0] [†]	7.5 [4.4] [†]	9.9 [4.9] [†]	8.2 [4.4] [†]	8.8 [4.0] [†]	7.1 [2.6] [†]	0.0001*

MAP mean arterial pressure, CI cardiac index, HR heart rate, SVI stroke volume index, SVRI systemic vascular resistance index, SVV stroke volume variation, PPV pulse pressure variation, uPI urethral perfusion index

Data expressed as median [IQR]

*P<0.05, intra-group significant difference (Friedman test with a posteriori multiple comparison)

[†]P<0.05, significant difference in comparison with baseline following a posteriori paired t-test

mean Pearson correlation coefficient of 0.83 below the DT and - 0.76 above the DT.

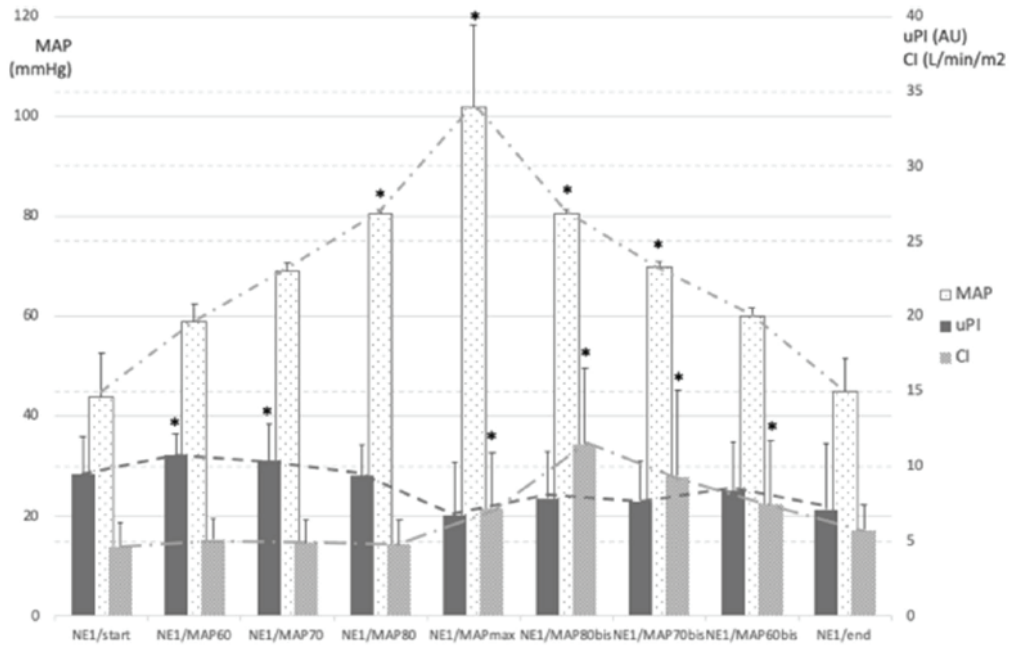
4 Discussion

The main findings of this study are a significant time effect for uPI during fluid challenge, hypotensive condition and norepinephrine infusion. The results highlight the interest of the PPG-based urethral device to detect alterations of urethral mucosa perfusion due to hypotension or excessive dose of catecholamines. Indeed, during the induction of hypotension and norepinephrine administration, both uPI and MAP appeared dissociated at an individual-depending threshold. The GLMM determined a significant positive coefficient below this dissociation threshold and a significant negative coefficient above it.

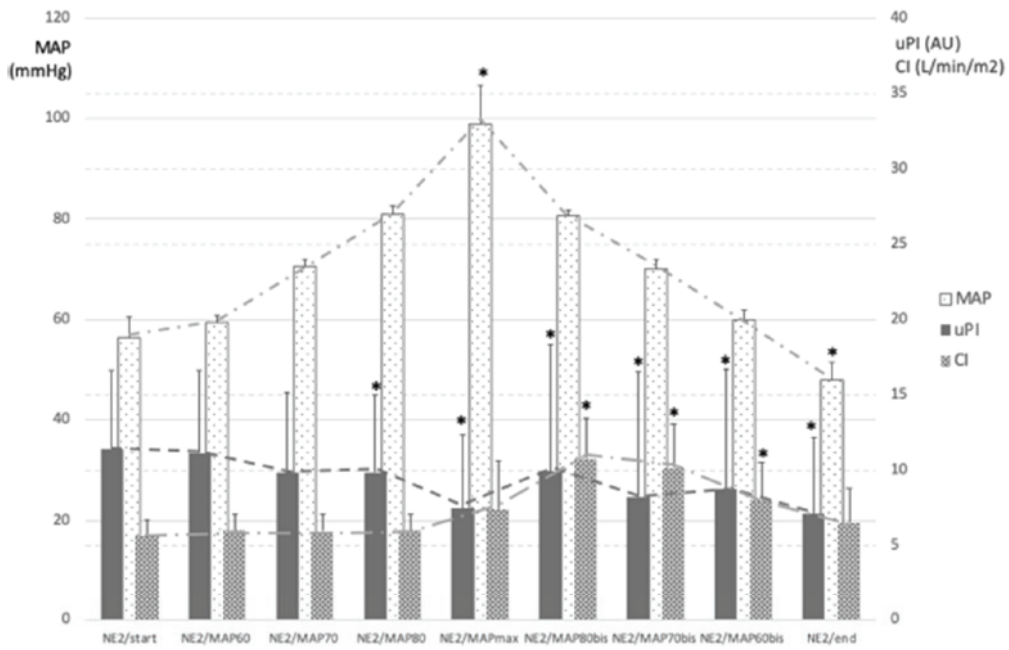
Based on previous studies that reported interesting results for a PPG device to reflect gut perfusion, we aimed at evaluating if the PPG sensor could provide similar results on urethral mucosa, as urinary catheters are routinely used in hospitalized patients. Some investigations have been performed using this site of measurement with another device combining Laser Doppler, blood oxygen saturation and NADH sensing technologies [25, 26]. This device has provided interesting results in animals and human patients [27], even though it is not available for clinical use to our knowledge. However, these studies ascertain the potential interest of the urethral site of measurement for tissue perfusion.

In our experimental setting, a large animal model was chosen as it allows better haemodynamic monitoring in comparison with smaller animals. The swine is also an interesting species which presents similarities with human cardiovascular, renal, and gastrointestinal anatomy and physiology [28].

In order to evaluate the influence of different levels of blood pressure on uPI, the use of agents that would provide a reversible effect was favoured. A high concentration of sevoflurane was chosen to induce hypotension, as it is associated with a dose dependant decrease in systemic vascular resistance [29] with a slight effect on the autonomic nervous system and the baroreflex [30]. Norepinephrine was chosen to induce a progressive increase in blood pressure, because of its α1-adrenoceptor agonism and weak β2-adrenoceptor agonism associated with a short half-life [31]. In addition, fluid challenges were performed to ensure proper blood circulating volume during the pharmacological tests. If the piglet was fluid responsive, another fluid bolus was administered. However, as every animal did not require several fluid challenges, only the first fluid load was considered in the experimental record



a



b

Fig. 5 a Concomitant variations of the Urethral Perfusion Index, cardiac index and mean arterial pressure during the first norepinephrine challenge, *uPI* Urethral Perfusion Index, *CI* cardiac index and *MAP* mean arterial pressure, Data expressed as median [IQR], **P* < 0.05, intra-group significant difference in comparison with baseline. **b** Concomitant variations of the Urethral Perfusion Index, cardiac index and mean arterial pressure during the second norepinephrine challenge. *uPI* Urethral Perfusion Index, *CI* cardiac index and *MAP* mean arterial pressure, Data expressed as median [IQR], **P* < 0.05, intra-group significant difference in comparison with baseline

to allow better data interpretation since it was administered to every animal.

The transpulmonary thermodilution technology was used to assess macrocirculation in our experimental setting. It allows continuous assessment of cardiovascular function and its use has been validated in piglets [32]. However, as described by Piehl et al. [32], it lacks accuracy with rapid changes in blood pressure, unless recalibration by thermodilution is performed. This may explain some discrepancies observed in our experiment for some haemodynamic parameters following norepinephrine infusion, in particular *CI* that remained elevated after the time-points $T_{NE1-MAPmax}$ and $T_{NE2-MAPmax}$.

In our settings, the PPG signal appeared consistent and reliable during the experiment, yielding a reliable computation of the *uPI*. As indicated by the slightest variation of *MAP*, *CI* and *SVI* after the first fluid challenge, the animals seemed less preload dependent at this time-point; conversely, the significant variations of more than 15% of these haemodynamic parameters after the second fluid challenge are in accordance with fluid responsiveness and a higher preload dependency during this time-point. The *uPI* increased in piglets that appeared preload dependent. These results are in accordance with a recent study, indicating that preload dependency influences microcirculation and its restoration [33]. During hypotension, *uPI* decreased concomitantly with *MAP* and *CI* at extreme values, but unlike those factors, an initial increase of the PPG signal was noticed at a *MAP* of 60 mmHg and 50 mmHg. Similarly, a bell-shape variation of *uPI* was noticed during both norepinephrine infusions, with a maximal value obtained for a *MAP* close to 60 mmHg. At the end of norepinephrine administrations, a similar phenomenon was observed with an optimal index

Table 6 Results of the generalized linear mixed model analysis to assess the relationship between Urethral Perfusion Index and mean arterial pressure—individual calculation of the correlation (Pearson coefficient) piglet per piglet

Piglet	Below DT Pearson correlation coefficient	P-value	Over DT Pearson correlation coefficient	P-value
[1]	0.8285392	3.12e-49	0.7399126	1.87e-09
[2]	0.8515202	4.49e-52	0.9349921	3.01e-23
[3]	0.9390760	2.74e-60	0.9215644	2.63e-31
[4]	0.5173692	4.16e-67	0.9030713	7.45e-88
[5]	0.8883852	5.55e-159	0.5252600	1.56e-22
[6]	0.8031026	1.02e-38	0.6820237	1.28e-27
[7]	0.7648241	5.60e-145	0.7702906	8.89e-27
[8]	0.9635488	6.14e-206	0.9324330	4.09e-37
[9]	0.8310048	3.46e-166	0.7014270	3.45e-42
[10]	0.9324021	3.83e-269	0.5581886	2.32e-27

uPI urethral perfusion index, *MAP* mean arterial pressure, *DT* dissociation threshold

Table 7 Results of the generalized linear mixed model analysis to assess the relationship between Urethral Perfusion Index and mean arterial pressure—values of [0, 20%, 80%, 100%] quantiles

	0%	20%	80%	100%
Below DT	0.5173692	0.7954469	0.9337368	0.9635488
Over DT	-0.9349921	-0.9237381	-0.6572567	-0.5252600

DT dissociation threshold

around *MAP* of 60 mmHg during the first administration and between *MAP* of 80 and 60 mmHg during the second administration. These findings are remarkable, as the optimal level of arterial blood pressure for patient resuscitation is still a matter of debate. Previous studies have reported similar results. In humans, increasing the *MAP* from 65 to 85 mm Hg with norepinephrine did not significantly affect systemic oxygen metabolism, skin microcirculatory blood flow, urine output, or splanchnic perfusion [34]. We highlighted the existence of a *MAP* threshold, above which the variation of *uPI* appeared inversely related to changes of *MAP*. These dissociation thresholds were different from one

Table 5 Results of the generalized linear mixed model analysis to assess the relationship between Urethral Perfusion Index and mean arterial pressure – Fixed effects

	Estimate	Std. error	df	t value	Pr(> t)
(Intercept)	1.096e+01	7.916e+00	2.002e+00	1.384	0.3
<i>MAP</i> :BelowDT	2.099e-01	4.058e-03	6.140e+03	51.723	< 2e-16 ***
<i>MAP</i> :OverDT	-1.435e-01	3.519e-03	6.153e+03	-40.774	< 2e-16 ***

uPI urethral perfusion index, *MAP* mean arterial pressure, *DT* dissociation threshold

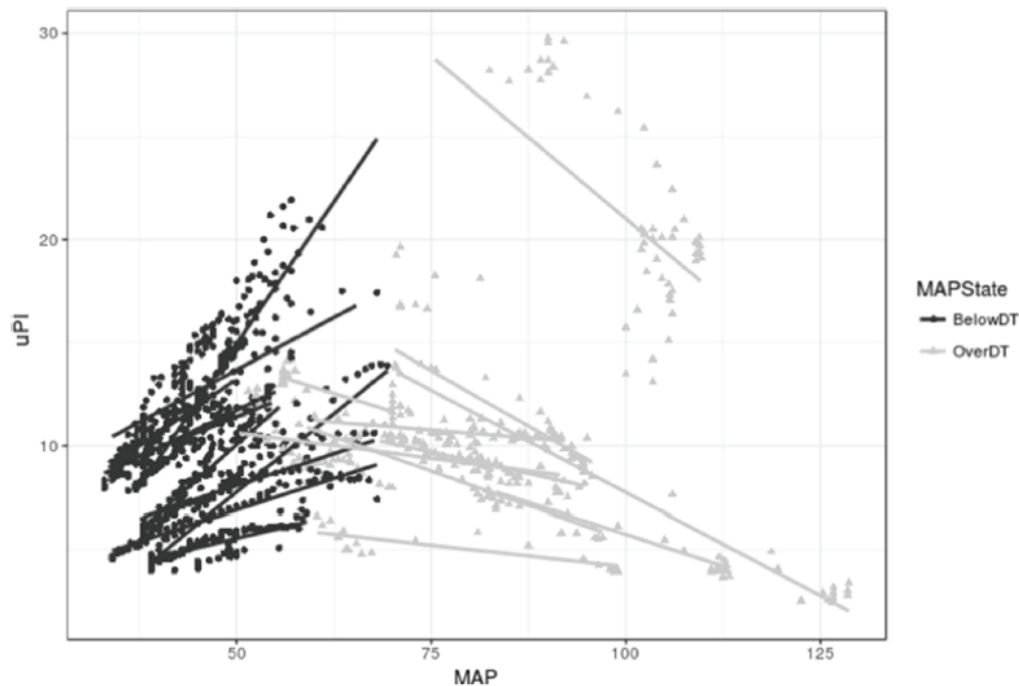


Fig. 6 Relationship between Urethral Perfusion Index and mean arterial pressure—pooled data. *MAP* mean arterial pressure, *uPI* urethral perfusion index

animal to another and varied according to haemodynamic condition. Even though it needs to be validated in human patients, this occurrence supports the use of tissue-perfusion based endpoints to better adapt patient resuscitation and the use of proper dose of vasopressors. As macro and microcirculation can be uncoupled [14], urethral perfusion monitoring could potentially help to prevent decrease of organ perfusion, despite return to normal macrocirculatory values.

In this regard, uPI may constitute a resuscitation target for the critically-ill patients, in addition to macrocirculatory parameters. The clinical relevance of choosing urethra as a preferred site to assess microcirculation, is legitimately questionable. The urethral mucosa has been shown to be particularly vulnerable during low-flow states, despite normal systemic haemodynamic parameters [25, 35]. Indeed, monitoring of circulation in non-vital organs appears interesting, as peripheral non-vital organ perfusion deteriorates earlier and improves later than vital organs. Such vital organs like duodenum may also be better preserved and autoregulated [36] than the urethra and finally associated with delayed alteration of the perfusion. Thus, monitoring urethral mucosal perfusion might constitute a good option to detect early tissue blood flow alterations and effectiveness of resuscitation.

We must acknowledge some limitations to our study. As there is no existing device to monitor urethral perfusion, we could not compare the probe to a reference apparatus to monitor tissue perfusion for this area. Hence, in accordance with clinical practice, blood lactates were measured to detect indirectly any impairment of microcirculation and tissue perfusion. However, no significant change of blood lactates was found, probably due to the abrupt changes and rapid corrections of haemodynamics.

Even though the depth of measurement with PPG is only a few millimetres [20], it cannot be excluded that deeper tissues than mucosa participate to the signal, depending on its positioning. In that respect, this technique is rather associated to a measurement of tissue perfusion than a pure microcirculatory assessment.

We assumed that an optimal uPI would be associated with an optimal organ function, however, our experimental design did not allow to confirm this assumption. It would be interesting to evaluate the device in other critical conditions, such as septic shock, haemorrhagic shock or cardiogenic shock.

Despite these limitations, the uPI offers several advantages. It relies on urinary catheterization, a standard procedure in the critical care unit. Its use has been recommended by the last surviving sepsis campaign, as it allows the quantification of urine output, an important marker of

fluid response and volume status [37]. Urinary catheterisation is also routinely performed in the anaesthetised patient, particularly for high-risk surgery, and during hospitalisation. The PPG urinary catheter, in addition to urinary output, allows a direct and continuous assessment of tissue perfusion, which can potentially provide a guidance for clinicians regarding fluid therapy and cardio-vascular support. Several studies have reported that excessive fluid therapy may be deleterious for the patient, leading to tissue oedema and decreased oxygen delivery to cells. A positive cumulative fluid balance on day four of a critical care admission has been associated with increased morbidity [38]. Both perioperatively and during sepsis, a bell-shape curve has been described for volume of fluid administered and morbidity, with higher mortality observed at both extremes of fluid volume given to the patient [39]. Similarly, excessive vasopressor administration and subsequent vasoconstriction could have a detrimental effect on the overall oxygen consumption/delivery balance [14]. Thus, use of vasopressors should require close titration and individualized approach [40]. The urethral PPG device, by enabling continuous measurement of tissue perfusion, can provide useful information to the clinician and allow a better adaptation of fluid therapy and vasopressor administration.

5 Conclusion

Based on our results, we conclude that the PPG probe, as a modified Foley catheter, is able to detect an impairment of urethral perfusion in an experimental model of haemodynamic alterations. Moreover, this device may help to detect an excessive administration of vasopressor leading to tissue perfusion alterations despite maintenance of systemic haemodynamics. Further studies are needed to assess the clinical usefulness of this device.

Acknowledgements Rémi Bonidal, Benjamin Delcroix and Dominique Falcon (Advanced Perfusion Diagnostics) for their technical support.

Author contributions The first draft of the manuscript was written by MC. MC, MM, CP, J-YA and SJ performed the experimentation and data collection. SJ designed the study and performed the statistical analysis and helped to draft the manuscript. JB and BA contributed to the study design and coordination and helped to draft the manuscript. MM, CP, J-YA also revised the manuscript critically for important intellectual content. All authors read and approved the final manuscript.

Funding Funded research by APD (funds covered the material, the animals, the location of the veterinary operative room, the drugs and surgical and anaesthetic materials). APD did not take part in collection, analysis and interpretation of neither in the data or the writing of the manuscript. There was no clause of publication in the contract between our institution and APD.

Data Availability All data generated or analysed during this study are included in this published article.

Compliance with ethical standards

Conflicts of interest B. Allaouchiche: Consultant for APD, The other authors declare that they have no conflict of interest.

Ethics approval The study was approved by our local ethical board for animal research and care (Vet Agro Sup, Marcy l'Etoile, France, authorization number: 1819) in accordance with European regulations (Directive 2010/63/EU).

References

1. Trzeciak S, McCoy JV, Phillip Dellinger R, et al. Early increases in microcirculatory perfusion during protocol-directed resuscitation are associated with reduced multi-organ failure at 24 h in patients with sepsis. *Intensive Care Med.* 2008;34:2210–7. <https://doi.org/10.1007/s00134-008-1193-6>.
2. De Backer D, Creteur J, Dubois M-J, et al. Microvascular alterations in patients with acute severe heart failure and cardiogenic shock. *Am Heart J.* 2004;147:91–9. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2003.07.006>.
3. Jhanji S, Lee C, Watson D, et al. Microvascular flow and tissue oxygenation after major abdominal surgery: association with post-operative complications. *Intensive Care Med.* 2009;35:671–7. <https://doi.org/10.1007/s00134-008-1325-z>.
4. Otero RM, Nguyen HB, Huang DT, et al. Early goal-directed therapy in severe sepsis and septic shock revisited: concepts, controversies, and contemporary findings. *Chest.* 2006;130:1579–95. <https://doi.org/10.1378/chest.130.5.1579>.
5. Sakr Y, Dubois M-J, De Backer D, et al. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. *Crit Care Med.* 2004;32:1825–31. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000138558.16257.3F>.
6. Annane D, Sebille V, Duboc D, et al. Incidence and prognosis of sustained arrhythmias in critically ill patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;178:20–5. <https://doi.org/10.1164/rccm.200701-031OC>.
7. Varpula M, Tallgren M, Saukkonen K, et al. Hemodynamic variables related to outcome in septic shock. *Intensive Care Med.* 2005;31:1066–71. <https://doi.org/10.1007/s00134-005-2688-z>.
8. Bateman RM, Walley KR. Microvascular resuscitation as a therapeutic goal in severe sepsis. *Crit Care.* 2005;9(Suppl 4):S27–32. <https://doi.org/10.1186/cc3756>.
9. Trzeciak S, Cinel I, Phillip Dellinger R, et al. Resuscitating the microcirculation in sepsis: the central role of nitric oxide, emerging concepts for novel therapies, and challenges for clinical trials. *Acad Emerg Med.* 2008;15:399–413. <https://doi.org/10.1111/j.1553-2712.2008.00109.x>.
10. Greenwood JC, Orloski CJ. End points of sepsis resuscitation. *Emerg Med Clin North Am.* 2017;35:93–107. <https://doi.org/10.1016/j.emc.2016.09.001>.
11. Ince C. Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation. *Crit Care.* 2015;19(Suppl 3):S8. <https://doi.org/10.1186/cc14726>.
12. De Backer D, Ospina-Tascon G, Salgado D, et al. Monitoring the microcirculation in the critically ill patient: current methods and

- future approaches. *Intensive Care Med.* 2010;36:1813–25. <https://doi.org/10.1007/s00134-010-2005-3>.
13. Jacquet-Lagrèze M, Bonnet-Garin J-M, Allaouchiche B, et al. A new device for continuous assessment of gut perfusion: proof of concept on a porcine model of septic shock. *Crit Care.* 2014;18:R153. <https://doi.org/10.1186/cc13992>.
 14. Dubin A, Pozo MO, Casabella CA, et al. Increasing arterial blood pressure with norepinephrine does not improve microcirculatory blood flow: A prospective study. *Crit Care.* 2009. <https://doi.org/10.1186/cc7922>.
 15. Allen J. Photoplethysmography and its application in clinical physiological measurement. *Physiol Meas.* 2007;28:R1–39. <https://doi.org/10.1088/0967-3334/28/3/R01>.
 16. Berardesca E, Lévêque J-L, Masson P, European Group for Efficacy Measurements on Cosmetics and Other Topical Products (EEMCO Group). EEMCO guidance for the measurement of skin microcirculation. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* 2002;15:442–56. <https://doi.org/10.1159/000066451>.
 17. Budidha K, Abay TY, Kyriacou PA (2015) Investigation of photoplethysmography, laser Doppler flowmetry and near infrared spectroscopy during induced thermal stress. In: 2015 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC). IEEE, pp 6417–6420.
 18. Pearce WH, Jones DN, Warren GH, et al. The use of infrared photoplethysmography in identifying early intestinal ischemia. *Arch Surg.* 1987;122:308–10. <https://doi.org/10.1001/archsurg.1987.01400150062012>.
 19. Akl TJ, Wilson MA, Ericson MN, Coté GL. Intestinal perfusion monitoring using photoplethysmography. *J Biomed Opt.* 2013;18:87005. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.8.087005>.
 20. Abay TY, Kyriacou PA. Photoplethysmography for blood volumes and oxygenation changes during intermittent vascular occlusions. *J Clin Monit Comput.* 2018;32:447–55. <https://doi.org/10.1007/s10877-017-0030-2>.
 21. Manohar M, Parks CM. Porcine systemic and regional organ blood flow during 1.0 and 1.5 minimum alveolar concentrations of sevoflurane anesthesia without and with 50% nitrous oxide. *J Pharmacol Exp Ther.* 1984;231:640–8. [https://doi.org/10.1002/\(ISSN\)2052-1707](https://doi.org/10.1002/(ISSN)2052-1707).
 22. Hecker KE, Baumert JH, Horn N, et al. Minimum anesthetic concentration of sevoflurane with different xenon concentrations in swine. *Anesth Analg.* 2003;97:1364–9. <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000081062.20894.d1>.
 23. Allaouchiche B, Dufflo F, Tournadre JP, et al. Influence of sepsis on sevoflurane minimum alveolar concentration in a porcine model. *Br J Anaesth.* 2001;86:832–6.
 24. Kelley KW, Curtis SE, Marzan GT, et al. Body surface area of female swine. *J Anim Sci.* 1973;36:927–30.
 25. Clavijo JA, van Bastelaar J, Pinsky MR, et al. Minimally invasive real time monitoring of mitochondrial NADH and tissue blood flow in the urethral wall during hemorrhage and resuscitation. *Med Sci Monit.* 2008;14:175–82.
 26. Mayevsky A, Tolmasov M, Kutai-Asis H, Mandelbaum M. Oxygen balance homeostasis and tissue metabolic score (TMS) of patients in emergency and critical care medicine. *J Emerg Med Care.* 2018;1:204.
 27. Mayevsky A, Walden R, Pewzner E, et al. Mitochondrial function and tissue vitality: bench-to-bedside real-time optical monitoring system. *J Biomed Opt.* 2011;16:067004. <https://doi.org/10.1117/1.3585674>.
 28. Swindle MM, Makin A, Herron AJ, et al. Swine as models in biomedical research and toxicology testing. *Vet Pathol.* 2012;49:344–56. <https://doi.org/10.1177/0300985811402846>.
 29. Torri G, Casati A. Cardiovascular homeostasis during inhalational general anesthesia: a clinical comparison between sevoflurane and isoflurane. *J Clin Anesth.* 2000;12:117–22. [https://doi.org/10.1016/S0952-8180\(00\)00123-9](https://doi.org/10.1016/S0952-8180(00)00123-9).
 30. Ma D, Sapsed-Byrne SM, Chakrabarti MK, Whitwam JG. Effect of sevoflurane on spontaneous sympathetic activity and baroreflexes in rabbits. *Br J Anaesth.* 1998;80:68–72.
 31. Alexander SPH, Mathie A, Peters JA. Guide to receptors and channels (GRAC), 5th edition. *Br J Pharmacol.* 2011;164:S1–S324. https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01649_1.x.
 32. Piehl M, Manning J, McCurdy S, et al. Pulse contour cardiac output analysis in a piglet model of severe hemorrhagic shock*. *Crit Care Med.* 2008;36:1189–95. <https://doi.org/10.1097/CCM.0B013E31816592A3>.
 33. Bouattour K, Teboul J-L, Varin L, et al. Preload dependence is associated with reduced sublingual microcirculation during major abdominal surgery. *Anesthesiol.* 2019;130:541–9. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000002631>.
 34. LeDoux D, Astiz ME, Carpati CM, Rackow EC. Effects of perfusion pressure on tissue perfusion in septic shock. *Crit Care Med.* 2000;28:2729–32.
 35. Talja M, Schröder T, Lehtola A, et al. Blood circulation in the urethra during hypovolemia—an experimental study. *Urol Res.* 1986;14:267–70.
 36. Kroužecký A, Matějovič M, Raděj J, et al. Perfusion pressure manipulation in porcine sepsis: effects on intestinal hemodynamics. *Physiol Res.* 2006;55:527–33.
 37. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. *Intensive Care Med.* Berlin Heidelberg: Springer; 2017. p. 304–377.
 38. Boyd JH, Forbes J, Nakada T-A, et al. Fluid resuscitation in septic shock: a positive fluid balance and elevated central venous pressure are associated with increased mortality. *Crit Care Med.* 2011;39:259–65. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181feeb15>.
 39. Tigabu BM, Davari M, Kebriaeezadeh A, Mojtahedzadeh M. Fluid volume, fluid balance and patient outcome in severe sepsis and septic shock: A systematic review. *J Crit Care.* 2018;48:153–9. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2018.08.018>.
 40. Annane D, Ouane-Besbes L, De Backer D, et al. A global perspective on vasoactive agents in shock. *Intensive Care Med.* 2018;44:833–46. <https://doi.org/10.1007/s00134-018-5242-5>.

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Evaluation of microcirculation by Sidestream Dark Field imaging: Impact of hemodynamic status on the occurrence of pressure artifacts – A pilot study



Mathieu Magnin^{a,b}, Éliisa Foulon^{a,b}, Thibaut Lurier^{c,d,e}, Bernard Allaouchiche^{a,f},
Jeanne-Marie Bonnet-Garin^{a,b}, Stéphane Junot^{a,g,*}

^a Université de Lyon, VetAgro Sup, APCSe Aggressions Pulmonaires et Circulatoires dans le Sepsis, 1 avenue Bourgelat, F-69280 Marcy l'Etoile, France

^b Université de Lyon, VetAgro Sup, Unité de Physiologie, Pharmacodynamie et Thérapeutique, 1 avenue Bourgelat, F-69280 Marcy l'Etoile, France

^c Université Clermont Auvergne, INRAE, VetAgro Sup, UMR EPIA, Theix, F-63122 Saint-Genès-Champagnelle, France

^d Université de Lyon, INRAE, VetAgro Sup, UMR EPIA, 1 avenue Bourgelat, F-69280 Marcy l'Etoile, France

^e Université de Lyon, INRAE, VetAgro Sup, Usc 1233 UR RS2GP, 1 avenue Bourgelat, F-69280 Marcy l'Etoile, France

^f Université de Lyon, Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon Sud, Réanimation Médicale, 165 Chemin du Grand Revoyet, F-69310 Pierre-Bénite, France

^g Université de Lyon, VetAgro Sup, Service d'Anesthésie-Analgésie, 1 avenue Bourgelat, F-69280 Marcy l'Etoile, France

ARTICLE INFO

Keywords:

Microcirculation
Image acquisition
Artifacts
Sidestream Dark Field

ABSTRACT

Objective: The aims of the study were to evaluate the influence of hemodynamic status on pressure artifacts and the impact of pressure artifacts on microcirculatory flow.

Methods: Sublingual microcirculation was assessed using a Sidestream Dark Field handheld imaging device in 7 anesthetized piglets, submitted to pharmacologically-induced blood pressure variations. For each video, a pressure score of 0, 1, or 10 was assigned for the category "pressure artifacts" of the "microcirculation image quality score". Videos with a pressure score of 0 and 1 were considered as "passing videos". The videos with a score of 10 were considered as "failing videos". Multivariate logistic regression models and multivariate linear mixed models with individual random effects were used.

Results: As blood pressure decreased, the probability of obtaining a "failing video" increased ($P = 0.0008$). Pressure scores of 10 influenced significantly the perfused De Backer score (small and all vessels), the proportion of perfused vessels (small and all vessels), the microvascular flow index and the heterogeneity index. Pressure scores of 1 influenced significantly the parameters above-mentioned, except the perfused De Backer score for all vessels.

Conclusion: The probability of obtaining pressure artifacts during recording of microcirculation videos was higher when the arterial pressure was low. The presence of acceptable pressure artifacts also influenced microcirculation analysis.

1. Introduction

Microcirculation is considered as a vital component of organ function. It is the component of circulation that regulates oxygen and nutrients supply to the cells (Granger et al., 1988). Microvessels are defined as small vessels, with a diameter inferior to 20 μm , that include arterioles, capillaries and venules (Ince et al., 2018). Microcirculation alterations are associated with a poor outcome in various critical

conditions (Kara et al., 2016; Donati et al., 2013; De Backer et al., 2002). In this regard, it is considered as a potential target for resuscitation maneuvers, particularly since the development of handheld videomicroscopes (HVM) and sidestream dark field (SDF) imaging that allow direct observation of microvessels at the patient's bedside. This second generation of a videomicroscope whose lens is surrounded by LEDs emitting green light ($\lambda = 530\text{--}550\text{ nm}$) captured by hemoglobin. The SDF microscope records short videos of a few

Abbreviations: AICc, Corrected Akaike Criterion; BSA, Body surface area; CI, Cardiac index; CO, Cardiac output; DAP, Diastolic arterial pressure; IDF, Incident Dark Field; HI, Heterogeneity index; HVM, Handheld videomicroscope; IM, Intra-muscular; IV, Intra-venous; MAP, Mean arterial pressure; MFI, Microvascular flow index; MIQS, Microcirculation image quality score; OR, Odd ratio; PPV, Pulse pressure variation; SAP, Systolic arterial pressure; SDF, Sidestream dark field

* Corresponding author at: Université de Lyon, VetAgro Sup, APCSe Aggressions Pulmonaires et Circulatoires dans le Sepsis, 1 avenue Bourgelat, F-69280 Marcy l'Etoile, France

E-mail addresses: mathieu.magnin@vetagro-sup.fr (M. Magnin), elisa.foulon@vetagro-sup.fr (É. Foulon), thibaut.lurier@vetagro-sup.fr (T. Lurier), bernard.allaouchiche@gmail.com (B. Allaouchiche), jeanne-marie.bonnet@vetagro-sup.fr (J.-M. Bonnet-Garin), stephane.junot@vetagro-sup.fr (S. Junot).

<https://doi.org/10.1016/j.mvr.2020.104025>

Received 18 March 2020; Received in revised form 27 May 2020; Accepted 28 May 2020

Available online 01 June 2020

0026-2862/ © 2020 Elsevier Inc. All rights reserved.

seconds where dark vessels on a light field are observed (Goedhart et al., 2007). With this technology, the sublingual area is most frequently used to monitor microcirculation (Ince et al., 2018; Kara et al., 2016).

In comparison with other technologies such as laser-based techniques, HVM has the advantage of allowing a direct visualization of microvessels and an estimation of functional parameters. Those include characterization of microvascular density and flow with dedicated scores. However, the calculation of these scores and their interpretation is highly dependent on the quality of the videos obtained. Thus, obtaining videos of good quality remains one of the major limitations for videomicroscopy (Sallisalmi et al., 2012; Damiani et al., 2017; Bemelmans et al., 2009; González et al., 2017). In order to better evaluate the recorded videos, Massey et al. have developed a quality score based on 6 criteria: illumination, duration, focus, content, stability and pressure (Massey et al., 2013). In a study by Sallisalmi et al., only 30% of the videos were considered of excellent quality (Sallisalmi et al., 2012). To a similar extent, Bemelmans et al. reported the impossibility of obtaining videos of good quality in around 20% of the patients included in their study (Bemelmans et al., 2009). Several factors may affect the quality of the videos: some are operator-dependent, others are patient-dependent such as the physical status or the degree of sedation (Damiani et al., 2017).

The main operator-dependent artifacts are associated with image instability and compression of structures by the camera (Sallisalmi et al., 2012). Pressure artifacts occur when the operator applies an excessive pressure on the sublingual area, causing a misrepresentation of capillary flow. Pressure artifacts are characterized by abnormally slow and heterogeneous flow, capillary flows that stop and restart or reverse (Sallisalmi et al., 2012; Massey et al., 2013; Massey and Shapiro, 2016). They are detected by observing the flow in the large venules, considered as sentinel vessels because of their greater sensitivity to pressure obstruction (Ince et al., 2018; Massey et al., 2013). In the study of Sallisalmi et al., pressure artifacts were the most frequent, occurring in 36% of the videos (Sallisalmi et al., 2012). The second consensus on the assessment of sublingual microcirculation considered pressure artifacts as “the main technical challenge in performing HVM measurement” (Ince et al., 2018). Hence, the analysis of poor-quality videos can be the source of bias and erroneous conclusions. Pressure artifacts were notably associated with a lower density of vessels, a lower percentage of vessels perfused and a lower flow rate (Damiani et al., 2017).

Even though it seems logical that the occurrence of pressure artifacts is correlated with low pressure inside the vessels, rendering them more compressible, this remains to be elucidated. To our knowledge, no study regarding a potential link between hemodynamic status and quality of videos has been published.

We performed a pilot study on an experimental pig model that aimed to verify the following two hypotheses. The first hypothesis was that the occurrence of pressure artifacts is dependent on the pressure prevailing within the vessels and therefore on the patient's hemodynamic status. The second hypothesis was that the presence of pressure artifacts, even if considered as acceptable, can influence microcirculatory parameters.

2. Materials and methods

This study used video clips recorded as part of another study that aimed to validate a new medical device (this study was conducted in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and approved by the Ethics Committee of the institution – VetAgroSup - Campus Vétérinaire de Lyon - Ethical agreement: authorization number 1819).

• Animals

For the purpose of the original study, 7 female piglets were anesthetized and equipped for hemodynamic monitoring. The anesthetic protocol consisted in a premedication with a 1:1 mixture of tiletamine-zolazepam (ZOLETIL100, 100 mg.mL⁻¹, Virbac, Carros, France) 3.0 mg.kg⁻¹ IM, associated with morphine (MORPHINE AGUETTANT, 10 mg.mL⁻¹, Laboratoire Aguettant, Lyon, France) 0.2 mg.kg⁻¹ IM, followed by an induction with propofol (PROPOVET 10 mg.mL⁻¹, Zoetis, Malakoff, France) 4.0 mg.kg⁻¹ IV, and a maintenance with sevoflurane (SEVOFLO, Zoetis, Malakoff, France) in 30% oxygen. Once anesthetized, the external right jugular vein was dissected for placement of a central venous catheter (Multicath 3 7.5Fr, Vygon, Ecouen, France). A 4F thermoludion catheter (PiCCO catheter 5 Fr, Getinge, Orléans, France) was inserted into the lower abdominal aorta through the right femoral artery and connected to a PiCCO system.

• Hemodynamics monitoring

The following hemodynamics parameters were continuously recorded: mean arterial pressure (MAP), systolic arterial pressure (SAP), diastolic arterial pressure (DAP), cardiac output (CO), pulse pressure variation (PPV). Cardiac index (CI) was calculated based on conventional equations (CI = CO/BSA), with the body surface area (BSA) calculated as previously described (Swindle et al., 2012).

• Original study design

After equipment and stabilization of the animals, a succession of hypotensive and hypertensive periods was performed. Hypotension was induced by inhalation of an increased concentration of sevoflurane. Hypertension was performed by administration of norepinephrine. The targeted MAP for hypotension ranged from 30 to 50 mmHg, whereas the targeted MAP for hypertension ranged from 90 to 110 mmHg.

• Microcirculation imaging and procedures

Six hundred and eighty-four video clips were considered in this study. They were taken from 7 pigs that were included in the original study (pig a: 108 videos, pig b: 87 videos, pig c: 79, pig d: 73 videos, pig e: 132 videos, pig f: 108 videos and pig g: 97 videos).

The video sequences were obtained from the sublingual area, using a SDF × 5 lens camera (Microscan, Microvision medical, Amsterdam, The Netherlands), with a standardized duration of 120 frames. A detailed description of the SDF technology is provided elsewhere (Goedhart et al., 2007).

Every video clip was recorded by the same trained investigator (MM). The training period lasted 2 weeks. During this period, the principal investigator was trained on the recording and analysis of microcirculation video recorded by SDF. The training took place at VetAgroSup and was carried out on anesthetized live animals (dogs, cats and pigs) and was provided by SJ, who has 6 years of experience in the use of SDF.

The videos were recorded with the videomicroscope carried by hand, and not fixed. The videomicroscope was connected to a computer using a dedicated software (AVA, Version 4.3C, Microscan, Microvision medical, Amsterdam, The Netherlands). A new sterile cap was placed on the videomicroscope for each pig. As soon as the MAP reached the target value, the videomicroscope was positioned in the oral cavity. Beforehand, the secretions of the mouth were wiped with swabs, as well as the optic's cap of the microscope. The recording procedures followed Trzeciak and colleagues (Trzeciak et al., 2007) recommendations, in accordance with the consensus of experts (Ince et al., 2018): the videomicroscope was applied on contact with the sublingual mucosa until the microcirculation was observed. The camera was advanced into the sublingual area until the flow was partially or completely occluded. Then, it was retracted from the sublingual mucosal surface until contact with the tissue was lost. Just before contact was lost, the flow looked

like with no pressure. Then, the probe was advanced again gently until a contact was regained and the microvessels came into view. Stability, focus and illumination were assessed by the AVA software and 3 to 10 videos were recorded, for at least three different sites.

All the videos were recorded at the floor of the mouth, near the lingual frenulum: during the introduction of the probe in the oral cavity, the tongue was slightly raised, allowing the visualization of the floor of the mouth and the lingual frenulum. The probe was placed gently in contact with the mucosa of the floor of the mouth, close to the lingual frenulum, at an angle of about 60°.

- Video clip analysis

The video clips of the original study were analyzed blindly by two authors (MM and EF), trained to read microcirculation videos and to perform the “microcirculation image quality score (MIQS)” described by Massey et al. (Massey et al., 2013). The evaluators were blinded from one another and could not communicate regarding the videos and their scoring. For each video clip, they were not aware of the hemodynamic status of the animals at the time of its recording. Afterward, in case of disagreement, the two raters met to find a consensus. The overall acceptable quality videos were retained for further analysis.

For each video, a pressure score of 0, 1, or 10 was assigned for the category “pressure exerted by the videomicroscope” of the MIQS.

A pressure score of 0 was considered as “good” (“constant flow throughout the entire movie. No obvious signs of artificially sluggish or stopped flow. Good flow in the largest vessels”). A pressure score of 1 was considered as “acceptable” (“Signs of pressure, localized sluggish flow in a specific large vessel, but flow appears to be unimpeded based on good flow in most large vessels”). A pressure score of 10 was considered as “unacceptable” (“Obvious pressure artifacts associated with probe movement, and/or flow that starts and stops, reversal of flow, poor or changing flow in larger venules”). Videos illustrating the level of pressure artifacts are available in additional files (additional file). The videos with a pressure score of 0 and 1 were grouped in the category of quality video “passing videos”. The videos with a score of 10 were considered as “failing videos”.

Microvascular flow index (MFI) and heterogeneity index (HI) were calculated by an author (MM). The MFI was evaluated as followed: the image was divided into 4 quadrants, a score of 0 to 3 is assigned to each (flow was characterized as absent (0), intermittent (1), sluggish (2), or normal (3)). The MFI corresponded to the average of these 4 scores. The HI was calculated from the quadrant scores according to the following equation: (highest score) – (lowest score) / mean score (Ince et al., 2018).

An automatic algorithm-software (AVA, Version 4.3C) performed others analysis. Small vessels were defined as vessels with diameter < 20 μm. Density and perfusion related parameters were calculated as followed:

- o Density parameters:
 - De Backer score (DBs) = number of crossings /total length of the 3 × 3 De Backer grid (in n/mm). This parameter was calculated for all vessels (DBs all) and for small vessels (DBs small).
- o Perfusion parameters:
 - Perfused De Backer score (PDBs) = perfused number of crossings / total length of the 3 × 3 De Backer grid (in n/mm). This parameter was calculated for all vessels (PDBs all) and for small vessels (PDBs small).
 - Proportion of Perfused Vessels (microPPV) = (Perfused De Backer score/De Backer score)*100 (in %). This parameter was calculated for all vessels (microPPV all) and for small vessels (microPPV small).

2.1. Statistical analysis

A Cohen's kappa coefficient (κ) was calculated to determine the interrater reliability for passing or failing a video. To test the influence of hemodynamic parameters on the quality of the video (passing or failing), a multivariate logistic regression model was built with individual random effects. The complete model included as fixed effects CI, MAP, PPV and interaction terms of second and third order (formula 1). With the dredge function of the “MuMin” package, the corrected Akaike criterion (AICc) was calculated for all possible sub-models. The best of these sub-models was then selected as the model with the weakest AICc. Based on the selected model, the “emmeans” package was used to predict the probability of obtaining a “failing video” according to the hemodynamic status.

In order to test the impact of pressure artifacts on microcirculatory variables, a univariate analysis (formula 2) and a multivariate analysis (formula 3) were performed. For the univariate analysis, a linear mixed model was constructed for each microcirculatory parameter including the pressure score as a fixed effect and the individuals as random effects. For the multivariate analysis, the hemodynamic parameters (MAP, PPV and CI) were added as adjustment variables to verify whether the effect of the pressure artifacts was independent of the hemodynamic status. For MFI, logistic regressions were also performed including the same variables as described above. The MFI was previously transformed into a dichotomous variable: a MFI below 2.6 was considered as abnormal whereas a MFI > 2.6 was considered as normal (Ince et al., 2018).

For the logistic models, the odds ratio (OR) of the fixed effects were calculated by performing the exponential of the estimate.

For each linear mixed model, homoscedasticity and random distribution of residuals were checked by plotting residuals against fitted value, and random distribution of individual random effect was checked by visualizing the distribution of individual random intercepts for each model. The correct fit of the logistic regressions was checked by performing a Pearson's residue analysis and a Hosmer-le Cessie-Test if necessary.

Statistical analysis was performed using R 3.5.2 software (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). The packages “ggplot2” (Wickham, 2020), “lme4” (Bates et al., 2015), “lmerTest” (Kuznetsova et al., 2017), “MuMin” (Burnham and Anderson, 2002), “sjPlot” (Lüdtke, 2018), “rms” (Jr, 2019) and “emmeans” (Lenth et al., 2019) were used. A P-value lower than 0.05 was considered as significant.

$$\text{Video quality (passing or failing)} \sim \text{CI} * \text{MAP} * \text{PPV} + (1 | \text{individual}) \quad (1)$$

$$\text{Microcirculatory parameter} \sim \text{pressure score} + (1 | \text{individual}) \quad (2)$$

$$\text{Microcirculatory parameter} \sim \text{pressure score} + \text{CI} + \text{MAP} + \text{PPV} + (1 | \text{individual}) \quad (3)$$

3. Results

- Microcirculation image quality score

An agreement between raters was observed in 89.3% of the cases (611/684) and a disagreement in 10.7% (74/684). Regarding the disagreements, 46% (34/74) represented strong disagreements (a video “0” or “1” was classified “10”) and 54% (40/74) were regarded as minor disagreement (a video “0” was ranked “1”). Using the Cohen κ score to assess inter operator agreement for passing or failing a video with the blinded pressure score, a substantial agreement was observed ($\kappa = 0.71$).

After consensus between operators, 456 (66.7%) video clips were considered as “good” (score of 0), 139 (20.3%) video clips were

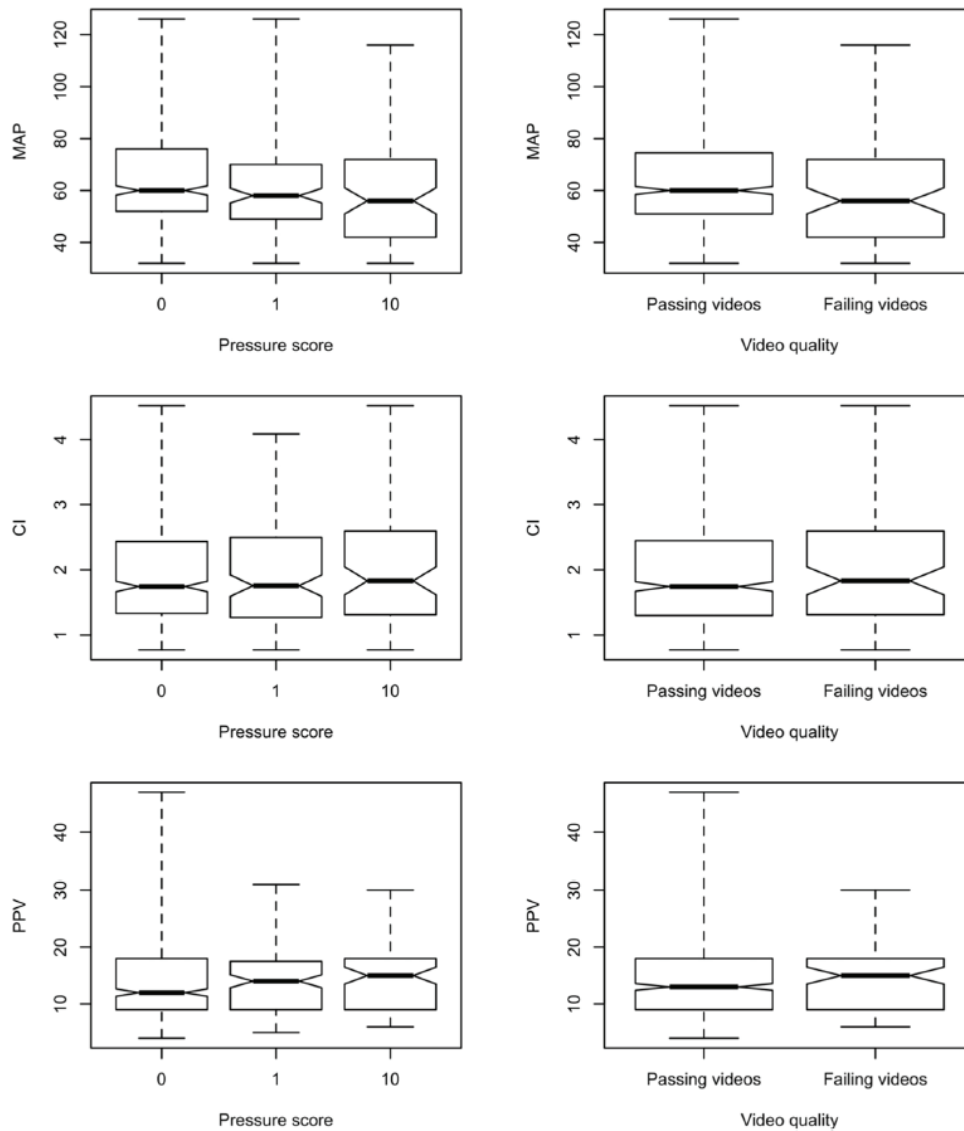


Fig. 1. Distribution of video clips according to hemodynamic status (y axis) and pressure score (x axis). CI: cardiac index (L/min/m²), PPV: pulse pressure variation (%), MAP: mean arterial pressure (mmHg).

considered as “acceptable” (score of 1) and 89 (13%) video clips were considered as unacceptable (score of 10). Thus, 595 (87%) videos were regarded as appropriate and 89 (13%) were considered as poor quality.

- Influence of hemodynamic status on the quality of videos

Fig. 1 illustrates the distribution of videos according to the pressure score (on x-axis) and the hemodynamic parameters (on the y-axis).

The best model for the quality of video was the model that included MAP only as an explanatory variable (model 1: video quality (passing or failing) ~ MAP + (1|individual)).

The results of the analysis are given in Table 1: blood pressure significantly influenced the risk of obtaining a “failing video” (P = 0.0008). Odd ratio was about 0.98; indicating that when blood

pressure increases by 1 mmHg, the probability of getting a video with unacceptable pressure artifacts is multiplied by 0.98. As blood pressure decreased, the probability of obtaining a “failing video” increased. The probability of obtaining a “failing video” as a function of MAP is presented in Table 2 and illustrated in Fig. 2.

- Influence of pressure score on microcirculatory parameters

The results of univariate and multivariate analysis are described in Table 3. Density (DBs, DBs small) was not influenced by the pressure score. PDBs for all vessels were significantly lower in videos with a pressure score of “10” compared with videos with a pressure score of “0”. PDBs small, microPPV, microPPV small and MFI were significantly lower in videos with a pressure score of “1” and in videos with a

Table 1
Influence of hemodynamic status on the quality of videos.

Fixed effect					Random effect	
Variable	Estimate (SE)	OR [IC95]	Z value	Pr(> z)	Variable	Variance (SD)
MAP	-0.024 (0.007)	0.98 [0.96–0.99]	-3.358	0.0008	Individual	0.852 (0.923)

MAP: mean arterial pressure, SE: standard error, IC95: 95% confidence interval, SD: standard deviation, NA: not applicable.

Table 2
Probability of obtaining a failing video according to mean arterial pressure.

MAP (mmHg)	Probability of obtaining a failing video (SE) (%)	95% confidence interval
30	20 (7)	10–37
50	14 (4)	7–25
70	9 (3)	4–17
90	6 (2)	2–12
110	4 (2)	1–9

MAP: mean arterial pressure, SE: standard error.

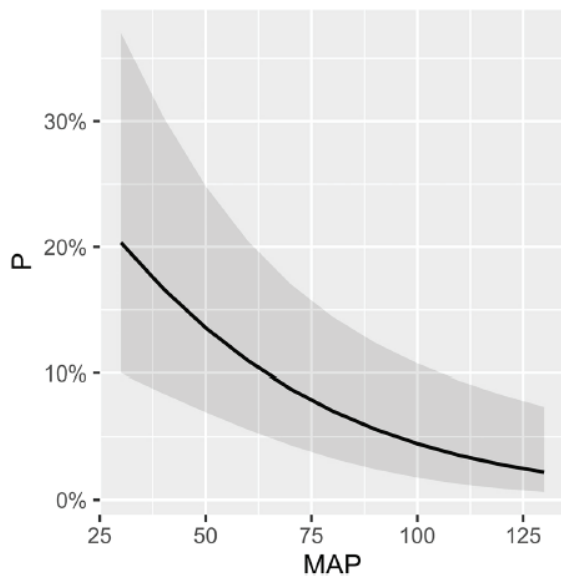


Fig. 2. Probability of obtaining a failing video predicted according to mean arterial pressure.

The black line corresponds to the probability of obtaining a “failing video” predicted by the model, the gray area around this line allows the representation of the 95% confidence interval.

MAP: mean arterial pressure (mmHg), P: probability of obtaining a failing video according to the model (%).

pressure score of “10”. HI was significantly higher in videos with a pressure score of “1” and “10”. The effect size was more important for videos with a pressure score of 10. Graphical presentations of microcirculatory parameters are illustrated in Fig. 3.

4. Discussion

The current pilot study aimed to evaluate the influence of the hemodynamic status on the occurrence of pressure artifact during acquisition of SDF video clips and the impact of pressure artifacts on video analysis. The main results were an association between a low MAP and the occurrence of pressure artifact. In particular, the probability of

obtaining a poor-quality video due to the presence of pressure artifacts increased when MAP decreased. Pressure artifacts significantly influenced the majority of microcirculatory parameters, even when these artifacts were considered acceptable. These results suggest that analyzing videos with moderate pressure artifacts could be a source of bias.

Microcirculation has been largely described, but its interest has gathered since the 1990s and the development of HVM (Granger et al., 1988; Ocak et al., 2016). Hence, this technology has contributed significantly to the understanding of the mechanisms underlying the evolution and prognosis of critical conditions. In particular, it has brought to light the occurrence of microcirculation disorders in the time-course of shock and sepsis (Bates et al., 2015; Kuznetsova et al., 2017). Sidestream dark field imaging, the technology used in the present study, is the second generation of HVM. In comparison with the first generation, it has been associated with videos of better quality: capillary contrast and sharpness were shown to be significantly improved and venular granularity was more clearly observable compared with first generation (Goedhart et al., 2007). As the other HVMS devices, it has the advantage over laser-based technologies of better characterizing the microcirculation by providing density and perfusion information. In addition, HVMS provide directly viewable anatomical information. However, its use is associated with some limitations, one of them being the acquisition of good quality videos. Indeed, SDF technology requires a certain skill to obtain clips of good quality, which can be analyzed and interpreted with limited risks of bias. Other limitations of SDF videomicroscopy are the restricted body area that can be investigated and the clinical condition of the patients. In critical care medicine, HVM is mainly used to evaluate microcirculation of the sublingual area for research purpose, and some severe conditions such as respiratory distress, prevent the placement of a microscope in the mouth (González et al., 2017). When the recording is possible, the proportion of poor-quality videos obtained is not negligible and varies from 18 to 70% (Sallisalmi et al., 2012; Damiani et al., 2017; Bemelmans et al., 2009). In a study performed on dialyzed patients with chronic kidney disease, good quality videos could not be obtained in 18% of the cases. In a cohort of 240 videos obtained in ICU, only 30% of the clips were considered as excellent quality. (Sallisalmi et al., 2012). In another study performed on critical patients, only 56% of the 2455 recorded videos were of sufficient quality to be analyzed. In this last study, the most striking result was that, for 20% of the patients, no video of appropriate quality could be recorded during their hospitalization (Damiani et al., 2017). Interestingly, the occurrence of large proportions of videos of poor quality appears mainly reported in ICU patients (Sallisalmi et al., 2012; Damiani et al., 2017). One possible explanation is that videos recorded on unstable patients must be obtained more quickly and in less favorable conditions (intubation, presence of many medical devices). However, other causes can explain the poor quality of a video, in particular the lack of experience of the manipulator or the absence of a standardized and repeatable area of measurement. These results highlight the need for a better understanding of the link between the physical status of the patient and the quality of videos obtained. Especially, it would be interesting to obtain videos in a more reliable manner in critical patients, who are the ones that could benefit the most from the analysis of microcirculation, as this may improve their outcome.

Based on the report of Sallisalmi et al. (Sallisalmi et al., 2012),

Table 3
Impact of pressure artifacts on microcirculatory parameters.

Dependent variable	Fixed effect	Univariate analysis		Multivariate analysis	
		Estimate	P-value	Estimate	P-value
DBs all	Pressure score "1"	-0.05 (-0.49-0.39)	0.83	-0.10 (-0.54-0.34)	0.65
	Pressure score "10"	-0.34 (-0.89-0.22)	0.24	-0.28 (-0.84-0.29)	0.34
	MAP			-0.001 (-0.014-0.011)	0.82
	CI			0.09 (-0.02-0.19)	0.13
	PPV			-0.03 (-0.06-0.01)	0.08
DBs small	Pressure score "1"	-0.38 (-0.84-0.10)	0.11	-0.42 (-0.89-0.05)	0.08
	Pressure score "10"	-0.37 (-0.94-0.23)	0.22	-0.37 (-0.96-0.24)	0.23
	MAP			9.7 10 ⁻⁴ (-0.01-0.01)	0.89
	CI			-4.8 10 ⁻² (-0.16-0.07)	0.43
	PPV			-5.54 10 ⁻² (-0.09 to -0.02)	0.002
PDBs all	Pressure score "1"	-0.26 (-0.76-0.25)	0.33	-0.29 (-0.81-0.22)	0.27
	Pressure score "10"	-1.01 (-1.65 to -0.38)	0.002	-1.05 (-1.72 to -0.39)	0.002
	MAP			-0.01 (-0.02-0.01)	0.26
	CI			0.06 (-0.07-0.19)	0.39
	PPV			-0.02 (-0.06-0.02)	0.26
PDBs small	Pressure score "1"	-0.55 (-0.98 to -0.12)	0.01	-0.59 (-1.02 to -0.16)	0.008
	Pressure score "10"	-1.0 (-1.53 to -0.47)	0.0002	-1.05 (-1.60 to -0.51)	0.0002
	MAP			-0.01 (-0.02-0.01)	0.29
	CI			-0.07 (-0.18-0.03)	0.16
	PPV			-0.05 (-0.08 to -0.02)	0.002
microPPV all	Pressure score "1"	-3.47 (-7.00 to -0.03)	0.05	-3.67 (-7.27 to -0.18)	0.04
	Pressure score "10"	-10.56 (-15.01 to -6.27)	< 0.0001	-11.57 (-16.24 to -7.11)	< 0.0001
	MAP			-0.10 (-0.20-0.00)	0.05
	CI			-0.02 (-0.91-0.85)	0.96
	PPV			-0.07 (-0.33-0.19)	0.57
microPPV small	Pressure score "1"	-3.57 (-7.33-0.08)	0.06	-3.75 (-7.58 to -0.04)	0.05
	Pressure score "10"	-12.08 (-16.81 to -7.52)	< 0.0001	-13.19 (-18.15 to -8.47)	< 0.0001
	MAP			-0.10 (-0.20-0.01)	0.07
	CI			-0.28 (-1.20-0.63)	0.55
	PPV			-0.11 (-0.38-0.17)	0.45
MFI	Pressure score "1"	-0.57 (-0.66 to -0.49)	< 0.0001	-0.58 (-0.66 to -0.49)	< 0.0001
	Pressure score "10"	-1.23 (-1.33 to -1.13)	< 0.0001	-1.23 (-1.33 to -1.12)	< 0.0001
	MAP			2.10 10 ⁻⁵ (-0.002-0.002)	0.98
	CI			-4.58 10 ⁻⁴ (-0.02-0.02)	0.97
	PPV			-3.38 10 ⁻⁴ (-0.01-0.01)	0.91
Binary MFI (normal or abnormal)	Pressure score "1"	OR = 11.9 (7.3-19.8)	< 0.0001	OR = 11.8 (7.3-19.9)	< 0.0001
	Pressure score "10"	OR = 114.4 (34.7-706)	< 0.0001	OR = 111 (33.8-692.3)	< 0.0001
	MAP			OR = 1 (0.9-1.1)	0.62
	CI			OR = 1.1 (0.9-1.2)	0.46
	PPV			OR = 1 (0.9-1.1)	0.26
HI	Pressure score "1"	0.47 (0.38-0.56)	< 0.0001	0.48 (0.38-0.57)	< 0.0001
	Pressure score "10"	0.85 (0.74-0.97)	< 0.0001	0.84 (0.72-0.96)	< 0.0001
	MAP			5.54 10 ⁻⁴ (-0.002-0.003)	0.67
	CI			-0.02 (-0.04-0.01)	0.17
	PPV			1.71 10 ⁻³ (-0.01-0.01)	0.62

Values in parentheses correspond to 95% confidence intervals of model estimates or odd ratio. DBs: De Backer score, PDBs: Perfused De Backer score, microPPV: Proportion of Perfused Vessels, MFI: Microvascular Flow Index, HI: Heterogeneity Index, MAP: mean arterial pressure, CI: cardiac index, PPV: pulse pressure variation, OR: odd ratio.

Massey et al. (Massey et al., 2013) developed a scoring system to assess the quality of microcirculation video clips. This score includes 6 parameters that can be graded: illumination, duration, focus, content, stability and pressure artifacts. The current study focused on the "pressure artifact" described in the quality score. Pressure artifacts are regarded as either absent, acceptable or unacceptable. This pressure artifact grading scale, which was hereby considered, is recommended by a task force consensus on the assessment of sublingual microcirculation in critically ill patients (Ince et al., 2018). Within the quality score, the "pressure artifact" was associated a good repeatability, with a Cohen's Kappa of 0.82 (Massey et al., 2013). In our study, a similar agreement between the two observers was found ($\kappa = 0.71$). However, in the study performed by Sallisalmi et al. (Sallisalmi et al., 2012), the definitions were less formalized and the repeatability of the pressure artifacts was significantly lower ($\kappa = 0.50$).

As previously mentioned, pressure artifacts are, with lack of stability, the main reasons for obtaining poor quality videos (Sallisalmi et al., 2012; Damiani et al., 2017). The consensus on the analysis of

sublingual microcirculation videos defined pressure artifacts as "the main technical challenge in performing HVM measurement" (Ince et al., 2018). In the study by Sallisalmi et al., pressure artifacts were present in 36% of patients (26% of ventilated patients and 56% of non-ventilated patients). Regarding the learning curve of the operators performing the videos, the proportion of pressure artifacts remained elevated at the end of the training (28%) (Sallisalmi et al., 2012). In the present study, 67% of the videos had no pressure artifacts, 20% presented acceptable artifacts and 13% unacceptable artifacts. These results are close to those observed in critical patients in the study by Damiani et al. (Damiani et al., 2017).

The occurrence of pressure artifacts can be explained by technical difficulties. The videomicroscope is held manually by the operator who places it in contact with the sublingual mucosa, but without any control of the pressure exerted. As a weak force, equivalent to 1/6th of the weight of the microscope, is sufficient to generate compression of the microvessels, being unaware of the pressure exerted represents a limitation of the technology (Balestra et al., 2010). Thus, an appropriate

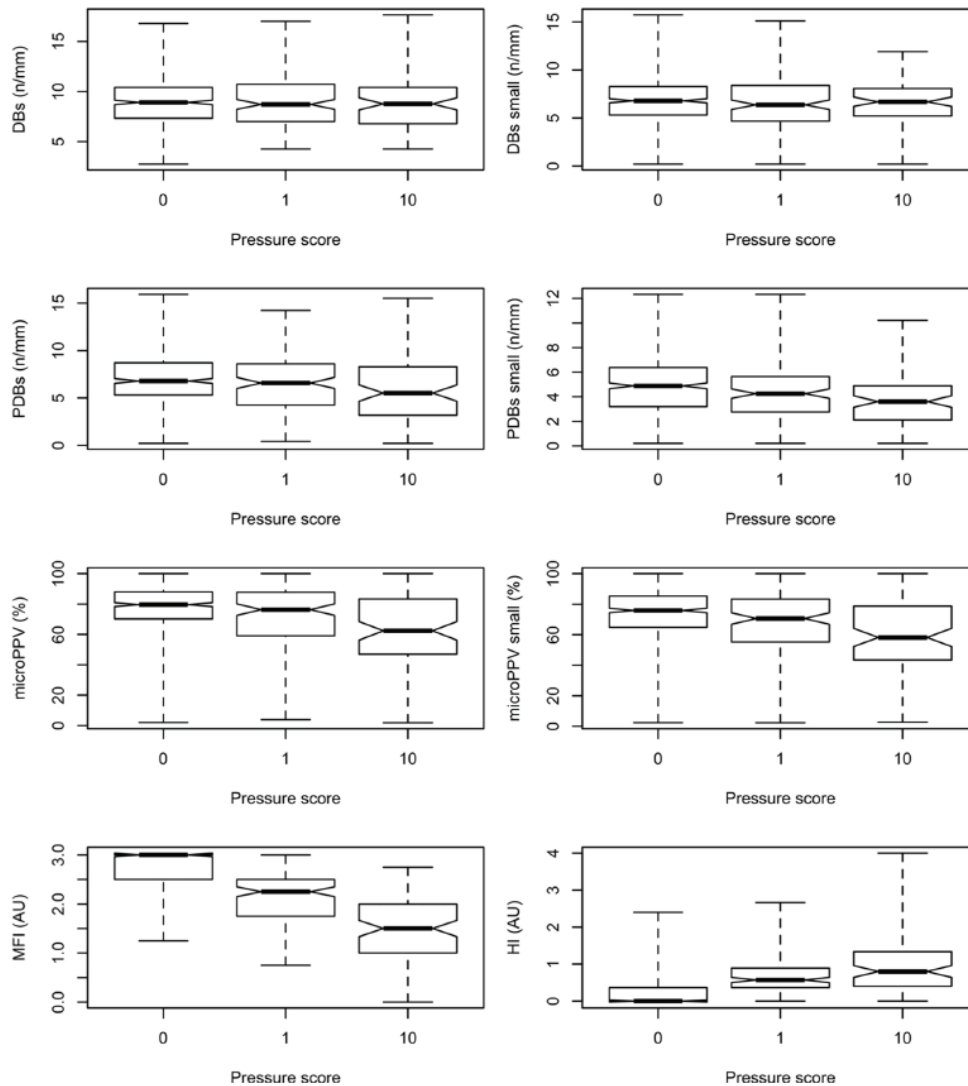


Fig. 3. Microcirculatory parameters.

DBs: De Backer score, PDBs: Perfused De Backer score, microPPV: Proportion of Perfused Vessels, MFI: Microvascular Flow Index, HI: Heterogeneity Index, n: number of crossing vessels, AU: Arbitrary Unit.

training and experience are of major importance and can certainly help to reduce these artifacts. It is therefore why the expert consensus recommends the implementation of an adequate training (Ince et al., 2018).

Other factors, such as the patient physical condition and the hemodynamic status, may also promote pressure artifacts. In the current study, the hemodynamic characteristics, in particular MAP, were associated with the occurrence of pressure artifacts. Hence, these results tend to show that the more hypotensive the patient, the more difficult it is to avoid pressure artifacts. It is probably partly for this reason that the proportion of poor-quality videos is greater in studies performed on critical patients (Sallisalmi et al., 2012; Damiani et al., 2017) than on other patients (Bemelmans et al., 2009). Other patient-related parameters have been identified. In the study of Damiani et al. (Damiani et al., 2017), the cooperation of the patients was an important parameter for the acquisition of good videos: sedated patients, patients

receiving mechanical ventilation or patients with a diminished state of consciousness were those for whom better videos were obtained. In other patients, even small movements of the tongue can cause artifacts. This issue was not encountered in our study, as the animals were anesthetized.

Thus, the operators need to be particularly cautious when obtaining videos from hypotensive patients, as pressure artifacts may occur. This relationship between blood pressure and pressure artifacts seems logical: if the pressure inside a vessel is high, it offers more resistance to external compressive forces. Similarly, an association between hypovolemia and the presence of pressure artifacts could probably be found. However, compensatory mechanisms such as increasing vascular resistance may limit the compressibility of the vessels. Our study could not demonstrate an association between pulse pressure variation and the presence of pressure artifacts. Pulse pressure variation is sometimes considered as a surrogate of volemic status, however, it is in reality an

indicator of the position on the Frank-Starling curve and fluid responsiveness. Thus, although dependent on the blood volume, PPV is not strictly proportional to it, which can explain the absence of association between those parameters in our experimental setting. Furthermore, the pigs were not in severe hypovolemia during the experiment.

Performing an analysis on poor-quality videos can be a source of bias and incorrect conclusions. In the present study, all the microcirculatory parameters except the density ones (DBs, DBS small), were influenced by the pressure score. Interestingly, the density parameters were not affected by the pressure score, conversely to the perfusion and flow parameters. A possible explanation could be the pressure exerted by the microscope: it can limit the perfusion of the vessels by compressing them and thus slows down the flow, while increasing its heterogeneity since the compression is not homogeneously distributed. These results confirmed data from the literature: in the study by Damiani et al., poor-quality videos were associated with lower percentage of perfused vessels and a lower microvascular flow index (Damiani et al., 2017). However, the videos analyzed in the aforementioned study would have been considered as not acceptable according to the score of Massey et al. In addition, in the same study, the poor-quality score (measured by the MIQS) was associated with a reduction in the density parameters. This reduction was not observed in our study, but could be the consequences of other causes, such as illumination or focus artifacts that could limit the detection of vessels. As hypothesized, our study confirms that the presence of pressure artifacts, even if considered acceptable, can be a source of bias during the analysis. These results are interesting from a practical aspect, since only acceptable videos were considered, according to the score of Massey et al. (Massey et al., 2013). As these videos are usually retained for analysis, this highlights the possible occurrence of bias when assessing patients' microcirculation. These observations also emphasize the difficulty of distinguishing pressure artifacts and low MFI when analyzing videos. This confirms the importance of scoring the quality of videos before analyzing them. Moreover, it seems advisable to record the possible presence of artifacts if they are suspected during the acquisition of videos, because it can be difficult to discriminate a low MFI from pressure artifacts afterwards.

We acknowledge some limitations for the present study. It was carried out in an experimental setting on pigs. Even if pigs and humans have physiological similarities, in particular regarding their cardiovascular system (Swindle et al., 2012), these results must be confirmed in human patients.

An important limitation was related to the handling of the video-microscope, which was not fixed to a support and without any pressure sensor. The pressure exerted by the investigator was therefore unknown and certainly different for each video. If the microscope was fixed to a support, this would have limited the impact of the manipulator and potentially allowed to better assess the impact of blood pressure on the pressure artifacts. Nevertheless, our registration conditions were similar to those performed in practice and followed the recommendations of Trzeciak et al. (Trzeciak et al., 2007).

Hypotension was secondary to an overdose of sevoflurane and therefore was mainly due to vasoplegia (De Hert and Moerman, 2015). Other causes of hypotension, such as hypovolemia, have not been investigated here, whereas it could have provided further insights in the influence of different hemodynamic determinants on SDF videomicroscopy.

Finally, the camera used in this study was a SDF microscope of second generation, whereas the pressure artifacts seem less frequent with the devices of latest generation (van Elteren et al., 2015; Gilbert-Kawai et al., 2016). The latest generation of HVM, using the incident dark field imaging technology (IDF), has been developed to reduce certain limitations of SDF imaging. These devices are much lighter, allow better tissue illumination and focus, with an enhanced resolution. One study compared the videos obtained with both technologies (IDF

and SDF): the latest generation was associated with better quality scores. In this study, no pressure artifact was observed with the IDF, which is most likely related to the light weight of the microscope (320 g for SDF, 120 g for IDF) (Gilbert-Kawai et al., 2016). However, the use of these devices does not prevent the creation of artifacts if the conditions of use are not correctly met. Stabilization devices have been described and may reduce pressure artifact if used cautiously (Balestra et al., 2010), but, to our knowledge, they are not commercially available.

In conclusion, this experimental pilot study performed on a piglet model, highlights the higher probability of obtaining pressure artifacts during recordings of microcirculation SDF videos when the mean arterial pressure was low. These results demonstrate the relationship between hemodynamic status and quality of the videos. Even videos with acceptable pressure artifacts may be associated with decreased PDBs small, microPPV (small and all), MFI and an increased HI. As a consequence, special attention should be paid to avoid pressure artifacts during acquisition of microcirculation videos, especially in hypotensive patients. Microcirculatory parameters arising from videos with moderate pressure artifacts should be interpreted with caution. These results need to be confirmed in human patients.

Author contributions

Mathieu Magnin: Conceptualization, Methodology, Formal Analysis, Investigation, Writing - Original Draft

Elisa Foulon: Investigation, Writing - Original Draft

Thibaut Lurier: Methodology, Formal Analysis, Writing - Original Draft

Bernard Allaouchiche: Conceptualization, Methodology, Formal Analysis, Writing - Original Draft, Supervision

Jeanne Marie Bonnet Garin: Conceptualization, Methodology, Formal Analysis, Writing - Original Draft, Supervision

Stephane Junot: Conceptualization, Methodology, Formal Analysis, Investigation, Writing - Original Draft, Supervision, Project administration

Source of support

This work was supported by VetAgro Sup - Campus Vétérinaire de Lyon, Université de Lyon, France.

Declaration of competing interest

The authors declare that there are no conflicts of interest related to this article.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2020.104025>.

References

- Balestra, G.M., Bezemer, R., Boerma, E.C., Yong, Z.-Y., Sjaauw, K.D., Engstrom, A.E., et al., 2010. Improvement of sidestream dark field imaging with an image acquisition stabilizer. *BMC Med. Imaging* 10, 15. <https://doi.org/10.1186/1471-2342-10-15>.
- Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw.* 2015;67(1):1–48. [10.18637/jss.v067.i01](https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01).
- Bemelmans, R.H.H., Boerma, E.C., Barendregt, J., Ince, C., Rommes, J.H., Spronk, P.E., 2009. Changes in the volume status of haemodialysis patients are reflected in sublingual microvascular perfusion. *Nephrol. Dial. Transplant.* 24 (11), 3487–3492. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp267>.
- Burnham, K.P., Anderson, D.R., 2002. *Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach* [homepage on the Internet], 2nd ed. Springer-Verlag, New York. <https://doi.org/10.1007/b97636>. [cited 2020 Jan 21].
- Damiani, E., Ince, C., Scorcello, C., Domizi, R., Carsetti, A., Mininno, N., et al., 2017. Impact of microcirculatory video quality on the evaluation of sublingual microcirculation in critically ill patients. *J. Clin. Monit. Comput.* 31 (5), 981–988. <https://doi.org/10.1007/s10877-016-9924-7>.

- De Backer, D., Creteur, J., Preiser, J.-C., Dubois, M.-J., Vincent, J.-L., 2002. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 166 (1), 98–104. <https://doi.org/10.1164/rccm.200109-0160C>.
- De Hert, S., Moerman, A. Sevoflurane. *F1000Research*. 2015;4(F1000 Faculty Rev):626. 10.12688/f1000research.6288.1.
- Donati, A., Tibboel, D., Ince, C., 2013. Towards integrative physiological monitoring of the critically ill: from cardiovascular to microcirculatory and cellular function monitoring at the bedside. *Crit. Care* 17 (Suppl. 1), S5. <https://doi.org/10.1186/cc11503>.
- Gilbert-Kawai, E., Coppel, J., Bountziouka, V., Ince, C., Martin, D., 2016. A comparison of the quality of image acquisition between the incident dark field and sidestream dark field video-microscopes. *BMC Med. Imaging* 16. <https://doi.org/10.1186/s12880-015-0078-8>.
- Goedhart, P.T., Khalilzada, M., Bezemer, R., Merza, J., Ince, C., 2007. Sidestream Dark Field (SDF) imaging: a novel stroboscopic LED ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation. *Opt. Express* 15 (23), 15101–15114. <https://doi.org/10.1364/OE.15.015101>.
- González, R., López, J., Urbano, J., Solana, M.J., Fernández, S.N., Santiago, M.J., et al., 2017. Evaluation of sublingual microcirculation in a paediatric intensive care unit: prospective observational study about its feasibility and utility. *BMC Pediatr.* 17. <https://doi.org/10.1186/s12887-017-0837-5>.
- Granger, H.J., Schelling, M.E., Lewis, R.E., Zawieja, D.C., Meininger, C.J., 1988. Physiology and pathobiology of the microcirculation. *Am. J. Otolaryngol.* 9 (6), 264–277. [https://doi.org/10.1016/S0196-0709\(88\)80035-8](https://doi.org/10.1016/S0196-0709(88)80035-8).
- Ince, C., Boerma, E.C., Cecconi, M., De Backer, D., Shapiro, N.I., Duranteau, J., et al., 2018. 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.* 44 (3), 281–299. <https://doi.org/10.1007/s00134-018-5070-7>.
- Jr FEH. rms regression modeling strategies [homepage on the Internet]. 2019 [cited 2020 Jan 21].
- Kara, A., Akin, S., Ince, C., 2016. Monitoring microcirculation in critical illness. *Curr. Opin. Crit. Care* 22 (5), 444. <https://doi.org/10.1097/MCC.0000000000000335>.
- Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB. lmerTest package: tests in linear mixed effects models. *J Stat Softw.* 2017;82(1):1–26. 10.18637/jss.v082.i13.
- Lenth R, Singmann H, Love J, Buerkner P, Herve M. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-squares Means [homepage on the Internet]. 2019 [cited 2020 Jan 21].
- Daniel Lüdtke. sjPlot - data visualization for statistics in social science. [homepage on the Internet]. Zenodo; 2018 [cited 2020 Jan 21]. <https://doi.org/10.5281/zenodo.2400856>.
- Massey, M.J., Shapiro, N.I., 2016. A guide to human in vivo microcirculatory flow image analysis. *Crit. Care* 20 (1), 35. <https://doi.org/10.1186/s13054-016-1213-9>.
- Massey, M.J., LaRochelle, E., Najarro, G., Karmacharla, A., Arnold, R., Trzeciak, S., et al., 2013. The microcirculation image quality score: development and preliminary evaluation of a proposed approach to grading quality of image acquisition for bedside videomicroscopy. *J. Crit. Care* 28 (6), 913–917. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2013.06.015>.
- Ocak, I., Kara, A., Ince, C., 2016. Monitoring microcirculation. *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* 30 (4), 407–418. <https://doi.org/10.1016/j.bpa.2016.10.008>.
- Sallisalmi, M., Oksala, N., Pettilä, V., Tenhunen, J., 2012. Evaluation of sublingual microcirculatory blood flow in the critically ill. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 56 (3), 298–306. <https://doi.org/10.1111/j.1399-6576.2011.02569.x>.
- Swindle, M.M., Makin, A., Herron, A.J., Clubb, F.J., Frazier, K.S., 2012. Swine as models in biomedical research and toxicology testing. *Vet. Pathol.* 49 (2), 344–356. <https://doi.org/10.1177/0300985811402846>.
- Trzeciak S, Dellinger RP, Parrillo JE, Guglielmi M, Bajaj J, Abate NL, et al. Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: Relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival. *Ann Emerg Med.* 2007;49(1):88–98.e2. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2006.08.021>.
- van Elteren, H.A., Ince, C., Tibboel, D., Reiss, I.K.M., de Jonge, R.C.J., 2015. Cutaneous microcirculation in preterm neonates: comparison between sidestream dark field (SDF) and incident dark field (IDF) imaging. *J. Clin. Monit. Comput.* 29 (5), 543–548. <https://doi.org/10.1007/s10877-015-9708-5>.
- Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis [homepage on the Internet]. New York: Springer-Verlag; 2009 [cited 2020 Jan 21]. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-98141-3>. (Use R!).

Annexe 5

Evaluation of pimobendan effect on sublingual microcirculation in an experimental pharmacology induced hypotension porcine model – a preliminary study

Mathieu Magnin^{a,b*}, Jeanne Marie Bonnet-Garin^{a,b}, Chiara Laurenza^c, Caroline Didier^c, Morgane Gavet^c, Alexandra Nectoux^{a,d}, Bernard Allaouchiche^{a,c}, Stéphane Junot^{a,c}

^a Université de Lyon, UR APCSe Agressions Pulmonaires et Circulatoires dans le Sepsis, VetAgro Sup, 1 avenue Bourgelat F-69280 Marcy l'Etoile, France

^b Université de Lyon, Vetagro Sup, Unité de Physiologie, Pharmacodynamie et Thérapeutique, 1 avenue Bourgelat F-69280 Marcy l'Etoile, France

^c Université de Lyon, VetAgro Sup, Anesthésiologie, 1 avenue Bourgelat F-69280 Marcy l'Etoile, France

^d Université de Lyon, VetAgro Sup, Soins Intensifs Anesthésie et Médecine d'Urgence (SIAMU), 1 avenue Bourgelat F-69280 Marcy l'Etoile, France

^e Université de Lyon, Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon Sud, Réanimation Médicale, 165 Chemin du Grand Revoyet F-69310 Pierre-Bénite, France

*corresponding author: mathieu.magnin@vetagro-sup.fr

1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy L'Etoile, France

Conflict of interest statement: The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Source of support:

This work was supported by VetAgro Sup - Veterinary Campus of Lyon, University of Lyon, France. Boehringer Ingelheim Animal Health France (Lyon, France) provided the drug necessary to the study.

Abstract

Objective: This study proposes to investigate the microcirculatory and macrocirculatory effects of pimobendane, a calcium sensitizer and a selective inhibitor of phosphodiesterase 3, in an experimental porcine model of pharmacologically induced hypotension. The aim was to obtain preliminary values of hemodynamic and microcirculatory parameters after administration of pimobendane during vasoplegia and decreased cardiac output.

Methods: 8 piglets were anesthetized. Hypotension was induced by sevoflurane overdose that was stopped when mean arterial pressure reached 40 mmHg. Then, pimobendan (0.25 mg/kg) was administered intravenously. Sublingual microcirculation was evaluated using a Sidestream Dark Field imaging device. Hemodynamic and microcirculatory parameters were recorded at the baseline period, at the end of the hypotension period and immediately after pimobendan administration.

Results: Induction of hypotension was associated with a decreased cardiac index and microcirculation alterations. Pimobendan administration was associated with an increase in heart rate, cardiac index and stroke volume index ($P = 0.03$, $P = 0.02$ and $P = 0.02$ respectively). A significant decrease in systemic vascular resistance index ($P = 0.01$) was also observed. There was significant increase in proportion of perfused vessels for all vessels ($P = 0.01$) and small vessels ($P = 0.03$), in microvascular flow index ($P = 0.03$). Heterogeneity index was decreased ($P = 0.04$). De Backer score for all vessels was significantly reduced ($P = 0.02$). The evolution of these microcirculatory parameters was associated with the evolution of cardiac index after pimobendan administration.

Conclusion: In a model of pharmacologically induced hypotension, pimobendan administration was associated with an improvement in several parameters of the sublingual microcirculation, most probably related to an increase in cardiac output.

Keywords:

- Sublingual microcirculation
- Pimobendan
- Phosphodiesterase inhibitor
- Calcium sensitizer
- Inodilators

1. Introduction

In patients with circulatory failure, organ perfusion is often altered as a result of a low cardiac output and / or arterial pressure, which has led to consider systemic hemodynamic parameters as targets for patient resuscitation [1]. However, tissue perfusion can remain altered despite the restoration of within-target cardiac output and arterial blood pressure [2,3]. This paradox, known as hemodynamic incoherence, is probably due to the occurrence of microcirculation alterations in the time-course of circulatory shock [4,5]. Hence, impairment in microvascular perfusion has been reported in several critical conditions [6]. Based on this fact, it has been proposed to guide resuscitation by targeting microcirculatory parameters in addition to the traditional systemic hemodynamic ones [7,8]. If fluid therapy and norepinephrine administration remain the first line treatment to restore perfusion pressure, the occurrence of myocardial dysfunction in certain conditions, such as sepsis, requires some inotropic support in addition. Sepsis-induced cardiomyopathy (SIC) is a reversible myocardial dysfunction associated with poor outcome and increased mortality [9,10]. Many questions persist regarding the appropriate treatment. Indeed, the use of dobutamine allows the correction of heart dysfunction but does not reduce mortality [11]. Levosimendan possessed interesting pharmacological properties but was ultimately found to be disappointing in septic shock [12]. Research for an effective treatment is therefore still relevant.

Pimobendan is a drug licensed for veterinary use indicated for the treatment of heart failure in dogs. Its use has also been described in human in Japan [13,14]. It is a selective inhibitor of phosphodiesterase type 3 (PDE3) with calcium-sensitizing effect, with both positive inotropism and vasodilatory action [15]. In comparison with vasopressors that are traditionally used to increase peripheral resistance but may be associated with an alteration of microcirculation [16], pimobendan could represent an interesting option for providing an inotropic support during critical conditions. Its concomitant vasodilatory effect could help to preserve microcirculation and thus improve the outcome of patients suffering from shock and particularly septic shock[17].

To our knowledge, the microcirculatory effects of pimobendan have not been studied. Consequently, the objectives of this preliminary study were to explore the microcirculatory and macrocirculatory effects of pimobendan in a simple experimental porcine model associating vasoplegia and decreased inotropism induced pharmacologically. If relevant, these preliminary results could serve as a basis to evaluate this molecule in the treatment of more complex conditions such as septic shock. Our hypothesis was that this drug could allow, according to its inodilator properties, an improvement of the microcirculation while preserving the macrocirculation.

2. Materials and methods

- *Ethical statement*

This study was part of another study that aimed to validate a new medical device dedicated to hemodynamic assessment (this study was conducted in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and approved by the Ethics Committee of the institution – VetAgroSup campus vétérinaire - Ethical agreement: authorization number 1819).

- *Animals*

For the purpose of the study, 8 female piglets (30 – 60 kg) were anesthetized and equipped for hemodynamic monitoring. Before the experiment, they were housed for a 7 days acclimatization period in an individual box. They were fed with standard food, with *ad libitum* access to water. Eight hours before the beginning of the experimental phase, solid food was withdrawn while free access to water was allowed.

- *Anesthesia and equipment*

The anesthetic protocol consisted in a premedication with a 1:1 mixture of tiletamine-zolazepam (ZOLETIL100, 100 mg/mL, Virbac, Carros, France) 3.0 mg/kg IM associated with morphine (MORPHINE AGUETTANT, 10 mg/mL, Laboratoire Aguettant, Lyon, France) 0.2 mg/kg IM, followed by an induction with propofol (PROPOVET 10 mg/mL, Zoetis, Malakoff, France) 4.0 mg/kg IV, and a maintenance with sevoflurane (SEVOFLO, Zoetis, Malakoff, France) in 30% oxygen. Once anesthetized, the external right jugular vein was dissected for placement of a central venous catheter (Multicath 3 - 7.5Fr, Vygon, Ecoen, France). A pulmonary arterial catheter (Edwards Life science® catheter, Irvine, USA) was inserted in the right jugular vein for cardiac output (CO) measurements. The suitable location of the catheter tip was determined by the characteristic of the pressure curve. An indwelling urinary catheter was also inserted into the urethra for the purpose of the original study.

- *Original study*

The original study was an observational study performed to validate a photoplethysmographic device placed in the urethra. This study had no impact on the course of the protocol presented below.

- *Study design*

After instrumentation and stabilization of the animal, an initial fluid bolus (Ringer Lactate, 10 mL.kg⁻¹ over 20 minutes) was administered to warrant the absence of preload dependence. Then, a systemic hypotension was induced by sevoflurane overdose, with a (targeted mean arterial pressure (MAP) between 40 and 45 mmHg. Hypotension was maintained approximately over 45 minutes. Following the hypotension period, a bolus of pimobendan (0.25 mg/kg) was administered intravenously over 10 minutes. The drug was administered pure, with a volume of 0.33 mL/kg. Hemodynamic and microcirculatory parameters were recorded at the baseline period (A, after the fluid bolus), at the end of the hypotension period (B, immediately before pimobendan infusion) and immediately after pimobendan administration (C).

- *Hemodynamics monitoring*

The following cardiovascular parameters were registered before and after administration of pimobendan: heart rate (HR), mean arterial pressure (MAP) and CO (L/min) by thermodilution. Cardiac index (CI, L/min/m²), stroke volume index (SVI, mL) and systemic vascular resistance index (SVRI, HRU/m² (hybrid resistance unit)) were calculated based on conventional equations ($CI = CO/BSA$ (body surface area, $BSA(m^2) = 0.0734 \times \text{body weight (kg)}$), $SVI = CI/HR$, $SVRI = MAP/CI$).

- *Microcirculation imaging*

Sublingual microcirculation was evaluated using a Sidestream Dark Field (SDF) imaging device (Microscan, Microvision medical, Amsterdam, The Netherlands). For each time period, five videos were recorded at multiple sites at the floor of the mouth, near the lingual frenulum, with a standardized duration of 120 frames were recorded, as recommended in the second consensus concerning the analysis of sublingual microcirculation [18]. The videomicroscope was connected to a computer using AVA software (Version 4.3C, Microvision medical, Amsterdam, The Netherlands).

Every video clip was recorded by the same trained investigator (MM). All the videos were recorded at the sublingual area. Briefly, before the introduction of the probe in the oral cavity, the tongue was slightly raised, allowing the visualization of the lingual frenulum; the probe was then placed gently in contact with the mucosa of the floor of the mouth and close to the lingual frenulum, at an angle of about 60°. The recording procedures followed Trzeciak and colleagues recommendations [19].

- *Video clip analysis*

As recommended, only good quality videos were analyzed (microcirculation image quality score < 10). The microcirculation parameters studied were as follows:

- Proportion of Perfused Vessels (PPV, %) and the De Backer score (DBs, n/mm) were computed by the software. These parameters were calculated for all vessels (all) and for small vessels (small), characterized by a diameter below 20 µm.
- The Microcirculatory Flow Index (MFI) was determined by a blinded evaluator using quadrant-based MFI calculations. For this purpose, each video was divided in four quadrants. A score was assigned by the evaluator for each quadrant according to the predominant type of flow. The number assigned was a subjective semi-quantitative flow value: 0 for no flow, 1 for intermittent flow, 2 for sluggish flow, and 3 for continuous flow. The MFI score was the average of these four values.
- Heterogeneity index (HI) was obtained by calculating the difference between the highest quadrant MFI and the lowest quadrant MFI, divided by the MFI.
- The number of vessels crossing the 3x3 De Backer Grid (NC) were also noticed for small vessels (NC small, diameter < 20 µm) and for large vessels (NC large, diameter > 20 µm).

PPV and MFI are determinant of red blood cell velocity (flow or no flow for PPV and semi quantitative velocity for MFI) and are considered as parameters evaluating convective

capacity. DBs is determinant of the number of vessels and is considered as a parameter evaluating diffusive capacity.

- *Statistical analysis*

All the variables were presented in median (25% quartile – 75% quartile). In order to test the evolution of microcirculatory parameters, linear mixed models were computed for PPV, MFI, HI, DBs and NC. They included the time period (A or B, B or C) as fixed effect and individuals as random effects. The comparisons of the macrocirculatory variables (HR, MAP, CI, SVRI, SVI) were performed using Wilcoxon signed-rank test. To test the influence of hemodynamic parameters on the microcirculation evolution, a multivariate linear mixed model was built for all microcirculatory variables. The complete model included CI, MAP and SVRI as fixed effects and individuals as random effect. With the dredge function of the “MuMin” package, the corrected Akaike criterion (AICc) was calculated for all possible sub-models. For each of the microcirculatory variables studied, the model selected that better explain microcirculation evolution corresponded to the most parsimonious model among those presenting the lowest AICc ($\Delta AICc = 2$) [20].

Statistical analysis was performed using R 3.5.2 software (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). The packages “ggplot2”[21], “Lme4”[22], “LmerTest”[23], “MuMIn”[24], “dplyr”[25] and “gridExtra”[26] were used. A P-value of 0.05 was considered as level of significance.

3. Results

a. Macro and microcirculatory alterations associated with hypotension induction

Hypotension was associated with a significantly decreased in CI ($P = 0.04$). The evolution of HR, SVI and SVRI were non-significant (respectively $P = 0.21$, $P = 0.31$, $P = 0.74$). The evolutions of these parameters are presented in figure 1.

Hypotension was associated with a significant decrease in PPV (estimate = -12% [-18 ; -6], $P = 0.0003$), PPV small (estimate = -11% [-19 ; -4], $P = 0.003$), MFI (estimate = -0.57 AU [-0.85 ; -0.29], $P = 0.0002$), DBs (estimate = -1.30 n/mm [-2.01 ; -0.55], $P = 0.0001$) and an

significant increase in HI (estimate = +0.45 AU [0.12 ; 0.78], P = 0.009). The reduction of DBs small was not significant (estimate = -0.16 n/mm [-1.43 ; 1.08], P = 0.8). The evolutions of these parameters were presented in figure 2.

b. Evolution of macrocirculatory parameters before and after administration of pimobendan

Macrocirculatory parameters values are presented in table 1. After administration of pimobendan, HR, CI and SVI increased significantly (P = 0.03, P = 0.02 and P = 0.02 respectively). A significant decrease in SVRI (P = 0.01) was also observed. Graphically, MAP appeared stable. The comparison showed no significant difference (P = 0.14).

c. Evolution of microcirculatory parameters before and after administration of pimobendan

Microcirculatory parameters values are presented in table 2. There was an overall increase in variables of convective blood flow after administration of pimobendan (figure 2), in particular PPV all (P = 0.01, table 3), PPV small (P = 0.03, table 3) and MFI (P = 0.03, table 3). Parallely, HI appeared to be significantly decreased (P = 0.04, table 3).

Regarding the MFI, it remained stable (at 3/3) for 3 pigs, it decreased in two pigs and increased for 3 pigs (figure 2). According to the statistical model, the mean increase after administration of pimobendan was +0.31 [0.04; 0.58]. Likewise, the HI remained stable (at 0) in 3 pigs, increased in two pigs, decreased in 3 pigs. According to the statistical model, the mean reduction in HI after administration of pimobendan was -0.85 [-1.52 ; -0.12].

The variables of diffusive capacity appeared decreased (figure 2): DBs all was significantly reduced (P = 0.02, table 3) while the decrease of DBs small was not significant (P = 0.08, table 3). The NC small showed a non-significant decrease (P = 0.08) after administration of pimobendan (figure 3).

d. Association between microcirculation and macrocirculation during pimobendan administration

All the selected models for the microcirculatory variables studied only included CI as fixed effect (table 4). CI was significantly associated with PPV all, PPV small, MFI, HI and DBs all.

4. Discussion

This study aimed to evaluate the macro and microcirculatory effects of pimobendan in an experimental model of controlled hypotension. The main results are an increase of convective microcirculatory variables (PPV all, PPV small, MFI), a decrease of heterogeneity variable (HI) and a decrease in one diffusive variable (DBs) after pimobendan administration. Concomitantly, an increase in cardiac output with a decrease in systemic vascular resistance were observed. The improvement in microcirculatory parameters is probably related to the increase in cardiac output.

This study was a preliminary study. Its main objective is to explore the microcirculatory effects of pimobendan that have not been reported before. Based on its pharmacological action, pimobendan could represent an alternative to sympathomimetic drug that aim to restore arterial pressure in critical conditions. Indeed, an excessive vasoconstriction may permit to restore the macrocirculation but fail to maintain microcirculation and fail to prevent organ failure [16,17]. The present study was thus designed as a first step to evaluate the effect of the drug during controlled hypotension, before a potential trial in more complex conditions, such as septic shock. We chose to use a simple and reproducible model associating vasoplegia and decreased inotropism, two major hemodynamic alterations that can be observed during septic shock [27]. For this purpose, we used an overdose of sevoflurane to obtain a reversible decrease in blood pressure and induce microcirculatory disorders. Indeed, even if the microcirculation is relatively hemodynamically independent of the macrocirculation [28], it seems that marked hypotension can be at the origin of microcirculatory disorders. A study carried out on pigs showed that below a certain pressure threshold (between 60 and 80 mmHg), the sublingual microcirculation, evaluated by the MFI, decreased in a linear fashion [29]. Sevoflurane is known to cause hypotension when administered as an overdose by peripheral vasodilation and decreased inotropy, as in the current study [30,31]. However, this simplistic model does not pretend to imitate the pathophysiological complexity of septic shock, as other it is a complex pathophysiological process with immune and inflammatory responses associated.

The dose of pimobendan administered in the present study was chosen based on a previous study carried out on conscious pigs [32] and corresponds to the dose currently recommended in veterinary medicine in dogs [15].

On the macrocirculatory aspect, the administration of pimobendan was associated with an increased cardiac output as presumed, with an increase in both heart rate and stroke volume. However, we observed at baseline an important interindividual variability concerning cardiac index. Particularly, two pigs exhibited a low cardiac index, whereas one pig presented conversely a high cardiac index. There was no experimental condition known by the authors that could explain this variability. This is unlikely to be related to the measurement of cardiac output itself, as three measurements of this parameter were performed at each time of interest. Such interindividual variability has already been described in the literature [33,34]. However, it was markedly reduced after induction of hypotension, before administration of pimobendan. Systemic vascular resistances were decreased but the mean arterial pressure remained within acceptable values, probably due to the compensatory increase in cardiac output. Indeed, a worsening of hypotension could have been anticipated due to the vasodilatory effect of pimobendan, but it was not observed in this experimental setting. Other studies on pigs have described similar patterns [32,35], and the inotropic effect is well characterized in dogs [36]. Prospectively, these effects could be of interest in the treatment of SIC. Indeed, conversely to dobutamine, the positive inotropic effects of pimobendan is not associated with an increase in the oxygen consumption of the myocardium [37]. It has also anti-inflammatory properties, which could also play a positive role during sepsis [37,38]. Levosimendan, another calcium sensitizer with vasodilatory properties, has shown promising results for the management of cardiac dysfunction during sepsis [38]. However, these effects on microcirculation during sepsis remains to be confirmed: in one study, levosimendan was associated with improved microcirculation [39]. However, no positive outcome on organ failure was reported in another study; moreover, hypotension and hemodynamic instability were reported [12]. In our experimental setting, we did not observe any hemodynamic instability.

Parallely to the macrocirculatory effects, an increase in convective microcirculatory variables was observed after the administration of pimobendan. These results are in agreement with those reported with levosimendan. In a study performed on human patients with septic shock [39], microcirculation was evaluated with an SDF imaging device. The administration of levosimendan as an infusion over 24 hours at the dose of 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ was associated with an increase of convective microcirculatory variables (MFI and perfused vessel density that reflect also diffusive capacity) and a decreased heterogeneity of the flow [39]. Similarly, an

improvement in the perfusion of the gastric mucosa was observed experimentally in dogs after administration of levosimendan [40]. The increase in cardiac output is probably the predominant mechanisms that improved microcirculation in the current study, as it allows the maintenance of a perfusion pressure in small vessels. The associated vasodilatory effect may have also contributed to the observed improvement of the microcirculation by maintaining the driving pressure of blood flow within the capillaries [39]. An increase in circulatory volume associated with drug administration is unlikely the cause of the microcirculation effects, as the volume of the drug administered is very small (0.33 mL/kg).

The decrease in diffusive parameters observed in our study was unexpected, based on the vasodilatory effect of pimobendan. However, a reduction of total vessel density (a surrogate parameter for the DBs) was also described following an infusion of levosimendan in a patient after implantation of a left ventricular assist device [41]. The authors reported a substantial reduction in small vessels and assumed that the small vessels were vasodilated due to levosimendan and were thus no longer counted as small vessels. The authors suggested that this observation could lead to a misinterpretation, as there was most likely no microcirculatory dysfunction. Indeed, this patient did not present any signs of alteration of the tissue perfusion (absence of clinical signs of hypoperfusion and low lactatemia). This assumption can probably be extrapolated to pimobendan and explain the reduced DBs observed in our study since these two drugs share similar vasodilating properties. Graphically, we observed a reduction in the number of small vessels, while the number of larger diameter vessels seemed slightly increased, but the differences were not statistically significant. Nevertheless, considering these observations, it seems that the reduction in DBs all and DBs small is very likely consecutive to the reduction in the number of small vessels only. However, this reduction was not observed in septic human patients, whose DBs were not different before and after the administration of levosimendan [39]. Thus, further studies are needed to explore and confirm this hypothesis. If these observations were confirmed on a larger scale, this would suggest that diffusive indicators such as DBs or TVD would need to be interpreted with caution during the evaluation of the microcirculatory effects of inodilatory or vasodilatory molecules.

This preliminary study showed encouraging results for pimobendan as a supportive treatment of both systemic hemodynamic and microcirculation during circulatory failure. Nonetheless we must remain cautious since contradictory results have been reported with levosimendan [42]. In addition, the present study has several limitations. The number of pigs limited the statistical power of the current study. However, as it was a preliminary study, few individuals were used for ethical reasons. Another limitation is associated with the performance

of measurements, that were intermittent. A continuous measurement would have probably allowed a better comparison over time. However, it was technically difficult to maintain the videomicroscope in place throughout the experiment; the quality of the videos can vary over time, in particular because of the appearance of bubbles of saliva or because slight displacements of the tissues under the microscope may occur. As the sublingual microcirculation presents some heterogeneity, we analyzed several videos at different site for each time-point, as recommended in the consensus concerning the analysis of sublingual microcirculation videos [18]. Hence, this method is performed in clinical conditions and in most experimental reports. Finally, the most important limitation of this study is probably related to the experimental model chosen. As previously discussed, the vasoplegia and decrease in myocardial contractility are a simplistic way of obtaining microcirculatory hemodynamic alterations and does not mimic more complex pathophysiological processes encountered in more complex conditions, such as septic shock. However, it had the advantage of being reproducible and could be implemented in the original study. In this context we observe an improvement in microcirculation probably associated with an increase in cardiac output. In addition, other parameters aiming to quantify disorders of tissue perfusion, such as lactates, diuresis or SvO₂ were not recorded during the study but could have brought relevant information.

This was a preliminary experimental study, which does not aim to give clinical recommendations. We have chosen to use a simple model for exploratory purposes. Despite its limitations, this model made it possible to provide new information concerning a molecule which has not yet been studied very much: it allowed to observe that the administration of pimobendan was associated with an increase of several microcirculatory parameters, with increased cardiac output and was not associated with hypotension, as described after the administration of levosimendan in septic shock in humans [12]. These encouraging results must therefore be confirmed in a more complex model of septic shock. Another interesting observation is the reduction in microcirculatory density, probably artefactual and secondary to vasodilation. This phenomenon is not very well known but has already been observed in a patient with levosimendan [41].

In conclusion, this preliminary study described for the first-time the microcirculatory effects of the administration of pimobendan, a PDE3 inhibitor and calcium sensitizer. In a simple model of pharmacologically-induced hypotension with vasoplegia and decreased cardiac output, pimobendan induced an increase of convective microcirculatory variables and a

decrease of a density variable, probably artefactual and secondary to vasodilation. These results suggest a potential beneficial effect of pimobendane on sublingual microcirculation. In this model, the microcirculatory improvement was probably consecutive to an increase in cardiac output and to the vasodilatory property of pimobendan. These encouraging results must be confirmed in a more complex model, such as a septic shock model.

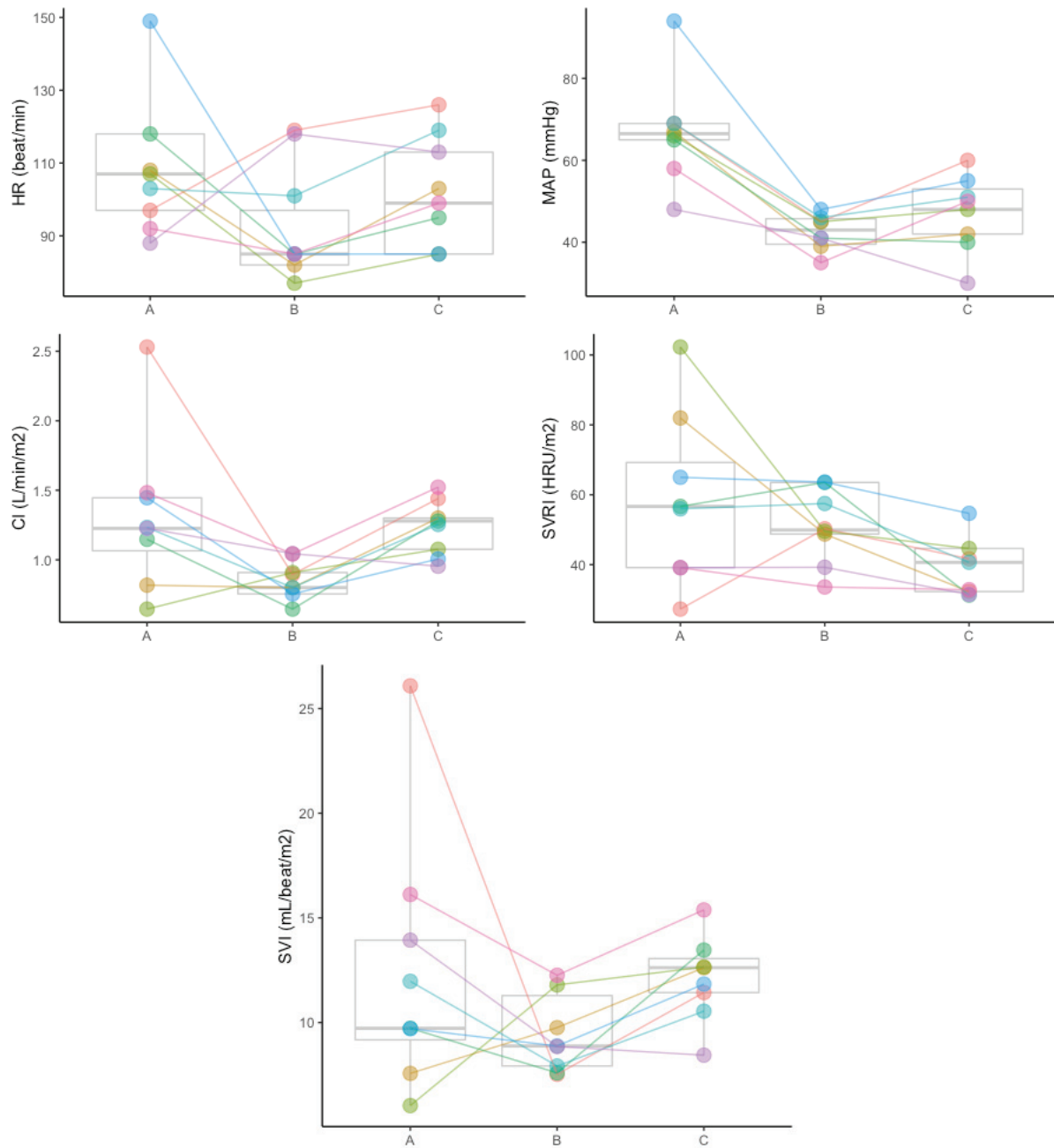
5. References

- [1] Cecconi M, De Backer D, Antonelli M, Beale R, Bakker J, Hofer C, et al. Consensus on circulatory shock and hemodynamic monitoring. Task force of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 2014;40(12):1795–815. 10.1007/s00134-014-3525-z.
- [2] Hernandez G, Bruhn A, Castro R, Rugeira T. The holistic view on perfusion monitoring in septic shock: *Curr Opin Crit Care.* 2012;18(3):280–6. 10.1097/MCC.0b013e3283532c08.
- [3] Lima A, Bakker J. Clinical monitoring of peripheral perfusion: there is more to learn. *Crit Care.* 2014;18(1):113. 10.1186/cc13738.
- [4] De Backer D, Creteur J, Preiser J-C, Dubois M-J, Vincent J-L. Microvascular Blood Flow Is Altered in Patients with Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166(1):98–104. 10.1164/rccm.200109-016OC.
- [5] Trzeciak S, McCoy JV, Dellinger RP, Arnold RC, Rizzuto M, Abate NL, et al. Early Increases in Microcirculatory Perfusion During Protocol-Directed Resuscitation are Associated with Reduced Multi-Organ Failure at 24 hours in Patients with Sepsis. *Intensive Care Med.* 2008;34(12):2210–7. 10.1007/s00134-008-1193-6.
- [6] De Backer D, Orbegozo Cortes D, Donadello K, Vincent J-L. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. *Virulence.* 2014;5(1):73–9. 10.4161/viru.26482.
- [7] Ince C. Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation. *Crit Care.* 2015;19(Suppl 3):S8. 10.1186/cc14726.
- [8] Kiyatkin ME, Bakker J. Lactate and microcirculation as suitable targets for hemodynamic optimization in resuscitation of circulatory shock. *Curr Opin Crit Care.* 2017;23(4):348–354. 10.1097/MCC.0000000000000423.
- [9] Kakihana Y, Ito T, Nakahara M, Yamaguchi K, Yasuda T. Sepsis-induced myocardial dysfunction: pathophysiology and management. *J Intensive Care.* 2016;4. 10.1186/s40560-016-0148-1.
- [10] Antonucci E, Fiaccadori E, Donadello K, Taccone FS, Franchi F, Scolletta S. Myocardial depression in sepsis: from pathogenesis to clinical manifestations and treatment. *J Crit Care.* 2014;29(4):500–11. 10.1016/j.jcrc.2014.03.028.
- [11] Sato R, Nasu M. A review of sepsis-induced cardiomyopathy. *J Intensive Care.* 2015;3. 10.1186/s40560-015-0112-5.
- [12] Gordon AC, Perkins GD, Singer M, McAuley DF, Orme RML, Santhakumaran S, et al. Levosimendan for the Prevention of Acute Organ Dysfunction in Sepsis. *N Engl J Med.* 2016;375(17):1638–48. 10.1056/NEJMoa1609409.
- [13] Yoshikawa T, Baba A, Suzuki M, Yokozuka H, Okada Y, Nagami K, et al. Effectiveness of carvedilol alone versus carvedilol + pimobendan for severe congestive heart failure. For the

- Keio Interhospital Cardiology Study (KICS) Group. *Am J Cardiol*. 2000;85(12):1495–7; A7. 10.1016/s0002-9149(00)00803-1.
- [14] Kawano H, Arakawa S, Satoh O, Matsumoto Y, Hayano M, Nakatomi D, et al. Effect of pimobendan in addition to standard therapy for heart failure on prevention of readmission in elderly patients with severe chronic heart failure. *Geriatr Gerontol Int*. 2014;14(1):109–14. 10.1111/ggi.12067.
- [15] Boyle KL, Leech E. A review of the pharmacology and clinical uses of pimobendan. *J Vet Emerg Crit Care*. 2012;22(4):398–408. 10.1111/j.1476-4431.2012.00768.x.
- [16] Miranda M, Balarini M, Caixeta D, Bouskela E. Microcirculatory dysfunction in sepsis: pathophysiology, clinical monitoring, and potential therapies. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 2016;311(1):H24–35. 10.1152/ajpheart.00034.2016.
- [17] Corrêa TD, Filho RR, Assunção MSC, Silva E, Lima A. Vasodilators in Septic Shock Resuscitation: A Clinical Perspective. *Shock*. 2017;47(3):269. 10.1097/SHK.0000000000000777.
- [18] Ince C, Boerma EC, Cecconi M, De Backer D, Shapiro NI, Duranteau J, et al. 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(3):281–99. 10.1007/s00134-018-5070-7.
- [19] Trzeciak S, Dellinger RP, Parrillo JE, Guglielmi M, Bajaj J, Abate NL, et al. Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival. *Ann Emerg Med*. 2007;49(1):88–98, 98.e1-2. 10.1016/j.annemergmed.2006.08.021.
- [20] Mazerolle M. Improving data analysis in herpetology: using Akaike’s Information Criterion (AIC) to assess the strength of biological hypotheses. *Amphib-Reptil*. 2006;27(2):169–80. 10.1163/156853806777239922.
- [21] Wickham H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis* [homepage on the Internet]. New York: Springer-Verlag; 2009 [cited 2020 Jan 21]. 10.1007/978-0-387-98141-3. (Use R!).
- [22] Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J Stat Softw*. 2015;67(1):1–48. 10.18637/jss.v067.i01.
- [23] Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB. lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *J Stat Softw*. 2017;82(1):1–26. 10.18637/jss.v082.i13.
- [24] Burnham KP, Anderson DR. *Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach* [homepage on the Internet]. 2nd ed. New York: Springer-Verlag; 2002 [cited 2020 Jan 21]. 10.1007/b97636.
- [25] Wickham H, François R, Henry L, Müller K, RStudio. *dplyr: A Grammar of Data Manipulation* [homepage on the Internet]. 2020 [cited 2020 Jul 4].
- [26] Auguie B, Antonov A. *gridExtra: Miscellaneous Functions for ‘Grid’ Graphics* [homepage on the Internet]. 2017 [cited 2020 Jul 4].
- [27] Russell JA, Rush B, Boyd J. Pathophysiology of Septic Shock. *Crit Care Clin*. 2018;34(1):43–61. 10.1016/j.ccc.2017.08.005.
- [28] de Backer D. Interactions macro- et microcirculatoires dans le choc. *Réanimation*. 2013;22(2):191–5. 10.1007/s13546-013-0663-1.
- [29] López A, Grignola JC, Angulo M, Alvez I, Nin N, Lacuesta G, et al. Effects of early hemodynamic resuscitation on left ventricular performance and microcirculatory function during endotoxic shock. *Intensive Care Med Exp*. 2015;3(1):14. 10.1186/s40635-015-0049-y.
- [30] De Hert S, Moerman A. Sevoflurane. *F1000Research*. 2015;4(F1000 Faculty Rev):626. 10.12688/f1000research.6288.1.

- [31] Otsuki DA, Fantoni DT, Holms C, Auler Jr JOC. Minimum alveolar concentrations and hemodynamic effects of two different preparations of sevoflurane in pigs. *Clinics*. 2010;65(5):531–7. 10.1590/S1807-59322010000500011.
- [32] Duncker DJ, Hartog JM, Levinsky L, Verdouw PD. Systemic haemodynamic actions of pimobendan (UD-CG 115 BS) and its O-demethylmetabolite UD-CG 212 Cl in the conscious pig. *Br J Pharmacol*. 1987;91(3):609–15.
- [33] Marx G, Sümpelmann R, Schuerholz T, Thorns E, Heine J, Vangerow B, et al. Cardiac Output Measurement by Arterial Thermodilution in Piglets. *Anesth Analg*. 2000;90(1):57–58. 10.1097/00000539-200001000-00013.
- [34] Bajorat J, Hofmockel R, Vagts DA, Janda M, Pohl B, Beck C, et al. Comparison of invasive and less-invasive techniques of cardiac output measurement under different haemodynamic conditions in a pig model. *Eur J Anaesthesiol*. 2006;23(1):23–30. 10.1017/S0265021505001717.
- [35] Stubenitsky R, Duncker DJ. Cardiovascular effects of the novel Ca²⁺-sensitizer EMD 57033 in pigs at rest and during treadmill exercise. :14.
- [36] Hori Y, Taira H, Nakajima Y, Ishikawa Y, Yumoto Y, Maekawa Y, et al. Inotropic effects of a single intravenous recommended dose of pimobendan in healthy dogs. *J Vet Med Sci*. 2019;81(1):22–5. 10.1292/jvms.18-0185.
- [37] Boyle KL, Leech E. A review of the pharmacology and clinical uses of pimobendan. *J Vet Emerg Crit Care*. 2012;22(4):398–408. 10.1111/j.1476-4431.2012.00768.x.
- [38] Yang F, Zhao LN, Sun Y, Chen Z. Levosimendan as a new force in the treatment of sepsis-induced cardiomyopathy: mechanism and clinical application. *J Int Med Res*. 2019;47(5):1817–28. 10.1177/0300060519837103.
- [39] Morelli A, Donati A, Ertmer C, Rehberg S, Lange M, Orecchioni A, et al. Levosimendan for resuscitating the microcirculation in patients with septic shock: a randomized controlled study. *Crit Care*. 2010;14(6):R232. 10.1186/cc9387.
- [40] Schwarte LA, Picker O, Bornstein SR, Fournell A, Scheeren TWL. Levosimendan is superior to milrinone and dobutamine in selectively increasing microvascular gastric mucosal oxygenation in dogs. *Crit Care Med*. 2005;33(1):135–42; discussion 246-247. 10.1097/01.ccm.0000150653.89451.6f.
- [41] Hessler M, Arnemann P-H, Rehberg S, Ertmer C. Misinterpretation of the sublingual microcirculation during therapy with levosimendan. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2018;68(1):83–7. 10.3233/CH-170315.
- [42] Cholley B, Levy B, Fellahi J-L, Longrois D, Amour J, Ouattara A, et al. Levosimendan in the light of the results of the recent randomized controlled trials: an expert opinion paper. *Crit Care*. 2019;23(1):385. 10.1186/s13054-019-2674-4.

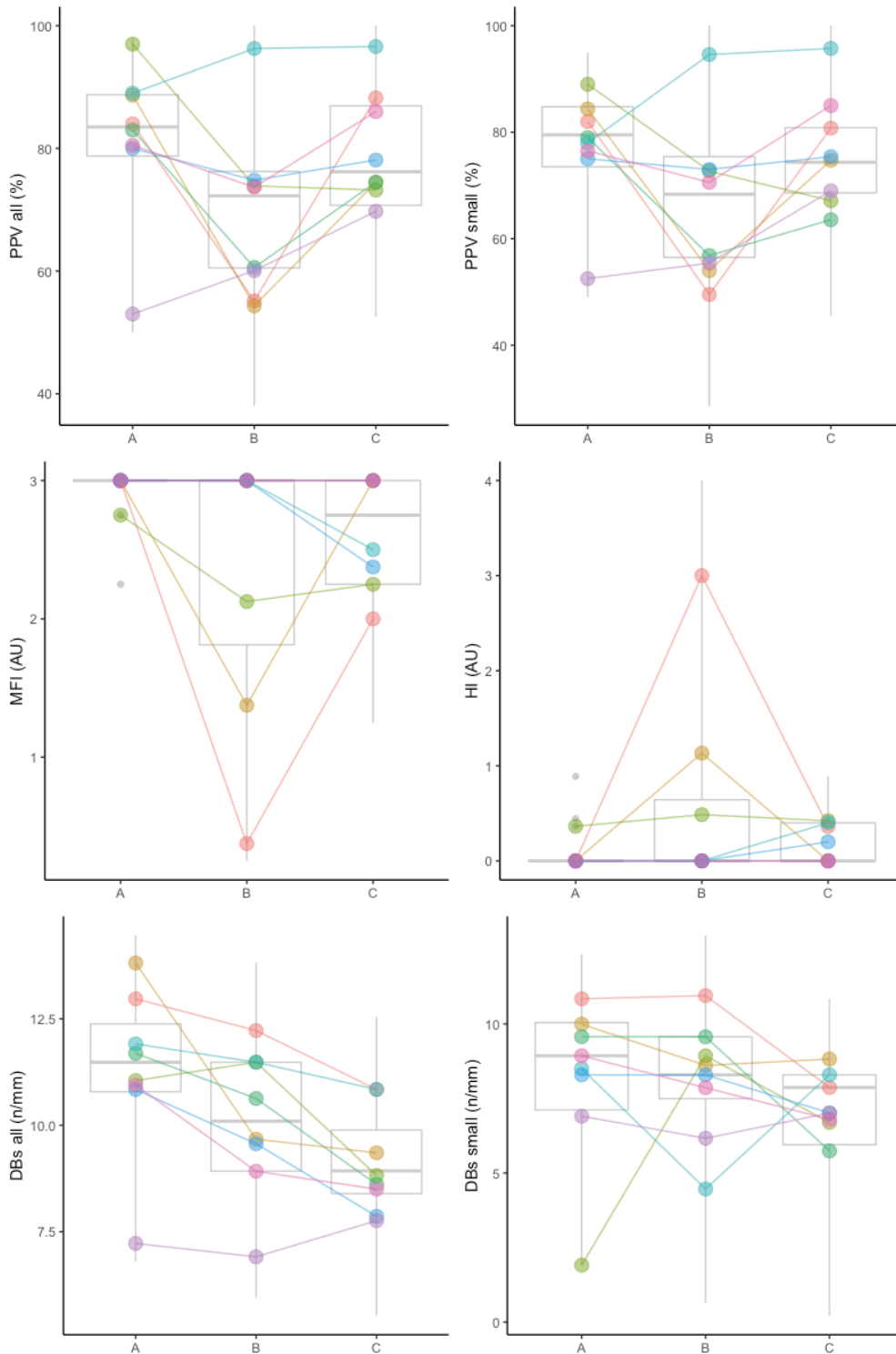
Figure 1. Evolution of macrocirculatory parameters



HR: heart rate, MAP: mean arterial pressure, CI: cardiac index, SVRI: systemic vascular resistance index, SVI: stroke volume index. A: baseline, B: before pimobendan administration, C: after pimobendan administration.

The colors distinguish the evolution of the parameters for each individual.

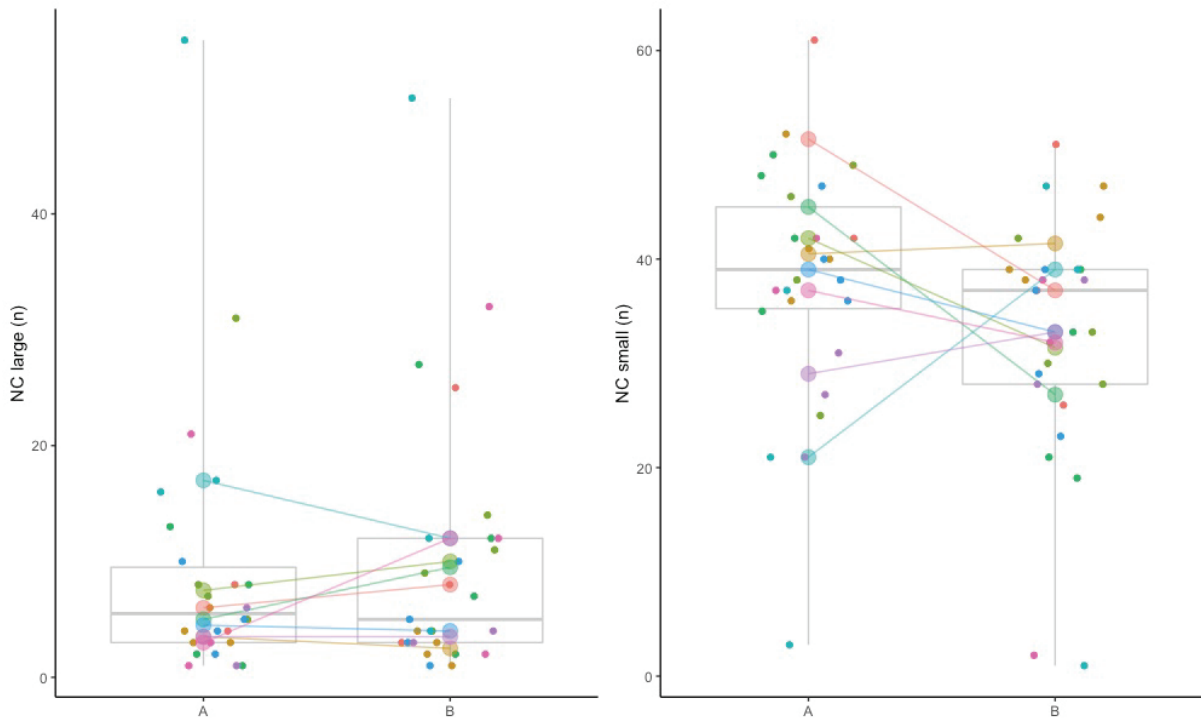
Figure 2. Evolution of microcirculatory parameters before and after administration of pimobendan



The small dots represent each of the measurements. Colors vary depending on the individual. The connected circles represent the medians by individuals. PPV: proportion of perfused vessels, MFI: microvascular flow

index, HI: heterogeneity index, AU: arbitrary unit, A: baseline, B: before pimobendan administration, C: after pimobendan administration.

Figure 3. Evolution of the number of crossing vessels before and after administration of pimobendan



NC: number of crossing of large vessels (NC large) and small vessels (NC small), A: before administration of pimobendan, B: after administration of pimobendan

Table 1. Macrocirculatory parameters before and after administration of pimobendan

	Units	Before administration	After administration	P
HR	Beat/min	85 (82 – 97)	99 (85 – 113)	0.03
MAP	mmHg	43 (40 – 43)	48 (42 – 53)	0.14
CI	L/min/m ²	0.8 (0.8 – 0.9)	1.3 (1.1 – 1.3)	0.02
SVRI	HRU/m ²	50 (49 – 64)	41 (32 – 39)	0.01
SVI	mL/beat/m ²	9 (8 – 11)	13 (11 – 13)	0.02

HR: heart rate, MAP: mean arterial pressure, CI: cardiac index, SVRI: systemic vascular resistance index, SVI: stroke volume index.

Table 2. Microcirculatory parameters before and after administration of pimobendan

Microcirculatory variables	Units	Before administration	After administration
PPV all	%	72 (60 – 76)	76 (71 – 87)
PPV small	%	68 (56 – 75)	74 (69 – 81)
MFI	AU	3 (1.8 – 3.0)	2.8 (2.3 – 3.0)
HI	AU	0.0 (0.0 – 0.7)	0.0 (0.0 – 0.04)
DBs	n/mm	10.6 (9.4 – 11.5)	9.3 (8.5 – 10.2)
DBs small	n/mm	8.3 (7.5 – 9.6)	7.9 (6.0 – 8.3)
NC large	n	5.5 (3 – 9.5)	5 (3 – 12)
NC small	n	39 (35 – 45)	37 (28 – 39)

PPV: Proportion of Perfused Vessels, MFI: Microvascular Flow Index, HI: Heterogeneity Index, DBs: De Backer score, NC large: number of crossings of large vessels, NC small: number of crossings of small vessels, AU: arbitrary unit

Table 3. Impact of pimobendan administration on microcirculatory variables

Microcirculatory variables	Units	Estimate	95%CI	P
PPV all	%	+8	[2 ; 14]	0.01
PPV small	%	+ 8	[1 ; 14]	0.03
MFI	AU	+ 0.31	[0.04 ; 0.58]	0.03
HI	AU	-0.34	[-0.66 ; -0.03]	0.04
DBs	n/mm	-1.04	[-1.82 ; -0.25]	0.02
DBs small	n/mm	-1.16	[-2.43 ; 0.14]	0.08
NC large	n	+1	[-5 ; 6]	0.83
NC small	n	-5	[-11 ; 1]	0.08

PPV: Proportion of Perfused Vessels, MFI: Microvascular Flow Index, HI: Heterogeneity Index, DBs: De Backer score, NC large: number of crossings of large vessels, NC small: number of crossings of small vessels, AU: arbitrary unit, 95%CI: 95% confidence interval

Table 4. Association between microcirculation and macrocirculation

Microcirculatory variable	Macrocirculatory variable selected as fixed effect	Estimate	95%CI	P
PPV all	CI	19.9	[6.6 ; 32.8]	0.004
PPV small	CI	20.5	[4.9 ; 35.6]	0.01
MFI	CI	0.87	[0.26 ; 1.45]	0.005
HI	CI	-0.85	[-1.52 ; -0.12]	0.02
DBs all	CI	-2.1	[-3.8 ; -0.3]	0.02
DBs small	CI	-2.7	[-5.4 ; 0.0]	0.06

CI: cardiac index, PPV: Proportion of Perfused Vessels, MFI: Microvascular Flow Index, HI: Heterogeneity Index, DBs: De Backer score, 95%CI: 95% confidence interval

Liste des abréviations

- AC : adénylate cyclase
- ADH : hormone antidiurétique ou vasopressine
- ADN : acide désoxyribonucléique
- ADP : adénosine diphosphate
- AIC : critère d'information d'Akaiké (AICc : AIC corrigé)
- AMP : adénosine monophosphate (AMPc : AMP cyclique)
- APD : Advanced Perfusion Diagnostics
- ATP : adénosine triphosphate
- AU : unités arbitraires
- AVA : automated vascular analysis software (logiciel d'analyse de la microcirculation)
- bpm : battements par minutes
- CAM : concentration alvéolaire minimale
- CFU : unités formant colonies
- CIVD : coagulation intravasculaire disséminée
- CLP : ligature-ponction caecale
- DBS ou DB : score de De Backer
- DC : débit cardiaque
- DO₂ : distribution tissulaire de l'oxygène
- DT : seuil de dissociation
- EGD^T : *early goal directed therapy*
- ESICM : société européenne de soins intensifs
- FC : fréquence cardiaque
- GC : guanylate cyclase
- GMP : guanosine monophosphate (GMPc : GMP cyclique)
- GT : gradient de température
- HI : index d'hétérogénéité du flux microcirculatoire
- IC : index cardiaque ou débit cardiaque indexé
- IC95 : intervalle de confiance à 95%
- IDF : *incident dark field imaging*
- IkUp : sonde urinaire IKORUS UP
- IM : intramusculaire
- IR : infrarouge
- IV : intraveineux
- LPS : lipopolysaccharides
- MFI : index de flux microcirculatoire
- MMAD : motifs moléculaires associés aux dégâts
- MMAP : motifs moléculaires associés aux pathogènes
- MODS : syndrome de défaillance multi-organique
- NC : nombre de vaisseaux croisant la grille de De Backer
- NET : pièges extracellulaires des polynucléaires neutrophiles
- NO : monoxyde d'azote
- NOS : NO synthase (eNOS : NOS endothéliale, iNOS : NOS inductible, nNOS : NOS neuronale)
- OPS : *orthogonal polarized spectral imaging*
- OR : odd ratio
- PA : pression artérielle
- PAD : pression artérielle diastolique
- PAM : pression artérielle moyenne
- PaO₂ : pression partielle artérielle en dioxygène
- PAPS : pression artérielle pulmonaire systolique
- PAS : pression artérielle systolique
- PDBS ou PDB : score de De Backer pour les vaisseaux perfusés
- PDE3 : phosphodiesterase 3
- PDI : pourcentage de différence d'intensité
- PGI₂ : prostacycline
- PNN : polynucléaire neutrophile
- PPG : photopléthysmographie
- PPV : proportion de vaisseaux perfusés
- PVD : densité en vaisseaux perfusés
- ROS : espèces réactives de l'oxygène ou dérivés réactifs de l'oxygène
- RS : réticulum sarcoplasmique
- RVS : résistances vasculaires systémiques
- RVSI : résistances vasculaires systémiques indexées
- S_{cv}O₂ : saturation en oxygène du sang veineux central
- SDF : *sidestream dark field imaging*
- SDMO : syndrome de défaillance multi-organique
- SDRA : syndrome de détresse respiratoire aigue
- SNA : système nerveux autonome
- SNC : système nerveux central
- SNS : système nerveux sympathique
- SO₂ : saturation de l'hémoglobine en dioxygène
- SOFA : score "*sequential sepsis related organ failure assessment*"
- SRAAA : système rénine-angiotensine-aldostérone
- S_vO₂ : saturation en oxygène du sang veineux mêlé
- T° : température
- TI : thermographie infrarouge
- TnC : troponine C
- TRC : temps de recoloration capillaire
- Tskindiff : gradient de température entre la température cutanée de l'avant-bras et celle de l'extrémité de l'index
- TVD : densité totale en vaisseaux
- UFM : unité fonctionnelle microcirculatoire
- uPI : index de perfusion urétrale
- VES : volume d'éjection systolique
- VESI : volume d'éjection systolique indexé
- VO₂ : consommation tissulaire de l'oxygène
- VPP : variation de la pression pulsée

