

HYPOTHERMIE THÉRAPEUTIQUE ET INFARCTUS DU MYOCARDE

THERAPEUTIC HYPOTHERMIA AND MYOCARDIAL INFARCTION

Par Matthias KOHLHAUER⁽¹⁾

(Communication présentée le 15 Mars 2018,
Manuscrit accepté le 8 Novembre 2018)

RÉSUMÉ

Expérimentalement, l'hypothermie thérapeutique (32-34°C) constitue l'une des stratégies les plus puissantes pour prévenir le développement d'infarctus du myocarde. Néanmoins, ce bénéfice n'est observé que lorsque l'hypothermie est induite pendant l'ischémie et son induction au moment de la reperfusion n'entraîne pas de protection vis-à-vis de la mort cellulaire. L'application d'une hypothermie à la reperfusion est cependant associée à d'autres bénéfices comme l'inhibition de l'installation du *no-reflow*, de l'inflammation locale et du remodelage. Le mécanisme sous-jacent à cette protection par l'hypothermie est encore inconnu mais la mitochondrie, notamment au travers de la production des espèces réactives de l'oxygène, pourrait jouer un rôle central. Jusqu'à présent le transfert clinique de cette stratégie n'a pas permis de démontrer de bénéfices chez l'Homme, en raison de la difficulté à refroidir suffisamment rapidement les patients pour obtenir un état d'hypothermie avant la reperfusion. Le développement de nouvelles stratégies de refroidissement ultra-rapide comme la ventilation liquide totale pourrait alors constituer une solution prometteuse.

Mots-clés : Infarctus du myocarde, ischémie, reperfusion, hypothermie thérapeutique, succinate, ventilation liquide totale.

ABSTRACT

Therapeutic hypothermia (32-34°C) is one of the most potent experimental cardioprotective strategies in animal models of myocardial infarction. Yet, it is only able to reduce infarct size when induced during ischemia, i.e. before the reperfusion. Its induction after the onset of reperfusion is not associated with any inhibition of myocardial necrosis but rather attenuation of functional benefits including no-reflow inhibition, mitigation of inflammation and ventricular remodeling. The mechanism underlying cardioprotection by hypothermia is unknown but is probably associated with mitochondrial preservation and reactive oxygen species inhibition. Until now, clinical trials investigating therapeutic hypothermia failed to demonstrated cardioprotective benefit. This is probably due to the delay of institution and the cooling rate achievable in human patients, making it impossible to reach 32°C before reperfusion. Development of new cooling methods including total liquid ventilation could represent a promising perspective in this context.

Key words: Myocardial infarction, ischemia, reperfusion, therapeutic hypothermia, succinate, total liquid ventilation.

INTRODUCTION

Les affections cardiovasculaires aiguës, comme l'infarctus du myocarde sont l'une des causes majeures de mortalité chez l'Homme. L'occlusion d'une artère coronaire entraîne des phénomènes de nécrose myocardique qui aboutissent à une mortalité secondaire par insuffisance cardiaque. Le développement de méthodes rapides de prise en charge des patients par angioplas-

tie coronaire ont permis de faire des progrès considérables en terme de survie. Néanmoins, la reperfusion peut elle-même être paradoxalement à l'origine de phénomènes délétères comme la production d'espèces réactives de l'oxygène (Korge *et al.* 2017). Actuellement, l'une des stratégies cardioprotectrices les plus efficaces est le refroidissement du myocarde ischémique à

(1) (1) Inserm U955 équipe 3, Unité de Pharmacie Toxicologie
École Nationale Vétérinaire d'Alfort - 7 avenue du Général de Gaulle, Maisons-Alfort
Courriel : matthias.kohlhauer@vet-alfort.fr

32-34°C. Il s'est révélé bénéfique dans de nombreuses affections ischémiques comme l'arrêt cardiaque (Chenoune *et al.* 2011; Darbera *et al.* 2013; Kohlhauer *et al.* 2015) ou la préservation d'organes (Tissier *et al.* 2014). Chez le patient souffrant d'un infarctus du myocarde ce bénéfice a été remis en cause par de récentes études cliniques en apparence contradiction avec les résultats expérimentaux (Erlinge *et al.* 2014). L'objectif de cette revue générale est de présenter les preuves expérimentales de l'effet de l'hypothermie thérapeutique dans le contexte de la cardioprotection.

BÉNÉFICE EXPÉRIMENTAL DE L'HYPOTHERMIE THÉRAPEUTIQUE

Inhibition du développement de la nécrose myocardique

Les études expérimentales portant sur des modèles d'occlusion coronaire chez différentes espèces ont permis de mettre en évidence une corrélation positive entre la température du myocarde et la taille de l'infarctus. Par exemple, dans une étude chez le lapin, Chien *et al.* (1994) ont montré que lors d'une ischémie, chaque degré de réduction de la température réduisait la taille de l'infarctus d'environ 8% ; à l'inverse, l'hyperthermie était associée à une majoration de la taille d'infarctus. Dans cette étude, la température de 42°C (hyperthermie) était associée à une taille d'infarctus supérieure de 11,6% par rapport à celle d'un infarctus à 40°C. Des bénéfices similaires ont été démontrés chez le lapin (Tissier *et al.* 2009), le chien (Schwartz *et al.* 1997), le mouton (Hamamoto *et al.* 2009a) et le rat (van den Doel *et al.* 1998).

Bénéfices fonctionnels

Outre la simple inhibition de la nécrose myocardique, l'hypothermie thérapeutique permet de préserver la fonction ventriculaire gauche post-ischémique. Par exemple, chez le porc soumis à 60 mn d'occlusion coronaire, le débit cardiaque est conservé lors d'hypothermie provoquée par un refroidissement endovasculaire en dépit de l'importante bradycardie ainsi provoquée (Dae *et al.* 2002). La préservation du débit cardiaque résulte d'une augmentation du volume d'éjection systolique. D'autres études suggèrent que ce bénéfice n'était pas simplement lié à l'inhibition de la nécrose myocardique. En effet, d'autres stratégies cardioprotectrices sont capables de limiter la nécrose myocardique de manière comparable à l'hypothermie, sans bénéfice sur la fonction ventriculaire gauche post-ischémique. C'est le cas, par exemple, du préconditionnement post-ischémique chez le chien (Ovize *et al.* 1992). Inversement, une hypothermie thérapeutique dans le contexte d'ischémies courtes mais généralisées comme l'arrêt cardiaque, permet d'améliorer la fonction ventriculaire gauche alors même que cette affection n'est pas associée à un infarctus du myocarde chez le lapin (Chenoune *et al.* 2011).

Des études récentes ont suggéré que le bénéfice fonctionnel pouvait être lié à une protection vasculaire post-ischémique.

Ainsi, chez des rats après 60 mn d'occlusion coronaire, Kloner *et al.* (2018) ont démontré que l'induction d'une hypothermie était associée à une baisse importante du phénomène de *no-reflow* (Kloner *et al.* 2018). Ce phénomène est défini comme la persistance au sein de la zone de myocarde infarci, de troubles de perfusion à l'échelle micro-vasculaire, en débit de la désobstruction du vaisseau épicaudique. Au long terme, l'hypothermie thérapeutique est aussi capable de réduire le remodelage ventriculaire gauche, comme démontré après six semaines chez le rat (Dai *et al.* 2015) et le mouton (Hamamoto *et al.* 2009b).

Hypothermie et fenêtre thérapeutique

Afin d'envisager le transfert clinique de cette stratégie thérapeutique, il est indispensable de déterminer avec précision la fenêtre temporelle de susceptibilité à l'hypothermie (fenêtre thérapeutique). Les résultats d'une méta-analyse d'études évaluant l'effet de l'hypothermie thérapeutique au cours de 30 mn d'occlusion et 180 mn de reperfusion chez le lapin ont été décrits (Kohlhauer *et al.* 2016) : le bénéfice de l'hypothermie thérapeutique décroît de manière exponentielle avec son délai d'application, l'absence de bénéfice sur la taille d'infarctus étant atteinte après 30 mn d'ischémie (Miki *et al.* 1998; Tissier *et al.* 2007, 2009; Hale *et al.* 2013). En résumé, plus l'hypothermie est instaurée précocement au début de l'ischémie, plus le bénéfice cardioprotecteur sera important.

Afin de distinguer les effets de l'hypothermie sur l'ischémie de ceux exercés pendant la reperfusion, notre laboratoire a récemment utilisé une méthode originale pour déclencher en quelques minutes, une hypothermie au cours de l'ischémie suivie d'une reperfusion en condition normotherme (Kohlhauer *et al.* 2017). L'ajustement quasi-immédiat de la température du myocarde a été réalisé au moyen de la ventilation liquide totale qui permet de ventiler les poumons avec des perfluorocarbones liquides tout en maintenant les échanges gazeux normaux. Cette méthode utilise le poumon comme échangeur thermique pour modifier la température de l'ensemble de l'organisme en quelques minutes (Chenoune *et al.* 2011; Darbera *et al.* 2013; Kohlhauer *et al.* 2015). Des lapins ont été soumis à une occlusion coronaire suivie de trois heures de reperfusion. Dans le groupe expérimental, la température a été abaissée à 32°C dès le début de l'ischémie et un réchauffement ultra-rapide a été provoqué à 25 mn d'occlusion coronaire afin d'atteindre la température de 37°C dès la première minute de reperfusion. Ce protocole était associé à un infarctus de taille plus petite dans le groupe correspondant par rapport au groupe normotherme (respectivement 24,2±3,0% et 49,6±2,6% de l'aire à risque dans le groupe hypotherme par rapport au groupe témoin normotherme). Cette étude montre que le bénéfice cardioprotecteur par l'hypothermie thérapeutique s'exerce bel et bien au cours de la phase ischémique et non pendant la reperfusion.

Si l'application d'une hypothermie à la fin de l'ischémie n'entraîne pas de bénéfice sur la taille d'infarctus, elle reste néanmoins associée à certains des bénéfices fonctionnels décrits ci-dessus. Ainsi, la réduction du *no-reflow* décrite chez le rat

était obtenue par l'hypothermie thérapeutique appliquée après une minute de reperfusion (Dai *et al.* 2017). L'application chez l'Homme de l'hypothermie thérapeutique a toujours échoué à démontrer un bénéfice cardioprotecteur de l'hypothermie. Cela s'explique à la fois par le délai nécessaire à la prise en charge hospitalière des patients ainsi que par le temps indispensable pour refroidir un être humain. Un essai clinique consistait à induire une hypothermie thérapeutique le plus précocement possible, grâce à un cathéter endovasculaire placé presque au contact du cœur. Cette méthode de refroidissement très agressive n'a permis d'obtenir à la reperfusion qu'une température de 35°C chez 76% des patients (Erlinge *et al.* 2014). Cette faible efficacité de refroidissement n'était pas associée à une protection vis-à-vis de la taille d'infarctus, mais diminuait le risque d'insuffisance cardiaque (Erlinge *et al.* 2014).

En conclusion, il semble que l'effet cardioprotecteur de l'hypothermie s'exerce selon deux modalités différentes selon que l'hypothermie est appliquée au cours de l'ischémie ou à la reperfusion : limitation du développement de l'infarctus ou réduction du *no-reflow* et une réduction du risque d'insuffisance cardiaque. En accord avec ces conclusions, nous avons aussi pu démontrer que l'hypothermie appliquée pendant l'ischémie et maintenue au cours de la reperfusion était associées à une plus faible taille d'infarctus ($2,8 \pm 0,6$ % de l'aire à risque) que l'hypothermie uniquement pendant l'ischémie ($23,3 \pm 1,4$ % de l'aire à risque). Cela suggère donc un mécanisme synergique de l'hypothermie lors de l'ischémie et la reperfusion dont les caractéristiques restent à déterminer (Kohlhauer *et al.* 2017).

MÉCANISME DE L'HYPOTHERMIE THÉRAPEUTIQUE

Préservation de l'énergie

L'effet cardioprotecteur de l'hypothermie thérapeutique a longtemps été considéré comme la conséquence de la simple réduction du métabolisme cellulaire, entraînant une préservation énergétique. Cette hypothèse est notamment fondée sur des études évaluant le mécanisme protecteur de la cardioplogie froide à des températures inférieures à 20°C. Dans ce contexte, la réduction du métabolisme cardiaque déclenchée par la baisse de température se traduit par une préservation très importante des stocks d'ATP cellulaires (Caputo *et al.* 1998). Néanmoins, lors d'une hypothermie modérée à 32°C, même si le métabolisme cardiaque est réduit et les stocks d'ATP en partie préservés, cela ne suffit pas à expliquer le bénéfice anti-ischémique. En effet, par opposition à la cardioplogie froide, le cœur à 32°C reste fonctionnel avec des battements cardiaques efficaces et une activité électrique peu altérée, même si une bradycardie est présente. Des études *in vitro* suggèrent que la préservation énergétique lors d'hypothermie modérée n'est pas corrélée à la taille d'infarctus. Ainsi, l'abaissement de la température cardiaque à 35°C suffit à fournir un bénéfice sur la taille de l'infarctus bien que la préservation énergétique soit alors négligeable (Ning *et*

al. 1998). Enfin, l'induction d'une hypothermie sur un cœur artificiellement maintenu à une fréquence cardiaque normale par stimulation électrique conserve l'effet cardioprotecteur de l'ischémie bien que la consommation énergétique soit alors proche de la normale (Chien *et al.* 1994). L'ensemble de ces résultats suggère que la simple préservation énergétique ne suffit pas à expliquer les bénéfices de l'hypothermie thérapeutique.

Effet de l'hypothermie sur les voies de signalisations

L'hypothermie thérapeutique intervient aussi sur certaines voies de signalisation impliquées dans la survie cellulaire. Par exemple, la réduction de la température cardiaque active la voie Akt et de la protéine HSP27 (*Heat Shock 27*) dans des cardiomyocytes murins exposés à l'ischémie (Shao *et al.* 2010). Le rôle de l'hypothermie sur les protéines ERK (*extracellular signal-regulated kinase*) a aussi été étudié. Il a ainsi été montré que l'inhibition de la voie des protéines ERK entraîne une perte du bénéfice associé à l'hypothermie thérapeutique (Yang *et al.* 2011). Les protéines ERK possèdent un puissant effet anti-apoptotique qui pourrait expliquer en partie le bénéfice de l'hypothermie.

Hypothermie et succinate mitochondrial

L'interruption puis la reprise brutale de l'apport en dioxygène aux tissus sont associées à une production massive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces ERO sont des composés extrêmement oxydants susceptibles d'entraîner des dommages à l'ADN, une peroxydation des lipides membranaires et *in fine* la mort de la cellule par nécrose ou par apoptose. Dans la physiopathologie de l'ischémie du myocarde, l'une des principales ERO est l'anion superoxyde. Récemment, une étude a décrit les principaux mécanismes à l'origine de cette production d'anion superoxyde chez la souris (Chouchani *et al.* 2014). En conditions d'ischémie, il a été montré que le succinate mitochondrial (un intermédiaire du cycle de Krebs) joue un rôle central en s'accumulant au cours de l'ischémie. En effet, dans la mitochondrie, le succinate est normalement transformé en fumarate par la succinate déshydrogénase. En raison de la déplétion en ATP, il a été montré que le fonctionnement de la succinate déshydrogénase s'inversait lors d'ischémie pour convertir le fumarate en succinate. Ce métabolite s'accumule alors en quantité très importante au sein de la mitochondrie ischémique. Lors de la reperfusion, le retour à un fonctionnement normal du cycle de Krebs se traduit par une oxydation massive du succinate en fumarate. En raison de l'importante quantité de succinate accumulée pendant l'ischémie, cette oxydation est responsable d'un dépassement des capacités de la chaîne respiratoire mitochondriale et entraîne une fuite d'électrons. Il s'installe alors un flux électronique inversé, depuis la succinate déshydrogénase jusqu'au complexe I de cette chaîne respiratoire (appelé retour électronique). Les électrons libérés au niveau du complexe I réagissent avec le dioxygène pour former d'importantes quantités d'anion superoxyde à la reperfusion (Chouchani *et al.* 2014).

L'effet de l'hypothermie thérapeutique sur cette voie métabolique spécifique de l'ischémie a été évalué récemment au sein de notre laboratoire. Chez le lapin, l'application de l'hypothermie thérapeutique à 32°C ne réduit pas l'accumulation de succinate pendant l'ischémie (Kohlhauer *et al.* 2017). De la même façon, chez la souris, l'application de l'hypothermie au cours des premières minutes de reperfusion ne modifie pas la vitesse avec laquelle le succinate est oxydé, ni l'intensité de la fuite d'électrons. Finalement, l'inhibition pharmacologique de la voie du succinate (par le diméthyl malonate) est associée à un effet bénéfique qui s'ajoute à celui de l'hypothermie thérapeutique chez le lapin (Kohlhauer *et al.* 2017). Ces résultats suggèrent donc que l'hypothermie thérapeutique n'agit pas sur la voie du succinate.

Bien que le mécanisme d'action de l'hypothermie thérapeutique soit indépendant de la voie du succinate, de nombreuses études expérimentales ont démontré que l'hypothermie était capable de réduire la production d'ERO et de préserver la fonction mitochondriale (Tissier *et al.* 2013). Cela semble donc suggérer l'existence d'autres voies importantes de production d'anion superoxyde et d'ERO que l'hypothermie thérapeutique serait alors capable de moduler.

CONCLUSION

Expérimentalement, l'hypothermie thérapeutique présente de nombreux avantages dans le contexte de l'infarctus du myocarde. Elle permet de limiter le développement de l'infarctus du myocarde pendant l'ischémie puis améliore la fonction cardiaque pendant la reperfusion. Les mécanismes qui sous-tendent ces deux modalités sont encore inconnus mais un effet protecteur de la mitochondrie semble probable. L'hypothermie thérapeutique présente l'intérêt d'être la seule stratégie pouvant être appliquée pendant la phase ischémique puisque les agents pharmacologiques ne peuvent être distribués au tissu ischémique. Les délais de prise en charge des patients ainsi que la faible vitesse de refroidissement ont freiné le transfert clinique de cette méthode. Cependant, de nouvelles approches de refroidissement ultra-rapide comme la ventilation liquide totale, pourraient rendre possible ce transfert clinique.

Même si l'infarctus du myocarde est une affection anecdotique en médecine vétérinaire, cet exemple illustre l'intérêt des modèles animaux et de l'apport réciproque des médecines vétérinaire et humaine. Dans le contexte de l'hypothermie thérapeutique,

c'est grâce aux divergences entre les résultats expérimentaux chez l'animal et les résultats cliniques chez l'Homme que la fenêtre thérapeutique a pu être précisée. C'est grâce aux réflexions conduites sous le prisme de la physiopathologie comparée entre Homme et animal que l'importance de la vitesse de refroidissement a pu être découverte. Cette réflexion s'inscrit dans une démarche d'une seule santé (*One-Health*) au sein de laquelle les vétérinaires occupent une place de choix.

Ces études ont aussi permis de mettre au point une nouvelle problématique de recherche. L'objectif est aujourd'hui de développer une stratégie capable d'obtenir des vitesses de refroidissement comparables entre l'Homme et l'animal. En créant une stratégie innovante de ventilation liquide totale, nous avons pu mettre en place une méthode de refroidissement indépendante du poids corporel capable de refroidir un être humain en moins de quelques minutes. Ce dispositif est issu d'une collaboration transdisciplinaire entre ingénieurs, physiciens, vétérinaires et médecins. Il a aujourd'hui prouvé son efficacité dans les différents modèles animaux testés mais le transfert en médecine humaine reste à réaliser.

Longtemps, la démarche *One-Health* a permis à la médecine vétérinaire de bénéficier des progrès scientifiques de la médecine humaine, au travers, par exemple de l'utilisation de techniques de diagnostic ou molécules issues de la pharmacopée humaine. Cette translation a cependant été relativement unidirectionnelle à l'exception de certaines problématiques d'infectiologies. Aujourd'hui, nous développons un ventilateur liquidien capable à la fois d'être appliqué chez l'Homme et en médecine vétérinaire. Même si les applications thérapeutiques ne sont pas similaires, il existe des applications potentielles de la ventilation liquide totale en médecine vétérinaire. Dans cette perspective, nous allons prochainement conduire un essai clinique afin de tester le bénéfice de la ventilation liquide dans le traitement des intoxications à la fumée d'incendie chez le chien. En permettant à la fois un lavage des voies respiratoires et en induisant une hypothermie ultra-rapide, nous espérons ainsi bénéficier de la désobstruction des voies aériennes ainsi que d'une protection neurologique vis-à-vis des différents toxiques hypoxémiant. La conduite de cet essai clinique vétérinaire permettrait aussi d'obtenir de nouvelles données de tolérance et d'efficacité pour la médecine humaine. En développant ainsi simultanément les applications vétérinaires et humaines nous espérons que les avancées scientifiques chez l'animal puissent bénéficier à la médecine humaine et réciproquement.

BIBLIOGRAPHIE

- Caputo M, Ascione R, Angelini GD, Suleiman MS, Bryan AJ. The end of the cold era: from intermittent cold to intermittent warm blood cardioplegia. *Eur J Cardio-Thorac Surg Off J Eur Assoc Cardio-Thorac Surg.* 1998; 14:467–75.
- Chenoune M, Lidouren F, Adam C, Pons S, Darbera L, Bruneval P *et al.* Ultrafast and whole-body cooling with total liquid ventilation induces favorable neurological and cardiac outcomes after cardiac arrest in rabbits. *Circulation.* 2011; 124:901–911, 1–7.
- Chien GL, Wolff RA, Davis RF, van Winkle DM. “Normothermic range” temperature affects myocardial infarct size. *Cardiovasc Res.* 1994; 28:1014–7.
- Chouchani ET, Pell VR, Gaude E, Aksentijevic D, Sundier SY, Robb EL, *et al.* Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. *Nature.* 2014; 515:431–5.
- Dae MW, Gao DW, Sessler DI, Chair K, Stillson CA. Effect of endovascular cooling on myocardial temperature, infarct size, and cardiac output in human-sized pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002; 282:H1584–91.
- Dai W, Hale S, Kloner RA. Delayed therapeutic hypothermia protects against the myocardial no-reflow phenomenon independently of myocardial infarct size in a rat ischemia/reperfusion model. *Int J Cardiol.* 2017; 236:400–4.
- Dai W, Herring MJ, Hale SL, Kloner RA. Rapid Surface Cooling by ThermoSuit System Dramatically Reduces Scar Size, Prevents Post-Infarction Adverse Left Ventricular Remodeling, and Improves Cardiac Function in Rats. *J Am Heart Assoc.* 2015;4.
- Darbera L, Chenoune M, Lidouren F, Kohlhauer M, Adam C, Bruneval P, *et al.* Hypothermic liquid ventilation prevents early hemodynamic dysfunction and cardiovascular mortality after coronary artery occlusion complicated by cardiac arrest in rabbits. *Crit Care Med.* 2013; 41:e457–65.
- Erlinge D, Götzberg M, Lang I, Holzer M, Noc M, Clemmensen P, *et al.* Rapid endovascular catheter core cooling combined with cold saline as an adjunct to percutaneous coronary intervention for the treatment of acute myocardial infarction. The CHILL-MI trial: a randomized controlled study of the use of central venous catheter core cooling combined with cold saline as an adjunct to percutaneous coronary intervention for the treatment of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2014; 63:1857–65.
- Hale SL, Herring MJ, Kloner RA. Delayed treatment with hypothermia protects against the no-reflow phenomenon despite failure to reduce infarct size. *J Am Heart Assoc.* 2013; 2:e004234.
- Hamamoto H, Leshnowar BG, Parish LM, Sakamoto H, Kanemoto S, Hinmon R *et al.* Regional heterogeneity of myocardial reperfusion injury: effect of mild hypothermia. *Ann Thorac Surg.* 2009a; 87:164–71.
- Hamamoto H, Sakamoto H, Leshnowar BG, Parish LM, Kanemoto S, Hinmon R *et al.* Very mild hypothermia during ischemia and reperfusion improves postinfarction ventricular remodeling. *Ann Thorac Surg.* 2009b; 87:172–7.
- Kloner RA, Dai W, Hale SL. No-Reflow Phenomenon. A New Target for Therapy of Acute Myocardial Infarction Independent of Myocardial Infarct Size. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2018; 23:273–6.
- Kohlhauer M, Berdeaux A, Kerber RE, Micheau P, Ghaleh B, Tissier R. Liquid Ventilation for the Induction of Ultrafast Hypothermia in Resuscitation Sciences: A Review. *Ther Hypothermia Temp Manag.* 2016; 6:63–70.
- Kohlhauer M, Lidouren F, Remy-Jouet I, Mongardon N, Adam C, Bruneval P *et al.* Hypothermic Total Liquid Ventilation Is Highly Protective Through Cerebral Hemodynamic Preservation and Sepsis-Like Mitigation After Asphyxial Cardiac Arrest. *Crit Care Med.* 2015; 43:e420–30.
- Kohlhauer M, Pell V, Spirosky A-M, Burger N, Gruszyk A, Mulvey J *et al.* Abstract 14534: Mild Hypothermia During Ischemia Provides Cardioprotection Independently of the Mitochondrial Succinate Pathway. *Proceedings of the American Heart Association (Circulation.)* 2017; 136:A14534, originally published November 11, 2017
- Korge P, John SA, Calmettes G, Weiss JN. Reactive oxygen species production induced by pore opening in cardiac mitochondria: The role of complex II. *J Biol Chem.* 2017; 292:9896–905.
- Miki T, Liu GS, Cohen MV, Downey JM. Mild hypothermia reduces infarct size in the beating rabbit heart: a practical intervention for acute myocardial infarction? *Basic Res Cardiol.* 1998; 93:372–83.
- Ning XH, Xu CS, Song YC, Childs KF, Xiao Y, Bolling SF *et al.* Temperature threshold and modulation of energy metabolism in the cardioplegic arrested rabbit heart. *Cryobiology.* 1998; 36:2–11.
- Ovize M, Przyklenk K, Hale SL, Kloner RA. Preconditioning does not attenuate myocardial stunning. *Circulation.* 1992; 85: 2247–54.
- Schwartz LM, Verbinski SG, Vander Heide RS, Reimer KA. Epicardial temperature is a major predictor of myocardial infarct size in dogs. *J Mol Cell Cardiol.* 1997; 29:1577–83.
- Shao Z-H, Sharp WW, Wojcik KR, Li C-Q, Han M, Chang W-T, *et al.* Therapeutic hypothermia cardioprotection via Akt- and nitric oxide-mediated attenuation of mitochondrial oxidants. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010; 298:H 2164-73.
- Tissier R, Chenoune M, Pons S, Zini R, Darbera L, Lidouren F *et al.* Mild hypothermia reduces per-ischemic reactive oxygen species production and preserves mitochondrial respiratory complexes. *Resuscitation* 2013; 84:249–55.
- Tissier R, Couvreur N, Ghaleh B, Bruneval P, Lidouren F, Morin D *et al.* Rapid cooling preserves the ischaemic myocardium against mitochondrial damage and left ventricular dysfunction. *Cardiovasc Res.* 2009; 83:345–53.
- Tissier R, Giraud S, Quellard N, Fernandez B, Lidouren F, Darbera L *et al.* Kidney protection by hypothermic total liquid ventilation after cardiac arrest in rabbits. *Anesthesiology.* 2014; 120:861–9.
- Tissier R, Hamanaka K, Kuno A, Parker JC, Cohen MV, Downey JM. Total liquid ventilation provides ultra-fast cardioprotective cooling. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 49:601–5.
- van den Doel MA, Gho BC, Duval SY, Schoemaker RG, Duncker DJ, Verdouw PD. Hypothermia extends the cardioprotection by ischaemic preconditioning to coronary artery occlusions of longer duration. *Cardiovasc Res.* 1998; 37:76–81.
- Yang X, Liu Y, Yang X-M, Hu F, Cui L, Swingle MR *et al.* Cardioprotection by mild hypothermia during ischemia involves preservation of ERK activity. *Basic Res Cardiol.* 2011; 106:421–30.