

Dysfonction hémodynamique au cours du sepsis : approche expérimentale

Haemodynamic dysfunction during sepsis: an experimental approach

© SRLF et Springer-Verlag France 2011

SO049

La déficience génétique en PTP1B améliore la dysfonction myocardique dans un modèle expérimental de choc endotoxinique

D. Coquerel¹, S. Renet¹, P. Mulder¹, V. Richard¹, C. Thuilliez¹, F. Tamion²

¹Inserm U644, CHU de Rouen, université de Rouen, faculté de médecine, Rouen, France

²Service de réanimation médicale, CHU Charles-Nicolle, Rouen, France

Introduction : Au cours du sepsis, il existe une dysfonction myocardique caractérisée par une diminution des fractions d'éjection et de raccourcissement ainsi qu'une atteinte de la relation précharge-volume. La physiopathologie de cette dysfonction reste complexe et incomplètement élucidée. Si la présence de médiateurs de l'inflammation (TNF- α , IL-1B) a été impliquée, elle ne permet pas à elle seule de comprendre les mécanismes complexes de cette défaillance. Des altérations du métabolisme énergétique et le stress oxydatif pourraient jouer un rôle clé dans ce processus. Les protéines tyrosine phosphatase (PTP) notamment l'isoforme PTP1B sont directement impliquées dans la régulation des taux de phosphorylation de la NOSe. La PTP1B est principalement connue pour réguler négativement la signalisation insulinaire ainsi que la production de NO au niveau endothélial. Son inhibition semble renforcer ces voies de signalisation en augmentant le taux d'activation de la voie PI3K dont les propriétés anti-apoptotiques et anti-inflammatoires ont été démontrées. L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets d'une déficience génétique pour la PTP1B (PTP1B^{-/-}) dans un modèle de choc endotoxinique (LPS) ressuscité (WT vs PTP1B^{-/-}). L'évaluation de la fonction cardiaque a été réalisée par échocardiographie à h8 après l'injection d'endotoxine. Les mesures d'expression myocardiques ARNm et des activités enzymatiques ont été réalisées à h-0, h-4 et h-8.

Résultats : Les résultats montrent une profonde diminution des fractions de raccourcissement (FR) et d'éjection (FE) ainsi que de la fréquence cardiaque (FC) après LPS, paramètres significativement améliorés chez les animaux PTP1B^{-/-} (FR : WT 19,5 \pm 0,7 % vs PTP1B^{-/-} 24,8 \pm 1 %, $p < 0,001$), (FE : WT 45,8 \pm 1,4 % vs PTP1B^{-/-} 55,6 \pm 1,5 %, $p < 0,001$), (FC : WT 281 \pm 9 bpm vs PTP1B^{-/-} 340 \pm 8 bpm, $p < 0,001$). Cette amélioration de la fonction cardiaque est associée de façon significative à h4 à une moindre expression des cytokines TNF- α et IL-1b ainsi que des molécules d'adhésion I-CAM1 et V-CAM-1. On observe également une augmentation significative de l'activité des superoxydes dismutases (WT 14,2 \pm 0,5 vs PTP1B^{-/-} 18,9 \pm 1,2 U SOD/mg protéine). Par ailleurs, il existe une augmentation significative de la survie des animaux PTP1B^{-/-} vs WT.

Conclusion : La déficience génétique en PTP1B via une diminution du processus inflammatoire et du stress oxydatif myocardique améliore les paramètres étudiés de la fonction cardiaque dans notre modèle avec une augmentation significative de la survie. L'évaluation

de la respiration mitochondriale, actuellement en cours, permettra de mieux appréhender les mécanismes physiologiques impliqués dans cet impact bénéfique de la déficience génétique en PTP1B.

SO050

Effets de la protéine C native et de la protéine C activée dans un modèle expérimental de choc endotoxinique porcin

P. Saint-Léger¹, J. Mangalaboyi², A. Tournoy³, M. Balduyck⁴, F. Pattou⁵, F. Fourrier², M. Jourdain²

¹Service de réanimation polyvalente, centre hospitalier, Valenciennes, France

²Service de réanimation polyvalente, CHRU de Lille, hôpital Roger-Salengro, Lille, France

³Service d'hématologie, CHRU de Lille, Lille, France

⁴Service de biochimie, CHRU de Lille, Lille, France

⁵Service de chirurgie générale endocrinienne, CHRU de Lille, Lille, France

Introduction : De nombreuses molécules ont déjà été évaluées au cours des états septiques graves. L'objectif de notre travail était d'évaluer l'apport de la protéine C, sous sa forme native (PC) et sous sa forme activée (PCa), dans un modèle expérimental de choc endotoxinique porcin. Ce travail était réalisé avec le soutien des laboratoires français de fractionnement et des biotechnologies (LFB).

Patients et méthodes : Le suivi pour chaque animal se faisait sur une période de cinq heures. Quatre groupes de porcs *large white* ont été étudiés. Dans le groupe LPS ($n = 4$), les animaux recevaient uniquement un bolus initial d'endotoxine d'*Escherichia coli* (LPS) à raison de 5 g/kg/minutes sur 30 minutes. Dans le groupe LPS-PCa ($n = 4$), il était administré une perfusion de PCa au décours de l'administration de LPS, à raison de 24 g/kg/heure sur le temps de suivi restant soit 270 minutes. Dans le groupe LPS-PC ($n = 4$), les animaux recevaient un bolus de PC de 150 unités/kg sur 30 minutes, immédiatement au décours de l'administration du LPS. Enfin, le groupe témoin ($n = 4$), où les animaux ne recevaient aucune de ces molécules. L'ensemble des animaux étaient sédatisés et ventilés. Ils étaient monitorés avec un cathéter artériel et un cathéter de Swan-Ganz. Un remplissage vasculaire était effectué, si nécessaire, afin de maintenir un débit cardiaque supérieur à deux litres par minutes. Les paramètres hémodynamiques (tension artérielle systémique et pulmonaire, fréquence cardiaque, saturation veineuse centrale en oxygène, débit cardiaque) et des prélèvements biologiques (gazo-métrie artérielle et veineuse centrale, plaquettes, fibrinogène, temps de quick, monomères de fibrine, D-dimères, complexes thrombine-antithrombine, hémoglobine, leucocytes) étaient effectués à 0, 30, 60, 90, 150 et 300 minutes du début de l'expérience.

Résultats : Il n'était pas retrouvé de différence significative au niveau des trois groupes avec état de choc endotoxinique ; tant pour

la fibrinogenèse que pour la fibrinolyse secondaire. Au niveau des paramètres hémodynamiques, on mettait en évidence une correction de l'état de choc objectif par une amélioration de la tension artérielle systémique dans les deux groupes recevant de la protéine C par rapport au groupe LPS, et ce, dès T150. Dans le groupe LPS-PC, la tension artérielle était d'ailleurs non statistiquement différente de la tension artérielle initiale à T0 ($p = 0,48$), alors qu'elle restait significativement plus basse dans le groupe LPS-PCa ($p = 0,04$) et dans le groupe LPS ($p = 0,026$). Le remplissage vasculaire, lui, était significativement moindre dans le groupe LPS-PC que dans le groupe LPS-PCa (1 880 vs 1175 ml, $p = 0,0018$) et que dans le groupe LPS (1 815 vs 1 175 ml, $p = 0,0029$).

Discussion : L'apport de PC ou de PCa ne permettait pas de corriger les perturbations des paramètres de la coagulation sur ce modèle de choc endotoxique explosif avec syndrome de coagulation intravasculaire disséminée majeure. En revanche, la PC présentait un effet bénéfique sur l'hémodynamique qui apparaissait plus marqué que pour le groupe qui recevait la PCa.

Conclusion : La protéine C sous sa forme native présentait un bénéfice hémodynamique dans notre modèle expérimental de choc endotoxique, qui était plus marqué qu'avec la forme activée de la protéine C. Il n'était pas mis en évidence d'effet sur la coagulation dans notre modèle.

SO051

Étude du rôle des microparticules circulantes dans un modèle de choc septique par péritonite chez le rat traité par drotrécogine alfa activée

J. Boisramé-Helms¹, X. Delabranche¹, G. Meyer², F. Toti³, M. Hasselmann¹, P. Asfar⁴, B. Levy⁵, F. Meziani¹

¹Service de réanimation médicale, CHU de Strasbourg, hôpital Civil, Strasbourg, France

²Laboratoire de biophotonique et de pharmacologie, UMR 7213 CNRS, université de Strasbourg, Strasbourg, France

³Laboratoire de biologie vasculaire, institut d'hématologie et d'immunologie, université de Strasbourg, faculté de médecine, Strasbourg, France

⁴Service de réanimation médicale et de médecine hyperbare, CHU d'Angers, Angers, France

⁵Service de réanimation médicale, CHU Nancy, hôpital Brabois-Adultes, Vandœuvre-lès-Nancy, France

Introduction : Le choc septique est une cause fréquente de décès par insuffisance circulatoire aiguë réfractaire aux vasopresseurs et défaillance multiviscérale (SDMV). Les produits microbiens entraînent la production par les cellules cibles de nombreux bio-effecteurs, dont les microparticules (MPs). Les MPs sont des vésicules libérées suite à une activation ou à l'apoptose cellulaire, modulant de nombreuses fonctions biologiques et jouant des rôles à la fois physiologiques et pathologiques. Dans le choc septique, des MPs procoagulantes pourraient activer la réponse inflammatoire, l'apoptose et favoriser la survenue d'un SDMV. Le traitement par protéine C activée humaine recombinante (drotrécogine alfa [activée], DAA) s'accompagne d'une réduction de 19 % du risque relatif de décès ; cet effet serait lié à des propriétés anti-inflammatoires et anticoagulantes. Le traitement par DAA induit la génération de MPs endothéliales porteuses d'une forme active du récepteur de la protéine C activée (EPCR), qui pourrait être responsable des propriétés anti-inflammatoires et anticoagulantes, permettant de retarder la génération de thrombine. Nous avons étudié les effets des MPs sur la dysfonction vasculaire du choc septique et les effets de la DAA sur cette voie.

Matériels et méthodes : Nous avons réalisé un modèle de péritonite bactérienne chez le rat par ligature et perforation cœcale (LCP) et des rats SHAM. Dix huit heures après la péritonite (h18), une fois le choc septique installé (PAM < 90 mmHg), les rats sont traités par DAA ou par un placebo (NaCl 0,9 %). Un remplissage par NaCl 0,9 % et de la noradrénaline sont utilisés pour maintenir une PAM supérieure à 100 mmHg. Après 4 heures, nous avons prélevé le sang pour recueillir des MPs issues de rats septiques et de rats SHAM, traités ou non par DAA, puis nous les avons poolées par groupe selon leur origine. Ces MPs « septiques » ou « SHAM » sont ensuite réinjectées chez des rats sains afin de déterminer leur rôle dans la réponse hémodynamique ($n = 6$ par groupe). Les différents paramètres étaient analysés par des tests paramétriques ou non paramétriques adéquats. Une valeur de $p < 0,05$ était considérée comme significative.

Résultats : À h18, nous observons un taux de lactate plasmatique plus élevé dans les groupes LCP que dans les groupes SHAM ($6,4 \pm 0,8$ vs $1,5 \pm 0,3$ mmol/l, $p < 0,05$). Les rats SHAM survivent jusqu'à la fin de l'expérimentation (240 min), tandis que les LCP ont une survie moyenne de 177 min ($p < 0,05$) ; les rats LCP-DAA tendent à survivre plus longtemps que les rats LCP-NaCl (181 et 145 min respectivement). La quantité de noradrénaline nécessaire est plus importante dans le groupe LCP-NaCl que dans le groupe LCP-DAA ($7,3$ vs $2,4$ µg/kg/min, $p < 0,05$) de même que le remplissage ($3,8$ vs $1,8$ ml/h, $p < 0,05$). La quantité de MPs générées est plus importante dans les groupes LCP que dans les groupes SHAM ($24,3$ vs $5,6$ nM éq. PhtdSer) et plus importante dans le groupe LCP-NaCl que dans le groupe LCP-DAA ($38,2$ vs $10,4$ nM éq. PhtdSer). L'injection à des rats sains de MPs issues de rats LCP-DAA prévient dès la première heure la forte hypotension observée chez les rats recevant des MPs issues du groupe LCP-NaCl.

Conclusion : La protéine C activée recombinante améliore la resuscitation de rats en choc septique. Les microparticules circulantes pourraient participer à médier cet effet bénéfique. Ce travail est réalisé grâce à une bourse Mobilité/Master 2 SRLF 2011.

Bibliographie

1. Sennoun N, Meziani F, Dessebe O, et al (2009) Activated protein C improves lipopolysaccharide-induced cardiovascular dysfunction by decreasing tissular inflammation and oxidative stress. *Crit Care Med* 37:246–55
2. Pérez-Casal M, Downey C, Fukudome K, et al (2005) Activated protein C induces the release of microparticle-associated endothelial protein C receptor. *Blood* 105:1515–22

SO052

Le blocage β1 adrénérique au cours du sepsis murin permet une cardioprotection via l'atténuation de l'inflammation intramyocardique, du chimiotactisme et de la diapédèse leucocytaire

E. de Montmollin¹, A. Mansart¹, A. Pawlik², J Aboab¹, D. Annane¹

¹Service de réanimation médicochirurgicale,

CHU Raymond-Poincaré, Garches, France

²Service de microbiologie, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France

Introduction : La dysfonction myocardique septique qui se développe au cours du sepsis sévère et du choc septique est un facteur clé contribuant au syndrome de défaillance multiviscérale et au décès. Il a été démontré qu'une stimulation β adrénérique excessive était délétère sur la fonction myocardique, et qu'un blocage spécifique β1 adrénérique atténuait l'inflammation systémique et la dysfonction myocardique. L'objectif de cette étude était d'évaluer les effets de

l'esmolol sur l'inflammation intramyocardique dans deux modèles septiques murins.

Matériels et méthodes : Deux modèles septiques, par ligation caecale et perforation (CLP) ou injection intra péritonéale de lipopolysaccharide (LPS), ont été réalisés chez des souris C57BL/6. Le $\beta 1$ bloquant sélectif utilisé était l'esmolol, administré à la dose de 20 mg/kg/h permettant une réduction de fréquence cardiaque de 10 %. Quatre groupes de 8 animaux ont été considérés : LPS, CLP, LPS/esmolol et CLP/esmolol. Les cœurs des souris étaient prélevés 22 heures après l'initiation du sepsis pour analyse des concentrations intramyocardiques des cytokines proinflammatoires TNF- α , IL-1 β et IL-6, des chémokines MCP-1, MIP-1 α et MIP-2, et des principales protéines impliquées dans la diapédèse leucocytaire (sélectine P, sélectine E, ICAM-1 et VCAM-1).

Résultats : La perfusion continue d'esmolol a permis de réduire significativement les concentrations intramyocardiques de TNF- α et d'IL-1 β dans le modèle CLP, et la concentration d'IL-6 dans le modèle LPS. De même, les concentrations des chémokines MCP-1, MIP-1 α et MIP-2 étaient significativement réduites sous esmolol dans le modèle LPS. Pour finir, les concentrations intramyocardiques d'ICAM-1, de VCAM-1, de sélectine P et de sélectine E étaient significativement réduites par l'administration d'esmolol dans le modèle LPS. Seule l'expression d'ICAM-1 était réduite par l'esmolol dans le modèle CLP.

Conclusion : Au cours d'un sepsis murin, l'administration du bloqueur $\beta 1$ adrénergique esmolol permet au niveau myocardique même de réduire l'expression de cytokines proinflammatoires, de chémokines et de protéines impliquées dans la diapédèse leucocytaire. Il a été démontré que ces processus inflammatoires intramyocardiques étaient corrélés à l'intensité de la dysfonction myocardique au cours du sepsis, et nous proposons que leur atténuation par l'esmolol est une des explications physiopathologiques de l'amélioration de la dysfonction myocardique septique sous $\beta 1$ bloquants rapportée dans de précédentes études.

SO053

Effets hémodynamiques de l'esmolol administré au cours du choc septique chez le rat

J. Delemazure¹, A. Kimmoun¹, A. Blet¹, A. Mansart², D. Annane², B. Levy¹

¹Groupe choc contrat avenir Inserm, Inserm U961, Vandœuvre-lès-Nancy, France

²Laboratoire d'étude de la réponse neuroendocrine au sepsis, Ea 4342, faculté de médecine Paris Île-De-France-Ouest, Garches, France

Introduction : Le choc septique conduit à une réaction inflammatoire systémique importante, délétère sur le plan cardiovasculaire. Sa mortalité reste à l'heure actuelle conséquente (> 40 %). Parmi les voies de recherche, l'immunomodulation est une des cibles thérapeutiques possibles. Les $\beta 1$ bloquants cardiosélectifs tel que l'esmolol pourraient jouer un rôle clé dans la régulation de la balance inflammatoire et améliorer le pronostic de ces patients. Les effets hémodynamiques de l'administration précoce d'esmolol au décours d'un choc septique sont actuellement non décrits.

Patients et méthodes : Il s'agit d'un modèle de choc septique sur péritonite par ligature et ponction caecale, réalisé chez le rat Wistar, perfusé chronique. Quatre heures après induction du choc, de l'esmolol à 10 mg/kg/h (simple dose) ou 20 mg/kg/h (double dose) est administré en continu en plus des thérapeutiques de réanimation

habituelles. Des rats « contrôles » reçoivent un placebo (sérum physiologique). Dix huit ou 24 heures après, les paramètres hémodynamiques dépendants (FE, débit cardiaque, volumes cardiaques téléstistoliques et télédiastoliques) et indépendants de la charge (élastance systolique et diastolique) sont recueillis grâce à un cathéter de conductance ventriculaire gauche.

Résultats : Les rats traités par esmolol ont une fréquence cardiaque diminuée de 17 % ; 401 bpm (simple dose) et 22 % ; 371 bpm (double dose) par rapport aux rats contrôles 481 bpm ($p < 0,0001$). La lactatémie et la pression artérielle moyenne ne sont statistiquement pas différentes entre les groupes traités et placebos. Aucune différence statistique de mortalité entre les groupes n'a été mise en évidence bien qu'il y ait une tendance à l'amélioration dans le groupe traité 11 vs 20 % pour le groupe contrôle. L'élastance systolique est significativement améliorée avec un « effet dose » lorsque les rats reçoivent le traitement : +33 %, 1,2 mmHg/microl (simple dose) et +122 % ; 2 mmHg/microl (double dose) vs rats contrôles 0,9 mmHg/microl ($p = 0,003$). La fonction diastolique évaluée par les paramètres tau, dP/dTmin, élastance diastolique (ED) est significativement améliorée avec l'administration du traitement mais sans mise en évidence d'« effet dose » (ED rats traités double dose : 0,13 vs simple dose 0,09 vs contrôle 0,03 mmHg/microl ; $p = 0,03$).

Conclusion : Dans un modèle expérimental de choc septique par péritonite chez le rat, l'adjonction d'un traitement continu précoce par esmolol n'aggrave pas la mortalité, ne dégrade pas la pression artérielle et n'augmente pas la lactatémie. Les paramètres hémodynamiques systolo-diastoliques étudiés sont améliorés par le traitement. Cet effet pourrait être dû à un effet anti-inflammatoire des $\beta 1$ bloquants.

SO054

L'apéline : un nouvel inotrope protecteur pour la dysfonction myocardique septique ?

O. Lesur¹, F. Chagnon², M. Pelletier², B. Hogue², D. Salvail³

¹Unité de soins intensifs, CHU Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

²Faculté de médecine et des sciences de la santé,

CRCEL & soins intensifs médicaux, CHUS, université de Sherbrooke, CHU Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

³IPS Therapeutic Inc, CHU Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

Introduction : Presque 60 % des patients avec un sepsis sévère ou choc septique présentent une dysfonction myocardique modérée à sévère lors de leur admission en réanimation. Après un remplissage volémique adéquat, la recommandation actuelle est d'introduire la dobutamine en cas de dysfonction myocardique évidente. Malheureusement, tous les patients ne sont pas répondeurs, et la dobutamine peut être potentiellement délétère (i.e. Sensibilité $\beta 1$ émoussée mais excitabilité myocardique augmentée), avec un impact parfois négatif. Il y a donc un besoin évident d'une alternative inotropique distincte de la voie des agents adrénergiques, que n'offrent pas nécessairement les inhibiteurs de phosphodiesterases ou les sensibilisateurs au calcium-ouvriers de canaux potassiques-ATP dépendants. L'apéline (APL) est un neuropeptide qui possède une puissante activité inotropique et lusitropique sur le cœur normal et ischémique, associée à une fonction cardioprotectrice et une activité vasodilatatrice, son récepteur est l'APJ, et APL-APJ sont fortement exprimés dans le myocarde. Elle est donc une molécule candidate alternative pour le traitement de la dysfonction myocardique septique.

Méthodologie : Des rats adultes ont reçu une dose potentiellement létale d'endotoxine *E. coli* lipopolysaccharide (LPS) en injection intra-péritonéale (I/P) (055 : B5 12 mg/kg) pour une étude de survie, une dose subléthale I/P de 10 mg/kg pour les études biochimiques et

histopathologiques *in vivo*, ou une dose de 12 mg/kg I/V pour les études *ex vivo* en Langendorff. Pour les groupes injectés en I/P, dans le même temps, une mini-pompe osmotique (Alzet 2ML1) était insérée en s/cut, contenant : saline (contrôle), APL-13 (100 µg) APJ-antagoniste (F13A, 200 µg), APL-13 + APJ-antagoniste (100/200), dobutamine (7,5 mg/kg/min), labétalol (7 µg/kg/min), ou dobutamine + labétalol. Une échocardiographie a été effectuée pour chaque animal (si survie) en aveugle dans l'étude de survie à T0, T8, T16 heures. L'étude *ex vivo* en appareillage Langendorff a été réalisée 4 à 6 heures après injection I/V de LPS ou saline, avec infusion subséquente de doses incrémentales d'APL-13 (1–1 000 nmol), et mesures des pressions ventriculaires gauches. L'analyse histobiochimique a consisté en la mesure par WB des expressions myocardiques de : troponine I (TpnI) (marqueur d'insulte myocardique), caspase 3 clivée (marqueur d'apoptose), GSK-3bêta (signaleur d'agression/protection myocardique), APL et APJ.

Résultats : L'APL-13 améliore drastiquement la survie à 18 heures des rats injectés au LPS I/P : 20 vs 65 % de mortalité ($p = 0,03$). La plupart des décès surviennent entre 8 et 16 heures post challenge, sont maintenus lorsque l'APJ antagoniste est associé à l'infusion d'APL-13, et l'APL endogène semble exercer un effet cardioprotecteur. La fonction

systolique échocardiographique (FS) est altérée de 12–15 % après challenge au LPS à 18 heures, et est complètement renversée par l'infusion d'APL-13 et même améliorée de plus de 10 % ($p < 0,05$). En étude *ex vivo* Langendorff, les pressions ventriculaires gauches de base (PVG) diminuent de 70 % 4 heures après challenge I/V au LPS. Dans le coeur normal, l'infusion d'APL-13 améliore les PVG de 128 % à 1 nmol avec une aire de dose-réponse de 1–30 nmol. Dans les coeurs challengés au LPS, l'aire de dose-réponse est plus large (1–100 nmol) et culmine à 3 nmol avec un delta PVG de 270 %. L'expression myocardique d'APL diminue après l'injection de LPS alors que celle d'APJ augmente par 2× ($p < 0,05$). Alors que les expressions de TpnI, de caspase 3 clivée, et de GSK-3bêta augmentent après challenge au LPS, elles sont réduites avec l'infusion d'APL-13, alors qu'elles augmentent avec celle de dobutamine ($p < 0,05$), suggérant un effet protecteur de l'APL et délétère de la dobutamine dans ce modèle.

Conclusion : Cette étude expérimentale préliminaire révèle l'impact protecteur et potentiellement optimisateur de l'APL sur le coeur, particulièrement après challenge au LPS. De futures études précliniques et cliniques devront définir exhaustivement ces impacts et leur intérêt, pour l'application de L'APL comme nouveau traitement de la dysfonction myocardique septique.