

Université de Sherbrooke

**Impact de la réanimation volémique sur les altérations cardiaques
induites par l'endotoxine**

par
Bruno Hogue
Département de médecine

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé en vue de l'obtention du
grade de *Maître ès Sciences* (M.Sc.) en physiologie

Sherbrooke, Québec, Canada
1 novembre 2013

Membres du jury d'évaluation
Pr André Carpentier, Médecine, service d'endocrinologie
Pr Pedro D'Orléans-Juste, pharmacologie
Pr Olivier Lesur, Médecine, service de pneumologie



Library and Archives
Canada

Published Heritage
Branch

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Direction du
Patrimoine de l'édition

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

ISBN: 978-0-499-00364-5

Our file Notre référence

ISBN: 978-0-499-00364-5

NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.

Canada

À ma famille, ma conjointe Éleine et mon fils François.

Impact de la réanimation volémique sur les altérations cardiaques induites par l'endotoxine

par
Bruno Hogue
Département de médecine

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé en vue de l'obtention du diplôme de maître ès sciences (M.Sc.) en physiologie, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, J1H 5N4

RÉSUMÉ

Grâce à l'échocardiographie au chevet, il est maintenant reconnu que la dysfonction myocardique a une forte prévalence et coexiste avec le choc distributif tôt dans le sepsis sévère. Dans les deux cas, la réanimation liquidienne représente la première ligne de traitement qui permet de sauver des vies. À ce jour, aucun liquide spécifique n'a pu être déclaré supérieur ou ayant un impact clair sur l'issue du choc septique. L'objectif est donc d'évaluer les impacts moléculaires de la perfusion isovolémique de différents liquides de réanimation sur la dysfonction myocardique induite par l'endotoxine. Des rats adultes se sont fait équiper de voies centrales, injecter en intrapéritonéale avec de l'endotoxine (lipopolysaccharide [LPS], provenant d'*E. coli*) ou du normal salin (0,9 %; contrôle) et, subséquentement, perfuser (ou non) avec une quantité isovolémique de liquide de remplissage vasculaire (normal salin [NS], albumine [ALB], solution de salin hypertonique [HTS]) pour une période de 6 à 24 heures, suivie d'un monitoring échocardiographique ainsi que d'une évaluation biochimique et histopathologique.

Résultats : l'albumine améliore la dysfonction myocardique induite par le LPS en :

- i) réduisant l'épaisseur relative du ventricule gauche en diastole (LVRWD) (élargissement de l'espace interstitiel et de la teneur en albumine endogène);
- ii) limitant l'apoptose cardiaque tout en maintenant et en régulant le signal extracellulaire d'activation de la protéine kinase mitogène activée [ERK1-2 MAPK];
- iii) favorisant les voies d'expression de l'hème oxygénase-1 [HO-1] et de la NO synthase inductible [iNOS]. La solution saline hypertonique [HTS] a été la seule à permettre une prévention hâtive de la dysfonction myocardique, en plus de réduire l'apoptose cardiaque grâce à une augmentation de l'expression de HO-1.

Conclusion : les perfusions isovolémiques de liquides ont des impacts moléculaires distincts sur la dysfonction myocardique induite par l'endotoxine. L'albumine et le salin hypertonique présentent de potentielles propriétés antioxydantes, anti-apoptotiques et anti-œdémateuses. Cependant, d'autres recherches seront nécessaires afin d'approfondir les mécanismes sous-jacentes de ces impacts, afin d'éventuellement modifier certaines pratiques cliniques et d'améliorer la survie des patients atteints de dysfonction myocardique d'origine septique.

Mots-clés : liquide, réanimation, normal salin (NS), albumine (ALB), salin hypertonique (HTS), sepsis, choc septique, endotoxine.

Personne ne sait comment sont exactement les choses quand on ne les regarde pas.

[Hubert Reeves]

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|--|----------|
| LISTE DES TABLEAUX..... | IV |
| LISTE DES FIGURES | V |
| LISTE DES ABRÉVIATIONS..... | VI |
| INTRODUCTION | 1 |
| CARACTÉRISATION DU PHÉNOMÈNE | 1 |
| CHAPITRE 1 | 2 |
| 1.1 LE SEPSIS | 2 |
| 1.2 ÉTIOLOGIE DU SEPSIS INFECTIEUX..... | 2 |
| 1.3 DÉFINITION DU SEPSIS..... | 3 |
| 1.4 LA RÉPONSE INFLAMMATOIRE DANS LE SEPSIS ENDOTOXINIQUE..... | 4 |
| 1.4.1 INITIATION ET SIGNALISATION CELLULAIRE PAR L'ENDOTOXINE | 4 |
| 1.4.2 IMPACTS EXTRACELLULAIRES DE L'ENDOTOXINE | 6 |
| 1.4.3 DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE ET VASOPLÉGIE DANS LE SEPSIS | 7 |
| 1.4.4 SYSTÈMES DE COAGULATION ET DU COMPLÈMENT DANS L'INFLAMMATION..... | 14 |
| 1.5 LA RÉPONSE ANTI-INFLAMMATOIRE DANS LE SEPSIS ENDOTOXINIQUE..... | 20 |
| 1.6 LA DYSFONCTION ORGANIQUE (MODS/SDMO) DANS LE SEPSIS | 23 |
| 1.6.1 PHYSIOPATHOLOGIE DE LA DYSFONCTION ORGANIQUE | 23 |
| 1.6.2 ŒDÈME, CHANGEMENTS HISTOLOGIQUES ET ULTRASTRUCTURAUX | 24 |
| 1.7 SEPSIS ET DYSFONCTION MYOCARDIQUE | 27 |
| 1.8 MONITORAGE CLINIQUE DE LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE | 29 |
| 1.9 SEPSIS ET DYSFONCTION MYOCARDIQUE : PHYSIOPATHOLOGIE | 30 |
| 1.9.1 LES SUBSTANCES DÉPRIMANT LE MYOCARDE DANS LE SEPSIS..... | 32 |
| 1.9.2 CYTOKINES ET PROTÉINES KINASES DANS LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE..... | 33 |
| 1.9.3 LES PROSTANOÏDES..... | 38 |
| 1.9.4 LES INFLAMMASOMES..... | 39 |
| 1.9.5 L'ENDOTHÉLINE-1 | 39 |
| 1.9.6 LE MONOXYDE D'AZOTE (NO) DANS LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE .. | 40 |
| 1.9.7 LES ISOPROSTANES | 43 |
| 1.9.8 LES RÉACTIFS DE L'OXYGÈNE DANS LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE .. | 44 |
| 1.9.9 DYSFONCTION MITOCHONDRIALE | 44 |
| 1.9.10 HIBERNATION, APOPTOSE ET AUTOPHAGIE MYOCARDIQUE..... | 46 |
| 1.9.11 FACTEURS PRÉDISPOSANTS ET COMORBIDITÉS | 48 |
| 1.10 LE SEPSIS : CONCLUSION | 49 |

| | |
|--|---------------|
| CHAPITRE 2 | 50 |
| 2.1 LES TRAITEMENTS DU CHOC SEPTIQUE ET DU SEPSIS SÉVÈRE..... | 50 |
| 2.1.1 LES TRAITEMENTS GÉNÉRAUX RECOMMANDÉS POUR LE SEPSIS ET LE CHOC SEPTIQUE..... | 50 |
| 2.1.2 INDICATIONS DE TRAITEMENT DE LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE SEPTIQUE..... | 52 |
| 2.1.2.1 TRAITEMENTS CLINIQUES PHARMACOLOGIQUES ACTUELS DE LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE..... | 53 |
| 2.1.3 RÉANIMATION LIQUIDIENNE ET DYSFONCTION MYOCARDIQUE SEPTIQUE | 55 |
| 2.1.4 RÉANIMATION LIQUIDIENNE : ÉVALUATION DE LA RÉPONSE | 56 |
| 2.2 LES LIQUIDES DE RÉANIMATION ET LEURS IMPACTS SUR LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE SEPTIQUE | 58 |
| 2.2.1 CRISTALLOÏDES VERSUS COLLOÏDES | 58 |
| 2.2.2 LES CRISTALLOÏDES..... | 59 |
| 2.2.2.1 IMPACTS DES SOLUTIONS ISOTONIQUES | 59 |
| 2.2.2.2 IMPACTS DES SALINS HYPERTONIQUES..... | 61 |
| 2.2.2.3 IMPACTS DES SALINS BICARBONATES | 63 |
| 2.2.3 LES COLLOÏDES..... | 64 |
| 2.2.3.1 LES COLLOÏDES NATURELS..... | 64 |
| 2.2.3.1.1 IMPACTS DE L'ALBUMINE | 65 |
| 2.2.3.1.2 LES COLLOÏDES ARTIFICIELS | 68 |
| 2.2.3.2.1 IMPACTS DES HYDROXYÉTHYLES D'AMIDON..... | 71 |
| 2.2.3.2.2 IMPACTS DES GÉLATINES | 72 |
| 2.2.3.2.3 IMPACTS DES DEXTRANS..... | 73 |
| 2.3 TRAITEMENT DU CHOC SEPTIQUE ET DU SEPSIS : CONCLUSION | 75 |
| CHAPITRE 3 | 76 |
| 3.1 AVANT-PROPOS | 76 |
| 3.2 CONTEXTE DE L'ÉTUDE | 76 |
| 3.3 RÉSUMÉ DE L'ARTICLE..... | 77 |
| ARTICLE..... | 79 |
| Resuscitation fluids and endotoxin-induced myocardial dysfunction: is selection a load- independent differential molecular issue? | 79 |
| DISCUSSION | 108 |
| PERTINENCE CLINIQUE | 117 |
| LIMITATIONS ET PERSPECTIVES..... | 118 |

| | |
|--------------------|-----|
| CONCLUSION..... | 119 |
| REMERCIEMENTS..... | 120 |
| RÉFÉRENCES | 121 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| TABLEAU 1. DEFINITIONS DU SEPSIS SELON L'ACCP/SCCM | 4 |
| TABLEAU 2. CARACTÉRISTIQUES DES SOLUTIONS À BASE D'HYDROXYÉTHYLES D'AMIDON (HES) | 69 |
| TABLEAU 3. CARACTÉRISTIQUES DES SOLUTIONS À BASE DE GÉLATINE..... | 69 |
| TABLEAU 4. CARACTÉRISTIQUES DES SOLUTIONS DE DEXTRAN..... | 70 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|-----|
| FIGURE 1 : SIGNALISATIONS INITIEES VIA L'ACTIVATION DU RECEPTEUR TLR4 PAR LE LPS..... | 5 |
| FIGURE 2 : PRODUCTION DE REACTIFS DE L'OXYGENE ET DE L'AZOTE DANS LA VASOPLEGIE SEPTIQUE..... | 11 |
| FIGURE 3 : ACTIVATION DE LA COAGULATION DANS L'INFLAMMATION..... | 15 |
| FIGURE 4 : LA PROTEINE C DANS LE SEPSIS | 16 |
| FIGURE 5 : PRINCIPAUX ACTEURS MENANT DE L'INFLAMMATION A LA DYSFONCTION ORGANIQUE DANS LE SEPSIS | 20 |
| FIGURE 6 : PRINCIPAUX INITIATEURS DE LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE DANS LE SEPSIS..... | 31 |
| FIGURE 7 : MODULATION DE L'EXPRESSION DU TNF-A PAR LES MAP KINASES ERK1/2, JNK1 ET P38..... | 35 |
| FIGURE 8 : INTERACTIONS CONJECTURALES ENTRE L'HO-1, INOS, ERK ET P38 DANS LES CARDIOMYOCYTES | 37 |
| FIGURE 9 : SIGNALISATION DU NO DANS LES CARDIOMYOCYTES | 42 |
| FIGURE 10 : RESUME DES MECANISMES D'ACTIONS MOLECULAIRES DU HTS SUR LES CARDIOMYOCYTES DANS LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE SEPTIQUE | 111 |
| FIGURE 11 : RESUME DES MECANISMES D'ACTIONS MOLECULAIRES DE L'ALBUMINE SUR LES CARDIOMYOCYTES DANS LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE SEPTIQUE | 115 |

LISTE DES ABRÉVIATIONS

| | |
|-----------------|---|
| ACCP/SCCM | <i>American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine</i> |
| ACTH | <i>Adrenocorticotropic hormone</i> |
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| ADP ribose | Adénosine diphosphate ribose |
| ADP | Adénosine diphosphate |
| AIM2 | <i>Absent melanoma 2</i> |
| Akt | Protéine kinase B |
| ALB | Albumine |
| AMPC | Adénosine-5-monophosphate cyclique |
| AP-1 | <i>Activator protein-1</i> |
| aPC | Protéine C activée |
| ATF2 | <i>Activating transcription factor 2</i> |
| ATP | Adénosine triphosphate |
| BNP | <i>Brain natriuretic peptide</i> |
| BR | Bilirubine |
| BV | Biliverdine |
| BVR | Biliverdine réductase |
| CAD | <i>Coronary artery disease</i> (maladies coronariennes) |
| CAP | Cathéter artériel pulmonaire |
| CARS syndrome | <i>Compensatory anti-inflammatory response syndrome</i> |
| CCL2 | <i>Chemokine ligand 2</i> (MCP-1) |
| CIVD | Coagulation intravasculaire disséminée |
| CO | Monoxyde de carbone |
| COX | Cyclooxygénase |
| CRE | <i>Cyclic AMP-responsive element</i> |
| CREB | <i>CRE binding protein</i> |
| CRRT | <i>Continuous renal replacement therapy</i> |
| Cu-Zn-SOD | Cuivre-zinc-superoxyde dismutase |
| CVP | <i>Central venous pressure</i> (TVC) |
| CXCL | <i>Chemokine (C-X-C motif) ligand</i> |
| DAMP | <i>Damage associated molecular pattern molecules</i> |
| DCi | Débit cardiaque indexé |
| ECG | Électrocardiogramme |
| ECMO | <i>Extracorporeal membrane oxygenation</i> |
| eNOS | <i>Endothelial NO synthase</i> |
| EPCr | <i>Endothelial protein C receptor</i> |
| ERK | <i>Extracellular signal regulated kinases</i> |
| ET _B | Endothéline B |
| FEVG | Fraction d'éjection du ventricule gauche |
| fMLP | Formyl-méthionyl-leucyl-phenylalanine |
| G-CSF | <i>Granulocyte colony-stimulating factor</i> |
| GEDVI | <i>Global end-diastolic volume index</i> |
| GMPc | Guanine monophosphate cyclique |

| | |
|-------------------------------|---|
| GPCR | <i>G protein coupled receptor</i> |
| H ₂ O ₂ | Peroxyde d'hydrogène |
| HES | <i>Hydroxyethyl starch</i> |
| HLA-DR | <i>Human leukocyte antigen receptor</i> |
| HMGB | <i>High-mobility group protein B</i> |
| HO-1 | Hème oxygénase-1 |
| HSD | <i>Hypertonic saline-dextran</i> |
| HSP-32 | <i>Heat shock protein-32</i> |
| HTS | <i>Hypertonic saline</i> |
| ICAM-1 | <i>Intercellular adhesion molecule 1</i> |
| IDO | Idoleamine 2,3-dioxygénase |
| IKK | <i>Inhibitory κB kinase</i> |
| IL | Interleukine |
| INF-α | Interféron alpha |
| INF-γ | Interféron gamma |
| iNOS | <i>Inductible NO synthase</i> |
| IRAK | <i>Interleukin-1 receptor-associated kinase</i> |
| IRF | <i>Interferon regulatory factor</i> |
| IκB | <i>Inhibitor of κB</i> |
| JACK STAT | <i>Janus kinase receptor-signal transducer and activator of transcription</i> |
| JNK | JUN NH ₂ -terminal kinase |
| Kyn | <i>Kynurenine</i> |
| LOX-1 | <i>Lectin-type oxidized LDL receptor 1</i> |
| LPB | <i>LPS binding protein</i> |
| LPS | Lipopolysaccharide |
| LTD4 | Leucotriène D4 |
| LVRWD | <i>Left ventricular relative wall thickness in end-diastolic</i> |
| MAL | <i>MyD88 adaptor-like</i> |
| MEKK | <i>MAPK/extracellular signal-regulated kinase kinase</i> |
| MAPK | <i>Mitogen activated protein kinase</i> |
| MCP-1 | <i>Monocyte chemoattractant protein 1 (CCL2)</i> |
| MD2 | <i>Myeloid differentiation 2</i> |
| MDF | <i>Myocardial depressant factor</i> |
| MEC | Matrice extracellulaire |
| MGF | <i>Modified gelatin fluid</i> |
| MIF | <i>Macrophage inhibitory factor</i> |
| MIP-2 | <i>Macrophage inflammatory protein 2</i> |
| mmHg | Millimètres de mercure |
| Mn | Manganèse |
| MODS | <i>Multiple organ dysfunction syndrome</i> |
| MyD88 | <i>Myeloid differentiation protein 88</i> |
| NADH | Nicotinamide adénine di nucléotide H |
| NADPH | Nicotinamide adénine di nucléotide phosphate H |
| NF-κB | <i>Nuclear factor-κB</i> |
| NK | <i>Natural killer</i> |
| NLR | <i>Nucleotide oligomerization domain like receptor</i> |

| | |
|-------------------|---|
| nNOS | <i>Neuronal NO synthase</i> |
| NO | <i>Nitric Oxide (monoxyde d'azote)</i> |
| NOS | <i>NO synthase</i> |
| NrF2 | <i>Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2</i> |
| NS | <i>Normal salin</i> |
| ONOO- | <i>Peroxynitrite</i> |
| PAF | <i>Platelet activating factor</i> |
| PAI | <i>Plasminogen activator inhibitor</i> |
| PAMPs | <i>Pathogen-associated molecular patterns</i> |
| PAR | <i>Protease activated receptor</i> |
| PARP | <i>Poly ADP-ribose polymerase</i> |
| PC | <i>Protéine C</i> |
| PDE | <i>Phosphodiesterase</i> |
| PGI ₂ | <i>Prostaglandine I₂</i> |
| PI3K | <i>Phosphatidylinositol 3-kinase</i> |
| PKA | <i>Protéine kinase A</i> |
| PKC | <i>Protéine kinase C</i> |
| PKG | <i>Protéine kinase G</i> |
| PMN | <i>Polymorphonucléaires</i> |
| PMPs | <i>Platelet microbicidal proteins</i> |
| PPAR γ | <i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i> |
| PRR | <i>Pattern recognition receptor</i> |
| RACK-1 | <i>Receptor for activated C kinase 1</i> |
| RAF | <i>Rapidly accelerated fibrosarcoma (kinase)</i> |
| RAGE | <i>Receptor for Advance Glycation End-product</i> |
| RIP | <i>Receptor interacting protein kinase</i> |
| RL | <i>Ringer's Lactate (lactate Ringer)</i> |
| ROI | <i>Reactive oxygen intermediates</i> |
| ROS | <i>Reactive oxygen species</i> |
| RSV | <i>Résistance systémique vasculaire</i> |
| S1P1 | <i>Sphingosin phosphate receptor</i> |
| SB | <i>Solution de bicarbonate</i> |
| ScvO ₂ | <i>Saturation centrale veineuse en oxygène</i> |
| SDMO | <i>Syndrome de dysfonction multiorganique (MODS)</i> |
| SERCA | <i>Sarcolemal endoplasmic reticulum calcium</i> |
| SIRS | <i>Systemic inflammatory response syndrome</i> |
| SOAP | <i>Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients</i> |
| SOD | <i>Superoxide dismutase</i> |
| SR | <i>Reticulum sarcoplasmic</i> |
| SRIS | <i>Syndrome à réponse inflammatoire systémique</i> |
| Stat6 | <i>Signal transducer and activation of transcription factor-6</i> |
| TAK | <i>TGF-β activated kinase</i> |
| TANK | <i>TRAF-associated NF-κB kinase</i> |
| TBK1 | <i>Serine/threonine-protein kinase</i> |
| TGF- β | <i>Transforming growth factor beta</i> |
| TIR | <i>Toll-interleukin-1 receptor</i> |

| | |
|---------------|---|
| TIRAP | <i>TIR domain-containing adaptor protein</i> |
| TLR | <i>Toll like receptor</i> |
| TNF- α | <i>Tumor necrosis factor-α</i> |
| tPA | <i>Tissue plasminogen activator</i> |
| TRAM | <i>TRIF-related adaptor molecule</i> |
| TRIF | <i>TIR domain-containing adaptor protein inducing interferon β</i> |
| Trp | <i>Tryptophane (acide aminé)</i> |
| TVC | <i>Tension veineuse centrale (CVP)</i> |
| TXA2 | <i>Thromboxane A2</i> |
| V1ar | <i>Arginine vasopressin recepteur 1a</i> |
| VCAM-1 | <i>Vascular cellular adhesion molecule 1</i> |
| VD | <i>Ventricule droit</i> |
| VG | <i>Ventricule gauche</i> |

INTRODUCTION

CARACTÉRISATION DU PHÉNOMÈNE

La dysfonction cardiovasculaire induite par le sepsis est une pathologie et un signe commun reconnu en clinique. Cependant, cette dysfonction est surtout connue pour sa composante vasculaire. C'est notamment grâce à l'amélioration du monitoring hémodynamique et échocardiographique de ces patients atteints de sepsis, que l'ampleur de la dysfonction myocardique a fait son apparition, et ce, malgré sa découverte en recherche fondamentale il y a plusieurs années. Cette dysfonction myocardique est caractérisée par ses effets aigus, c'est-à-dire étant de courte durée (environ 24 à 48 heures) et hautement létale (à plus de 70%)(Romero-Bermejo *et al.*, 2011). À ce jour, peu de traitements se sont avérés efficaces afin de renverser cet état, les thérapies offertes servant davantage à titre de support de la fonction cardiovasculaire plutôt qu'à titre curatif. Parmi ceux-ci, la réanimation liquidienne a récemment montré des impacts directs sur la fonction cardiaque. Cependant, la plupart des études relatant ces faits se sont attardées majoritairement ou n'ont pas fait abstraction de la capacité de remplissage des liquides utilisés. L'exclusion de cette composante de remplissage vasculaire de la réanimation liquidienne et l'étude des impacts tissulaires et moléculaires myocardiques de ces liquides, contribuent au caractère original de la recherche présentée dans ce document.

L'hypothèse principale de cette étude se définit ainsi : une perfusion isovolémique de liquides de réanimation, dépendamment du liquide choisi, peut induire des impacts distincts sur l'activité moléculaire, sur la structure ainsi que sur la fonction myocardique, à la suite d'une agression à l'endotoxine.

Ce mémoire présentera les bases de cette hypothèse dans le chapitre 1, énonçant les définitions et les fondements physiologiques et cliniques des acteurs clés du sepsis, de la réponse inflammatoire/anti-inflammatoire ainsi que de la dysfonction vasculaire, organique et myocardique. Cela permettra dans un deuxième temps, au chapitre 2, de bien exposer les différentes indications des voies thérapeutiques, en plus de présenter leurs effets distincts connus, dont ceux des liquides de réanimation sur la dysfonction myocardique septique.

CHAPITRE 1

1.1 LE SEPSIS

Le sepsis est un état pathologique où le système de défense immunitaire répond inadéquatement à une agression. Il représente l'une des causes les plus fréquentes d'admission aux soins intensifs (Alberti *et al.*, 2002; Linde-Zwirble et Angus, 2004; Rodriguez *et al.*, 2011). Son taux de mortalité, très élevé, varie entre 25 % et 70 % pour les patients aux soins intensifs (Angus *et al.*, 2001; Russell, 2006; Shiramizo *et al.*, 2011) et représente en soi des sommes faramineuses en coûts de traitement (Vincent *et al.*, 2006). Malgré de nouvelles voies moléculaires émergentes pour le traitement du sepsis, il en demeure qu'une réanimation liquidienne adéquate jumelée à un traitement antibiotique (lorsque nécessaire) est essentielle afin de favoriser un bon pronostic chez les patients dont l'état est critique (Dellinger *et al.*, 2004). Même si l'on utilise depuis des décennies, voire même des siècles, des liquides de réanimation tels que les cristalloïdes et les colloïdes, on en connaît toujours peu sur les effets directs de ceux-ci sur les organes indépendamment de leurs effets engendrés par le remplissage vasculaire, auquel on a consacré de nombreuses études. Il serait donc primordial d'approfondir et de quantifier les impacts moléculaires de ces liquides de réanimation sur les organes, en particulier sur le cœur, qui joue un rôle majeur dans le choc septique. On pourrait ainsi optimiser ou restreindre leur utilisation.

1.2 ÉTIOLOGIE DU SEPSIS INFECTIEUX

Trois principales familles de microorganismes sont à l'origine du sepsis de type infectieux : les bactéries à gram négatif les bactéries à gram positif et les champignons (ici, en ordre décroissant d'incidence). Bien que très peu fréquentes, certaines évidences rapportent que le sepsis pourrait aussi être d'origine virale (Stewart *et al.*, 1997; Riediger *et al.*, 2009; Steinberg *et al.*, 2012). De plus, une combinaison de plusieurs micro-organismes peut aussi engendrer des sepsis d'origine dite mixte. Bien que la tendance actuelle tende vers une augmentation, voire une dominance des infections à gram positif, celles à gram négatif forment toujours l'une des principales sources d'infection en ce qui a trait à l'importance et à la virulence. Parmi les infections à gram négatif les plus communes, on y retrouve celle à l'*Escherichia coli* (Fonseca-

Maldonado *et al.*, 2012; Negrao *et al.*, 2012). Les lipopolysaccharides (LPS) sur les membranes de l'*Escherichia coli* sont largement utilisés, dans de multiples modèles animaux, comme endotoxines afin de mimer une infection à gram négatif, dont exhaustivement dans des modèles murins mimant le sepsis (Shanmugam *et al.*, 2012). Pour ce qui est des sites ou des voies d'inoculation chez l'humain, les principaux sites d'infection responsables de bactériémie et de sepsis sont, en ordre décroissant d'incidence, l'abdomen, les voies respiratoires, le sang, les plaies et les voies urinaires. De plus, près de 60 % des patients en sepsis sévère auront plus d'un site d'infection (Cheng *et al.*, 2007).

1.3 DÉFINITION DU SEPSIS

Le sepsis a été décrit de multiples façons depuis l'antiquité grecque (Gastinel et Reilly, 1948; Geroulanos et Douka, 2006), mais ce n'est qu'en 1992 qu'un panel d'experts de l'*American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM)* a émis un consensus clair sur la définition clinique du syndrome septique, ce qui a permis de caractériser les différentes étapes de la réponse inflammatoire associée, ainsi que de différencier les causes infectieuses des non infectieuses (Muckart et Bhagwanjee, 1997; Angus *et al.*, 2001; Russell, 2006) (Voir tableau 1).

| | |
|----------------------|---|
| SIRS ou SRIS | Au moins 2 des anomalies suivantes : <ul style="list-style-type: none"> - température > 38 °C ou < 36 °C - fréquence cardiaque > 90/min - fréquence respiratoire > 20/min ou PaCO₂ < 32 mmHg - leucocytose > 12 000/mm³ ou < 4 000/mm³ ou > 10 % de cellules immatures |
| Sepsis | SIRS associé à une infection documentée |
| Sepsis sévère | Sepsis et dysfonction d'au moins un organe : Hypotension (tension artérielle systolique < 90 mmHg ou réduction d'au moins 40 mmHg des chiffres habituels en l'absence d'autre cause d'hypotension), acidose lactique, oligurie, encéphalopathie aiguë, hypoxémie inexpliquée, coagulopathie |
| Choc septique | Sepsis sévère et hypotension persistante, malgré un remplissage vasculaire adéquat et/ou une nécessité de médicaments inotropes ou vasoactifs |
| MODS ou SDMO | Altération des fonctions de plus d'un organe chez le patient malade, rendant le maintien homéostasique impossible sans intervention |

Tableau 1. Définitions du sepsis selon l'ACCP/SCCM

Traduction libre tirée de : (Bone *et al.*, 1992). Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) ou syndrome à réponse inflammatoire systémique (SRIS), Multiple organ dysfunction syndrome (MODS) ou Syndrome de dysfonction multiorganique (SDMO).

1.4 LA RÉPONSE INFLAMMATOIRE DANS LE SEPSIS ENDOTOXINIQUE

1.4.1 INITIATION ET SIGNALISATION CELLULAIRE PAR L'ENDOTOXINE

Dans un premier temps, pour qu'il y ait une réponse pro-inflammatoire chez l'hôte, il faut la présence d'un nombre suffisant de molécules infectieuses, comme de l'endotoxine (ici mimé par du LPS). Plus spécifiquement, les molécules d'endotoxine entraîneront de nombreuses cascades de signalisation via l'activation de récepteurs transmembranaires de type « Toll-like » (TLR), dont principalement le TLR-4, faisant partie de la famille des « pattern recognition receptors » (PRR). Les TLR-4 sont produits et exprimés, entre autres, par les macrophages, les monocytes, les mastocytes, les lymphocytes B et les cellules dendritiques. Les TLR-4 sont jumelés à une protéine coréceptrice MD2, ce qui leur permet de reconnaître le LPS comme ligand. Dans ce même complexe, on retrouve la protéine CD14 ainsi que des protéines liant le LPS (LPS Binding Protein, LPB), qui facilitent la présentation du LPS à la MD2. Une fois le TLR activé, son domaine intracellulaire recrutera des molécules adaptatrices, soit MyD88, TIRAP (aussi appelées MAL), TRIF et TRAM. La transmission intracellulaire se poursuit

ensuite via l'activation d'autres molécules, telles que les protéines kinases (comprenant IRAK1, IRAK4, TBK1 et IKKi), ce qui conduira à l'activation de facteurs de transcriptions nucléaires (dont NF- κ B, AP-1, IRF3 et IRF5). À l'intérieur du noyau, l'induction ou la suppression de différents gènes entraîneront la libération de cytokines pro-inflammatoires (dont font partie le TNF- α , le IL-1 α - β , le IL-6 et le IL-8), de chimiokines MCP-1 et MIP1- α , d'interférons- γ , de réactifs de l'oxygène intermédiaires (ROI) et de l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS). Ceux-ci sont principalement fabriqués par les macrophages, par les monocytes, par les neutrophiles, par les lymphocytes T et/ou par des cellules « natural killer » (NK), qui entraîneront à leur tour une multitude de cascades de réponse immunitaire (Lu *et al.*, 2008; Marshall, 2010; Takeuchi et Akira, 2010; Wiersinga, 2011; Seeley *et al.*, 2012). Relâché par les macrophages dans le sepsis, le facteur d'inhibition des macrophages (« macrophage inhibitory factor » ou MIF), une cytokine largement sécrétée lors de l'inflammation, augmente aussi cette réaction via une régulation à la hausse des récepteurs TLR-4 (Roger *et al.*, 2001; Roger *et al.*, 2003; Wiersinga, 2011) (Voir Figure 1).

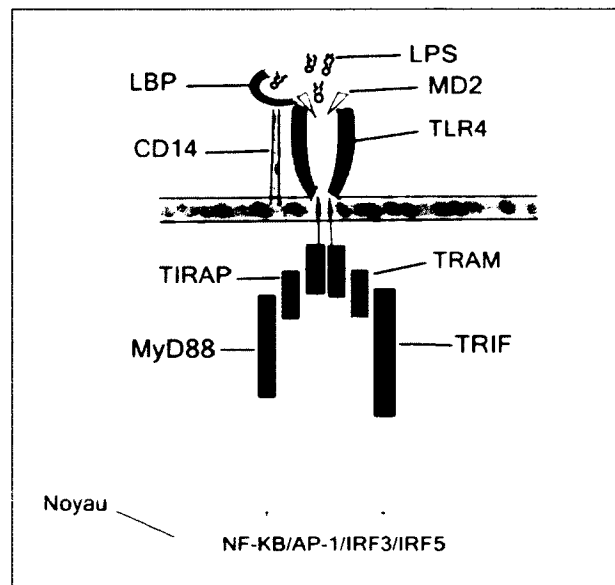


Figure 1 : Signalisations initiées via l'activation du récepteur TLR4 par le LPS

Légende : AP = « activator protein », IRF = « interferon regulatory factor », LBP = « LPS binding protein », LPS = lipopolysaccharides, NF: « nuclear factor », TIRAP = « TIR domain-containing adaptor protein », TLR = « Toll-like receptor », TRAM = « TRIF-related adaptor molecule », TRIF = « TIR domain-containing adaptor protein inducing interferon β ».

Les TLR4 peuvent aussi former des domaines avec des récepteurs interleukines (ILR) tel que l'IL-1R, formant ainsi un super récepteur (TLR4/IL-1R) pouvant être activé par son ligand, l'IL-1 β (une cytokine pro-inflammatoire). Par conséquent, les cascades intracellulaires activées par le TLR4 pourraient aussi être initiées directement par l'IL-1 β , sans la présence de LPS, embrasant ainsi la réaction inflammatoire (Blanco *et al.*, 2005).

En bref, l'activation de ces récepteurs TLR-4 initie de multiples voies de signalisations intracellulaires qui mèneront, entre autres, à la production de cytokines ayant à leur tour de multiples impacts sur les cellules qu'elles atteindront.

1.4.2 IMPACTS EXTRACELLULAIRES DE L'ENDOTOXINE

À la suite de l'agression primaire par une endotoxine, les cellules sentinelles de l'hôte, principalement les macrophages et les monocytes, activent le processus inflammatoire au moyen de nombreuses cytokines. Simultanément et dans un second plan, l'invasion de l'infection résulte en la lyse de la matrice extracellulaire (MEC), de cellules (par exemple endothéliales) et de microvaisseaux. Ces différentes cellules, en libérant ainsi leur contenu riche en protéines cytoplasmiques, électrolytes et collagène, perturbent l'équilibre osmotique et oncotique local, pour en définitive promouvoir l'extravasation de liquide, voire de sang. Cette migration de liquide contribue donc à l'œdème tissulaire en nuisant à la « respiration » cellulaire (entraînant de l'hypoxie et de l'anaérobie par une mauvaise diffusion ou un ralentissement des échanges tissulaires/cellulaires) et en promouvant la migration d'autres substances, molécules et cellules pro-inflammatoires (par chimio attraction). Par ailleurs, plusieurs facteurs libérés par la MEC stimulent le roulement, l'adhésion et l'infiltration des neutrophiles et leucocytes polymorphonucléaires (Jannat *et al.*, 2010; Reddy et Standiford, 2010; Kovach et Standiford, 2012), ce qui a aussi comme effet d'accentuer cette réaction inflammatoire. Les parois endothéliales des vaisseaux sanguins étant les premiers obstacles que rencontrent les globules blancs dans leur migration vers les autres tissus, font que ceux-ci sont gravement atteints et deviennent rapidement dysfonctionnels.

1.4.3 DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE ET VASOPLÉGIE DANS LE SEPSIS

Étant donné les interactions étroites entre les vaisseaux sanguins et le cœur, plus particulièrement dans la dysfonction endothéliale, la vasoplégie et la dysfonction myocardique dans le sepsis, une attention particulière sera portée dans ce mémoire sur les mécaniques des atteintes vasculaires encourues au cours du sepsis.

Lors du sepsis endotoxinique, la stimulation des récepteurs TLR des cellules endothéliales mène à une régulation à la hausse des promoteurs de roulement, d'adhésion et de migration des leucocytes E-sélectine, P-sélectine, ICAM-1 et VCAM-1. Cette stimulation augmentera aussi la production de cytokines interféron- α (IFN- α), interféron- γ (IFN- γ), IL-6 et chimiokines ligantes telles que CCL2 (« C-C motif chemokine ligand 2 »), CCL3 et CCL5 (Teijaro *et al.*, 2011). Cette modification du tissu endothélial favorisera l'inflammation locale grâce à une infiltration leucocytaire accrue médiée par TNF- α et IL-1 β . La stimulation par l'endotoxine des cellules endothéliales aura aussi comme effet de promouvoir un état intravasculaire procoagulant en diminuant la sécrétion de thrombomoduline, d'activateur plasminogène tissulaire (« tissue plasminogen activator » ou tPA) et d'héparine, en plus d'augmenter l'expression de facteur tissulaire et d'inhibiteur de l'activateur du plasminogène (« plasminogen activator inhibitor » ou PAI-1) (Kovach et Standiford, 2012; Seeley *et al.*, 2012).

Le stress inflammatoire cytokinique et endotoxinique subi par les cellules endothéliales et musculaires lisses vasculaires peut mener celles-ci à une dysfonction (perturbant ainsi leurs habiletés physiologiques), au stress oxydatif, à l'apoptose ou à la lyse. La dysfonction endothéliale accentue la perméabilité microvasculaire augmentant la migration (de liquides, de leucocytes, etc.) et, par le fait même, l'œdème. Quant à la vasoplégie dans le sepsis, elle se produirait en conséquence de plusieurs événements : lors d'une augmentation du NO (oxyde nitrique), lors de la formation de peroxynitrites, lors d'une production augmentée de prostacyclines (PGI₂), lors de l'ouverture de canaux potassiques ATP-dépendants des muscles lisses, lors d'un déficit en vasopressine ou lors d'une induction de l'indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO). Tous ces événements résulteront alors en une vasorelaxation causée par une réduction du calcium cytosolique dans les muscles lisses périvasculaires. (Jeanneret *et al.*, 2011) Bien que plusieurs controverses subsistent concernant la compréhension de ces phénomènes, ils sont

considérés comme des maillons importants menant à la dysfonction cellulaire et organique ainsi qu'au choc septique.

Bien que le sepsis et l'inflammation entraînent la libération de nombreuses molécules vasoactives, principalement vasorelaxantes en phase de choc (tels que les prostacyclines, les histamines, les leucotriènes et les anaphylatoxines), c'est la production de NO, une molécule pro-oxydante à haute concentration, qui serait responsable de la relaxation des muscles lisses périvasculaires. Ce sont les effets de l'inflammation, plus particulièrement des cytokines (entre autres des interférons- $\alpha\beta$) et de l'hypoxie, surajoutés à ceux de l'endotoxine, qui seraient à l'origine de la régulation à la hausse de la NO synthase inductible (inductible nitric oxide synthetase ou iNOS ou NOS-2). Cette hausse fulgurante et disproportionnée d'iNOS dans le choc septique aurait aussi un effet de contre-régulation sur la NO synthase endothéliale (eNOS ou NOS-3 ou cNOS) et sur la NO synthase neuronale (NOS-1 ou nNOS), elles-mêmes impliquées dans la vasomotricité basale. Par ailleurs, un effet de contre-régulation d'iNOS par l'expression d'eNOS aurait récemment été observé dans ce même contexte de vasoplégie septique. Il est à noter que le NO est produit à bas niveau à l'état basal de façon quasi ubiquitaire dans les cellules et les tissus, entre autres au niveau des cardiomyocytes. En plus de ses effets vasoactifs par l'activation de la guanylyl cyclase/GMP cyclique, le NO possède de multiples effets : il agit sur les plaquettes en fonction de sa concentration (inhibition des plaquettes à haute concentration), il agit comme neurotransmetteur ou comme promoteur hormonal, il affecte la croissance cellulaire, il inhibe la respiration mitochondriale, il cause des dommages aux noyaux cellulaires et il génère des radicaux libres toxiques, tout en pouvant circonscrire certains radicaux libres de l'oxygène (Voir Figure 9). (Broccard *et al.*, 2000; Salvemini et Cuzzocrea, 2002; De Cruz *et al.*, 2009; Araujo *et al.*, 2012). Ces nombreuses propriétés du NO lui confèrent donc un rôle néfaste, tant au niveau systémique que cellulaire, et ce, malgré certains effets positifs cardiaques lors du sepsis précoce.

Malgré la découverte, il y a plusieurs années, de sources majeures de production de superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) intracellulaires (c'est-à-dire de l'oxydase dépendante de la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate [NADPH], de la cyclooxygénase-2 (COX-2), de la xanthine oxydase et de la chaîne de transfert des électrons mitochondriaux) les mécanismes de production sous-jacents ou alternatifs, ainsi que leurs implications dans la dysfonction vasculaire septique,

ne sont pas complètement élucidés. Le niveau local de superoxydes créés par les mitochondries du tissu périvasculaire septique, se détermine par divers aspects : sa vitesse de formation grâce à plusieurs oxydases, ses processus d'autooxydation, sa vitesse de retrait engendrée par les superoxydes dismutases (SOD) et sa réaction avec diverses autres molécules. C'est grâce à leur charge anionique que les superoxydes utilisent les canaux ioniques afin de se transporter de part et d'autre des membranes biologiques, ce processus augmentant de façon considérable leur potentiel de réactivité avec d'autres molécules.

La production de superoxydes par l'oxydation de la NADH, crée aussi comme sous-produit du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) : les superoxydes réagissant entre eux forment du peroxyde d'hydrogène. De plus, il existe trois formes de superoxydes dismutases favorisant la formation de peroxyde d'hydrogène : la première étant le cuivre-zinc superoxyde dismutase cytosolique (Cu-Zn-SOD), la deuxième; le manganèse superoxyde dismutase mitochondriale (Mn-SOD) et finalement; une forme de Cu-Zn-SOD formé par les cellules musculaires lisses artérielles. Dans les muscles lisses vasculaires, le peroxyde d'hydrogène réagit avec la catalase endogène, produisant du composé I (« compound I »), qui contribue par la suite à la vasodilatation grâce à l'activation de la guanylyl cyclase soluble et à l'augmentation de la GMP cyclique et de la protéine kinase G (PKG). De plus, le peroxyde d'hydrogène est reconnu pour activer la cascade intracellulaire résultant en la libération de NF- κ B médiée en partie au moyen des I κ B (Wolin *et al.*, 2002; Ritter *et al.*, 2003; Kussmaul et Hirst, 2006; Yu *et al.*, 2006; Drose et Brandt, 2008; Andrades *et al.*, 2011; Gotes *et al.*, 2012; Shimada *et al.*, 2012). Étant des anions relativement instables, les superoxydes forment aussi spontanément des peroxynitrites (ONOO-) lorsqu'ils sont en réaction avec le NO (Voir Figure 2). En effet, le NO réagit trois fois plus rapidement avec les superoxydes que lors de la réaction avec les SOD, il est donc un important fixateur des superoxydes. Ces molécules de peroxynitrite ont un effet sur la vasodilatation en agissant sur un autre front, soit l'inhibition et la suppression des récepteurs catécholaminergiques des muscles lisses vasculaires via l'inhibition mitochondriale et par l'activation de la poly adénosine diphosphate-ribose (ADP-ribose) polymérase (PARP). Ces peroxynitrites provoquent aussi une ouverture des canaux potassiques ATP-dépendants (K_{ATP}) de ces muscles lisses, ce qui s'ajoute aux effets vasculaires déjà présents, causant une hyper relaxation. Il faut noter que les canaux K_{ATP} peuvent aussi s'ouvrir sous l'effet d'une déplétion

d'ATP, d'une hypoxie ou d'une hyperlactatémie (Jeanneret *et al.*, 2011). Plus encore, les peroxynitrites causent directement des dommages endothéliaux étant capables d'inhiber des enzymes et des fonctions membranaires, entre autres par des effets nitroactifs et par l'activation de PARP. Cependant, les peroxynitrites ont la propriété de réduire la quantité de peroxyde d'hydrogène, ce qui leur confère un rôle potentiellement bénéfique dans le sepsis (Szabo et Modis, 2010; Andrades *et al.*, 2011; Jeanneret *et al.*, 2011).

Dans le sepsis, l'expression de la COX-2, stimulée par des médiateurs inflammatoires, entraîne la formation excessive de prostacyclines (PGI₂). C'est via l'activation de l'adénylyl cyclase, qui augmente l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) dans les cellules musculaires lisses, que les PGI₂ contribuent à cette vasoplégie. De plus, une interrelation subsisterait entre le NO et la PGI₂, proposée comme étant un mécanisme compensatoire s'assurant qu'une de ces molécules soit produite lorsque l'autre y est en faible quantité (Araujo *et al.*, 2011; Jeanneret *et al.*, 2011).

Production de réactifs de l'oxygène et de l'azote dans la vasoplégie septique

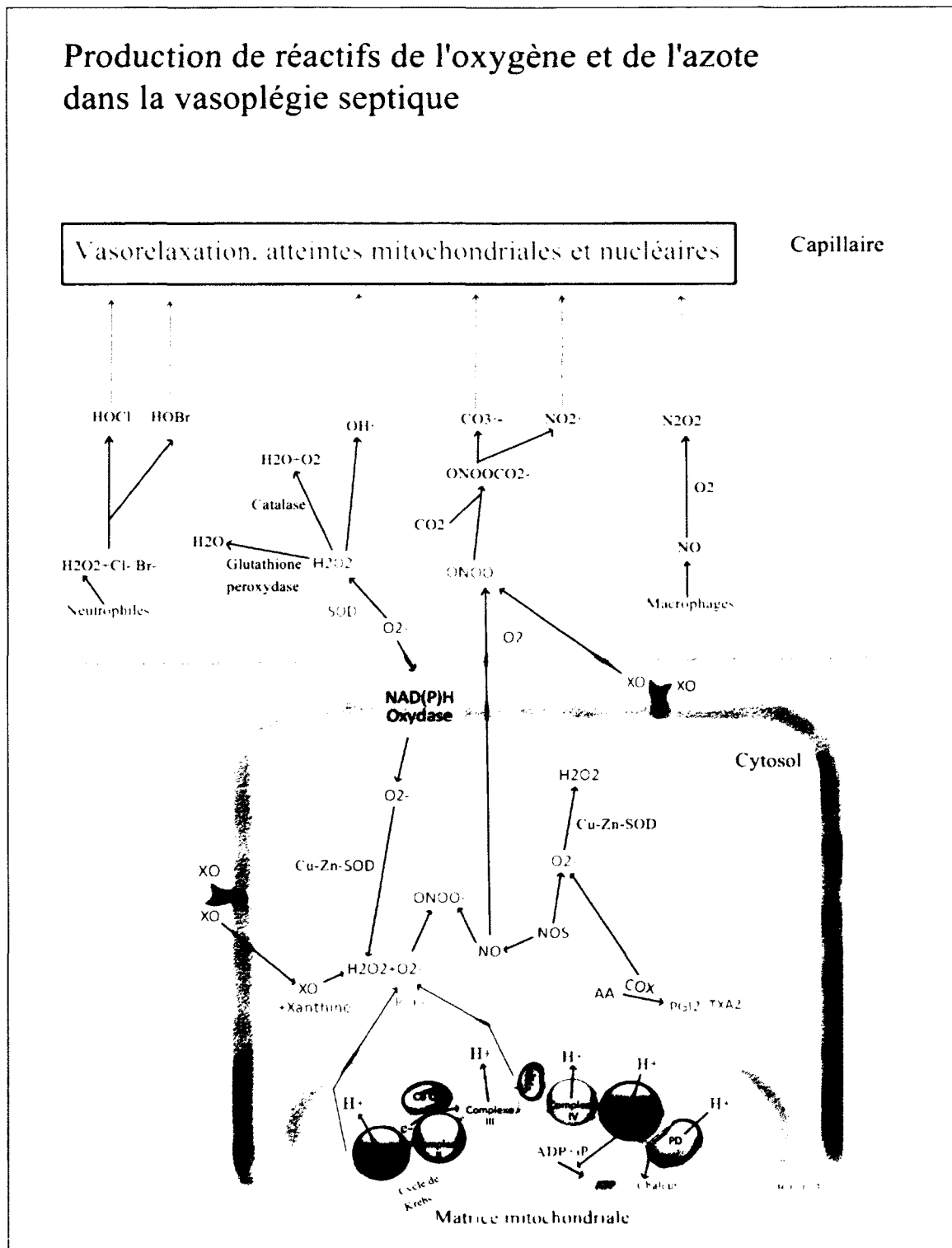


Figure 2 : Production de réactifs de l'oxygène et de l'azote dans la vasoplégie septique

Légende : AA = acide arachidonique, ADP = adénosine di-phosphate, Co Q = Coenzyme Q, Cyt c = cytochrome C, COX = cyclooxygénase, NAD(P)H oxydase = nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit, NOS = NO synthase, PD = pyruvate dehydrogénase, P = phosphate, PG = prostaglandine, ROS = « Reactive oxygen species », SOD = superoxyde dismutase, TX = thromboxane, XO = oxydase de la xanthine.

Aussi associé et induit par le stress oxydatif, l'hème oxygénase-1 (appelé également HO-1, « heat-shock protein-32 » ou HSP-32) pourrait contribuer à la vasodilatation dans le choc septique, cependant cette propriété de l'HO-1 est contestée dans la littérature. Cette enzyme, qui a comme première fonction de catalyser la dégradation de l'hème en biliverdine (un précurseur de la bilirubine connu pour être potentiellement un antioxydant), produit aussi comme sous-produit du monoxyde de carbone (CO) et du fer. La molécule de CO partage de nombreuses similarités avec le NO, comme son habileté à augmenter les niveaux de GMPc, promouvant ainsi la vasodilatation. Cependant, plusieurs évidences montrent que le CO, malgré ses effets toxiques, stimulerait la production de COX et contribuerait à diminuer la production de cytokines pro-inflammatoires ; à l'aide de la voie de signalisation dépendante de MAPK. Plus encore, l'HO-1 pourrait avoir un rôle de rétroaction dans la signalisation de l'eNOS/NO, régulant ainsi la dilatation artérielle. D'autres rôles de l'HO-1 consisteraient à réduire la production de peroxyde d'hydrogène par l'hème (en dégradant celui-ci) et à agir comme gène protecteur grâce à ses effets anti-inflammatoires, anti-apoptotiques et antiprolifératifs. Ces phénomènes sont largement présents dans les cellules épithéliales, endothéliales, des muscles lisses, ainsi que dans d'autres types de cellules, tels les cardiomyocytes. Il a été démontré que le LPS, l'interleukine-1 β , au moins un ou plusieurs kinases (la protéine kinase C (PKC), la protéine kinase A (PKA), le phosphatidyl inositol 3 kinase (PI3K) et la MAPK) et/ou un des facteurs de transcription (l'activateur protéinique 1 (AP-1), le « nuclear factor E2-related factor » (Nrf2), la « cyclic adenosine monophosphate-responsive element-binding protein » (CREB), la biliverdine réductase (BVR), le facteur de transcription 2 (ATF2) et la NF- κ B) induisent l'expression de l'HO-1, entre autres dans l'endotoxémie (Wiesel *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2003; Perrella et Yet, 2003; Furuichi *et al.*, 2009; Chan *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2011; Haines *et al.*, 2012). Le rôle de l'HO-1 dans la vasoplégie septique reste donc partagé, mais sa contribution procure certainement une résistance au stress oxydatif.

Toujours au cours du sepsis, une utilisation excessive des réserves et un dysfonctionnement de la production d'arginine vasopressine (d'origine inconnue), en plus d'autres causes inconnues, créent un déficit de cette hormone de stress; hormone sécrétée par l'hypothalamus et stockée dans la neurohypophyse. Cette baisse de vasopressine provoque une diminution de la vasoconstriction normalement médiée par les récepteurs V1a des cellules musculaires lisses. De plus, en se retrouvant en quantité insuffisante, sa capacité d'inhiber les

canaux K_{ATP} ainsi que de produire du NO y est réduite, voire absente, le tout contribuant à la vasoplégie dans le choc septique (ou endotoxinique) (Petersen, 2006; Kotsovolis et Kallaras, 2010; Jeanneret *et al.*, 2011; Russell, 2011).

Finalement, le dernier maillon majeur dans la vasoplégie inflammatoire et septique impliquerait le catabolisme de l'amino-acide tryptophane (Trp) en kynurénine (Kyn) par l'induction de l'enzyme indoleamine 2,3-dioxygénase 1 (IDO). L'IDO partage de nombreuses similarités avec la molécule d'iNOS, dont la propriété d'être des enzymes inductibles et ayant des actions antimicrobiennes et anti-tumorales, en plus de contribuer à la régulation du tonus vasculaire. L'IDO serait produite de façon basale par les monocytes du sang en périphérie, dans les cellules endothéliales ainsi que dans d'autres cellules, et son activité corrèlerait avec la sévérité du sepsis. L'origine de cette hausse d'activité n'est pas complètement connue. Cependant, étant donné que son activité est modulée par le niveau d'oxydoréduction et que dans le sepsis le métabolisme oxydatif des neutrophiles et monocytes est augmenté, cela représente une origine probable. Mais encore, de plus en plus d'études soumettent l'hypothèse que l'INF- γ ainsi que IL-10, deux promoteurs importants dans le sepsis, seraient associés ou pourraient contribuer directement à cette hausse d'activité de l'IDO. Quant à son produit dérivé, la kynurénine, son action sur les cellules musculaires lisses vasculaires serait médiée par les voies dépendantes de l'AMP cyclique et les voies indépendantes de la PKA (Tattevin *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2010; Changsirivathanathamrong *et al.*, 2011; Darcy *et al.*, 2011).

En résumé, les effets de l'inflammation et du sepsis sont importants et affectent directement la fonction vasculaire à plusieurs niveaux, contribuant ainsi grandement à la dysfonction organique, dont la dysfonction cardiaque; le cœur étant un organe très vascularisé et dépendant de la l'apport sanguin. En rajoutant à cet état la formation de microthrombus causé par les coagulopathies engendrées par la réponse inflammatoire septique, on accentue l'hypoperfusion et l'hypoxie tissulaire initiées par la dysfonction vasculaire.

1.4.4 SYSTÈMES DE COAGULATION ET DU COMPLÈMENT DANS L'INFLAMMATION

L'endotoxine locale peut activer directement les plaquettes au moyen des récepteurs TLR-4 qu'elles exposent, ce qui entraînera la libération de protéines microbicides plaquettaires (« platelet microbicidal proteins » ou PMPs), incluant les kinocidines et les thrombocidines contenues dans les granules plaquettaires. Cependant, dans l'inflammation, il n'y a pas que les molécules et les cellules circulant dans le sang qui peuvent avoir des impacts sur la coagulation. En effet, il subsiste une communication moléculaire s'effectuant du milieu extravasculaire vers le milieu intravasculaire. D'une part, il y a la stimulation endothéliale par l'endotoxine qui engendre des effets sur la coagulation. D'autre part, le collagène exposé par la lyse cellulaire périvasculaire (par exemple, celui des cellules apoptotiques) a pour effet, grâce à l'adénosine diphosphate (ADP), d'activer et de favoriser l'agrégat de plaquettes dans la lumière des vaisseaux sanguins. Également, l'activation des plaquettes augmentera la production de TNF- α et leur fera sécréter de l'IL-1 β et de la thromboxane A₂, agissant entre autres sur l'activité bactéricide des neutrophiles (Seeley *et al.*, 2012). De plus, la cascade de coagulation (spécifiquement le facteur XII) sera aussi activée au contact des tissus exposés et de ces plaquettes actives (Oehmcke et Herwald, 2010). Même sans lyse cellulaire, la production de différentes espèces de réactifs de l'oxygène (par les cellules ischémiques, hypoperfusées ou dysfonctionnelles) contribuerait à la coagulation intravasculaire disséminée, au moyen d'altérations dans les voies de signalisations du Ca²⁺ au niveau des cellules endothéliales et des muscles lisses vasculaires (Salvemini et Cuzzocrea, 2002) (Voir Figure 3).

Le facteur d'activation plaquettaire (« Platelet activating factor » ou PAF) est aussi sollicité et jouerait un rôle déterminant dans la réaction inflammatoire septique. Au cours du sepsis, sa voie de signalisation activerait les neutrophiles (polymorphonucléaires), les monocytes et les plaquettes. Le PAF modulerait l'interaction endothéliale-leucocytaire, plaquettaire-endothéliale et plaquettaire-leucocytaire, contribuant ainsi à la pathogenèse du sepsis. De plus, il semble y avoir des liens très étroits entre le PAF et les cascades de signalisation du TNF- α , ainsi que de l'IL-1, en plus d'avoir des interactions avec le récepteur TLR-4 (Yost *et al.*, 2010) (Voir Figure 3).

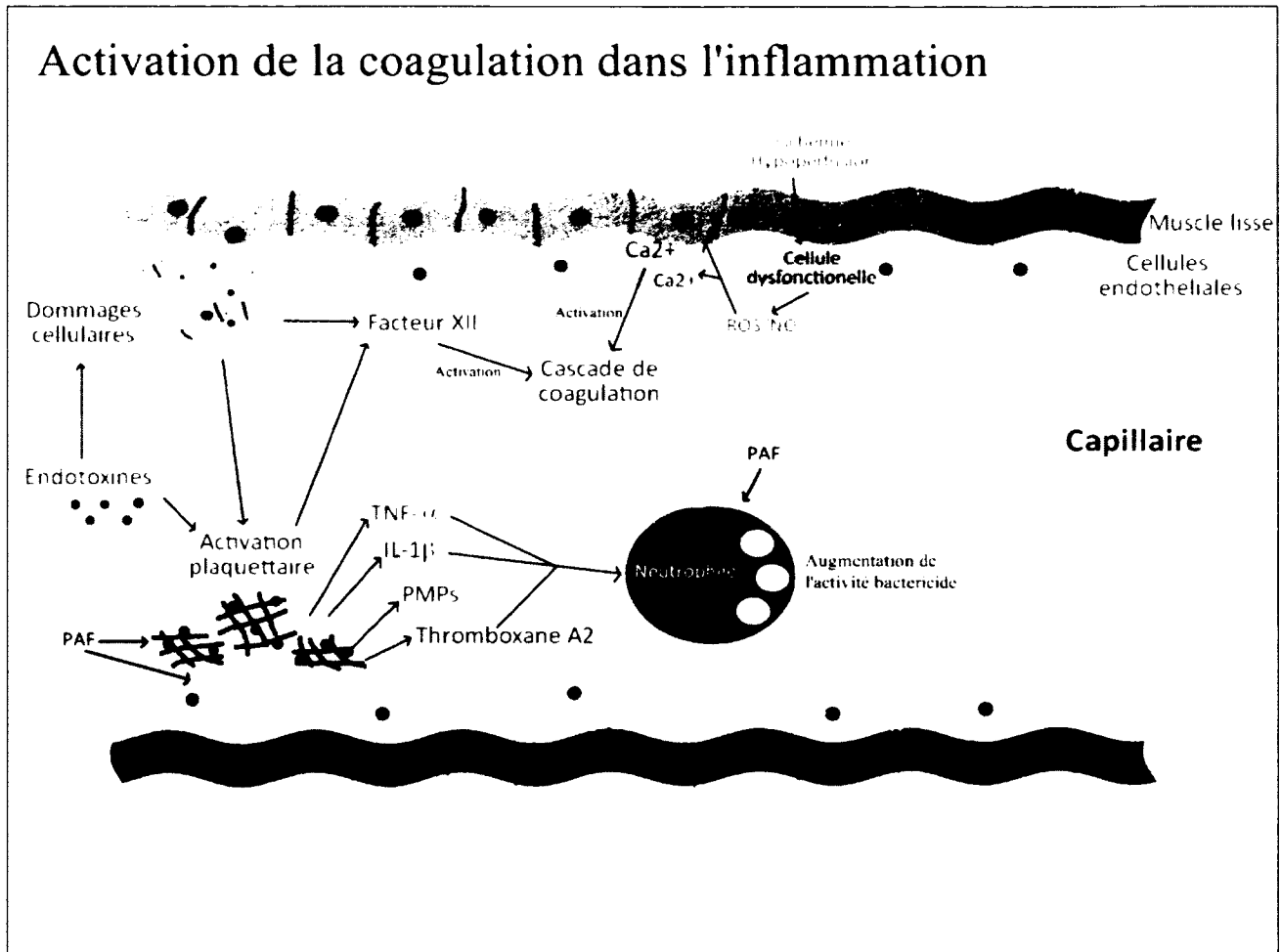


Figure 3 : Activation de la coagulation dans l'inflammation

Légende : IL = interleukine, PAF = « Platelet activating factor », PMPs = « platelet microbicidal proteins », ROS = « Reactive oxygen species », TNF = « tumor necrosis factor ».

Pour ajouter à cet état procoagulant lors du sepsis, il existe une carence en protéine C (PC). En effet, la production par le foie de cette protéine aux effets anticoagulants est diminuée, et ce, malgré une augmentation de sa consommation (pas de rétroaction positive augmentant sa production). Sa forme activ e (PCa) en est aussi diminuée, à cause d'une baisse de production de la thrombomoduline endothéliale, un résultat direct de l'effet de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α (LaRosa *et al.*, 2006; Danese *et al.*, 2010; van der Poll *et al.*, 2011). De ce fait, la PCa étant en quantité insuffisante, elle ne peut pas avoir ses effets cytoprotecteurs induits par le clivage du récepteur protéase activ e 1 (PAR-1). Le PAR-1 étant lui-même cytoprotecteur via le récepteur phosphate sphingosine 1 (S1P1) (Van der Poll et Levi, 2012).  troitement li e

à la protéine C, la protéine S est une modulatrice endothéliale dépendante de la vitamine K et a comme principal rôle l'augmentation de l'activité de la protéine C activée. Elle est aussi affectée par le sepsis pour les mêmes raisons, soit une diminution de production, une augmentation de consommation et une inhibition de son activité (LaRosa *et al.*, 2006) (Voir Figure 4)

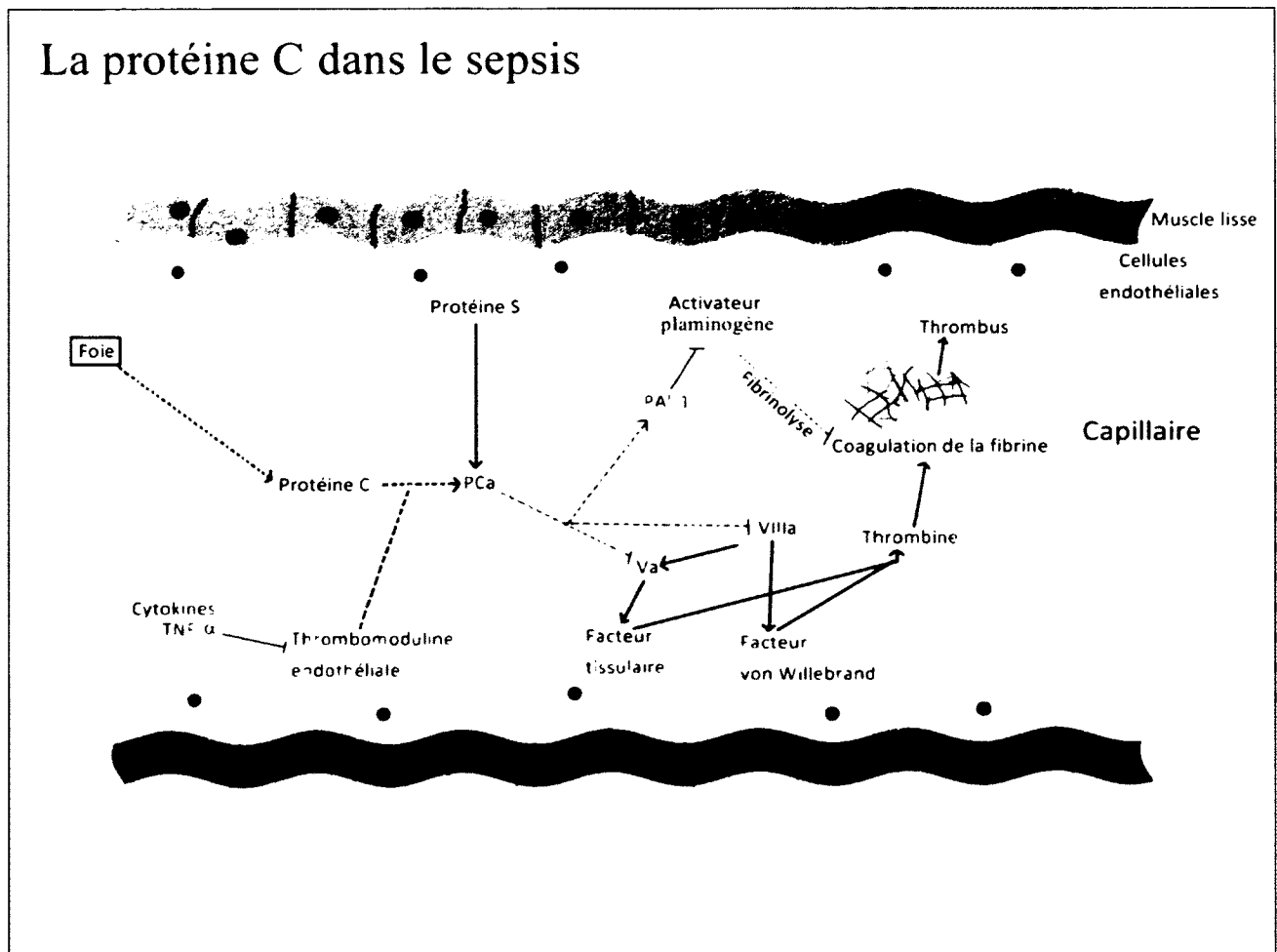


Figure 4 : La protéine C dans le sepsis

Légende : PCa = protéine C activé, PAI = « plasminogen activator inhibitor », TNF = « tumor necrosis factor ».

Il subsiste aussi des interactions entre le système du complément et le système de coagulation (activation du système complément par, entre autres, le facteur XIIa), ainsi qu'avec les TLR (rôle synergique avec le système complément). Le système du complément est fortement sollicité au cours du sepsis, ayant comme rôle primaire la destruction des pathogènes et la promotion de la réponse inflammatoire. Il existe essentiellement trois voies d'activation du complément, soit : 1) la voie classique, initiée majoritairement par les complexes antigène-anticorps ; 2) la voie de la lectine, activée par des mannoses contenant des glycoprotéines ou des hydrates de carbone sur la surface des pathogènes ; 3) la voie alternative, déclenchée spontanément par l'activation de la composante C3 du complément par hydrolyse ou par la liaison de la molécule C3b avec des properdines. Toutes ces voies mènent à l'activation de peptidase C3 convertase, promouvant l'opsonisation des pathogènes (via C3b/C4b), l'inflammation (via C3a/C5a) et la perturbation/lyse cellulaire (via les complexes d'attaques membranaires C5b-C9) (Lambris *et al.*, 2008; Schouten *et al.*, 2008; Ward, 2010; van der Poll *et al.*, 2011; Oikonomopoulou *et al.*, 2012; Ward *et al.*, 2012).

En bref, cet état procoagulant favorise la formation de microthrombus, peut contribuer à compromettre la microcirculation, pour, finalement causer de l'hypoperfusion tissulaire et/ou de l'hypoxie.

En définitive, il existe de multiples systèmes complexes attaquant (directement et indirectement) ou signifiant la présence de pathogènes dans l'organisme. Ceux-ci comprenant entre autres le système du complément, le système de coagulation (van der Poll *et al.*, 2011), de multiples cytokines et kinines (bradykinines) (Oehmcke et Herwald, 2010), des alarmines (molécules endogènes signalant des dommages tissulaires/cellulaires, fréquemment associées aux PAMPs ou « pathogen-associated molecular patterns ») (Bianchi, 2007), des interleukines (IL-1,6,8,12), des interféron- γ , des HMGB, des protéases, des prostaglandines, des leucotriènes, des molécules de la MEC, des molécules endothéliales et plusieurs autres molécules, qui jouent des rôles importants en augmentant l'inflammation, la perméabilité vasculaire, ainsi que la mobilisation des neutrophiles et des macrophages (Lee et Liles, 2011; Burke-Gaffney et Evans, 2012). Il existe plusieurs autres molécules, dont la formyl-méthionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP), une molécule chimio-attractante provenant des bactéries, qui modulent aussi la réaction inflammatoire dans le sepsis (Yang *et al.*, 2008).

Ainsi, de façon un peu simpliste, la présence même d'endotoxine et d'une stimulation incontrôlée de ces récepteurs TLR mèneront donc, au moyen de différentes cascades et enchaînements moléculaires complexes, à une réponse inflammatoire disproportionnée, à un stress oxydatif démesuré, à des lésions tissulaires, à des dysfonctionnements vasculaires, à la coagulation et, potentiellement, à des défaillances organiques (Fry, 2012; Semeraro et al., 2012). Les actions plus directes sur le myocarde de ces molécules et cellules pro-inflammatoires extracardiaques seront traitées dans la section Sepsis et dysfonction myocardique : physiopathologie.

Principaux acteurs menant de l'inflammation à la dysfonction organique dans le sepsis

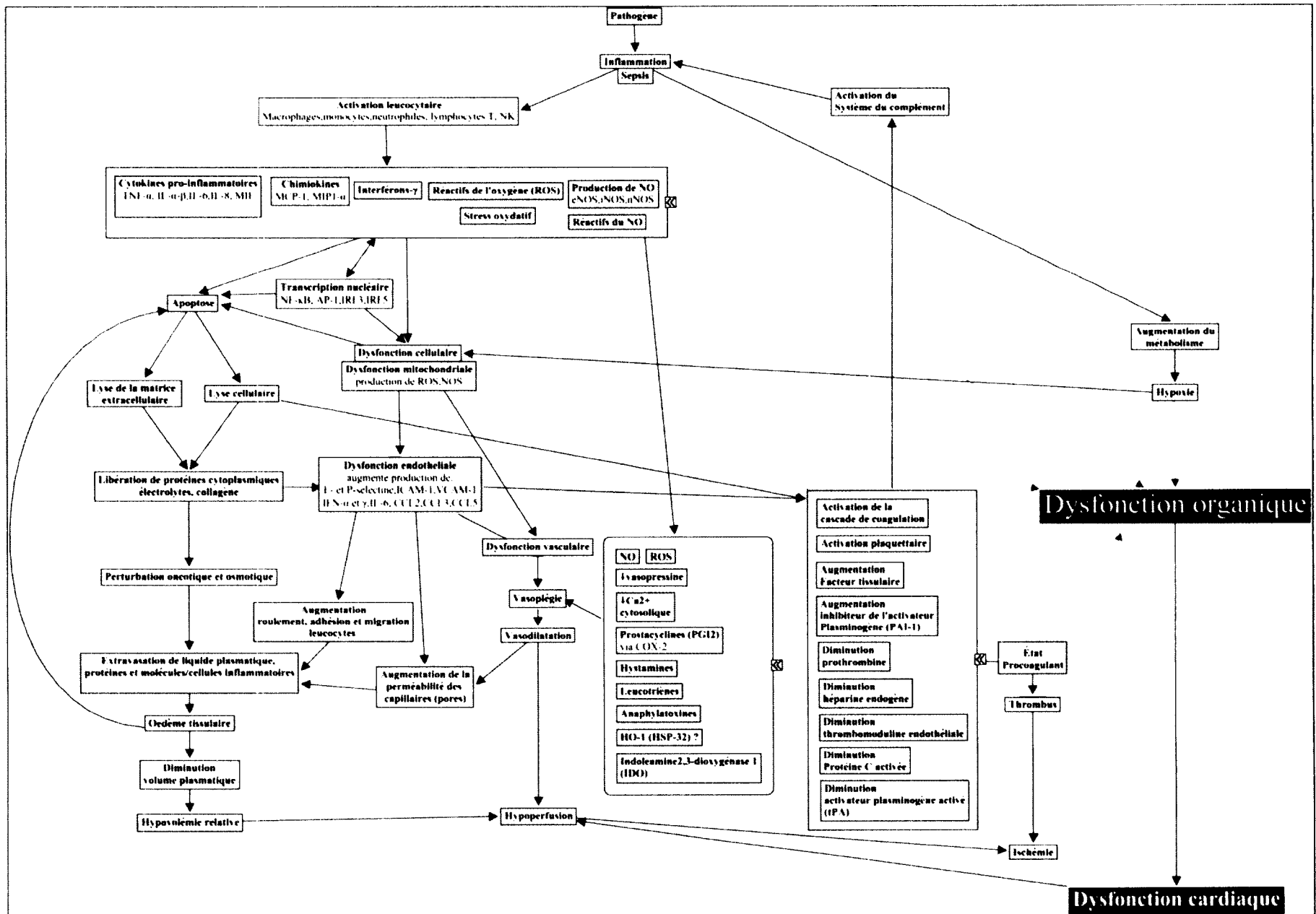


Figure 5 : Principaux acteurs menant de l'inflammation à la dysfonction organique dans le sepsis

Légende : AP = protéine activatrice, CCL = « chemokine C-C (motif) ligand », COX = cyclooxygénase, eNOS = « endothelial NO synthase », HO = hème-oxygénase, HSP = « heat shock protein », ICAM = « intercellular adhesion molecule », IFN = interféron, IL = interleukine, iNOS = « inductible NO synthase », IRF = « interferon regulatory factor », MCP = « monocyte chemotactic proteins », MIF = « macrophage inhibitory factor », MIP = « macrophage inflammatory proteins », NK = « natural killer », nNOS = « neuronal NO synthase », TNF = « tumor necrosis factor », VCAM = « vascular cell adhesion molecule ».

Malgré ces nombreux impacts vasculaires et périvasculaires de la réaction inflammatoire septique, il existe certains mécanismes permettant de rétablir une certaine homéostasie ou, du moins, de tempérer la réaction hyper-inflammatoire.

1.5 LA RÉPONSE ANTI-INFLAMMATOIRE DANS LE SEPSIS ENDOTOXINIQUE

En opposition aux molécules pro-inflammatoires mentionnées précédemment, il existe plusieurs situations, molécules anti-inflammatoires ou voies de sauvegarde qui permettent ou pourraient permettre de régulariser, voire de renverser, la réaction inflammatoire engendrée par l'endotoxine. De prime abord, il est maintenant reconnu qu'une exposition préalable à l'endotoxine ou au LPS aurait des effets protecteurs. Bien que non élucidée, cette tolérance induite inhiberait l'expression de médiateurs pro-inflammatoires en diminuant l'activation d'IRAK4, de p38 et de NF- κ B, ainsi que l'expression des récepteurs TLR4 (Cavaillon *et al.*, 2003; Cavaillon et Adib-Conquy, 2006; Xiong et Medvedev, 2011). Même s'il n'y a aucune exposition préalable à l'endotoxine (lors d'une infection antérieure, par exemple), il n'en demeure pas moins que la réaction pro-inflammatoire endotoxinique sera suivie d'une cascade de réactions anti-inflammatoires immunomodulatrices, à la fois systémiques et locales, permettant de diminuer la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires; tous les sepsis ou infections endotoxiniques ne menant pas impérativement à une dysfonction organique (Fry, 2012). Parmi les molécules anti-inflammatoires (ou cytokines réduisant la production de TNF- α ou d'IL-1)

impliquées dans le sepsis et ayant des actions davantage systémiques, on compte l'interleukine 4 (IL-4), l'interleukine 10 (IL-10), le facteur de transformation de croissance bêta (« Transforming growth factor- β » ou TGF- β), la protéine C ainsi que d'autres molécules anti-inflammatoires solubles telles que le récepteur soluble TNF- α (sTNF- α) et le récepteur de type II interleukine-1 (IL-1r).

De façon plus détaillée, l'IL-4 produite par les cellules T activées contribuerait à la suppression de la réaction immunitaire médiée cellulièrement en diminuant la sécrétion de TNF- α et d'IL-1, en induisant l'expression d'antigènes leucocytaires (« human leukocyte antigen » ou HLA-DR) sur les cellules B, les macrophages et les cellules dendritiques et, finalement, en régulant la sécrétion des immunoglobulines E et G. Cette action se ferait, entre autres, par l'activation de la cascade du facteur de transcription six (« signal transducer and activation of transcription factor-6 » ou Stat6). Une action conjointe subsisterait entre IL-4 et IL-10, qui activerait la voie de signalisation de la MAPkinase p38 (« Mitogen activated protein kinase » ou MAPK) et possiblement la voie de signalisation JAK-STAT, contribuant ainsi à la suppression de la réaction immunitaire induite cellulièrement. En plus de ces actions similaires à IL-4, sur MAPK p38 et sur JAK-STAT, IL-10 influence aussi l'expression d'antigènes HLA-DR, mais cette fois en diminuant leurs expressions sur les monocytes et les macrophages. IL-10 supprimerait aussi la production de cytokines des cellules mononucléaires. Plusieurs autres effets de l'IL-10 ont aussi été recensés sur les monocytes, dont la suppression de leur effet procoagulant ainsi que la diminution de leur habileté à détruire les organismes intracellulaires (Dickensheets et Donnelly, 1997; Song *et al.*, 1999; Song *et al.*, 2000; Ogasawara et Stokol, 2012).

Quant au TGF- β , il est produit par la plupart des cellules où celles-ci ont des récepteurs pour cette cytokine. Le TGF- β est surtout connu pour son rôle dans la réparation et la prolifération tissulaire. Lors de l'inflammation, il aurait une action pléiotropique globalement anti-inflammatoire partagée, variant selon le type de cellule sur lequel il agit. TGF- β serait, entre autres, influencé par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et pourrait aussi les moduler. Il serait aussi un régulateur potentiel de l'apoptose et, une fois sous une forme de kinase activée (« TGF- β activated kinase » ou TAK), pourrait moduler indirectement le TLR-4 (Barcellos-Hoff, 2005; Xiong *et al.*, 2011; Hiraki *et al.*, 2012).

Dans le système de coagulation, la protéine C (PC) est aussi reconnue pour avoir certains effets anti-inflammatoires via l'inhibition de certaines cytokines relâchées par les monocytes. Lorsqu'elle est sous sa forme activée (aPC), elle diminuerait le chimiotactisme des neutrophiles, induit par l'IL-8, en plus de réduire l'adhésion leucocytaire sur les cellules endothéliales vasculaires. L'aPC aurait aussi des effets anti-apoptotiques en agissant indirectement sur la voie d'activation de la caspase-3. De plus, son récepteur EPCr (« endothelial protein C receptor ») pourrait avoir un rôle dans la diminution des effets du TNF- α dans l'adhésion des neutrophiles. Cependant, il est à noter que ces effets anti-inflammatoires de la protéine C sont amortis lors du sepsis, puisque sa production hépatique est fortement diminuée (Danese *et al.*, 2010; van der Poll *et al.*, 2011).

En ce qui concerne les anti-inflammatoires solubles, le récepteur TNF- α soluble (sTNF- α) possède un fort potentiel pouvant, à faible concentration, stabiliser la production de TNF- α et contribuer à sa distribution aux cellules cibles, en plus d'en inhiber l'activité à forte concentration (Safranow *et al.*, 2009; Qiu *et al.*, 2011; Thalayasingam et Isaacs, 2011).

Il a été démontré, dans la stimulation à l'endotoxine, qu'il existe une augmentation de l'expression des protéines kinases associées au récepteur IL-1 (« IL-1 receptor associated kinases » ou IRAK), plus particulièrement IRAK-1, IRAK-2, IRAK-3 (aussi connue sous IRAK-M) et IRAK-4. Le récepteur IL-1 est associé aux TLRs et active différentes voies intracellulaires de promotion de sécrétions de cytokines et de chimiokines dans les macrophages. IRAK-M serait la seule à avoir un pouvoir de régulation négatif sur la signalisation des récepteurs TLR-4 et TLR-9. De plus, IRAK-M régulerait aussi à la baisse p38 induite par TLR-2. Le tout jouant donc un rôle crucial dans l'activation des macrophages et dans la réponse immunitaire (Smith *et al.*, 1994; Takeda et Akira, 2004; Arcaroli *et al.*, 2006; Watters *et al.*, 2007; Flannery et Bowie, 2010; Hubbard et Moore, 2010; Hoogerwerf *et al.*, 2012; Singh et Li, 2012).

La réponse compensatoire immunosuppressive, ou l'induction de multiples mécanismes anti-inflammatoires dans le sepsis, est maintenant nommée le syndrome CARS (« compensatory anti-inflammatory response syndrome » ou CARS syndrome) (Wiersinga, 2011). Déplorablement, dans le sepsis, la réponse inflammatoire (SIRS) serait présente avant la réponse anti-inflammatoire (CARS) ou plus rapide que celle-ci. Bien que ce paradigme fasse l'objet de

contestations, ce délai d'action du CARS pourrait expliquer le mauvais pronostic de cette pathologie (Gentile *et al.*, 2012).

En résumé, nonobstant la possibilité d'un retour à l'homéostasie par ces mécanismes anti-inflammatoires, l'embrasement de la réaction inflammatoire aura des conséquences grandissantes et inévitables, allant jusqu'à créer des dysfonctionnements dans différents organes.

1.6 LA DYSFONCTION ORGANIQUE (MODS/SDMO) DANS LE SEPSIS

Selon l'étude européenne multicentrique SOAP (Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients), 71 % des patients aux soins intensifs seront à un certain moment et à différents degrés, en dysfonction organique. Bien que la défaillance organique peut être consécutive à d'autres causes, telles que les traumatismes ou les brûlures, près de 41 % de ces dysfonctions seront causées par le sepsis (Ainley *et al.*, 1991; Sakr *et al.*, 2006; Sprung *et al.*, 2006; Vincent *et al.*, 2006). La sévérité des dysfonctions organiques corrèle avec le pronostic des patients dont l'état est critique. Associés à cela, les organes dysfonctionnels n'ont pas tous le même impact sur le maintien de l'homéostasie et sur le pronostic. En effet, il a été démontré qu'une dysfonction du système cardiovasculaire a plus d'impact que peut en avoir une ayant lieu dans les systèmes rénal, neurologique ou respiratoire; respectivement en ordre décroissant d'impact sur le pronostic (Ferreira et Sakr, 2011). Finalement, une reconnaissance clinique hâtive de la défaillance organique (moins de 48 heures après son commencement, aussi associée avec un début de traitement) corrèle avec un taux de mortalité moindre (Freitas *et al.*, 2008).

1.6.1 PHYSIOPATHOLOGIE DE LA DYSFONCTION ORGANIQUE

Les mécanismes physiopathologiques de la dysfonction organique dans le sepsis sont loin d'être élucidés, mais, a priori, la compréhension actuelle de la physiopathologie de la dysfonction organique multiple semble mettre en évidence plusieurs populations de cellules et de voies de signalisations intracellulaires influençant les interactions déjà existantes entre les cellules et les organes atteints par le processus septique (Singer, 2008; Fry, 2012). C'est la réponse globale hyper-inflammatoire, provoquée par un pathogène, qui serait l'instigatrice

primaire de ces événements pervers ou adaptatifs sur les organes, modulant et induisant des changements sur des médiateurs, des hormones, des métabolites, ainsi que sur la signalisation neutre, en altérant le transport et l'utilisation de l'oxygène et en modifiant les phénotypes cellulaires (Singer *et al.*, 2004; Singer, 2008; Wang et Ma, 2008; Semeraro *et al.*, 2012). Plusieurs acteurs sous-jacents contribuent particulièrement à la défaillance organique, soit la coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), la relâche de réactifs de l'oxygène et de composés nitreux (la dysfonction mitochondriale), le recrutement de neutrophiles et la présence de leurs enzymes protéolytiques au niveau des tissus (la dysfonction endothéliale) et, finalement, la présence de hautes concentrations de certaines cytokines, ayant des impacts toxiques sur le parenchyme, dans l'espace interstitiel (Singer, 2008; Semeraro *et al.*, 2012). Ces mécanismes seront traités en détail plus loin dans ce chapitre.

Il en demeure cependant que plusieurs de ces processus pernicioeux, étant des produits de la réaction inflammatoire et entraînant la dysfonction organique, sont également perçus comme de possibles mécanismes de maintien homéostasique ayant des effets potentiellement protecteurs, c'est-à-dire qu'ils pourraient provoquer un état de cytoprotection similaire à l'hibernation myocardique (Frangogiannis, 2003; Singer et al., 2004; Levy et al., 2005; Singer, 2008). Au-delà de ces altérations cellulaires fonctionnelles, il survient tout de même d'importants changements ultrastructuraux et histologiques, dont au niveau myocardique, qui contribuent de concert à la dysfonction organique dans le sepsis.

1.6.2 ŒDÈME, CHANGEMENTS HISTOLOGIQUES ET ULTRASTRUCTURAUX

Lors du sepsis, plusieurs changements histologiques ou ultrastructuraux se produisent dans les organes et les tissus. Ces transformations pourraient donc être une clé de la dysfonction contractile retrouvée dans le sepsis. La plupart des organes septiques partagent des points en commun, soit la présence d'œdème interstitiel et intracellulaire avec un fort contenu en protéines, la destruction des mitochondries ou la présence de dommages envers celles-ci, ainsi que la présence de nécrose répartie inégalement dans les tissus (Hersch *et al.*, 1990).

L'œdème survient lorsqu'un volume excessif de liquide s'accumule dans les tissus, soit à l'intérieur des cellules et/ou dans la matrice extracellulaire (MEC) de l'espace interstitiel. Ce phénomène se produit lorsqu'il y a : des changements déraisonnables de pression (oncotique et hydrostatique); des altérations de l'intégrité de la barrière endothéliale des vaisseaux sanguins (augmentant la perméabilité des capillaires); un coefficient de protéines plasmatiques insuffisant (diminuant la pression oncotique intravasculaire); des altérations du système de drainage lymphatique (créant un engorgement des tissus). Une accumulation de liquide dans les tissus est généralement préjudiciable, puisque cela augmente la distance de diffusion de l'oxygène et des autres nutriments, en plus de nuire à l'excrétion du CO₂ et des autres déchets cellulaires toxiques, mettant ainsi en péril le métabolisme cellulaire dans ces tissus œdématiés (Scallan *et al.*, 2010). Dans l'inflammation et le sepsis, un des facteurs favorisant ces changements structuraux, est la détérioration de la structure du glycocalyx (interface entre la lumière intracapillaire et les cellules endothéliales) causée par le stress oxydatif, ce qui a pour conséquence de précipiter la dysfonction endothéliale et de dégrader la microcirculation. En plus de faire perdre la fonction restrictive des cellules endothéliales, cette altération du glycocalyx facilite l'adhésion et l'infiltration de leucocytes, ainsi que l'extravasation de protéines. Cette migration, jumelée à une vasoplégie (augmentant la surface disponible pour le flux de liquide et de protéines vers les tissus) et une ouverture des pores des capillaires (augmentant la perméabilité) dans la dysfonction vasculaire septique, précipite donc la migration de liquide vers les tissus et entraîne l'œdème. Il est à noter que, dans l'inflammation, les altérations engendrées par les leucocytes envers la MEC, contribuent à augmenter la plasticité de la dite matrice, permettant ainsi l'accumulation d'un plus grand volume de liquide extracellulaire. De plus, certains produits de l'inflammation, tels des réactifs de l'oxygène (ROS), des enzymes hydrolytiques, et de l'azote, dégradent certains composants et filaments d'encrage de la MEC, engendrant une diminution de la compartimentation du liquide dans la MEC. Cette baisse de compartimentation a pour effet d'augmenter la pression oncotique osmotique interstitielle. Dans le tissu cardiaque, cet œdème peut engendrer une diminution de la *compliance* (élasticité) myocardique et même une dilatation. Cela mènerait, entre autres, à des dysfonctions diastoliques, à des effets lusitropes négatifs et finalement, à précipiter la dysfonction cardiaque au cours du sepsis (Boldt et Ince, 2010; Woodcock et Woodcock, 2012).

Du point de vue de la fonction cardiaque globale, un relevé de niveaux sériques élevés de troponine I et T, chez les patients atteints de sepsis sévère ou de choc septique, confirme la présence de lésions myocardiques (Hersch *et al.*, 1990; ver Elst *et al.*, 2000; Wu, 2001; Mehta *et al.*, 2004; Smeding *et al.*, 2012). Ces dommages structuraux ont été confirmés, entre autres, par des autopsies chez des patients adultes décédés de choc septique, ainsi que par des modèles chez des animaux. En effet, les myocardiocytes de ces sujets ont démontré des infiltrations de neutrophiles polymorphonucléaires (PMN), de monocytes et de macrophages, de l'œdème, un état suggestif de myocardite, un démantèlement des appareils de contraction myocytaire, des niveaux élevés de collagène interstitiel et des dommages mitochondriaux (Fernandes Junior *et al.*, 1994; Soriano *et al.*, 2006; Celes *et al.*, 2007; Rossi *et al.*, 2007; Torgersen *et al.*, 2009; Celes *et al.*, 2010; Smeding *et al.*, 2012). Plus encore, des phénomènes d'apoptose et d'autophagie, entraînés par la dysfonction d'organelles intracellulaires (telles que la mitochondrie) ainsi que par l'activation de voies intracellulaires, contribueraient aussi à ces changements ultrastructuraux observés dans la dysfonction organique septique (Frangogiannis, 2003; Buerke *et al.*, 2008; Hsieh *et al.*, 2011; Smeding *et al.*, 2012; Turdi *et al.*, 2012). Ces altérations et ces dysfonctions intracellulaires ont pour conséquence de contribuer à la dysfonction myocardique dans le sepsis par leurs effets négatifs sur le métabolisme, sur la régulation ionique intracellulaire et sur le couplage excitation/contraction. Ce qui peut expliquer en partie la dysfonction systolique retrouvée dans le sepsis.

Puisque certaines études sur le sepsis n'ont pas retrouvé tous ces changements structuraux ou histologiques, il est toujours fortement discuté à savoir si l'origine des dysfonctions organiques et de la dépression myocardique serait causée principalement par des changements fonctionnels (par exemple par l'expression du TNF- α) ou par des changements structuraux (par exemple par l'œdème) (Piper *et al.*, 1997; Chagnon *et al.*, 2006; Smeding *et al.*, 2012). C'est ce qui motive l'évaluation de l'œdème myocardique dans cette étude.

1.7 SEPSIS ET DYSFONCTION MYOCARDIQUE

La dysfonction myocardique chez l'humain a été décrite pour la première fois par Calvin et al. en 1981 et se définissait par une fraction d'éjection diminuée (dysfonction systolique) ainsi qu'une augmentation des volumes de télédiastoliques indexés (dilatation), et ce, malgré une ressuscitation volémique adéquate (Dias-Peixoto *et al.*, 2012). Aujourd'hui, environ 40 à 64 % des patients en sepsis sévère ou en choc septique auront une dysfonction myocardique (le taux variant en fonction des critères de dysfonction utilisés). L'importance de la dysfonction myocardique est telle, qu'elle a été rajoutée à la définition en tant que critère diagnostique du sepsis sévère, soit : la présence d'une dysfonction ventriculaire à valider par une échocardiographie ou par un débit cardiaque indexé (DC_i) bas (mesuré grâce à un cathéter artériel pulmonaire ou par une échographie transoesophagienne) (Hunter et Doddi, 2010; Casserly *et al.*, 2011). Plusieurs signes cliniques permettent de suspecter une dysfonction myocardique : un débit cardiaque ou une ScvO₂ basse, des pressions de remplissage ventriculaire gauche élevées (obtenues avec un cathéter artériel pulmonaire), ainsi que de hauts niveaux de marqueurs biologiques tels que la troponine I et la BNP/NT-proBNP. Cependant, l'échocardiographie demeure le moyen le plus accessible et le plus fiable pour confirmer le diagnostic de dysfonction (Jozwiak *et al.*, 2011).

Avec l'utilisation de l'échographie, on retrouve près de 37 % des patients avec une dysfonction diastolique ventriculaire gauche (VG), (dysfonction diastolique : altération de la relaxation ou de la *compliance* (élasticité)), 27 % avec une dysfonction systolique du VG et 31 % avec une dysfonction du ventricule droit (VD), (systolique, diastolique ou les deux) (Vieillard-Baron *et al.*, 2008; Furian *et al.*, 2012; Pulido *et al.*, 2012). Plusieurs études divergentes sur la *compliance* cardiaque relatent qu'une augmentation du volume diastolique du VG (sans changement de pression télédiastolique) pourrait jouer un rôle crucial dans la dysfonction globale et ainsi influencer la survie. De ce fait, les patients ayant une dilatation, mais avec une fonction diastolique (ou *compliance*) préservée du VG et un VD intact, auraient plus de chance de survie que les patients n'ayant aucune dilatation mais possédant une dysfonction diastolique du VD ou du VG. Bien que la dysfonction du ventricule droit soit peu étudiée, celle-ci demeure une préoccupation, puisque près de la moitié des patients auraient une fraction d'éjection du VD diminuée (dysfonction globale) ou un VD partiellement dysfonctionnel (c.-à-d. avec des zones

hypokinésiques, sans nécessairement affecter la fraction d'éjection), au même titre que leur VG (Parker *et al.*, 1990; Hunter et Doddi, 2010).

De nouvelles études semblent démontrer qu'une mesure diminuée de la fraction d'éjection du VG (FEVG) à l'échographie, corrélait davantage avec un pronostic sombre, comparativement aux mesures de *compliances*. (Hunter et Doddi, 2010; Nagueh, 2011) Cela s'explique par le fait que ces mesures tiennent maintenant compte des influences de la précharge, de la postcharge ainsi que de la contractilité cardiaque (Robotham *et al.*, 1991; Hunter et Doddi, 2010). Étant donné cette grande influence de la précharge sur la FEVG (loi de Frank Starling), l'aspect d'une réanimation volémique adéquate dans le sepsis prend tout son sens. Ainsi, le fait de s'assurer d'un remplissage vasculaire adéquat, élimine certains biais causés par une précharge basse, celle-ci pouvant entraîner une fraction d'éjection diminuée ainsi que mimer ou dissimuler une dysfonction myocardique (Renner *et al.*, 2009; Hofer et Cannesson, 2011). En ce qui a trait à la postcharge, elle est grandement influencée par la dysfonction vasculaire/endothéliale induite par le sepsis et l'inflammation. De ce fait, les patients en sepsis sévère subissent une diminution marquée de leur résistance vasculaire systémique (RVS) (vasodilatation), diminuant de cette manière la postcharge, également associée à un pronostic sombre (Hunter et Doddi, 2010). D'autre part, cette diminution de la RVS n'est pas hétérogène dans tous les tissus, mais elle peut représenter jusqu'à un quart de la valeur de la résistance normale (Young, 2004). Plus précisément, tel que mentionné dans la dysfonction vasculaire, certains petits vaisseaux sanguins peuvent conserver leurs propriétés vasomotrices (comme c'est le cas avec les artères pancréatiques, par l'effet du MDF). Cependant, leur fréquence et leur amplitude vasomotrice sont altérées (Young et Cameron, 1995; Sair *et al.*, 2001; Young, 2004). Même si la perfusion des tissus peut varier au cours du sepsis, cela ne semble pas être un facteur dominant au cours de la dysfonction organique (Sair *et al.*, 2001). Étrangement, il a été démontré que la perfusion coronarienne au cours du sepsis n'était pas altérée dans les régions myocardiques ayant une kinésie normale ou anormale, et ce, en dépit d'une élévation de marqueurs sériques d'ischémie cardiaque (troponine sérique) ainsi que de la présence de changements à l'électrocardiogramme (ECG), tous deux indiquant un syndrome coronarien aigu (Cunnion *et al.*, 1986; Sado et Greaves, 2011). Néanmoins, cette donnée n'empêche pas la présence de vasodilatation coronarienne extensive pouvant altérer l'autorégulation de l'extraction d'oxygène myocardique

et contribuer à promouvoir la perméabilité coronarienne, la réaction inflammatoire et, par conséquent, la dysfonction myocardique (Cunnion *et al.*, 1986; Lorigados *et al.*, 2010).

Cliniquement, devant une RVS ou une postcharge cardiaque diminuées au cours du sepsis sévère ou du choc septique, il est largement recommandé d'utiliser des vasopresseurs afin de rétablir un certain tonus vasculaire, ; cela permettant de maintenir la perfusion des organes après un remplissage vasculaire adéquat avec des liquides de réanimation (Dellinger *et al.*, 2008).

En somme, cela mène à un seul constat : malgré de nombreux changements hémodynamiques, la dysfonction myocardique induite dans le sepsis est d'étiologie beaucoup plus complexe qu'uniquement vasculaire ou perfusionnelle.

1.8 MONITORAGE CLINIQUE DE LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE

Depuis plusieurs décennies, l'utilisation de technologies ou techniques échographiques, radiologiques ou de monitoring invasif et non invasif, a fait ses preuves en recherche animale (Weytjens *et al.*, 2006). Dernièrement, la présence de technologies (telles que l'échotransoesophagien et l'échographe portables au chevet (Pulido *et al.*, 2012), ainsi que l'augmentation de l'accessibilité et de la sécurité relative (à la résonance magnétique fonctionnelle, à la tomographie par émission de positrons, etc.) de ces technologies, a permis l'observation et la découverte de multiples composantes hémodynamiques et fonctionnelles dans la dysfonction myocardique septique, là où des marqueurs sériques avaient échoué (Sado et Greaves, 2011).

L'utilisation du dosage sérique du peptide natriurétique (« brain natriuretic peptide » ou BNP), sécrété principalement par les oreillettes lors d'une dilatation excessive ou par un myocarde dysfonctionnel, est un outil clinique intéressant dans le diagnostic et le monitoring de la dysfonction myocardique septique, car il peut refléter l'état quasi momentané du statut myocardique (le BNP ayant une demi-vie de 20 minutes). Toutefois, la corrélation précise du BNP avec la FEVG n'est pas encore complètement établie, et plusieurs facteurs peuvent influencer sa concentration, dont : la précharge, la postcharge, les pressions de remplissage des ventricules, la réanimation liquidienne et l'utilisation de la norépinéphrine comme vasopresseur

Ces facteurs ne sont pas négligeables, puisque certains font partie des traitements recommandés pour le support hémodynamique des patients atteints de sepsis sévère (Dellinger *et al.*, 2008). Le BNP serait donc davantage fiable et utile pour le dépistage précoce de la dysfonction myocardique, alors que le patient ne bénéficie pas encore d'un traitement (Maeder *et al.*, 2006; Post *et al.*, 2008; Turner *et al.*, 2011).

1.9 SEPSIS ET DYSFONCTION MYOCARDIQUE : PHYSIOPATHOLOGIE

Bien que non complètement élucidée, la dysfonction myocardique serait causée par un ensemble de facteurs intracardiaques fortement influencés par la réaction inflammatoire systémique et locale. On compte parmi ceux-ci : l'effet direct des endotoxines, les cytokines, les prostanoïdes, l'endotheline-1, le monoxyde d'azote inductible (iNO), l'augmentation de l'activation, de l'adhésion et de l'infiltration des monocytes, une altération régionale de la microcirculation coronarienne, l'activation du système de coagulation/complément, le stress oxydatif (production de radicaux libres), la dysfonction mitochondriale, le facteur d'inhibition de migration des macrophages (MIF ou « Macrophage migration Inhibitory Factor ») et finalement, la présence d'autres substances circulantes connues et inconnues causant la dépression du myocarde (« myocardial depressant substances » ou MDS et « Myocardial depressant factors » ou MDF). (Cunnion et Parrillo, 1989; Merx et Weber, 2007; Rudiger et Singer, 2007; Zanotti-Cavazzoni et Hollenberg, 2009; Flynn *et al.*, 2010; Hunter et Doddi, 2010; Lorigados *et al.*, 2010; Balija et Lowry, 2011; Hochstadt *et al.*, 2011)

Voici donc plus en détail chacun des volets reconnus comme étant impliqués dans la dysfonction myocardique septique.

Principaux initiateurs de la dysfonction myocardique

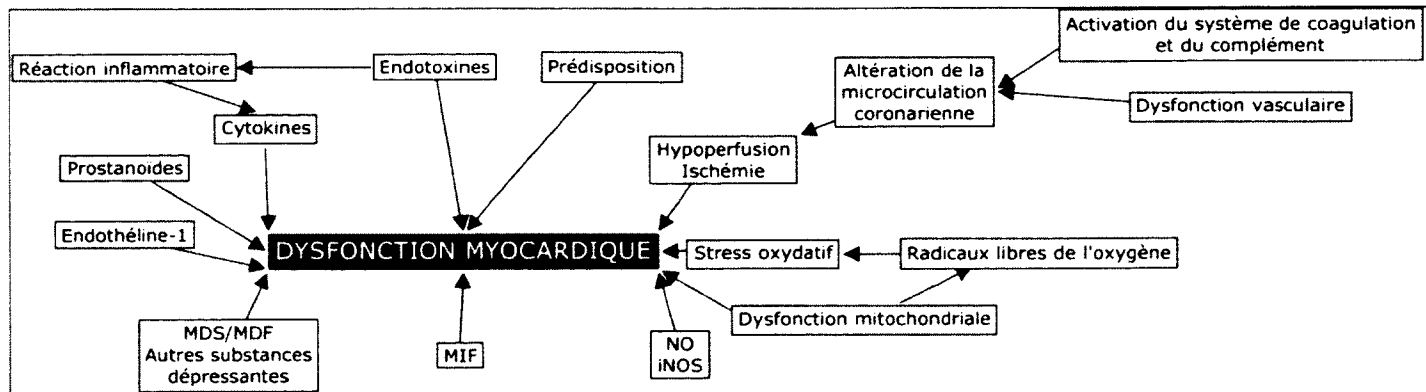


Figure 6 : Principaux initiateurs de la dysfonction myocardique dans le sepsis

Légende : iNOS = « inductible NO synthase », MDS = « Myocardial depressant substances », MDF = « miocardial depressant factor », MIF = « macrophage inhibitory factor ».

1.9.1 LES SUBSTANCES DÉPRIMANT LE MYOCARDE DANS LE SEPSIS

De prime abord, lorsque présentes, les endotoxines jouent un rôle primordial dans l'activation de mécanismes cellulaires menant à la dysfonction myocardique. Le délai d'action de l'endotoxine suggère que ses effets se feraient grâce à l'activation de médiateurs, tels que les protéines kinases activées par mitogène (« mitogen-activated protein kinases » ou MAPKs) et les cytokines pro-inflammatoires, connues pour engendrer l'activation de multiples voies de signalisations intracellulaires et la dysfonction myocardique (Carlton et Ferreira, 2012; Dourado *et al.*, 2012; Dubey *et al.*, 2012; Nascimento *et al.*, 2012). Il est d'ailleurs reconnu que les cardiomyocytes expriment aussi le récepteur TLR-4, activé par le LPS (Avlas *et al.*, 2011). De plus, plusieurs chercheurs sous-entendent que l'endotoxine aurait des effets influençant directement la contractilité cardiaque en créant de l'interférence au niveau des mouvements calciques intracellulaires, au niveau mitochondrial et au niveau des pompes Na/K ATPase (au moyen de la synthèse de NO) (Dastani *et al.*, 2012; Ignacio-Souza *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2012). Par ces effets globaux et initiateurs de l'inflammation et de la dysfonction myocardique dans le sepsis, l'endotoxine est considérée comme étant une substance déprimante. De plus, si un traitement adéquat est effectué, cela peut induire une réversion complète ou une diminution de ces impacts (Huttunen et Aittoniemi, 2011).

D'autres molécules circulantes semblent aussi avoir des effets directs sur le cœur. C'est le cas du facteur de dépression cardiaque (MDF). Bien qu'il ait été très étudié par les laboratoires de Lefler et Parrillo dans les années quatre-vingt, on en connaît toujours très peu sur les mécanismes physiopathologiques de ce peptide pancréatique impliqué dans la dépression du myocarde (Lefler, 1982; Parrillo *et al.*, 1985). Sa production et sa libération seraient secondaires à une hypoperfusion pancréatique, créant de l'acidose, ainsi que la libération de protéases telles que les cathepsines A-B-C, la trypsine et la chymotrypsine. Au surplus de son effet inotrope négatif, le MDF aurait des effets vasoconstricteurs au niveau des artères mésentériques, qui se manifesteraient uniquement lors de l'absence de norépinéphrine ou d'angiotensine II, contribuant ainsi à augmenter l'ischémie mésentérique, en plus de participer à la boucle de rétroaction positive favorisant sa production. D'autres substances vasoactives circulantes amplifieraient de même la production et les effets du MDF, dont l'action causant la dépression cardiaque. Parmi eux, on compte des eicosanoïdes (particulièrement la thromboxane A₂ ou TxA₂ et la leucotriène

D₄ ou LTD₄), des médiateurs lipidiques (tels que le « platelet activation factor » ou PAF), ainsi que d'autres peptides (tels que l'angiotensine II et l'arginine vasopressine). Plus encore, le MDF contribuerait au dysfonctionnement des neutrophiles et des macrophages fixés aux parois vasculaires, en altérant leurs fonctions immunitaires (dont celle de phagocytose), le tout contribuant aux dommages organiques et au choc (Lefer, 1982; Parrillo *et al.*, 1985; Lefer, 1987; Cunnion et Parrillo, 1989; Court *et al.*, 2002; Kumar et Parrillo, 2002).

Aujourd'hui, les termes de facteurs ou de substances déprimant le myocarde sont définis comme un ensemble de substances circulantes contribuant à la dysfonction myocardique ou ayant des effets cardiotoxiques. Parmi ces facteurs, on retrouve principalement TNF- α , des interleukines (IL-1 β , IL-6, IL-8), des molécules du système du complément (C3a et C5a), des lysoenzymes (dont la lysoenzyme c) et la molécule d'adhésion intercellulaire-1 (ICAM-1). De surcroît, plusieurs autres cytokines, prostanoïdes et le NO pourraient aussi faire partie de cette famille de substances déprimant le myocarde (Court *et al.*, 2002; Ao *et al.*, 2007; Merx et Weber, 2007; Hunter et Doddi, 2010; Hochstadt *et al.*, 2011).

1.9.2 CYTOKINES ET PROTÉINES KINASES DANS LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE

Tel que mentionné dans le chapitre précédent, plusieurs substances circulantes peuvent contribuer à la dysfonction myocardique dans le sepsis. Parmi celles-ci, certaines ont des actions plus importantes de modulation, de médiation et de signalisation localisées directement dans le myocarde septique. C'est le cas de nombreuses cytokines, dont plus particulièrement du TNF- α , qui, lorsque qu'exprimé par les myocytes, joue un rôle majeur contribuant à la dysfonction myocardique; son inhibition expérimentale renversant ou empêchant majoritairement l'apparition de dysfonction myocardique (Parrillo *et al.*, 1985; Merx et Weber, 2007; Hunter et Doddi, 2010; Balija et Lowry, 2011; Zhang *et al.*, 2012). Un des effets capitaux du TNF- α serait de perturber l'homéostasie calcique par des effets directs sur les réticulum sarcoplasmiques, en provoquant des fuites calciques (altérant les flux calciques des canaux calciques du type L) et une diminution de l'amplitude du calcium transitoire sarcoplasmique (Ca²⁺). Cette surcharge calcique cytosolique ainsi créée aurait pour conséquence d'augmenter le calcium mitochondrial, entraînant un dysfonctionnement mitochondrial et produisant des dysfonctionnements contractiles (effet

inotropique négatif) (Krown *et al.*, 1995). Plus encore, cette susceptibilité induite des réticulums sarcoplasmiques au relargage spontané de calcium, avec la contribution de l'activation calcique des échangeurs sodium/calcium (NCX), mènerait abruptement à la dépolarisation cellulaire contribuant aux arythmies causées par le sepsis (Hassoun *et al.*, 2008; Duncan *et al.*, 2010). Le TNF- α perturberait également l'homéostasie calcique en augmentant les niveaux d'enzymes ADN-méthyltransférases, qui diminuent l'expression de calcium ATP_{ase} des réticulums sarcoplasmiques et endoplasmiques (« sarcoplasmic endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase » ou SERCA2a) (Kao *et al.*, 2010; Balija et Lowry, 2011). Finalement, le TNF- α contribuerait indirectement à la baisse de contractilité cardiaque par la stimulation des monocytes, des macrophages et des neutrophiles à produire de l'IL-1, une interleukine qui exerce similairement des fonctions charnières dans la dysfonction myocardique et qui est un promoteur de la NO synthase myocytaire (Francis *et al.*, 1998; Merx et Weber, 2007).

Malgré un bon nombre d'études portant sur le TNF- α , et bien qu'il existe certaines pistes tangibles concernant sa régulation moléculaire dans les cardiomyocytes, celle-ci demeure incomprise (Zhang *et al.*, 2012). Nonobstant, plusieurs protéines kinases activées par des mitogènes (« mitogen-activated protein kinases » ou MAPK) sont des précurseurs clés dans la signalisation régulant l'inflammation et l'expression de cytokines pro-inflammatoires, dont fait partie le TNF- α . Les « extracellular signal-regulated kinase » 1 et 2 (ERK1/2), la p38 et la MAPK « c-jun NH₂-terminal kinase » (JNK) sont des exemples intéressants de sous-familles de MAP kinases qui modulent dissemblablement l'expression du TNF- α (Cao *et al.*, 2010; Zhang et Feng, 2010). Ces trois MAP kinases ont en commun d'être activés par le LPS grâce au récepteur TLR-4 se situant à la membrane des cardiomyocytes (Peng *et al.*, 2005; Peng *et al.*, 2009). S'en suivra une cascade d'activation de kinases, qui mènera, dans un premier plan, à la phosphorylation des MAP kinases ERK 1 et ERK 2 (aussi respectivement nommées p44 et p42). L'activation de ERK1/2 permettra la phosphorylation des facteurs de transcriptions (nucléaires), tel NF- κ B, ce qui induira une augmentation de l'expression du TNF- α . Dans un second plan similaire à ERK, la MAP kinase p38 sera activée et causera une augmentation du TNF- α myocardique (Peng *et al.*, 2003). Par ailleurs, cette protéine p38 a été associée à des dysfonctions cardiaques systoliques et diastoliques chez des souris transgéniques (Liao *et al.*, 2001). Bien que la MAPK p38 ait des impacts similaires et synergiques avec ERK1/2, causant la surproduction de TNF- α dans la dysfonction myocardique endotoxémique, cette étude s'est davantage attardée

aux variations de la phosphorylation de ERK1/2 qu'induiraient les liquides perfusés (Liao *et al.*, 2001; Peng *et al.*, 2003; Zhang et Feng, 2010). Pour ce qui est de JNK-1, elle aurait un effet bénéfique ou de contre-régulation sur la dysfonction myocardique en inhibant l'expression du TNF- α , par une inhibition de ERK1/2 et p38. Les mécanismes sous-jacents de cette inhibition par JNK-1(c-Fos) demeurent toutefois non élucidés (Zhang *et al.*, 2012) (Voir Figure 7).

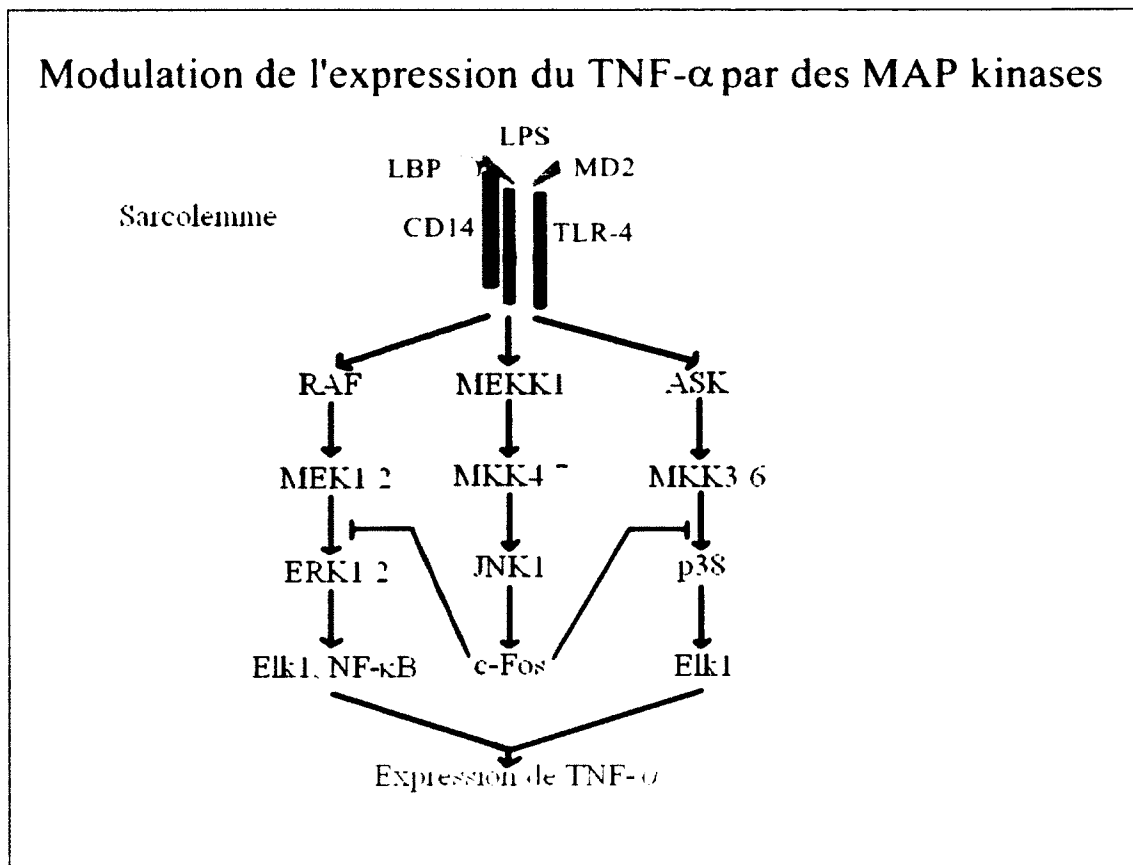


Figure 7 : Modulation de l'expression du TNF- α par les MAP kinases ERK1/2, JNK1 et p38

Lorsqu'il y a liaison du LPS au récepteur TLR-4, cela active les voies de signalisation des MAP kinases JNK-1, ERK1/2 et de p38. JNK1 et ERK1/2 augmentent l'expression du TNF- α , tandis que JNK1 exerce un effet inhibiteur au moyen de c-Fos, en atténuant l'activité de JNK1 et ERK1/2. Légende : ASK = « apoptosis signal-regulating kinase », ERK = « extracellular signal-regulated kinase », JNK = « c-Jun NH₂-terminal kinase », LBP = « LPS binding protein », LPS = lipopolysaccharide, MAPK = « mitogen-activated protein kinase », MEKK = « MAPK/extracellular signal-regulated kinase kinase », NF « nuclear factor », RAF = « Rapidly accelerated fibrosarcoma (kinase) », TLR = « Toll-like receptor », TNF = « tumor necrosis factor ».

Dans la section 1.4.3, portant sur la dysfonction vasculaire dans le sepsis, les influences de l'HO-1 sur le stress oxydatif ont été discutées, ainsi que ses potentiels impacts anti-inflammatoires, anti-apoptotiques et antiprolifératifs, entre autres sur certaines cytokines et kinases. De façon souhaitable, une surexpression de l'HO-1 dans les cardiomyocytes septiques a été liée à une baisse du TNF- α et des ROS, atténuant ainsi la dysfonction myocardique. Étonnamment, les activités de l'HO-1 et d'iNOS seraient liées afin d'augmenter la production de NO associée à une baisse de production de monoxyde de carbone, et vice-versa. Par exemple, il a été démontré qu'une surexpression de l'HO-1 atténuait l'activité d'iNOS dans la glomérulonéphrite (Datta *et al.*, 2002). Bien qu'il semble qu'iNOS et le NO soient les principaux médiateurs de l'activité de l'HO-1, les voies de signalisation des MAPK ERK et p38 pourraient directement être impliquées dans cette activité. Par ailleurs, une augmentation de l'activité de ERK a été associée à une augmentation de l'activité de l'HO-1, et vice-versa. (Chen et Maines, 2000; Gong *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2009; Tamion *et al.*, 2010) (Voir Figure 8).

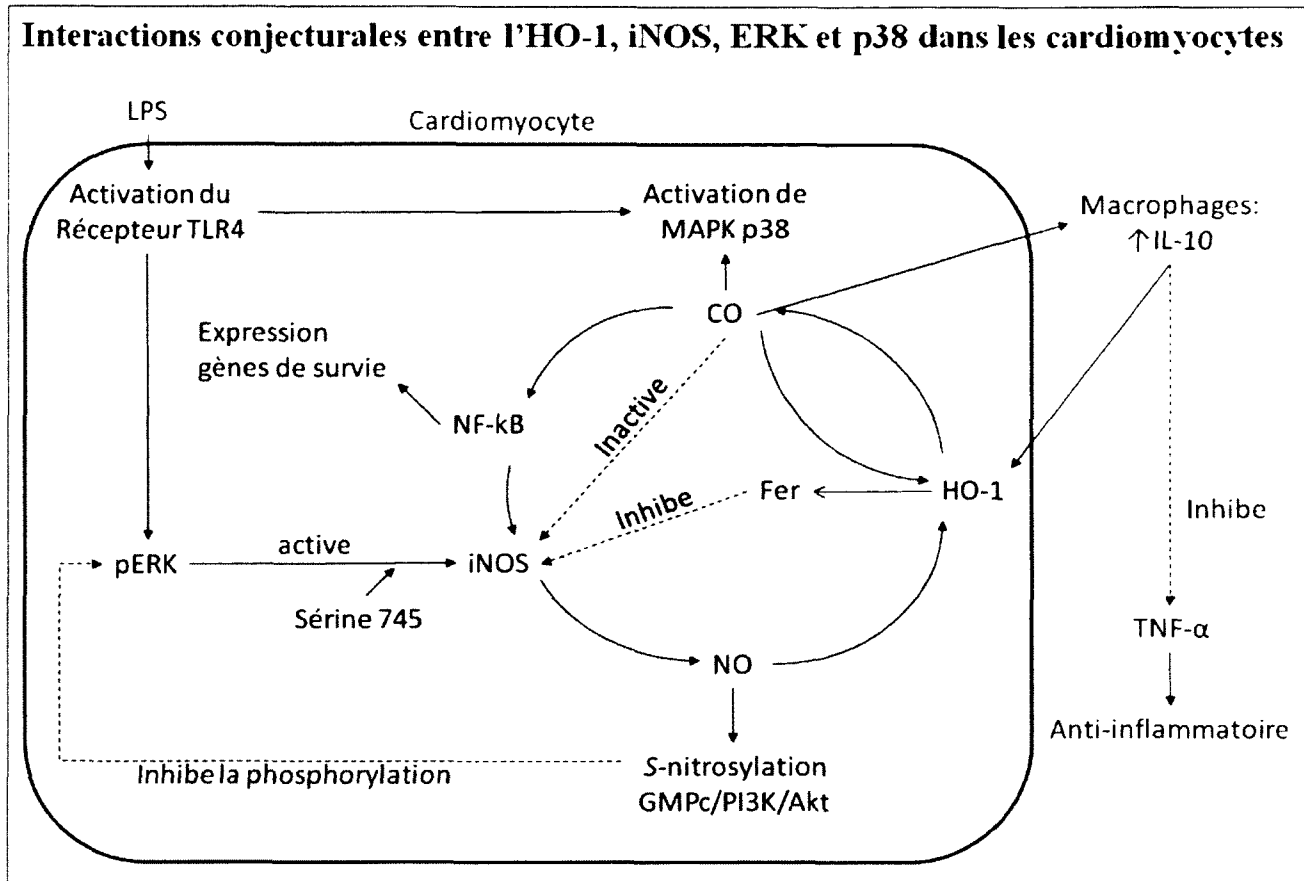


Figure 8 : Interactions conjecturales entre l'HO-1, iNOS, ERK et p38 dans les cardiomyocytes

Légende : Akt = protéine kinase B, ERK = « extracellular signal-regulated kinase », GMPc = guanosine monophosphate cyclique, HO = hème-oxygénase, IL = interleukine, iNOS = « inducible NO synthase », LPS = lipopolysaccharide, NF = « nuclear factor », TNF = « tumor necrosis factor », TLR = « Toll-like receptor », PI3K = Phosphatidylinositol 3-kinase.

Tel le TNF- α , le facteur d'inhibition des macrophages (« macrophage migration inhibitory factor » ou MIF) est une autre cytokine pro-inflammatoire ayant des effets délétères sur le myocarde et causant des dysfonctions contractiles. Pouvant être produit par une variété de cellules, MIF active les cellules T et les macrophages. Dans les cardiomyocytes, MIF est préformé et sécrété en réponse au stress oxydatif (Kapadia *et al.*, 1997; Takahashi *et al.*, 2001; Garner *et al.*, 2003). MIF serait étroitement lié à la dysfonction systolique et diastolique, mais ces mécanismes sous-jacents demeurent inconnus. Il est cependant reconnu que MIF active différentes voies de signalisation intracellulaire du stress et de l'apoptose, entre autres au moyen

de la cascade de signalisation de JNK et de la MAPK p38, impliquant les voies apoptotiques mitochondriales et pouvant promouvoir la régulation à la hausse d'autres cytokines, telles que IL-1 β , IL-6 et TNF- α . Une activation transitoire de la voie de ERK1/2 dans les cardiomyocytes, par MIF, pourrait tempérer certaines actions néfastes de celui-ci. De plus, MIF est connu pour réguler à la hausse l'expression des récepteurs TLR-4 sur les macrophages, mais cette action au niveau cardiaque demeure inconnue (Chagnon *et al.*, 2005; Dhanantwari *et al.*, 2008; Brenner *et al.*, 2010). Encore bien des mystères planent autour de cette cytokine, mais son implication dans la dysfonction myocardique n'est que grandissante (Dhanantwari *et al.*, 2008).

L'IL-6 est une autre cytokine pro-inflammatoire qui stimulerait la relâche des neutrophiles par la moelle osseuse et les amènerait à produire des enzymes toxiques contribuant à la défaillance organique au cours du sepsis (Vlahakos *et al.*, 2012). D'autres cytokines, telles que IL-8, peuvent avoir un impact sur la dysfonction cardiaque, cependant leurs effets sont davantage des résultats indirects de l'induction ou du relargage d'autres substances, tels les prostanoïdes ou le NO (Merx et Weber, 2007).

1.9.3 LES PROSTANOÏDES

La thromboxane (TX) et la prostacycline (de la famille des eïcosanoïdes, également appelée prostaglandine I₂ ou PGI₂) font partie de la famille des prostanoïdes et sont produites par l'enzyme cyclooxygénase (COX, deux formes : COX-1 et COX-2) à partir de l'acide arachidonique, principalement dans les cellules endothéliales vasculaires et les plaquettes. Stimulées par le LPS et certaines cytokines, leurs actions se manifesteraient principalement au niveau coronarien; en altérant l'autorégulation et les fonctions endothéliales coronariennes, ainsi qu'en activant les leucocytes intracoronariens (Merx et Weber, 2007). La PGI₂ induirait la relaxation vasculaire et inhiberait l'activation des plaquettes, en opposition à la TXA₂, qui serait un potentiel vasoconstricteur et un puissant activateur plaquettaire (Yuhki *et al.*, 2011). Les prostanoïdes auraient par ailleurs plusieurs influences, entre autres sur le remodelage vasculaire, l'angiogenèse, l'athérosclérose, etc. Parmi leurs effets, certains seraient protecteurs. Par exemple, plusieurs travaux suggèrent un effet protecteur de COX-2 au moyen de la PGI₂, en inhibant l'apoptose causée par le LPS sur les cardiomyocytes. Plusieurs de ces résultats demeurent

cependant équivoques (Merx et Weber, 2007; Panaro *et al.*, 2011; Yuhki *et al.*, 2011). Finalement, une surproduction de prostanoïdes par l'action de COX-2 pourrait induire la dysfonction myocardique par l'activation extracellulaire des kinases ERK1/2, p38 et c-Jun NH2-terminale (JNK1/2/3), et vice-versa (Peng *et al.*, 2005; Lorigados *et al.*, 2010; Panaro *et al.*, 2011; Fernandes et de Assuncao, 2012).

1.9.4 LES INFLAMMASOMES

Les inflammasomes sont des récepteurs activateurs de la réponse de l'hôte face à l'infection et au dommage tissulaire. Ils font partie de la famille des PRR, au même titre que les TLR. Jusqu'à présent, l'on compte quatre inflammasomes ou « nucleotide oligomerization domain like receptors » (NLR), soit NLRP1, NLRP3, NLRP4 et « absent in melanoma 2 » (AIM2). Ces récepteurs sont exprimés sur les cellules immunitaires ainsi que sur les cellules endothéliales et épithéliales, amplifiant la signalisation inflammatoire. De plus, les inflammasomes formeraient des complexes multimoléculaires, qui recruteraient et activeraient la protéase cystéine caspase-1, qui à son tour cliverait différentes interleukines apparentées à l'IL-1 (IL-1 β , IL-18, IL-33, etc.), les transformant en leur forme active (Henry et Monack, 2007; Chilton *et al.*, 2012; Costa *et al.*, 2012; Seeley *et al.*, 2012). Ce sont donc leurs effets promoteurs de l'inflammation qui en font des acteurs de la dysfonction myocardique dans le sepsis (Seeley *et al.*, 2012).

1.9.5 L'ENDOTHÉLINE-1

L'endothéline-1 (ET-1) crée l'un des ponts entre la dysfonction vasculaire et la dysfonction myocardique. Plusieurs études ont démontré des corrélations entre les niveaux d'endothéline-1 et la dysfonction myocardique du VG et du VD (dysfonctionnement du VG, dont sans dilatation du VG, et dysfonction systolique et diastolique du VD) (Yao *et al.*, 2009; Furian *et al.*, 2012). La provenance de ce lien résiderait en partie dans l'effet vasoconstricteur de l'ET-1, qui perturberait et distribuerait mal le flux microcoronarien, ainsi que dans ses effets, qui entraîneraient une hypertrophie myocardique décompensatoire (Tu *et al.*, 2004; Sharma, 2007).

Il a aussi été démontré que les myocytes peuvent exprimer, synthétiser et sécréter l'ET-1, suggérant un rôle autocrine de l'ET-1 dans le cœur (Suzuki *et al.*, 1993). L'ET-1 pourrait également contribuer à la dysfonction myocardique en causant une diminution de la concentration du Ca^{2+} intracellulaire transitoire ainsi qu'une régulation à la hausse de la phosphorylation de la MAPK p-38 et de l'expression de NO synthase II (par une régulation à la hausse du récepteur endothéline B (ET_B) créant une excessive production de NO) (Sharma, 2007; Yao *et al.*, 2009; Furian *et al.*, 2012).

1.9.6 LE MONOXYDE D'AZOTE (NO) DANS LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE

Le NO est une molécule centrale de la dysfonction myocardique septique. Le NO produit par les macrophages et les neutrophiles a des effets sur le système cardiovasculaire principalement via la circulation coronarienne (vasodilatation), des effets sur la précharge, la postcharge et la thrombogénèse. Il exerce aussi des effets directs sur les cardiomyocytes par le TNF- α et par son grand pouvoir diffusionnel, en activant la guanylate cyclase soluble et en l'incitant à produire de la guanosine monophosphate (GMP) cyclique, qui promeut la séquestration du calcium dans les réticulum sarcoplasmiques en induisant la relaxation musculaire cardiaque (Tavener et Kubes, 2006; Torres-Duenas *et al.*, 2006; Kovach et Standiford, 2012). À faible concentration, le NO semble augmenter la fonction du VG, cependant, sa surproduction rapide a des impacts sur la contractilité, telle que mentionnée précédemment (Hunter et Doddi, 2010; Xu *et al.*, 2012). Dans le sepsis, les cytokines pro-inflammatoires, majoritairement TNF- α , induisent rapidement l'expression du NO inducible synthase (NOS2 ou iNOS) dans le myocarde (Preiser *et al.*, 2001; Merx et Weber, 2007; Hunter et Doddi, 2010; Fernandes et de Assuncao, 2012). Cette même molécule d'iNOS, exprimée presque uniquement lors de l'inflammation, peut à son tour induire la production de cytokines, créant ainsi une boucle de rétroaction positive. La production de NO par iNOS est beaucoup plus importante que par les autres synthases et est indépendante de la concentration de calcium intracellulaire (Ziolo et Bers, 2003). Le NO utilise les voies de signalisation intracellulaire dépendantes et indépendantes de la GMP cyclique. La voie dépendante a pour effet de moduler l'activité de la protéine kinase G (PKG) et de la phosphodiesterase régulée par la GMPcyclique, modulant ainsi la contractilité cardiaque. Pour ce qui est de la voie indépendante, sa portée se

manifeste au moyen de la S-nitrosylation (Ziolo et Bers, 2003; Fernandes et de Assuncao, 2012). De plus, le NO intracellulaire contribuerait directement au dysfonctionnement mitochondrial (Suliman *et al.*, 2004; Flierl *et al.*, 2008; Regueira *et al.*, 2012; Rocha *et al.*, 2012; Spasojevic *et al.*, 2012). Beaucoup d'autres effets du NO sont médiés par ses interactions avec les anions superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), créant les peroxynitrites ($ONOO^{\cdot-}$). Ceux-ci étant hautement cytotoxiques, ils interagissent avec les lipides, les protéines et l'ADN (Pacher *et al.*, 2007). Leurs effets sont aussi médiés par des intermédiaires avec des radicaux hydroxyles biologiquement actifs, qui sont des acides peroxynitriques ou leur isomère activé (Lorigados *et al.*, 2010). Quant à la NO synthase neuronale (NOS1) et la NO endothéliale synthase (NOS3 ou eNOS), elles sont exprimées de façon basale dans les cardiomyocytes et produisent du NO lors de la contraction, en lien avec la régulation du complexe calcium-calmoduline. La eNOS pourrait avoir un effet cardioprotecteur dans l'endotoxémie, en réduisant la production de réactifs de l'oxygène et en augmentant le calcium total dans les réticulums sarcoplasmiques et les myofilaments sensibles au calcium, en plus d'avoir certains autres effets sur les mitochondries (Voir Figure 9). Beaucoup d'investigations restent à être faites concernant la eNOS, car elle semble être inefficace, inhibée ou avoir une action tardive dans la dysfonction myocardique septique (Ichinose *et al.*, 2007; Bougaki *et al.*, 2010). Globalement, les NO synthases et les dérivés nitreux qu'elles produisent ont des effets pro et anti-inflammatoires, pro et antiapoptotiques, cardiotoniques et cardiodéprimants, dépendamment de leur concentration et du contexte (Lorigados *et al.*, 2010). Dans le sepsis, ces effets sont majoritairement délétères sur la fonction cardiaque.

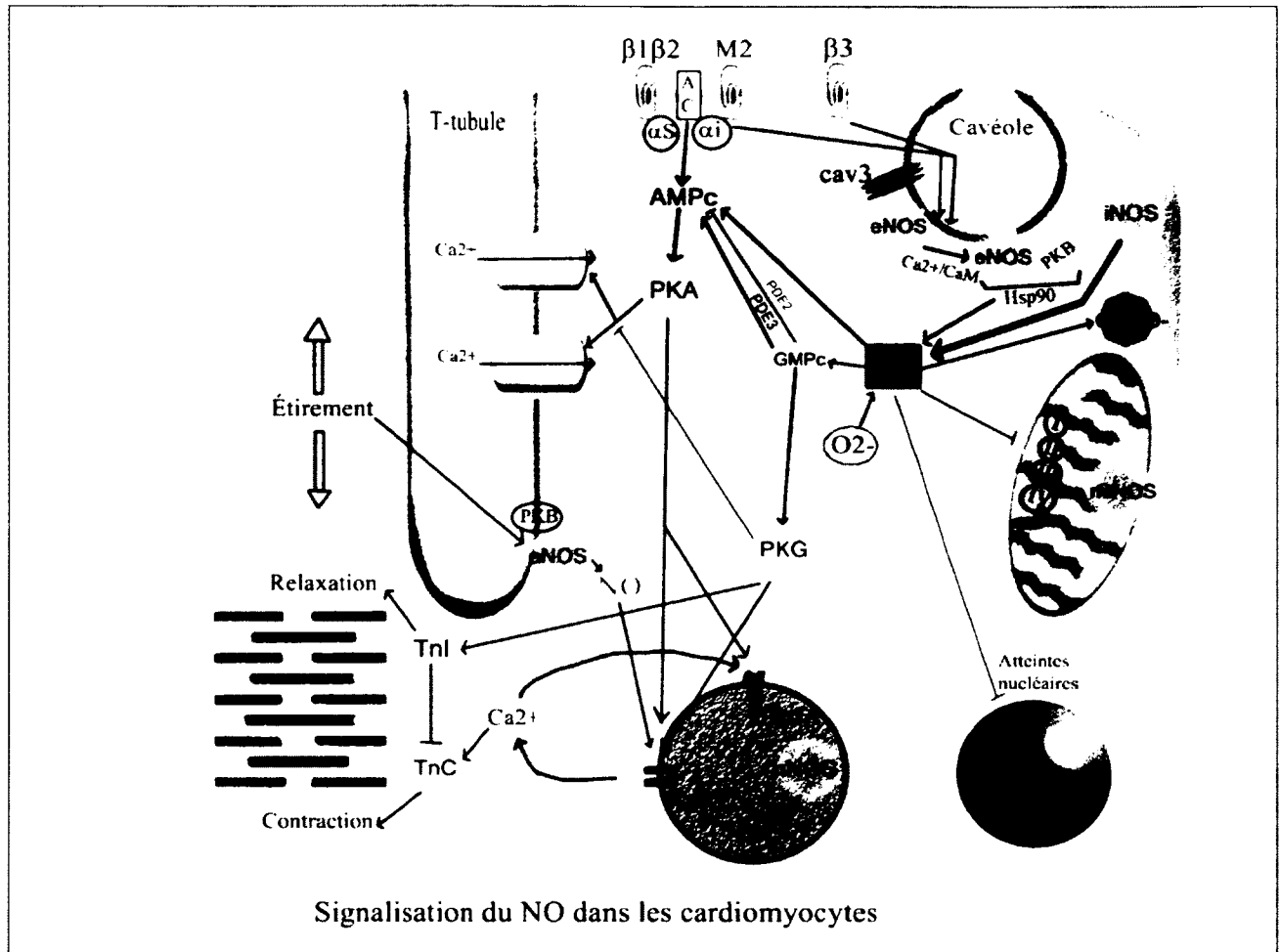


Figure 9 : Signalisation du NO dans les cardiomyocytes

Inspirée de (Massion et Balligand, 2003) Légende : AC = adénylate cyclase, AMPc = adénosine monophosphate cyclique, CaM = ecalmoduline, CaV = canal calcique voltage dépendant, eNOS = « endothelial NO synthase », GMPC = guanosine monophosphate cyclique, HSP = « heat shock proteins », iNOS = « inductible No synthase », mtNOS = NO synthase mitochondriale, nNOS = « neuronal NO synthase », PDE = phosphodiesterase, PKA = protéine kinase A, PKB = protéine kinase B, PKG = protéine kinase G, RyR = récepteur de la ryanodine, SERCA = sarco-endoplasmique réticulum Ca²⁺-ATPases, TnC = troponine C, TnI = troponine I.

1.9.7 LES ISOPROSTANES

Étroitement liés au NO produit dans l'inflammation, particulièrement par iNOS, les isoprostanes sont des sous-produits d'interactions entre des peroxy-nitrites et des lipides membranaires (ou plasmatiques). La peroxydation lipidique est un phénomène qui se propage de lui-même une fois qu'il est activé par des radicaux libres, et il ne peut être arrêté que par une molécule antioxydante. Ces lipides nitrés produits par l'autooxydation d'acides gras polyinsaturés ont de fortes similarités avec les prostaglandines, plusieurs isoprostanes étant respectivement des isomères de prostaglandines, mais leur production est indépendante de la COX. Parmi les isoprostanes, la F₂-isoprostane représente la variété la plus abondante. Les isoprostanes possèdent de multiples propriétés, dont de médiateurs de transduction de signaux, de broncho et vasoconstricteurs, d'inhibiteurs des canaux sodiques cardiomyocytaires, d'inducteurs de l'ET-1, de déclencheurs secondaires surenrichissant le stress oxydatif, etc. Certains isoprostanes pourraient aussi avoir des propriétés de rétroaction négative dans l'inflammation inhibant, par exemple l'expression du NF-κB dépendant d'iNOS. Il faut toutefois être vigilant dans l'interprétation de leurs actions, puisque ces différents effets des isoprostanes dépendent grandement de leur famille, de leur forme isomérique et de leur site d'action. Par contre, ils peuvent être de très bons biomarqueurs *in vivo* du stress oxydatif et de la peroxydation lipidique. Celle-ci étant très présente dans la dysfonction multiorganique septique, des niveaux plasmatiques d'isoprostanes ont pu être associés aux défaillances cardiaque, hépatique et rénale, ainsi qu'aux troubles de coagulation (Fukuda *et al.*, 2005; Montuschi *et al.*, 2007; Pacher *et al.*, 2007; Rudolph et Freeman, 2009; Ware *et al.*, 2011). Étant des pro-oxydants, de potentiels pro-arythmiques, vasoconstricteurs et anti-inflammatoires, les isoprostanes pourraient donc avoir des influences sur plusieurs fronts dans la dysfonction cardiaque septique.

1.9.8 LES RÉACTIFS DE L'OXYGÈNE DANS LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE

La production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) est cruciale dans la survie cellulaire. Le stress oxydatif engendré par le sepsis entraîne un déséquilibre dans la production d'oxydant et d'antioxydant. Dans les cardiomyocytes, l'endotoxine peut induire la production de superoxydes au moyen de la xanthine oxydase, la NADH/NADPH oxydase et la mitochondrie (Merx et Weber, 2007; Hunter et Doddi, 2010; Lorigados *et al.*, 2010; Fernandes et de Assuncao, 2012) (Voir Figure 2). Cependant, la source principale de ROS dans le sepsis serait les neutrophiles activés. Pour le myocarde, une bonne partie de ceux-ci proviendrait des cellules mononucléaires activées (Lorigados *et al.*, 2010; Fernandes et de Assuncao, 2012). Lorsque dysfonctionnelle, la mitochondrie représente aussi une source distincte de ROS myocardique résultant de l'inhibition du flux des électrons au niveau des complexes I, II et/ou IV de la chaîne respiratoire mitochondriale (Supinski et Callahan, 2006; Lorigados *et al.*, 2010; Fernandes et de Assuncao, 2012). Plus encore, la genèse de certaines particules, telles que des membranes de vésicules relâchées durant l'activation cellulaire, pourrait aussi contribuer, dans le sepsis, au largage de ROS, localement et distalement, dans d'autres organes (Ogura *et al.*, 2001; Mortaza *et al.*, 2009; Lorigados *et al.*, 2010). Les ROS ont des effets globaux délétères, allant de la perturbation de la contractilité à la déformation des cardiomyocytes, en passant par l'activation de signaux intracellulaires menant au développement et au remodelage ventriculaire (Tamion *et al.*, 2010).

1.9.9 DYSFONCTION MITOCHONDRIALE

Il a été démontré que, tôt dans le sepsis, se produisait un phénomène d'altération de la consommation de l'oxygène par les cellules musculaires, et ce, malgré un apport adéquat en oxygène. Cette hypoxie cytopathique serait due au fait que les mitochondries subissent des dommages ultrastructuraux et fonctionnels, engendrant ainsi une diminution ou une incapacité d'utilisation de l'oxygène (Chen *et al.*, 2003; Zang *et al.*, 2007; Singer, 2008; Flynn *et al.*, 2010). Une inhibition du pyruvate déshydrogénase (menant à une augmentation de la production de lactate) et/ou une activation de la poly (adénosine diphosphate-ribose) polymérase-1 (grâce à la production élevée de NO et de ses dérivés ONOO[•]), et de superoxydes (au moyen des

médiateurs inflammatoires) en plus d'une baisse de production d'antioxydants intramitochondriaux, seraient à l'origine de ce dysfonctionnement (Suliman *et al.*, 2004; Flierl *et al.*, 2008; Regueira *et al.*, 2012; Rocha *et al.*, 2012; Spasojevic *et al.*, 2012). En effet, l'activation de la polymérase-1 réduirait la quantité de nicotinamide adénine dinucléotide et sa forme réduite NADH, menant à une inhibition du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale. Les peroxy-nitrites (ONNO⁻) inhiberaient similairement le complexe I. Quant au NO, il aurait la propriété de se lier au complexe IV de la chaîne respiratoire mitochondriale et de le limiter directement, en plus d'inhiber l'adénosine triphosphate/protons synthase responsable de la production énergétique (Garrabou *et al.*, 2012). Plus encore, le NO pourrait être lié à l'ouverture de pores transitoires de perméabilité mitochondriale (« mitochondrial permeability transition pores » ou MPTP), situés dans la membrane interne des mitochondries. Cette ouverture des MPTP, au moyen de l'activation de la protéine kinase G (PKG), provoquerait une abrupte dépolarisation, une diminution de l'ATP et un oedème mitochondrial, contribuant ainsi directement à la dysfonction et à l'apoptose myocardique (Sheu *et al.*, 2008; Chopra *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2012).

En résumé, une diminution de la production d'adénosine triphosphate (ATP), une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène, une dérégulation de l'homéostasie calcique, un largage de cytochrome C et de facteurs induisant l'apoptose, sont tous des indices qui confirment ce dysfonctionnement mitochondrial (Regueira *et al.*, 2012). En opposition à ces changements, certains réactifs de l'oxygène stimuleraient la biogenèse mitochondriale (Suliman *et al.*, 2004). Cependant, lors du sepsis, l'ADN mitochondrial est plus sensible aux différents dommages que l'ADN nucléaire (Suliman *et al.*, 2003; Suliman *et al.*, 2004), le rendant plus vulnérable.

Finalement, la dysfonction mitochondriale ainsi que le stress oxydatif, en association avec l'activation de voies intracellulaires par des cytokines et le LPS, provoquent des changements majeurs dans la programmation de la cellule. Par conséquent, on pourrait s'attendre à retrouver des cellules en hibernation faisant de l'autophagie ou étant en apoptose dans le myocarde septique et dysfonctionnel.

1.9.10 HIBERNATION, APOPTOSE ET AUTOPHAGIE MYOCARDIQUE

L'hibernation, l'apoptose et l'autophagie sont trois mécanismes adaptatifs étroitement liés, puisqu'ils sont en fait des types de programmation cellulaire (réversible ou non) possibles, activés, entre autres, en réponse à l'ischémie ou à l'hypoxie. Ils sont connus pour engendrer des changements métaboliques, structuraux ainsi que des états d'hypocontractilité myocardique (Levy *et al.*, 2005; Chopra *et al.*, 2010; Turdi *et al.*, 2012).

L'hibernation myocardique, durant laquelle la fonction cardiaque semble être au repos, est une altération persistante mais non permanente du myocarde à la suite d'une exposition à l'ischémie, qui revient partiellement ou totalement à la normale une fois le problème traité (à condition que le ratio de l'offre par rapport à la demande en oxygène soit respecté et que la cause soit traitée rapidement). Lors de la dysfonction multiorganique septique, il y a inhabileté des mitochondries à utiliser l'oxygène afin de produire de l'ATP, et ce, malgré un apport adéquat en oxygène. C'est ce que l'on appelle l'hypoxie cytopathique (Fink, 2002; Levy *et al.*, 2005). Malgré les nombreuses évidences cliniques et expérimentales démontrant cette hypoxie, les réserves d'ATP semblent préservées dans la dysfonction myocardique septique (Hotchkiss *et al.*, 1991; Solomon *et al.*, 1994; Levy *et al.*, 2005). De plus, l'aspect réversible ou parfois temporaire de la dysfonction myocardique, jumelé parfois avec l'absence de dommage (ou avec peu de morts cellulaires retrouvées à l'autopsie, et ce, malgré des dysfonctions organiques sévères), laissent sous-entendre qu'il pourrait s'agir d'un mécanisme d'hibernation myocardique, qui serait responsable de cette dysfonction (Hotchkiss et Karl, 2003; Levy *et al.*, 2005; Singer, 2008). En effet, l'hibernation myocardique exercerait une cytoprotection grâce à la diminution de la demande en oxygène et en énergie (Hotchkiss et Karl, 2003; Levy *et al.*, 2005). Les connaissances sur la mécanique sous-jacente de l'hibernation myocytaire demeurent à un stade embryonnaire, étant donné l'absence de modèle mimant uniquement cette condition. Cependant, une diminution de la sensibilité au calcium et la présence de TNF- α , d'iNOS et de TGF- β semblent des acteurs importants de ce processus, tel que dans le sepsis (Frangogiannis, 2003; Heusch *et al.*, 2005). Il est à noter que l'hibernation myocardique n'est pas sans conséquence, puisque, avec sa prolongation augmente le risque d'arythmies, de nécroses et d'apoptoses (Kaprielian *et al.*, 1998; Dispersyn *et al.*, 2000; Heusch *et al.*, 2005).

L'apoptose participe également de façon active à la dysfonction organique et myocardique dans le sepsis, car initiée par la réponse hyper-inflammatoire et par de nombreuses cytokines (McDonald *et al.*, 2000; Nevriere *et al.*, 2001; Hotchkiss et Nicholson, 2006). Plusieurs substances peuvent déclencher ce phénomène entraînant la mort cellulaire. C'est le cas des médiateurs, tels que l'endotoxine, le MIF (par les voies JNK et p38), le TNF- α et le p53, qui activeront l'une des deux voies impliquant des caspases et menant à la fragmentation de l'ADN (Meldrum, 1998; Borgers *et al.*, 2000; Dhanantwari *et al.*, 2008). La première voie d'activation, dite extrinsèque, dépend de récepteurs membranaires pro-apoptotiques « death-receptor », tels que FAS/CD95/APO-1 et TNF- α R1, qui activeront la voie apoptotique médiée par la caspase-8. Quant à la voie intrinsèque, ou mitochondriale, elle est activée par un déséquilibre du ratio des protéines BAX/BCL-2, qui entraînera la libération de cytochromes C mitochondriaux ainsi que de facteurs pro-apoptotiques, qui, en définitive, initieront la voie apoptotique médiée par la caspase-9. Ces deux caspases (8 et 9) communiquent dans une même voie finale apoptotique, pouvant tous deux activer la caspase-3, qui est une protéase cruciale dans la programmation de la mort cellulaire (Green et Reed, 1998; Meldrum, 1998; Borgers *et al.*, 2000; Hotchkiss et Nicholson, 2006; Parsons et Green, 2009). Finalement, il a été démontré que dans la dysfonction myocardique septique, l'activation de la caspase-3 est un signe précoce d'apoptose corrélant avec une diminution des performances cardiaques ainsi qu'avec des changements morphologiques (McDonald *et al.*, 2000; Fauvel *et al.*, 2001; Nevriere *et al.*, 2001; Hotchkiss et Nicholson, 2006; Chopra et Sharma, 2009; Chopra *et al.*, 2010). C'est pourquoi la mesure de l'activité de la caspase-3 a été choisie comme marqueur d'apoptose dans cette étude.

De surcroît à l'apoptose, l'autophagie a récemment été évoquée comme un important médiateur de la mort programmée dans le sepsis contribuant par le fait même à la dysfonction myocardique. Malgré cela, l'autophagie peut aussi être un processus protecteur permettant le transport des protéines à longue action et des organelles endommagées vers les lysosomes, afin qu'elles puissent y être recyclées (Hsieh *et al.*, 2009; Watanabe *et al.*, 2009; Hsieh *et al.*, 2011). La présence et l'accumulation de ces vésicules, ou autophagosomes, ont d'ailleurs été signalées lors de biopsies chez des patients présentant des atteintes cardiaques (Terman et Brunk, 2005; Martinet *et al.*, 2007; Hsieh *et al.*, 2011; Nemchenko *et al.*, 2011). Ce phénomène autophagique pourrait être augmenté par des conditions de stress cellulaire, par la production de radicaux libres de l'oxygène (ROS) ainsi que par la dysfonction mitochondriale (Gustafsson et Gottlieb, 2009;

Turdi *et al.*, 2012). Plus encore, il pourrait subsister une boucle de rétroaction entre les ROS et l'autophagie, puisque certains chercheurs ont démontré que celle-ci entraîne aussi une diminution de la production de ROS dans le sepsis endotoxinique (Huang *et al.*, 2011; Turdi *et al.*, 2012).

En définitive, il existe une multitude de facteurs clés contribuant de près ou de loin à la dysfonction organique et myocardique dans le sepsis. D'un autre côté, il subsiste quelques mécanismes compensatoires, tels que l'autophagie, qui temporisent cette situation. Cependant, ceux-ci peuvent rapidement basculer et catalyser certaines réactions, menant ainsi à une dysfonction létale. En faisant abstraction de tous les mécanismes mentionnés précédemment, certains facteurs prédisposant ou comorbidités peuvent aussi contribuer à la gravité de la dysfonction myocardique septique.

1.9.11 FACTEURS PRÉDISPOSANTS ET COMORBIDITÉS

Plusieurs facteurs prédisposant au sepsis sévère ont été identifiés épidémiologiquement. Le sexe (masculin), le vieillissement et des comorbidités (telles que des maladies cardiovasculaires, respiratoires et gastro-intestinales) sont tous des facteurs aggravants qui diminueraient les chances de survie des patients atteints de sepsis sévère (Cheng *et al.*, 2007). Plus particulièrement, les maladies des artères coronariennes (CAD) diagnostiquées ou non et les ischémies ou les infarctus secondaires à des CAD préexistants lors du sepsis, sont des facteurs aggravants, entraînant davantage d'inflammation, de dysfonction endothéliale et d'activation du système de coagulation, procurant ainsi un pronostic encore plus sombre (Hoffmann, 2002; Merx et Weber, 2007). Certaines prédispositions génétiques, ainsi que l'usage de certains médicaments (tels que les statines) ou drogues, pourraient aussi moduler la sévérité du sepsis et de la dysfonction myocardique.

1.10 LE SEPSIS : CONCLUSION

Ainsi, le sepsis possède une physiopathologie très complexe, avec comme moteur le système inflammatoire et sa signalisation alambiquée. Plus encore, au cours de l'endoxémie, une relation étroite existe entre les perturbations vasculaires et la dysfonction organique. Le cœur n'échappant pas à cette prémisse, il subit des modifications ultrastructurelles et fonctionnelles, induisant ainsi la dysfonction myocardique. Plusieurs acteurs ont été identifiés et décrits comme des inducteurs directs de cette dysfonction. Parmi eux, certains exercent leurs actions sur les myocytes au moyen d'un stress oxydatif, de radicaux libres de l'oxygène et de réactifs azotés, ainsi que de nombreuses cytokines et kinases. Malgré cela, la dysfonction myocardique septique semble transitoire, ce qui laisse sous-entendre des mécanismes cellulaires compensatoires permettant le retour à une fonction normale, à condition qu'il y ait survie.

Étant donné l'aspect hautement létal de la dysfonction myocardique septique, plusieurs voies thérapeutiques ont été mises de l'avant, dont la réanimation liquidienne.

CHAPITRE 2

2.1 LES TRAITEMENTS DU CHOC SEPTIQUE ET DU SEPSIS SÉVÈRE

Dans ce chapitre seront discutés systématiquement tous les traitements recommandés et disponibles cliniquement pour le traitement du choc septique et du sepsis sévère. L'objectif est de tracer un portrait global et actuel des ressources mises à la disposition des cliniciens pour, dans un premier temps, le traitement du sepsis, puis pour la dysfonction myocardique septique. Par la suite, les impacts déjà connus des traitements de la dysfonction myocardique septique seront décrits plus en détail, selon deux principaux axes, soit les traitements pharmacologiques et les liquides de réanimation. Certaines solutions palliatives de dernière ligne et approches futures y seront aussi abordées, mais brièvement. Finalement, ce chapitre permettra de mettre au jour et de motiver les choix de traitements mis à l'épreuve dans cette étude.

2.1.1 LES TRAITEMENTS GÉNÉRAUX RECOMMANDÉS POUR LE SEPSIS ET LE CHOC SEPTIQUE

Au cours du sepsis sévère et du choc septique, il faut considérer plusieurs aspects thérapeutiques de la prise en charge générale des patients atteints. En plus du traitement primaire de la source du sepsis, c'est-à-dire du traitement ciblant directement ou indirectement les pathogènes sources de l'infection (par exemple, l'antibiothérapie), les médecins doivent maintenir certains paramètres vitaux du patient dans des valeurs acceptables, et ce, à l'aide des différents moyens dont ils disposent, afin de réduire le taux de mortalité (Dellinger *et al.*, 2008; Lodha *et al.*, 2011). C'est ce qui a entre autres été proposé en 2001 par Rivers et son équipe dans « Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock » (Rivers *et al.*, 2001), suivi par le consensus international émis par Dellinger et son équipe en 2008 dans « Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008 » (Dellinger *et al.*, 2008). Il est à noter que ces lignes directrices internationales sont réactualisées quasi annuellement.

S'ajoutent à cela d'autres thérapies complémentaires, dont la validité reste une zone de controverse, telles que : l'usage de stéroïdes en cas de choc réfractaire (ne répondant pas aux traitements recommandés et nécessitant un support hors normes de vasopresseurs), la ventilation mécanique afin d'optimiser l'oxygénation (sans qu'il y ait une indication d'atteinte pulmonaire), l'administration de la protéine C activée (retirée du marché le 25 octobre 2011 par Eli Lilly™), l'utilisation de l'hémodialyse ou de la thérapie de remplacement rénale en continue (CRRT) pour les patients en insuffisance rénale aiguë (Abdo *et al.*, 2012) et, finalement, le contrôle glycémique dans les limites des normales à l'aide d'insuline intraveineuse et de dextrose (Dellinger *et al.*, 2008; Levy *et al.*, 2010; Lodha *et al.*, 2011; Fry, 2012; Wu, 2012). En raison de leur moindre importance et de leur controverse, ces thérapies ne seront pas traitées davantage dans ce mémoire.

Nonobstant que certains aspects des lignes directrices, susmentionnés, soient encore critiqués, la gestion clinique du choc septique consiste toujours en deux grands principes, soit le maintien de la perfusion et le maintien de l'oxygénation tissulaire. Pour ce faire, il faut atteindre ces cibles cliniques suivantes : 1) maintenir une tension veineuse centrale (TVC) plus grande que 8 mmHg, avec l'administration de cristaalloïdes ou de colloïdes; 2) maintenir une pression artérielle moyenne (PAM) plus grande ou égale à 65 mmHg, avec l'administration d'agents vasoactifs; 3) maintenir une saturation centrale veineuse en oxygène (ScvO₂) plus grande ou égale à 70 % après une ventilation et un apport en oxygène adéquat avec des transfusions sanguines (si l'hématocrite est inférieur à 30 %) ou avec des agents cardiaques inotropes positifs (si l'hématocrite est supérieur à 30 %) (Rivers *et al.*, 2001; Dellinger *et al.*, 2008; Levy *et al.*, 2010).

2.1.2 INDICATIONS DE TRAITEMENT DE LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE SEPTIQUE

De prime abord, avant d'amorcer tout traitement spécifique de la dysfonction myocardique, il doit y avoir confirmation de celle-ci. Il est possible de confirmer la présence d'une dysfonction cardiaque grâce à la disponibilité d'une ScvO₂ et à d'autres mesures de la fonction cardiaque obtenues par cathéter artériel pulmonaire (CAP) ou par une technologie PiCCO (« Pulsion Medical Systems AG », une technologie de monitoring hémodynamique avancé, solution de remplacement au CAP, qui provient d'Allemagne) (Jozwiak *et al.*, 2011). Néanmoins, le diagnostic décisif de dysfonction cardiaque devrait préférablement être validé par échocardiographie (Rivers *et al.*, 2001; Dellinger *et al.*, 2008; Brierley *et al.*, 2009; Levy *et al.*, 2010; Casserly *et al.*, 2011; Jozwiak *et al.*, 2011; Rivers *et al.*, 2012) (voir le chapitre 1.8 : Monitoring clinique de la dysfonction myocardique pour plus de détails). Une fois cette prémisse établie, des facteurs pouvant influencer la dysfonction cardiaque doivent aussi être validés.

Tel que mentionné précédemment, les traitements de base du sepsis sévère consistent à maintenir la perfusion et l'oxygénation des tissus. Puisque le cœur, au même titre que les autres organes, dépend de ces facteurs « externes » d'oxygénation et de perfusion, en plus de dépendre d'une précharge adéquate afin de maintenir un bon débit, le clinicien doit s'assurer de vérifier que certains aspects des traitements initiaux sont optimaux avant de débiter un traitement spécifique pour la dysfonction myocardique. Plus particulièrement, ceux-ci consistent en la validation d'un remplissage vasculaire adéquat (TVC/CVP > 8 mmHg), d'une oxygénation adéquate (par ventilation mécanique au besoin), d'une hémoglobine supérieure à 100 g/L (ou d'un hémocrite > 30 %) et de l'utilisation de vasopresseurs au besoin, afin d'augmenter la résistance vasculaire périphérique (Chelazzi *et al.*, 2011; Gheorghide *et al.*, 2012).

En bref, ce n'est qu'après l'optimisation des traitements initiaux du sepsis ou du choc septique et après l'obtention d'une confirmation objectivée de la présence d'une dysfonction cardiaque, qu'il est indiqué d'entreprendre un traitement spécifique, principalement pharmacologique, afin de traiter celle-ci.

2.1.2.1 TRAITEMENTS CLINIQUES PHARMACOLOGIQUES ACTUELS DE LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE

Bien que la dysfonction myocardique dans le sepsis soit généralement réversible et que sa physiopathologie suggère fortement des origines causées par des médiateurs inflammatoires circulants (apparition dans les 24 à 48 heures du début du sepsis), il est cliniquement acceptable d'utiliser le support d'un inotrope positif en attendant le retour d'une fonction cardiaque normale (Brierley *et al.*, 2009; Hollenberg, 2011) et afin d'obtenir et d'optimiser une $ScvO_2 \geq 70\%$ (Dellinger *et al.*, 2008). Le principal problème inhérent à l'augmentation de la contractilité cardiaque est de trouver un inotrope positif qui ne provoque pas de tachycardie, de tachyarythmie ou d'hypotension artérielle et qui ne compromet pas la microcirculation (Jozwiak *et al.*, 2011). Il est estimé qu'uniquement 10 à 20 % des patients en dysfonction myocardique induite par le sepsis requerraient de recevoir des agents inotropes (Rabuel et Mebazaa, 2006; Jozwiak *et al.*, 2011). À titre de support pharmacologique, la dobutamine, un agoniste β_1 largement utilisé, semble être le traitement de choix afin d'augmenter la contractilité cardiaque (comparativement à la milrinone, la dopamine, l'épinéphrine ou d'autres inotropes positifs), et ce, même si elle n'est pas toujours efficace chez les patients en choc septique (Brierley *et al.*, 2009; Zausig *et al.*, 2010; Jozwiak *et al.*, 2011; Lodha *et al.*, 2011; Yoon, 2012). Plus encore, le clinicien doit toujours s'assurer d'un bon remplissage vasculaire (optimisant la précharge) afin que ces inotropes et ces vasopresseurs soient efficaces.

Il existe aussi les sensibilisateurs calciques, un nouveau type d'inotrope en popularité montante qui a fait son apparition il y a quelques années. Le LévosimendanTM (non commercialisé dans tous les pays), fait partie de cette classe et agit directement sur la sensibilité au calcium des myofilaments, puisque son action est indépendante de la voie β_1 -adrénergique (Brierley *et al.*, 2009; Jozwiak *et al.*, 2011). Ses effets améliorent la fonction systolique et diastolique (effets lusitropiques positifs), en augmentant le débit cardiaque ainsi que la fraction d'éjection du ventricule gauche, en plus de favoriser la performance du ventricule droit en diminuant sa postcharge (au moyen d'une vasodilatation pulmonaire). Le LévosimendanTM favoriserait également la clairance de la créatinine, en plus de diminuer le niveau de lactatémie et d'avoir des effets antioxydants en inhibant, entre autres, la relâche de réactifs de l'oxygène (ROS). Cependant, son utilisation ne peut se faire sans l'utilisation concomitante d'un

vasopresseur, étant donné ses effets vasodilatateurs (par l'ouverture des canaux adénosine triphosphate sensitifs au potassium (K_{ATP}) des muscles lisses vasculaires) (Morelli *et al.*, 2005; Barraud *et al.*, 2007; Pinto *et al.*, 2008; Hasslacher *et al.*, 2011; Jozwiak *et al.*, 2011). Malgré ces aspects fortement prometteurs, le Lévosimendan™ doit encore faire ses preuves avant d'être considéré comme support pharmacologique primaire de la dysfonction myocardique septique (Zausig *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2011).

D'autres voies pharmacologiques sont aussi explorées, mais elles ne sont pas actuellement disponibles ou utilisées en clinique pour le traitement de la dysfonction myocardique septique. C'est le cas du traitement anti-inflammatoire par l'inhibition du récepteur RAGE (« Receptor for Advance Glycation End-product ») qui n'a, jusqu'à présent, montré aucun bénéfice par rapport à la survie des patients en sepsis, bien que l'implication de l'axe du RAGE (avec ses nombreux ligands) dans la perpétuité de l'inflammation et de la dysfonction myocardique ne fasse aucun doute (Bopp *et al.*, 2008; Creagh-Brown *et al.*, 2010; Jozwiak *et al.*, 2011). Pour ce qui est des statines, largement utilisées pour les patients atteints de dyslipidémie, on pourrait assister à une augmentation de leur utilisation, puisqu'ils ont démontré des effets réducteurs sur l'expression du TNF- α et de p53, en plus de réduire l'apoptose myocardique et de minimiser certains changements structuraux dans la dysfonction myocardique septique. Cependant, leurs effets semblent davantage présents lorsqu'il y a eu un traitement antérieur du sepsis (Merx *et al.*, 2004; Ibe *et al.*, 2007; Smeding *et al.*, 2012). Pour ce qui est des traitements antioxydants, plusieurs pistes (telle que l'utilisation de cations lipophiliques, d'hémi-gramicidine-TEMPOL conjuguée, de peptides antioxydants, de substances mimétiques de superoxydes dismutases, de la mélatonine, etc.) sont très prometteuses et pourraient permettre de cibler directement le stress oxydatif subit par les mitochondries cardiomyocytaires dans la dysfonction myocardique septique. Cependant, ces théories sont encore loin des essais cliniques (Galley, 2010; Rocha *et al.*, 2012). Il est à noter que beaucoup d'autres molécules et approches pharmacologiques, dont cette étude ne fait pas mention, font présentement l'objet de recherche et pourraient avoir des impacts sur le traitement de la dysfonction cardiaque dans le sepsis.

En bref, bien que la majorité de ces solutions pharmacologiques de support de la fonction cardiaque soient temporaires, elles peuvent contribuer à créer un lien entre la dysfonction et la récupération du myocarde, minimisant les effets du choc et favorisant ainsi la survie. Malgré

cela, l'aspect d'une réanimation liquidienne adéquate dans la dysfonction myocardique septique demeure une pierre angulaire du traitement hémodynamique, l'aspect pharmacologique agissant en complémentarité.

Finalement, en cas de choc réfractaire à tous ces traitements de support de la fonction cardiaque, il pourrait être considéré, comme mesure de dernier recours, d'utiliser des supports mécaniques externes, tels que l'oxygénation par circulation extracorporelle du type ECMO (« Extra Corporal Membrane Oxygénation ») (Stewart *et al.*, 1997; Maclaren et Butt, 2007; Brierley *et al.*, 2009).

2.1.3 RÉANIMATION LIQUIDIENNE ET DYSFONCTION MYOCARDIQUE SEPTIQUE

Il est certain que plusieurs des traitements pharmacologiques du choc septique peuvent avoir des influences positives et négatives sur la dysfonction myocardique, tant grâce à des actions directes (par exemple avec l'utilisation d'inotropes positifs) ou indirectes (par exemple avec le maintien d'une oxygénation adéquate). Cependant, il est reconnu que la réanimation liquidienne initiale réduit le taux de mortalité et joue un rôle crucial dans le maintien hémodynamique des patients, étant donné l'hypovolémie relative et absolue, ainsi que l'hypoperfusion des organes qui règne au cours du choc septique (Rivers *et al.*, 2001; Carlsen et Perner, 2011; Bouferrache *et al.*, 2012; Mahjoub *et al.*, 2012; Rivers *et al.*, 2012). L'importance d'une réanimation liquidienne initiale adéquate dans le sepsis a donc fait ses preuves. De ce fait, depuis quelques années, émergent des études signifiant que les liquides de réanimation auraient des impacts directs (non médiés par l'augmentation de la perfusion engendrée par leur perfusion), bien que parfois divergents (Fang *et al.*, 2008; Brandt *et al.*, 2009), sur la dysfonction cardiovasculaire (Fang *et al.*, 2008; Zanotti-Cavazzoni *et al.*, 2009; Dubin *et al.*, 2010; Santry et Alam, 2010), de même que sur la dysfonction myocardique septique (Oliveira *et al.*, 2002; Walley *et al.*, 2003; Chagnon *et al.*, 2006; van Haren *et al.*, 2012).

Ce qui fait la particularité de la recherche présentée dans ce mémoire, c'est que la majorité des recherches sur ce sujet abordent la perfusion des liquides de réanimation tout en ne tenant pas compte de leur pouvoir de remplissage unique, c'est-à-dire qu'ils ont été administrés selon un même volume ou en fonction d'un poids ou encore en visant un paramètre

hémodynamique. Le tout en négligeant leurs propriétés oncotiques, osmotiques et distributives distinctives, et ce, peu importe si elles s'avéraient être des colloïdes ou des cristalloïdes (Perel et Roberts, 2012). Cette façon d'étudier les aspects de la réanimation liquidienne ne permet donc pas d'éliminer la composante de remplissage vasculaire comme précurseur à ces altérations (bonnes ou mauvaises) des fonctions cardiaque et myocardique induites par ces liquides. Voilà pourquoi les travaux de recherche proposés dans ce mémoire ont un caractère unique, en proposant une approche de perfusion définie en fonction des différentes caractéristiques des liquides de réanimation utilisés.

2.1.4 RÉANIMATION LIQUIDIENNE : ÉVALUATION DE LA RÉPONSE

Tel que mentionné précédemment, les critères hémodynamiques valorisant l'emploi de la réanimation liquidienne, pour des patients atteints de sepsis (voir la section 2.1.1 : Les traitements généraux recommandés pour le sepsis et le choc septique), font aussi office de paramètres d'évaluation de celle-ci, soit la tension veineuse centrale, le maintien d'une pression artérielle moyenne, ainsi que le maintien d'une ScvO₂ dans les normales (Rivers *et al.*, 2001; Hollenberg *et al.*, 2004; Dellinger *et al.*, 2008; Levy *et al.*, 2010). D'autres paramètres, tels que le débit cardiaque, les dimensions des ventricules et les variations de volumes systoliques et de fins diastoliques peuvent être obtenues par l'utilisation d'échocardiographies transœsophagiennes ou transthoraciques. Cette visualisation de la fonction cardiaque permet de bien évaluer les impacts de la réanimation (Cheung *et al.*, 1994; Jardin *et al.*, 1994; Eachempati *et al.*, 1999; Shanewise *et al.*, 1999; Casserly *et al.*, 2011). Cependant, les échographes ne sont pas accessibles dans tous les milieux; ils sont coûteux et ne sont pas adéquats pour une surveillance continue (Thys, 1996). Pour ce qui est de l'utilisation d'un cathéter artériel pulmonaire, il permet de connaître les pressions cardiaques en amont du ventricule gauche (TVC, pression intrapulmonaire, pression d'occlusion, etc.), en plus de permettre d'obtenir une saturation veineuse mixte. Bien qu'elle puisse être utilisée de façon plus chronique, son utilisation dans le sepsis reste partagée, puisque pour interpréter adéquatement les valeurs, cela demande d'en obtenir une série, afin d'établir un profil hémodynamique propre à chaque patient. Ces mesures peuvent être facilement mal interprétées et exigent donc que leur évaluation soit faite par un clinicien expérimenté (Casserly *et al.*, 2011). D'autres techniques de mesure de la

réponse liquidienne moins invasives, dont à partir de la pression artérielle, ont fait leur apparition au cours des dernières années. Une de ces techniques permet d'obtenir la variation de volume systolique (« stroke volume variation ») par cathéter intra-artériel et peut ainsi prédire la réponse hémodynamique d'un patient à une réanimation liquidienne. Malheureusement, cette technique n'est pas complètement validée et ne peut qu'être utilisée chez les patients ventilés, sans respiration spontanée, ce qui limite de beaucoup son utilité (Perner et Faber, 2006; Renner *et al.*, 2009; Casserly *et al.*, 2011; Hofer et Cannesson, 2011; Greenfield et Balk, 2012). De nouvelles techniques de mesure de CO₂ tissulaire, ainsi que de micro-imagerie de la micro-perfusion, telles que la débitmétrie par doppler laser et la spectrométrie polarisante orthogonale, sont aussi en développement et apporteront sûrement des indices sur les impacts de la réanimation liquidienne dans le sepsis (Boldt et Ince, 2010).

Plus encore, bien qu'une augmentation du débit cardiaque, de la pression artérielle et de la saturation veineuse centrale soit indicatrice d'une réanimation liquidienne adéquate, il n'en demeure pas moins qu'elle est d'ordre plutôt global. D'autres marqueurs sériques de l'hypoperfusion tissulaire, tels que le pH (acidose) et l'hyperlactatémie, peuvent témoigner plus précisément de l'état microcirculatoire et de la détresse mitochondriale (Boldt et Ince, 2010; Hochstadt *et al.*, 2011). Similairement, il est maintenant possible de faire le dosage de plusieurs marqueurs sériques de l'inflammation, de la dysfonction organique ou de l'apoptose, tels IL-1ra, IL-8, ICAM-1, TNF- α et caspase-3 (Rivers *et al.*, 2007). Cependant, la disponibilité de ces derniers tests n'est pas courante, et ceux-ci s'avèrent souvent très coûteux. De plus, certains de ces marqueurs pourraient être influencés par quelques-uns des traitements du sepsis. Il faut donc être vigilant et émettre des réserves sur les résultats obtenus, puisque la réanimation liquidienne, à elle seule, peut entraîner des effets de dilution sur la mesure de ces marqueurs sériques, comme c'est aussi le cas pour la lactatémie.

Pour des fins pratiques, l'échocardiographie a été principalement utilisée dans un premier temps, dans cette étude, afin d'évaluer l'état de remplissage vasculaire et la réponse cardiaque à la suite de la perfusion des liquides de réanimation. Ensuite, des mesures de pression artérielle et de TVC ont été prises afin de corrélérer et de confirmer les mesures précédentes (données non disponibles lors de la soumission de l'article).

2.2 LES LIQUIDES DE RÉANIMATION ET LEURS IMPACTS SUR LA DYSFONCTION MYOCARDIQUE SEPTIQUE

Cette section traitera systématiquement de tous les liquides de réanimation disponibles cliniquement et actuellement ou ayant été étudiés ou utilisés cliniquement dans le passé. Ils seront abordés sous les angles de leurs propriétés générales, de leurs impacts vasculaire et plasmatique, ainsi que sur la dysfonction myocardique. Cela permettra d'établir un portrait global des connaissances et de mettre à jour des similitudes existantes concernant les impacts et le fonctionnement de ces liquides entourant la réanimation liquidienne dans le sepsis et la dysfonction myocardique.

2.2.1 CRISTALLOÏDES VERSUS COLLOÏDES

Plusieurs études et méta-analyses ont montré qu'il n'y avait aucune différence, sinon très peu, en terme d'augmentation du taux de survie entre l'usage de cristalloïdes versus celui de colloïdes dans la réanimation liquidienne chez des patients atteints de sepsis, ou de manière générale, dans un état critique (Vincent et Gerlach, 2004; Su *et al.*, 2007; Vincent et Gottin, 2011; Bunn et Trivedi, 2012; Perel et Roberts, 2012). Néanmoins, les différents liquides de réanimation disponibles en clinique (les salins hypertoniques, les colloïdes naturels, tels que l'albumine, et les colloïdes artificiels, tels que les hydroxyéthyles d'amidon), comparativement au normal salin 0,9 %, ont bel et bien des impacts systémiques, tissulaires et moléculaires grâce à des mécanismes qui varient. De ce fait, même s'ils n'ont pas d'incidence évidente sur le taux de survie ou de mortalité (Naing et Win, 2010; Bunn et Trivedi, 2012), ils peuvent toutefois avoir des effets sur la morbidité, sur la durée de la dysfonction, sur les effets de la réaction inflammatoire, sur le glycocalyx et sur d'autres conséquences à long terme, comme celles causées par l'hypoxie ou l'hypoperfusion des autres organes (Groeneveld, 2000; Anning *et al.*, 2004; Mahjoub *et al.*, 2012; Woodcock et Woodcock, 2012). De plus, chacun de ces liquides de réanimation possède ses propres propriétés et limitations cliniques. Voilà pourquoi il est important de s'y attarder et d'investiguer les effets bénéfiques ou délétères de ces liquides sur la fonction cardiovasculaire et, plus particulièrement, sur la dysfonction myocardique septique.

2.2.2 LES CRISTALLOÏDES

Les liquides de réanimation les plus utilisés au sein de la famille des cristalloïdes sont les salins isotoniques, les salins hypertoniques, ainsi que le lactate Ringer. Ils ont tous démontré des effets à différents niveaux sur la fonction cardiovasculaire dans le sepsis sévère (Fang *et al.*, 2008).

2.2.2.1 IMPACTS DES SOLUTIONS ISOTONIQUES

Parmi toutes ces solutions, le normal salin (NS ou 0,9 % (w/v) NaCl ou isotonique ≈ 300 mOsm/L) est probablement celui dont l'usage est le plus répandu. Malgré cela, ce cristalloïde n'est pas sans effet adverse, puisqu'on lui attribue plusieurs effets néfastes, tels que d'entraîner des acidoses hyperchlorémiques associées avec d'autres désordres électrolytiques (Lobo *et al.*, 2001; Reid *et al.*, 2003; Kellum *et al.*, 2006; Vincent et Gottin, 2011), ainsi que des effets de dilution importants sur l'albumine sérique et l'hématocrite (Reid *et al.*, 2003). En contrecoup, cette dilution diminuerait la pression oncotique et augmenterait davantage la fuite d'albumine, de sodium et, en définitive, d'eau vers l'espace interstitiel. Dépendamment de la vitesse de perfusion du cristalloïde, l'équilibre entre le milieu intravasculaire et l'espace interstitiel peut être atteint en quelques minutes (même en hypovolémie ou en choc), ce qui favorise un état d'hyperhydratation interstitielle et pulmonaire néfaste (Kaufman *et al.*, 1986; Ernest *et al.*, 1999; Berg *et al.*, 2002; Feng *et al.*, 2006; Trof et Groeneveld, 2011). Plus encore, ces effets semblent être augmentés, puisque la solution saline aurait une excrétion plus lente que certains autres cristalloïdes (comparativement au dextrose 5 % et au lactate Ringer) (Lobo *et al.*, 2001; Reid *et al.*, 2003; Lobo *et al.*, 2010; Trof *et al.*, 2010).

D'un point de vue fonctionnel, malgré peu de différences dans les pressions de remplissage et dans le débit cardiaque chez les patients septiques comparativement à des patients non septiques, (à la suite d'une perfusion de NS), il est observé une augmentation bénéfique de l'index de travail en contraction du ventricule gauche (LVSWI ou « Left Ventricular Stroke Index »). Cependant, les autres liquides, tels que les colloïdes, demeurent beaucoup plus performants que le NS dans l'amélioration de ces paramètres de performance myocardique, de la perfusion et du transport de l'oxygène (Chagnon *et al.*, 2006; Trof *et al.*, 2010).

Pour ce qui est des impacts moléculaires sur le myocarde septique ou encore sur l'inflammation, le NS n'a pas démontré d'influence sur l'expression du TNF- α , de l'interleukine IL-1 β , de la protéine inflammatoire macrophagienne-2 (« Macrophage Inflammatory Protein-2 » ou MIP-2), ainsi que de la molécule d'adhésion intercellulaire-1 (« Intercellular Adhesion Molecule-1 » ou ICAM-1), et ce, dans plusieurs organes (Feng *et al.*, 2007). Le NS semble même augmenter l'expression d'iNOS cardiaque dans le sepsis, comparativement à d'autres liquides (Walley *et al.*, 2003). Le NS est donc probablement le liquide de réanimation le plus pro-inflammatoire (Boldt et Ince, 2010). Mais, étant donné qu'il est l'un des plus utilisés en clinique, il représentera la solution de contrôle dans cette étude.

Le lactate Ringer (RL, connu sous le nom de solution de Hartmann) est aussi considéré comme une solution isotonique, au même titre que le NS. Le RL est constitué d'ions sodiques à 130 mmol/L, de chlorure à 109 mmol/L, de lactate à 28 mmol/L, de potassium à 4 mmol/L, de calcium à 3 mmol/L, le tout avec une osmolarité d'environ 274,4 mOsm/L (Otsuki *et al.*, 2007; Vincent et Gottin, 2011) (la composition peut varier selon le fabricant); une solution physiologique plus complète, avec une osmolarité se rapprochant de celle du NS, mais n'entraînant pas de changement dans les électrolytes sériques (Reid *et al.*, 2003). Les effets du RL sont similaires à ceux du NS (Boldt et Suttner, 2005). Par conséquent, il contribue aussi à l'augmentation de l'œdème tissulaire (Groeneveld, 2000; Lobo *et al.*, 2008), puisqu'il se redistribue avec un ratio d'approximativement 25 % intravasculaire et 75 % interstitiel (identique au NS) (Waikar et Chertow, 2000; Boldt et Suttner, 2005). Cela pourrait toutefois être légèrement compensé par une augmentation du drainage lymphatique (Groeneveld, 2000). Le RL performe aussi moins bien que les autres liquides (l'albumine, les gélatines et les hydroxyéthyles d'amidon) quant à l'augmentation du débit cardiaque indexé et au transport de l'oxygène (Hankeln *et al.*, 1989; Su *et al.*, 2007). Fait intéressant : malgré sa composition contenant du lactate, sa perfusion ne semble pas augmenter significativement le niveau de lactate artériel (Su *et al.*, 2007). De plus, l'utilisation de RL en tant que cristalloïde n'induit pas d'acidose hyperchlorémique, comme c'est le cas pour le NS (Takil *et al.*, 2002; Boldt et Suttner, 2005). Le RL n'aurait toutefois pas d'influence sur IL-6 (Su *et al.*, 2007), mais il augmenterait l'adhésion des cellules endothéliales aux neutrophiles (qui augmentent l'activation), en plus d'augmenter l'agrégation des leucocytes et l'activation des plaquettes (Khan *et al.*, 2011). Il augmenterait

aussi le largage de sélectine-E par les cellules endothéliales, ce qui, en somme, a pour effet d'amplifier les effets du sepsis (Khan *et al.*, 2011). En résumé, il est à considérer que le RL demeure peu étudié comme soluté primaire de réanimation dans la dysfonction myocardique septique, mais l'est plutôt à titre de solution de contrôle ou en tant que solution de remplacement du NS. Il ne sera donc pas utilisé dans cette étude, puisque le NS servira de liquide de contrôle.

2.2.2.2 IMPACTS DES SALINS HYPERTONIQUES

Dans la famille des salins, se situent les hypertoniques (« Hypertonic saline » ou HTS) qui, contrairement au NS (isotonique), semblent avoir des effets prometteurs sur la dysfonction myocardique dans le sepsis (HTS de 3 % à 7,5 % (w/v) NaCl ou HTS 3,5 % \approx 1197 mOsm/L)(Fang *et al.*, 2008). C'est grâce aux travaux de Velasco et de ses collègues en 1980 (Velasco *et al.*, 1980), qui ont mis à jour plusieurs effets bénéfiques de la solution saline à 7,5 % en réanimation (des chocs hémorragiques), que l'intérêt a été lancé pour ce liquide (Oliveira *et al.*, 2002).

Le salin hypertonique a comme principal attribut d'atteindre rapidement, et durant une courte période, un équilibre, grâce à son soluté hyperosmotique, entre le milieu extracellulaire et intracellulaire, ce qui a pour effet d'augmenter rapidement et significativement le transport et l'extraction de l'oxygène par une augmentation du débit cardiaque et une diminution de l'œdème tissulaire lors du sepsis (Armistead *et al.*, 1989; Kreimeier *et al.*, 1991; Hannemann *et al.*, 1996; Maciel *et al.*, 1998; Waikar et Chertow, 2000; Oliveira *et al.*, 2002). Son utilisation dans la réanimation a de plus en plus d'intérêt, puisqu'elle permet d'atteindre un niveau de remplissage vasculaire acceptable avec la moitié de liquide (comparativement au NS) et diminue la nécessité d'une réanimation continue (Urbano *et al.*, 2012; van Haren *et al.*, 2012). Cependant, ces effets n'étant que transitoires, cela explique qu'on le jumelle souvent à des colloïdes, tels que des amidons ou du dextran (HSD), afin de prolonger ces effets intravasculaires (Oliveira *et al.*, 2002; Urbano *et al.*, 2012). À la suite de la perfusion d'une petite quantité d'hypertonique, le liquide intracellulaire migre vers le milieu intravasculaire provenant principalement des cellules endothéliales microvasculaires et des érythrocytes. Ce phénomène a pour effet de réduire la résistance hydraulique et d'améliorer la perfusion tissulaire (Kreimeier *et al.*, 1991; Corso *et al.*,

1998; Oi *et al.*, 2000; Oliveira *et al.*, 2002). Le HTS améliorerait aussi le débit cardiaque ainsi que la perfusion périphérique au moyen d'autres actions médiées par des prostacyclines et des prostaglandines. Les prostacyclines (PGI₂) sont de médiateurs paracrines et de puissants vasodilatateurs du lit vasculaire, en plus d'être de potentiels inhibiteurs d'agrégations plaquettaires. Cette augmentation de la PGI₂ serait causée par une augmentation de l'expression de la COX-2, produite à la suite du stress osmotique du HTS et de l'activation de la voie de certaines MAPK, telle que p38 (Arbabi *et al.*, 2000). Cette augmentation de la PGI₂ et de la COX-2 causée par le HTS demeure un couteau à deux tranchants, puisque celles-ci sont aussi induites par le LPS et que si ces deux phénomènes s'additionnent, ils peuvent causer une diminution marquée de la résistance vasculaire périphérique et une hypotension, aggravant ainsi la situation (Arbabi *et al.*, 2000; Oliveira *et al.*, 2002). Une augmentation du ratio de prostaglandine 6-cheto F_{1α} (6-keto-PGF1-alpha; un métabolite stable de la prostacycline) et de thromboxane B₂ (TxB₂) contribuerait aussi localement à des effets cardiovasculaires (Rabinovici *et al.*, 1992; Arbabi *et al.*, 1999). Ce sont des métabolites de la TxA₂ ou d'autres prostaglandines, en collaboration avec l'effet d'expansion du volume intravasculaire, qui seraient responsables des effets chronotropes et vasodilatateurs, en plus de la baisse de l'ACTH et du cortisol, conséquemment à une perfusion d'un petit volume de HTS (Rabinovici *et al.*, 1992; Cudd *et al.*, 1998; Arbabi *et al.*, 1999; Arbabi *et al.*, 2000; Oliveira *et al.*, 2002).

Quant aux impacts sur la fonction myocardique, qui augmentent le débit cardiaque (inotropique positif, lusitropique et d'augmentation du volume de contraction indexé (SVI)) (van Haren *et al.*, 2012), ils pourraient aussi être directement liés aux effets de l'hypertonie du HTS réduisant l'œdème, en causant une vasodilatation des coronaires, en restaurant les potentiels membranaires et en favorisant la contractilité et la relaxation cardiaque au moyen des échangeurs sodium/calcium (Nakayama *et al.*, 1985; Ing *et al.*, 1994; Mouren *et al.*, 1995; Oliveira *et al.*, 2002). Cependant, ces effets sont dose-dépendant puisque, en trop grande quantité, l'effet d'hyperosmolarité du HTS a pour effet de causer une dépression du myocarde (Wildenthal *et al.*, 1969; Brown *et al.*, 1990; Waagstein *et al.*, 1995; Oliveira *et al.*, 2002). D'autres effets bénéfiques du HTS sur l'inflammation au cours du sepsis pourraient être médiés par une atténuation de la production de TNF-α de certaines cytokines (IL-1β, IL-6, IL-2, IFNγ, IL-10 et GM-CSF) et par une diminution de l'activation des neutrophiles et des macrophages, ce qui a été démontré dans plusieurs organes ainsi que dans d'autres modèles expérimentaux d'inflammation

(tel que dans le choc hypovolémique traumatique) (Deitch *et al.*, 2003; Staudenmayer *et al.*, 2005; Bahrami *et al.*, 2006; Horton *et al.*, 2006; Nydam *et al.*, 2009; Isayama *et al.*, 2012). En contrepartie, le HTS (ou du moins le HSD), par le biais de ses stimuli mécaniques, entraînerait aussi une augmentation significative de la relâche périphérique de NO et d'ET-1 cardiaque, modulant ainsi l'homéostasie de la perfusion coronarienne (Molnar *et al.*, 2011). Bien que les inhibiteurs d'iNOS ne soient pas encore utilisés en clinique, lorsqu'ils sont administrés en concomitance avec le HTS, cela augmenterait la durée de séjour intravasculaire de ce liquide hypertonique (Chen *et al.*, 2004). Il existerait donc un lien étroit entre la production de NO et l'efficacité cardiovasculaire du HTS, qui dépendrait de celui-ci ou interagirait avec lui, modulant ainsi ses effets. Par ailleurs, le HTS contribuerait à diminuer l'apoptose initiale et le stress oxydatif dans certains tissus, par une augmentation de la production de l'enzyme HO-1 (démontrée dans le choc hémorragique) (Murao *et al.*, 2003; Attuwaybi *et al.*, 2004; Lu *et al.*, 2008; Lu *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011). Finalement, le HTS restaurerait les fonctions immunitaires des cellules T et favoriserait la prolifération de certaines cellules, grâce à des mécanismes médiés par une augmentation de la production de MIF (Yoon *et al.*, 2011; Han *et al.*, 2012). Ce phénomène sous-entend toutefois des conséquences possibles sur la fonction myocardique, puisque MIF a été démontré comme promoteur de l'apoptose cardiaque, entre autres dans le sepsis (Garner *et al.*, 2003; Chagnon *et al.*, 2005; Dhanantwari *et al.*, 2008).

Parmi les cristalloïdes, le HTS serait le liquide de réanimation le plus prometteur et celui auquel il faudrait s'attarder le plus, étant donné ses multiples impacts déjà démontrés, dont sur l'inflammation et la fonction cardiaque. C'est pourquoi il a été sélectionné dans cette étude comme l'un des liquides à étudier.

2.2.2.3 IMPACTS DES SALINS BICARBONATES

Un autre cristalloïde, la solution de bicarbonate à 5 % (ou SB, osmolarité de 1190 mOsm/l), possède une osmolarité similaire au HTS à 3,5 % et peut être considéré, au même titre que les autres cristalloïdes, comme liquide de remplissage vasculaire en phase initiale de réanimation et ayant des impacts sur le débit cardiaque et la mortalité semblables au NS et au HTS dans la réanimation du patient en sepsis sévère (Fang *et al.*, 2008). Certains patients

septiques, dont la lactatémie serait élevée, pourraient bénéficier d'une perfusion de SB, ce qui pourrait réduire leur temps de ventilation mécanique (El-Solh *et al.*, 2010). Cependant, ses impacts moléculaires sur la fonction cardiaque dans le sepsis ou dans l'inflammation sont très peu étudiés et utilisés en clinique. En bref, n'étant pas un liquide présentement préconisé dans la réanimation liquidienne primaire dans le choc septique, il n'a pas été mis de l'avant dans cette étude.

2.2.3 LES COLLOÏDES

Les colloïdes sont pertinents et attrayants en réanimation, puisqu'ils permettent de maintenir plus longtemps ou d'augmenter la pression oncotique de façon importante dans les vaisseaux sanguins, le tout avec une perfusion moindre de liquide (Groeneveld, 2000; Su *et al.*, 2007; Perel et Roberts, 2011; Bunn et Trivedi, 2012; Bunn et Trivedi, 2012; Perel et Roberts, 2012). Ainsi, dans la pratique clinique, entre autres pour les patients atteints de sepsis sévère et de choc septique, les colloïdes sont régulièrement utilisés, en alternance avec des cristalloïdes, afin de potentialiser leurs effets (Muller *et al.*, 2012). Il existe sur le marché deux types de colloïdes, soit les naturels, issus du sang humain, ainsi que les artificiels, produits synthétiquement à partir, entre autres, de grosses molécules de sucres ou d'amidons (Boldt et Suttner, 2005).

2.2.3.1 LES COLLOÏDES NATURELS

Dans la catégorie des colloïdes naturels, on retrouve principalement les produits sanguins : les culots globulaires ainsi que le plasma et ses dérivés, tels que l'albumine (ALB; albumine) à 5 % et à 25 %. Pour ce qui est des produits sanguins autres que l'albumine, ils ne sont généralement pas considérés à titre de liquide de réanimation chez les patients en choc septique, à cause de leur risque élevé de réaction transfusionnelle. Cependant, lorsque l'hématocrite ou l'hémoglobine sont bas et que cela est associé à une ScvO₂ inférieure à 70 %, il devient alors fortement indiqué de transfuser le patient (Dellinger *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2012). L'albumine est donc le plus important colloïde naturel utilisé en réanimation du choc septique.

2.2.3.1.1 IMPACTS DE L'ALBUMINE

L'albumine humaine a un poids moléculaire d'environ 69 kDa et contribue à presque 80 % de la pression oncotique du plasma (Boldt et Suttner, 2005; Vincent et Gottin, 2011). En plus de ce pouvoir oncotique, l'albumine est aussi un antioxydant naturel et un transporteur de différentes molécules, incluant les oligo-éléments, les acides gras, la bilirubine, certaines hormones, ainsi que plusieurs médicaments (Vincent et Gottin, 2011). Lors de processus infectieux, il a été rapporté que l'albumine sérique pouvait subir une baisse de 10 à 15 g/L en 3 à 7 jours; le taux de fuite transcapillaire de l'albumine pouvant augmenter jusqu'à 300 fois lors de chocs septiques (Fleck *et al.*, 1985; Finfer *et al.*, 2006). Des solutions commerciales contenant près de 83 % à 96 % d'albumine (le reste étant de la globuline) sont disponibles à des concentrations de 4 % (hypotonique), de 5 % (isotonique) et de 20 % à 25 % (hyperoncotique). C'est généralement l'albumine à 5 % qui est utilisée en réanimation liquidienne, tandis que le 25 % sert généralement à augmenter le taux d'albuminémie. Une perfusion de 500 ml d'albumine à 5 % correspond à une expansion plasmatique d'environ 490 ml à 750 ml (soit environ 1 à 1,5 fois son volume administré) (Ernest *et al.*, 1999; Roberts *et al.*, 2011; Vincent et Gottin, 2011).

Dans le sepsis, la distribution de l'albumine (5 %) perfusée apporte des modifications dans les pressions oncotiques et osmotiques changeantes des patients. Bien que son maintien dans le volume plasmatique soit grandement supérieur au normal salin (0,9 %), près de la moitié fuira dans le volume interstitiel, probablement à cause de l'augmentation de la perméabilité des pores vasculaires causée par la réaction inflammatoire (Ernest *et al.*, 1999). Cela a donc pour effet d'augmenter suffisamment la pression osmotique interstitielle chez certains patients pour faire migrer du liquide à partir du milieu plasmatique vers le milieu interstitiel, mais dans une proportion de 50 % (comparativement au NS qui migrera dans une proportion de 79 % vers le milieu interstitiel) (Ernest *et al.*, 1999; Margaron et Soni, 2002). Il a aussi été démontré que l'albumine diminuerait la perméabilité au moyen d'une atténuation du roulement et de l'adhésion des leucocytes, induits par le LPS (Anning *et al.*, 2004). Cette action pourrait donc freiner précocement une partie de la migration de l'albumine dans le milieu extravasculaire et expliquer partiellement la diminution de l'œdème tissulaire et le maintien de la capacité des tissus à extraire l'oxygène (Morisaki *et al.*, 1994; Marx, 2003; Anning *et al.*, 2004; Tokunaga *et al.*, 2007).

Du point de vue de l'inflammation, l'albumine pourrait effectivement réduire mécaniquement l'adhésion des leucocytes, mais certaines de ses propriétés anti-inflammatoires sont aussi intéressantes, plus particulièrement dans la dysfonction myocardique septique. Plusieurs études récentes ont démontré que l'albumine pouvait diminuer la production de TNF- α par les monocytes et se lier au TNF- α circulant, ce qui réduirait son emprise sur la contractilité cardiaque (Zhang et Frei, 2002; Bortoluzzi *et al.*, 2012). Cette diminution pourrait expliquer certains effets bénéfiques de l'albumine sur la contractilité cardiaque dans la dysfonction myocardique septique. De plus, grâce à son groupement thiol de la Cys-34 (majoritairement sous la forme libre), l'albumine capture des espèces radicalaires de l'oxygène, soit des anions superoxydes, des peroxydes d'hydrogène, des radicaux d'hydroxyle, du monoxyde d'azote (NO) et des peroxydes nitrite (ONOO⁻) (Bourdon et Blache, 2001; Tamion, 2010). En plus de capter du NO, l'albumine perfusée influencerait la transcription de gènes pro-inflammatoires en modulant l'expression du facteur NF- κ B et de la NO synthase inductible (iNOS) ainsi qu'en diminuant la production de peroxynitrite, ce qui contribuerait directement à réduire la dysfonction endothéliale et myocardique dans le sepsis (Walley *et al.*, 2003; Meziani *et al.*, 2007; Tamion, 2010). C'est cette baisse de NO qui serait responsable, a priori, de l'augmentation de la contractilité cardiaque induite par l'albumine dans la dysfonction myocardique septique (Walley *et al.*, 2003). L'albumine favoriserait le transport de l'hème et de la bilirubine, qui possèdent leurs propres capacités antioxydantes (Tamion, 2010). L'hémine est aussi connue pour stimuler la production de HO-1, pour réduire le stress oxydatif et, par ce fait, pour réduire la dysfonction myocardique dans différents modèles (Worou *et al.*, 2011) (Ohta et Yachie, 2001; Weber *et al.*, 2001; Tamion *et al.*, 2010; Wang et Chau, 2010; Barbagallo *et al.*, 2012). Paradoxalement, l'albumine peut engendrer des effets pro-oxydants, par l'activation de récepteurs avancés de produits finaux de glycation (RAGE ou « receptor of advanced glycation endproducts ») (Bopp *et al.*, 2008; Tamion, 2010) ainsi que par la fixation d'ions métalliques, tels que le fer et le cuivre, sur son site Cys-34 (Gryzunov *et al.*, 2003; Tamion, 2010). Par contre, en se liant à eux, l'albumine permet de limiter certains effets délétères de ces métaux (du cuivre, du fer, du nickel, du zinc et du cobalt) (Wu et Tsai, 2008; Tamion, 2010). Par exemple, au cours du choc septique, du cuivre et du fer peuvent former des dérivés cardiotoxiques par l'oxydation de catécholamines. La fixation de ces métaux à l'albumine permet de réduire l'oxydation de

l'adrénaline et, indirectement, la production de ces substances cardiotoxiques (Roberts *et al.*, 2003; Tamion, 2010).

Des études plus récentes ont démontré que l'utilisation d'albumine hyperoncotique (20 % et 25 %) avait des effets similaires sur iNOS et sur le stress oxydatif, en plus de réduire les concentrations sériques d'IL-1 β et d'IL-6 dans des modèles de dysfonction organique septique et de sepsis (Su *et al.*, 2007; Tsao *et al.*, 2011). L'utilisation de l'albumine hyperoncotique pourrait donc avoir des actions bénéfiques dans le traitement de la dysfonction myocardique.

La perfusion d'albumine isooncotique et hyperoncotique dans le sepsis a comme résultat sur la fonction cardiovasculaire globale : de maintenir la pression oncotique (transitoirement), d'assurer le remplissage cardiaque (au moyen d'un recrutement et du maintien de la précharge cardiaque) et d'augmenter le débit cardiaque, ainsi que de produire un effet lusitropique corrélant avec une augmentation du volume de contraction indexé (SVI), dont du VG, ainsi qu'avec une augmentation du volume global indexé en fin de diastole (GEDVI) (Walley *et al.*, 2003; Tokunaga *et al.*, 2007; Friedman *et al.*, 2008; Trof *et al.*, 2010). L'albumine à 4 % (hyponcotique) a aussi certains de ces impacts, mais avec moins d'efficacité que les polymères (exemple : amidons) (Friedman *et al.*, 2008).

Malgré cela, bien que non élucidées et partagées, certaines études et méta-analyses auraient démontré chez des patients dont l'état est critique, une augmentation du taux de mortalité à la suite d'un traitement à l'albumine (Groeneveld, 2000; Waikar et Chertow, 2000; Vincent *et al.*, 2005; Roberts *et al.*, 2011). Plusieurs spéculations subsistent sur les mécanismes physiopathologiques de cette complication qui pourrait être issue des propriétés anticoagulantes de l'albumine, d'une augmentation de la pression oncotique interstitielle chez les patients ayant une perméabilité des capillaires augmentée ou encore d'une conséquence adverse à une réanimation volémique trop rapide (Berger, 1998; Offringa, 1998; Ernest *et al.*, 1999; Waikar et Chertow, 2000). Certaines nouvelles études réfutent déjà la thèse de l'anticoagulation (Tamion, 2010), puisque dans d'autres modèles, dont ceux d'hémorragie avec perfusion d'albumine, les fonctions de coagulations sont maintenues (Kheirabadi *et al.*, 2008). De plus, plusieurs études chez des patients septiques ont démontré, mais pas toujours de façon significative, une baisse du taux de mortalité et des complications avec l'utilisation de l'albumine (Vincent *et al.*, 2003; Finfer *et al.*, 2004; Dubois *et al.*, 2006; Finfer *et al.*, 2006; Finfer *et al.*, 2011; Roberts *et al.*,

2011; Vincent et Gattin, 2011). Un autre exemple de bénéfice chez certains patients septiques : l'albumine pourrait réduire l'incidence d'insuffisance rénale aiguë jusqu'à trois mois après la perfusion (Alderson *et al.*, 1998; Sort *et al.*, 1999; Groeneveld, 2000; Waikar et Chertow, 2000).

En bref, malgré les aspects d'administration relativement sécuritaires et les impacts potentiellement bénéfiques de l'albumine sur la fonction cardiovasculaire lors du sepsis, il semble que c'est davantage le coût de celle-ci qui freine son utilisation clinique (Groeneveld, 2000; Tamion, 2010; Perel et Roberts, 2011; Vincent et Gattin, 2011).

Somme toute, l'albumine semble être le colloïde le plus prometteur, parmi ceux recommandés pour la réanimation liquidienne dans le sepsis, car possédant également des impacts sur l'inflammation et la fonction cardiaque, tel le HTS. C'est pourquoi il a été choisi comme troisième liquide de réanimation pour ces travaux de recherche.

2.2.3.2 LES COLLOÏDES ARTIFICIELS

Parmi les colloïdes artificiels, on compte trois catégories qui sont les plus utilisées, soit : plusieurs générations d'hydroxyéthyles d'amidon (« hydroxyethyl starch » ou HES) de poids moléculaires variables (voir tableau 2), des gélatines modifiées (« Modified Fluid Gelatins » ou MFG) (voir tableau 3), ainsi que des solutions de dextran (voir tableau 4). Leurs propriétés varient grandement selon leurs caractéristiques (Boldt et Suttner, 2005; Boldt, 2009; Westphal *et al.*, 2009). Il existe aussi plusieurs autres molécules synthétiques et une multitude de solutions mixtes de différents colloïdes à différents pourcentages avec des solutions de cristalloïdes, dont ce document ne fera pas l'énoncé (Waikar et Chertow, 2000; Schroth *et al.*, 2006; Urbano *et al.*, 2012).

Tableau 2. Caractéristiques des solutions à base d'hydroxyéthyles d'amidon (HES)

| | HES 70/0,5 | HES 130/0,4 | HES 200/0,5 | HES 200/0,5 | HES 200/0,62 | HES 450/0,7 |
|--|---------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
| Concentration (%) | 6 | 6 | 6 | 10 | 6 | 6 |
| Efficacité volumique (%; approx.) | 100 | 100 | 100 | 130 | 100 | 100 |
| Effet de volume (heures; approx.) | 1-2 | 2-3 | 3-4 | 3-4 | 5-6 | 5-6 |
| Poids moléculaire moyen (kD) | 70 | 130 | 200 | 200 | 200 | 450 |
| Substitution molaire (MS) | 0,5 | 0,4 | 0,5 | 0,5 | 0,62 | 0,7 |
| Ratio C2/C6 | 4:1 | 9:1 | 6:1 | 6:1 | 9:1 | 4,6:1 |

*Traduction libre tirée de : (Boldt et Suttner, 2005), légende : kD = kilo Dalton

Tableau 2. Représentation des principales caractéristiques des solutions à base d'hydroxyéthyles d'amidon. L'efficacité volumique représente l'effet réel du volume d'HES perfusé dans le plasma. L'efficacité volumique dépend principalement de la pression oncotique et de la tonicité de la solution perfusée, et elle est exprimée en pourcentage du volume perfusé. Quant à l'effet de volume, il représente la durée en heures de l'augmentation du volume plasmatique obtenu à la suite de la perfusion d'un volume contrôlé pour chaque amidon. La substitution molaire (MS) représente la proportion de glucose qui a été remplacée par des unités hydroxyéthyles sur la molécule d'amidon.

Tableau 3. Caractéristiques des solutions à base de gélatine

| | Urée-gélatine réticulée | Gélatine réticulée | Gélatine succinylée |
|--|----------------------------|--------------------|---------------------|
| Concentration (%) | 3,5 | 5,5 | 4,0 |
| Poids moléculaire moyen (Dalton) | 35 000 | 30 000 | 30 000 |
| Effet de volume (heures; approx.) | 1-3 | 1-3 | 1-3 |
| Efficacité volumique (%; approx.) | 80 | 80 | 80 |
| Osmolarité (mosmol/L) | 301 | 296 | 274 |

*Traduction libre tirée de : (Boldt et Suttner, 2005)

Tableau 3. Représentation des principales caractéristiques des solutions à base de gélatine. L'efficacité volumique représente l'effet réel du volume de gélatine perfusé dans le plasma. L'efficacité volumique dépend principalement de la pression oncotique et de la tonicité de la solution perfusée, et elle est exprimée en pourcentage du volume perfusé. Quant à l'effet de volume, il représente la durée en heures de l'augmentation du volume plasmatique obtenu à la suite de la perfusion d'un volume contrôlé pour chaque solution de gélatine.

Tableau 4. Caractéristiques des solutions de dextran

| | Dextran 70 | Dextran 40 |
|--|-------------------|-------------------|
| | 6 % | 10 % |
| Poids moléculaire (Dalton) | 70 000 | 40 000 |
| Effet de volume (heures; approx.) | 5 | 3-4 |
| Efficacité volumique (%; approx.) | 100 | 175-(200) |
| Dose quotidienne maximale | 1,5 | 1,5 |

*Traduction libre tirée de : (Boldt et Suttner, 2005)

Tableau 4. Représentation des principales caractéristiques des solutions à base de dextran. L'efficacité volumique représente l'effet réel du volume de dextran perfusé dans le plasma. L'efficacité volumique dépend principalement de la pression oncotique et de la tonicité de la solution perfusée, et elle est exprimée en pourcentage du volume perfusé. Quant à l'effet de volume, il représente la durée en heures de l'augmentation du volume plasmatique obtenu à la suite de la perfusion d'un volume contrôlé pour chaque solution de dextran.

2.2.3.2.1 IMPACTS DES HYDROXYÉTHYLES D'AMIDON

Tel que mentionné précédemment, les colloïdes, dont les colloïdes artificiels, ont un avantage marqué en ce qui concerne le maintien de la pression oncotique et le maintien hémodynamique (Groeneveld, 2000) (Marx *et al.*, 2002; Lobo *et al.*, 2010; Trof et Groeneveld, 2011). Dans le sepsis, les HES seraient aussi performants, sinon davantage que l'albumine et les cristalloïdes, augmentant le volume de contraction cardiaque, le débit cardiaque indexé et la perfusion, en plus de réduire considérablement la lactatémie (Chagnon *et al.*, 2006; Su *et al.*, 2007). Ces effets sont encore plus marqués pour quelques HES qui, à certaines concentrations, vont, de manière spéculative, mécaniquement faire obstacle à la fuite de liquide par les capillaires, et ce, malgré la présence de la fuite d'albumine par les capillaires (Marx *et al.*, 2002), en créant des bouchons, ou un sellant, sur les pores ou encore en restaurant l'intégrité des jonctions capillaires et endothéliales, dans des modèles de sepsis, ce qui n'a pas été observé avec d'autres colloïdes (Marx, 2003). Par conséquent, ce phénomène entraînerait moins d'œdème endothélial, une meilleure préservation histologique et une plus grande oxygénation des tissus que le RL chez les animaux septiques (Hasibeder, 2002). Un certain nombre de molécules d'HES quitteront tout de même le compartiment intravasculaire et, s'il y a accumulation dans les tissus cutanés, cela pourrait induire du prurit chez les patients (Groeneveld, 2000).

Plusieurs impacts des HES ont été notés sur l'inflammation dans le sepsis. En effet, cette modulation de l'inflammation s'opérerait par une diminution de TNF- α , de l'interleukine-1 β , de l'expression de la protéine-2 inflammatoire macrophagienne (MIP-2), de l'expression de l'ARNm de ICAM-1, de l'activité myéloperoxidase, de l'infiltration des neutrophiles et, finalement, par une diminution de l'activation de la voie de NF- κ B (Feng *et al.*, 2007). Les HES sont toutefois moins efficaces que l'ALB et le HTS dans la diminution de l'interaction entre les neutrophiles et les cellules endothéliales (Khan *et al.*, 2011). Cependant, au même titre que l'albumine, mais dans des proportions moins importantes, les HES diminueraient aussi l'expression d'iNOS cardiaque dans le sepsis, contribuant ainsi à une amélioration de la contractilité cardiomyocytaire (Walley *et al.*, 2003; Chagnon *et al.*, 2006).

En contrepartie, les HES possèdent plusieurs effets secondaires, et un certain nombre de ces effets se situent au niveau rénal et au niveau de la coagulation; certains patients septiques ayant développé de l'insuffisance rénale aiguë (les mécanismes sous-jacents ne sont pas

élucidés) et une hémostase altérée, augmentant les risques de saignement par diminution du facteur de Von Willebrand et d'autres facteurs (Groeneveld, 2000; Boldt et Suttner, 2005; Vincent *et al.*, 2006; Brunkhorst *et al.*, 2008; Wiedermann, 2008; Zarychanski *et al.*, 2009; Dart *et al.*, 2010; Trof et Groeneveld, 2011; Vincent et Gottin, 2011; Perner *et al.*, 2012). Ces effets semblent être dose-dépendant. Il existe aussi une toxicité hépatocellulaire avec ictère (retrouvée principalement chez les patients septiques), ainsi qu'un risque plus élevé de choc anaphylactique (avec les HES plus qu'avec l'albumine) (Groeneveld, 2000; Trof et Groeneveld, 2011). L'utilisation des nouvelles générations d'HES semble tout de même engendrer des effets indésirables moindres que les générations précédentes : leurs impacts dépendant de leur concentration, de leur poids moléculaire et de leur facilité à se dégrader (Boldt, 2009; Westphal *et al.*, 2009; Vincent et Gottin, 2011; Muller *et al.*, 2012). Puisque les colloïdes artificiels sont moins dispendieux que l'albumine et puisque leurs impacts positifs contrebalancent leurs impacts négatifs, il n'est donc pas déconseillé d'utiliser des amidons, mais plutôt d'en limiter la quantité perfusée à 50 ml/kg/jour (Trof et Groeneveld, 2011).

En bref, il serait intéressant de tester les HES dans le contexte de cette étude. Cependant, étant donné leurs fortes similitudes avec l'albumine et leur action amoindrie, ils seront probablement traités dans une étude future.

2.2.3.2.2 IMPACTS DES GÉLATINES

Les gélatines (GEL) sont des polypeptides polydispersés produits par la dégradation de collagène bovin et sont parmi les premiers colloïdes utilisés en réanimation. Trois types de gélatines sont maintenant disponibles : les urées-gélatines réticulées (aussi appelées polygelines), les gélatines réticulées et les gélatines succinylées (voir tableau 3 ci-haut) (Boldt et Suttner, 2005). Leur poids moléculaire est inférieur à l'albumine et, par ce fait, leurs effets oncotiques et leur persistance dans le milieu intravasculaire sont donc moindres (Vincent et Gottin, 2011).

Dans le sepsis ou le choc septique, les gélatines modifiées (à 4 % et à 8 %) peuvent maintenir le volume plasmatique et la pression oncotique autant que les HES (Marx *et al.*, 2002). Cependant, leur contribution à l'augmentation du débit cardiaque et à l'augmentation de l'extraction de l'oxygène est plus modeste que pour les HES (Hasibeder, 2002; Marx *et al.*,

2002; Molnar *et al.*, 2004). Les gélatines semblent aussi atténuer la perméabilité des capillaires dans le sepsis, mais, en opposition aux HES, cela ne serait nullement médié par des effets anti-inflammatoires (les GEL n'ayant pas d'effet sur ICAM-1, IL-1 β , TNF- α , MIP-2 et ne diminuant pas l'activation de NF- κ B) (Marx *et al.*, 2002; Feng *et al.*, 2007).

Une des complications majeures de l'utilisation des GEL est le risque important de réaction anaphylactique, supérieur aux HES, tel que reporté en clinique (Laxenaire *et al.*, 1994; Boldt et Suttner, 2005; Marrel *et al.*, 2011). Les effets adverses des GEL sur la fonction rénale ou sur la coagulation semblent toutefois minimales ou inexistantes (Boldt et Suttner, 2005; Vincent et Gottin, 2011). Somme toute, ces solutions ne sont pas disponibles dans plusieurs pays, tels les États-Unis (Vincent et Gottin, 2011), ils ne feront donc pas partie des liquides utilisés dans cette étude.

2.2.3.2.3 IMPACTS DES DEXTRANS

Les dextrans sont des solutions de polymère de glucose synthétisées par des bactéries *Leuconostoc mesenteroides*, originellement isolées à partir de betteraves sucrées (voir tableau 4 ci-haut pour leurs propriétés) (Boldt et Suttner, 2005). Les deux formules existantes sur le marché ont un poids moléculaire variant entre 40 kDa et 70 kDa, et ont été utilisées principalement pour leurs propriétés antithrombotiques et rhéologiques (diminuant la viscosité du sang et améliorant possiblement la perfusion dans la microcirculation) ainsi que comme liquide de réanimation (Boldt et Suttner, 2005; Vincent et Gottin, 2011).

Les impacts des dextrans sont nombreux sur la coagulation : ils diminuent le facteur de Von Willebrand et réduisent l'adhésion des plaquettes sur l'endothélium vasculaire (Vincent et Gottin, 2011). L'une de ces propriétés du dextran permet, d'un autre côté, de réduire l'interaction nuisible des leucocytes activés avec l'endothélium périvasculaire (diminution de l'adhésion) (Boldt et Suttner, 2005). Le Dextran-70 apparaît neutre ou bénéfique à l'égard de ses effets immunologiques, car, expérimentalement, il n'a ni supprimé ni restauré la libération d'IL-6 par les macrophages. Il pourrait cependant réduire le fardeau des neutrophiles par des mécanismes apoptotiques (Santry et Alam, 2010). À l'opposé, le Dextran-40 induirait une excitation et une flambée oxydative des neutrophiles plus importantes que le RL (Santry et Alam, 2010). Plus

encore, de façon générale, les dextrans provoqueraient parfois la formation de « rouleaux » (agglomération des érythrocytes), ce qui peut compliquer la recherche du groupe sanguin et de la compatibilité croisée en cas d'un besoin de transfusion (Sewchand et Canham, 1979; Vincent et Gottin, 2011). Du point de vue rénal, que ce soit par précipitation ou par enflure et vacuolisation des cellules tubulaires, ou encore par obstruction des tubules (à cause d'une augmentation de la viscosité de l'urine), les dextrans peuvent mener à l'insuffisance (Boldt et Suttner, 2005; Vincent et Gottin, 2011). De pair avec les gélatines, les dextrans ont un substantiel potentiel anaphylactique. Cela est toutefois supérieur à un point tel que les traitements au dextran sont majoritairement modifiés par l'ajout d'une substance immunoneutralisante (haptène) afin de réduire leurs risques anaphylactoïdes (Boldt et Suttner, 2005; Ljungstrom, 2006; Vincent et Gottin, 2011).

Les dextrans peuvent toutefois augmenter le débit cardiaque et la demande d'oxygène myocardique, tel que démontré dans certains modèles de choc endotoxinique. Cet effet ne serait cependant pas médié par le NO (Cohen *et al.*, 1996). Finalement, en raison de ses nombreux effets secondaires, dont sur la coagulation, il est recommandé de ne pas administrer plus de 1,5 g de dextran/kg par jour (Boldt et Suttner, 2005). Bien que peu utilisées, des solutions de dextran-40 de 10 % et de dextran-70 de 6 % sont disponibles au Canada (Santé-Canada, 2012). Étant très contestés comme liquides de réanimation, les dextrans ne feront pas partie de cette étude.

Ainsi, parmi les liquides de réanimation (énoncés précédemment) les plus utilisés cliniquement et ayant le plus de potentiel d'avoir des impacts positifs sur la dysfonction myocardique au cours du sepsis, certains se démarquent du lot. C'est le cas du salin hypertonique représentant les cristalloïdes, et de l'albumine pour les colloïdes. Ce sont donc ces deux liquides de prédilection qui ont été choisis pour cette étude. Le normal salin 0,9 % fut ajouté à ceux-ci à titre de contrôle. Il serait intéressant et pertinent de tester, dans de futures études, davantage de types de liquides dans ce même contexte, afin de compléter une comparaison plus exhaustive.

2.3 TRAITEMENT DU CHOC SEPTIQUE ET DU SEPSIS : CONCLUSION

En conclusion, au cours de ce chapitre, il a été discuté des différents aspects et des limitations des traitements du choc septique, du sepsis et de la dysfonction myocardique septique. Une attention particulière a été mise de l'avant sur l'importance d'un remplissage vasculaire adéquat comme prémisses dans le traitement de la dysfonction cardiaque. Également, avec les nouvelles données émergentes concernant des impacts moléculaires variables de différents liquides de réanimation sur, entre autres, l'inflammation, le stress oxydatif, l'œdème, etc., on ne peut que mettre davantage l'accent sur une sélection minutieuse des liquides de réanimation afin d'optimiser le traitement des patients atteints de dysfonction. L'hypothèse principale de cette étude est par conséquent basée sur cet axiome et se définit ainsi : une perfusion isovolémique de liquides de réanimation, dépendamment du liquide choisi, peut induire des impacts distincts sur l'activité moléculaire, sur la structure ainsi que sur la fonction myocardique, conséquemment à une agression à l'endotoxine.

CHAPITRE 3

Impact de la réanimation volémique sur les altérations cardiaques induites par l'endotoxine

Auteurs de l'article : Bruno Hogue, Frédéric Chagnon et Olivier Lesur

Statut de l'article : publié avec modifications,
Shock, Volume 38 (3), septembre 2012, p. 307-313

3.1 AVANT-PROPOS

De prime abord, j'ai contribué à ces travaux expérimentaux en colligeant les données brutes de cette étude. Cela s'est effectué par la préparation chirurgicale des spécimens (plus de 200), par l'application du protocole expérimental et par le monitoring clinique des spécimens, dont par échocardiographie à différents temps. Par la suite, j'ai procédé au recueillement de la majeure partie des échantillons d'organes en laboratoire, au moyen de multiples extractions protéiniques, d'essais enzymatiques, d'immunobuvardages (*westerns blots*), ainsi que d'analyses histologiques informatisées.

Pour ce qui est de la rédaction de l'article, ma contribution a été plus modeste. J'ai écrit le premier jet de l'article et les sections portant sur le matériel et les méthodes, ai produit certaines analyses graphiques, figures et photos des tissus (à l'exception des photos prises par immunohistochimie en microscopie confocale).

À la suite de ce mémoire, plusieurs mesures hémodynamiques ont été prises par mes collègues afin de compléter cette étude.

3.2 CONTEXTE DE L'ÉTUDE

En ce qui concerne la réanimation volémique, le dernier siècle a été marqué de grandes recherches et réussites, mais d'autant de polémiques, de contradictions et de préoccupations. En 2013 nous sommes loin des transfusions sanguines effectuées au 17^e siècle, mais l'objectif

demeure le même : améliorer la survie des patients en choc. Au cours des dernières décennies, le raffinement technologique a permis l'apparition de nombreuses molécules colloïdes et cristalloïdes; protéines naturelles purifiées, molécules synthétiques et certains mélanges de solutions à perfuser. Malheureusement, la littérature inhérente a été très polarisée sur l'obtention et sur le maintien hémodynamique cardiovasculaire, avec des volumes plasmatiques et des débits cardiaques adéquats, permettant ainsi une bonne perfusion des tissus et des organes ou encore, plus globalement, sur la survie des patients. Jusqu'à présent, relativement peu de chercheurs ont étudié ou ont pu démontrer les impacts moléculaires de ces liquides, et ce, malgré l'influence d'une utilisation exhaustive en clinique. Plus encore sont limitées les études montrant des actions et des modifications moléculaires induites précisément et indépendamment de leur effet de « remplissage » vasculaire dans la dysfonction myocardique endotoxinique. Cette étude permettait donc d'explorer davantage certains aspects de cette méthode thérapeutique dans la physiopathologie complexe de la dysfonction myocardique septique.

3.3 RÉSUMÉ DE L'ARTICLE

Impact de la réanimation volémique sur les altérations cardiaques induites par l'endotoxine

Grâce à l'utilisation grandissante de l'échocardiographie au chevet ainsi qu'à l'utilisation du monitoring hémodynamique alternatif, il est maintenant reconnu que la dysfonction myocardique a une forte prévalence et coexiste avec le choc distributif tôt dans le sepsis sévère. Dans les deux cas, la réanimation liquidienne représente la première ligne de traitement, soit la pierre angulaire des traitements qui permettent de sauver des vies. Toutefois, à ce jour, aucun liquide spécifique n'a pu être déclaré supérieur ou ayant un impact sur l'issue du choc septique. En effet, hormis leur capacité de remplissage vasculaire, les liquides de réanimation ont été peu étudiés par rapport à leurs impacts moléculaires spécifiques sur la dysfonction myocardique.

Objectifs : évaluer les impacts moléculaires de la perfusion isovolémique de différents liquides de réanimation sur la dysfonction myocardique induite par l'endotoxine.

Modèle expérimental : des rats adultes équipés de voies centrales se sont fait injecter en intrapéritonéale avec de l'endotoxine (lipopolysaccharide [LPS], *E coli*, 10 mg/kg) ou du normal salin (0,9 %; contrôle) et, subséquentement, perfuser (ou non) avec une quantité isovolémique de liquide de remplissage vasculaire (normal salin [NS], albumine [ALB], solution de salin hypertonique [HTS] pour une période de 6 à 24 heures, suivie par un monitoring échocardiographique, ainsi que par une évaluation biochimique et histopathologique.

Manipulation : l'influence de la perfusion isovolémique des liquides sélectionnés (NS vs ALB ou HTS) sur les paramètres susmentionnés a été évaluée sur huit groupes de huit animaux, incluant les contrôles (sham) et les rats perfusés sans injection de LPS.

Résultatse : l'albumine améliore la dysfonction myocardique induite par le LPS en :

- i) réduisant l'épaisseur relative du ventricule gauche en diastole (LVRWD) (élargissement de l'espace interstitiel et de la teneur en albumine endogène);
- ii) limitant l'apoptose cardiaque tout en maintenant et en régulant le signal extracellulaire d'activation de la protéine kinase mitogène activée [« Mitogen activated protein kinase » ou ERK1-2 MAPK];
- iii) favorisant les voies d'expression de l'hème oxygénase-1 [HO-1] et de la NO synthase inductible [iNOS]. La solution saline hypertonique [HTS] a été la seule à permettre la prévention hâtive de la dysfonction myocardique, en plus de réduire l'apoptose cardiaque grâce à une augmentation de l'expression de HO-1.

Conclusion : les perfusions isovolémiques de liquides ont des impacts moléculaires distincts sur la dysfonction myocardique induite par l'endotoxine. De potentielles propriétés antioxydantes, anti-apoptotiques et anti-œdémateuses confèrent à l'albumine le titre de liquide le plus pléiotrope, protégeant le cœur après l'atteinte par le sepsis.

Mots-clés: liquide, réanimation, normal salin (NS), albumine (ALB), salin hypertonique, sepsis, endotoxine.

ARTICLE

Resuscitation fluids and endotoxin-induced myocardial dysfunction: is selection a load-independent differential molecular issue?

by

Bruno Hogue, Frederic Chagnon, and Olivier Lesur

from

Soins intensifs médicaux, département de Médecine, Centre de recherche clinique Étienne-Label
(CRCEL) CHUS, Université de Sherbrooke, Québec, Canada

Correspondence

Olivier Lesur MD, PhD
3001, 12th Avenue Nord
Sherbrooke, Québec Canada
J1H 5N4
Olivier.Lesur@USherbrooke.ca

Running head: fluid resuscitation, heart and sepsis

Keywords (3-6): fluid; resuscitation; normal saline; albumin; hypertonic saline; sepsis

Grant support: this study was supported by grants from the Canadian Heart & Stroke Foundation and Bayer-Talecris-Canadian Blood Bank.

ABSTRACT

With growing use of bedside echocardiography and alternative hemodynamic monitoring, myocardial dysfunction is now recognized as a highly prevalent and coexisting impairment together with redistributive shock in early severe sepsis. In both cases, fluid resuscitation therapy is a first line cornerstone treatment and saves lives. However, to date, there is no specific fluid that has demonstrated to be superior in impacting the outcome of septic shock. Indeed, aside from their distinct loading potency, resuscitation fluids have been poorly investigated as to their specific molecular impact on myocardial dysfunction.

Objective: evaluate the molecular impact of different isovolumic fluid resuscitation on endotoxin-induced myocardial dysfunction.

Design: Adult rats implanted with a central venous catheter were given an intra-peritoneal (I-P) injection of endotoxin (lipopolysaccharides [LPS], *E coli*, 10mg/kg) or normal saline (sham), and subsequently infused or not with isovolumic fluid loading (normal saline [NS], Albumin [Alb], or hypertonic saline solution [HSS]) for 6 to 24hrs, followed by echocardiographic monitoring together with biochemical and histopathological evaluation.

Intervention: Influence of isovolumic fluid infusion selection (NS vs. Alb or HSS) on the aforementioned parameters was assessed in eight groups of 8 animals, including sham (control) and unchallenged fluid-infused rats.

Results: Alb improved LPS-induced myocardial dysfunction by **i)** reducing left ventricular relative wall diastolic thickness (LVRWD); interstitial space enlargement and endogenous albumin content, **ii)** limiting cardiac apoptosis and sustaining extracellular signal-regulated Mitogen Activated Protein Kinase [ERK1-2 MAPK] activation, and **iii)** enhancing the expression pattern of heme-oxygenase-1 [HO-1]/inducible NO synthase [iNOS]. HSS was specific in the

early prevention of myocardial dysfunction, and also decreased cardiac apoptosis with enhanced HO-1 expression.

Conclusion: Isovolumic fluid infusions have distinct molecular impacts on endotoxin-induced myocardial dysfunction. Potential anti-oxidant, anti-apoptotic and anti–edematous properties conferred Alb as the most pleiotropic fluid in protecting the heart after a “sepsis” hit.

BACKGROUND

Severe sepsis strikes an estimated 750,000 people per year in the USA and this rate is expected to rise to 1 million cases a year in 2010 as the population ages (1-2). Sepsis is a prevalent cause of admission, and septic shock (i.e. the archetypal catastrophic form of severe sepsis) is a leading cause of death for patients admitted in intensive care units (ICUs). Indeed, after a review of 14,000 patient-data files (EPIC II), more than 50% of patients were considered infected in a recent “one-day” up-to-date international picture of ICU diagnostic profiles (3). In addition to being extremely prevalent, sepsis is a killer with elevated mortality rates (40-70%). Moreover, severe sepsis or septic shock with multiple organ failure has recently been observed to have a similar number of deaths per year to that reported from acute myocardial infarction, lung or breast cancers in the USA (4). Septic shock is defined by the association of documented infection with alteration of cardiocirculatory status established by a decreased arterial blood pressure below 60mmHg in spite of 1L solute infusion and the need for vasopressors, together with decreased urinary output (<30cc/hr)(4-5). Multiple organ failure occurs rapidly with increasing sepsis severity for which one of the most limiting organ/system often remains the heart or cardiovascular status, demonstrating refractory pump failure with major systolic and/or

diastolic dysfunction(s), together with a redistributive perfusion associated with severely decreased systemic vascular resistance. The prevalence of heart pump deficiency in early septic shock has been overlooked and small cohort reports have recorded global left ventricular hypokinesia in up to two-thirds of patients, and ventricular relaxation impairment in up to 25% of patients (6-8).

In “surviving sepsis campaign” bundles, fluid resuscitation is a recommended first line cornerstone therapy to support sepsis-induced cardiovascular dysfunction and has been shown to reduce in-hospital mortality by more than 15% in severe sepsis (5, 9). However, there is currently no evidence that crystalloids, colloids (hydroxy-starches or albumin) or even hyperosmotic solutions (hyperosmolar buffer with sucrose, hypertonic saline 7.5%) constitute a “better” fluid selection in improving morbidity and mortality rates in severe sepsis (5). In addition, the influence of the above fluids in reversing sepsis-induced myocardial dysfunction is largely unknown.

Recognized candidates for inducing myocardial alteration in sepsis are numerous, including circulating depressant molecules such as inflammatory cytokines (TNF α , IL-1 β , MIF,...), nitric oxide (NO), altered Ca²⁺⁺ homeostasis with dysregulated phosphorylation of contractile proteins, polymorphonuclear neutrophils, and potentially myocardial “hypomicroperfusion” (10-12). Both reversible and irreversible common cytopathological alterations in septic heart include apoptosis and focal necrosis, congestion, inflammatory infiltrates and edema. Although prominently observed in experimental magnetic resonance imaging studies early after coronary ischemia-reperfusion (I-R) and associated with acute heart impairment (13), edema is an overlooked component of sepsis-induced myocardial dysfunction (14-16) in addition to pre-load and direct myocardial impairments, on both systolic and diastolic

sides, thus potentially impacting inotropic and lusitropic functions. The heart is the fourth most affected vital organ with by leaking vessels (with kidney, liver and lung) in this context (17), and this may be related to a sepsis/endotoxin-induced increase in endothelial glycocalyx and sarcolemma permeabilities (18-20).

HYPOTHESIS

The heart and cardiovascular status are the most dysfunctional organ/system during sepsis. Fluid resuscitation is a cornerstone therapy in septic shock. The differential molecular impact of available resuscitation fluids, aside from their fluid-loading potencies, on sepsis-induced myocardial dysfunction and biology has yet to be thoroughly examined. The present study provides a comparison of hemodynamic, histological and molecular impacts of fluid resuscitation (colloids [Albumin], hypertonic saline (HSS) vs. crystalloids) on endotoxin-induced myocardial dysfunction. The main hypothesis was that a “fluid potency”-independent isovolumic resuscitation can induce distinct direct impacts on myocardial function, structure and molecular activity, following endotoxin challenge according to the fluid selected.

METHODS

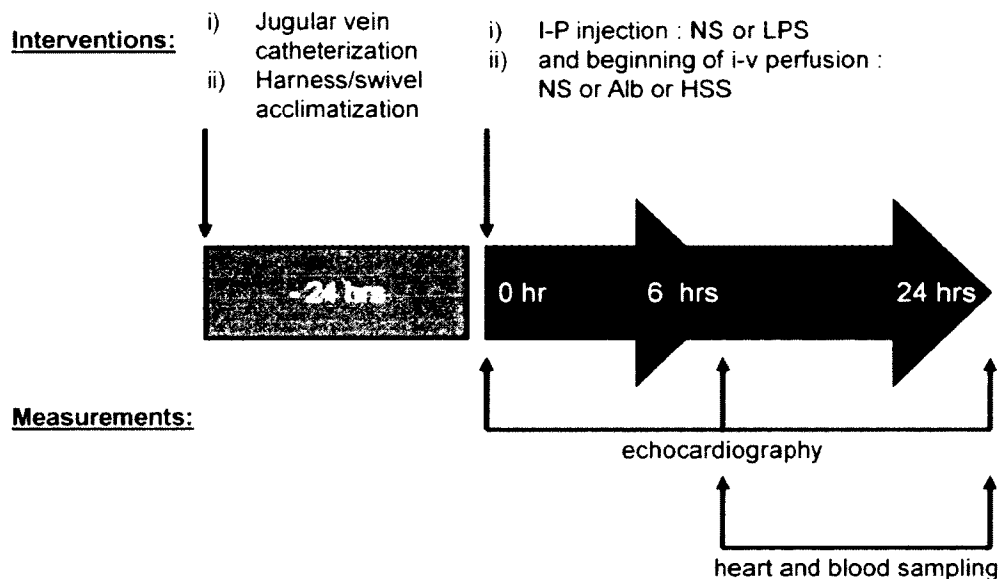
Animal model of endotoxic (septic) challenge

Pathogen-free male Wistar rats (350g) were purchased from Charles River Laboratories Inc (Wilmington, MA) and received care in compliance with *The Guide to the Care and Use of Experimental Animals* from the Canadian Council of Animal Care (1993, CCAC, 2nd ed.). **First**, ketamine-anesthetized rats were implanted with a jugular vein PE50 catheter, 0.935mm (BD IntramedicTM, Sparks, MD), attached to a vascular access harness-swivel system (Instech

Laboratories Inc, Plymouth, PA), the day before the challenge. Animals were then administered an intraperitoneal (I-P) injection of 1mL NS or 10-12mg/kg of *Escherichia coli* 055:B5 LPS (Sigma, St Constant, Quebec) in 1mL NS, under slight anesthesia with isoflurane 2%. **In parallel, isovolumic** fluid resuscitation was administered intravenously (i-v) by jugular infusion as follows: **i)** normal isotonic saline [308mosm, 0.9%] (NS, 3.3mL/kg/hr), **ii)** 5% human Albumin (Alb, 1.1mL/kg/hr, Talecris Biotherapeutics, Mississauga, Ontario), or **iii)** hypertonic saline 7.5% (HSS, 0.21mL/kg/hr). **Thereafter**, at 6 and/or 24hrs post I-P challenge, animals were scheduled for echographic imaging, sampled and then sacrificed. Overall, 8 groups of rats (n=8) were studied. Isovolumic resuscitation was defined as a global state of infused rescue fluids which similarly retains water into blood vessels (by inducing changes in oncotic and/or osmotic pressures) or remains into the bloodstream for a period of time before transferring into the interstitial or cellular spaces, independently of the type of fluid used (colloids vs. crystalloids). “Fluid potency” represented the increase in vascular volume per mL of infused fluid and was expressed as a ratio to the baseline potency of isotonic NS (reference = 1). The validation of “fluid potency” (rate/volume) on global cardiac function was performed by echocardiography with all fluids selected (data not shown).

Calculation of the number of rats per group took into account a potential mortality rate in this I-P model which has been validated in our laboratory as dose- and time-dependent, with up to 25-30% mortality at 10mg/kg LPS to as much as 65% mortality at 12mg/kg, 24hrs post-challenge (21).

Figure 1



NS, normal saline; LPS, lipopolysaccharide; Alb, albumin
HSS, hypertonic saline solution

Fig 1: Study design

Echocardiographic measurements

Transthoracic echocardiography was performed under isoflurane anesthesia (2%) prior to injections (each animal being its own control), as well as at 6 and/or 24hrs post-injection. All measurements were assessed using an s12 HP 5-12mHz high resolution small footprint transducer and a 2-D triggered digitalized M-mode recording at an acquisition rate of 60-Hz (Hewlett-Packard Sonos 5500) and on three consecutive cardiac cycles and ECG-gated, as described previously (22). Left ventricular diameters were measured during the end of systole and diastole (LVESd and LVEDd, respectively) and fractional shortening (FS) was established by the following formula ($[(LVEDd-LVESd)/LVESd] \times 100, \%$) (22). Left ventricular mass and

ventricular volumes (LVESv and LVEDv, μ L), were calculated using the recommended cube formula with density correction for rats while relative wall thickness (LVRWD) was established using interventricular septum and posterior wall diastolic thickness (IVSD and IVPWD respectively, mm) with the equation $LVRWD = IVSD + IVPWD / LVEDD$ (23-24). Heart rate was recorded in parallel. All echocardiographs were performed by the same technician (B.H) (with intra-observer variability below 5%) and quality control was ensured by members of the cardiology department (Dr. P. Farand).

Molecular and biochemical assessments.

All proteins were extracted from heart tissues previously frozen and stored at -80°C . Western blots were performed using 50 to $100\mu\text{g}$ of total proteins using electrophoresis on 10-12% SDS-polyacrylamide gels under denaturing conditions (22). Membranes were incubated overnight with the following different primary antibodies: **i)** rabbit anti-Heme-Oxygenase I (HO-I, HSP-32, Chemicon-MilliporeTM, Billerica, MA), **ii)** mouse anti-phosphoERK 44-42 [ERK1-2] (Cell Signaling Technology Inc., Danvers, MA), or **iii)** rabbit anti-iNOS-II (Cell Signaling Technology Inc.) according to the methodology described by Walley et al (25). Appropriate species specific anti-IgG-HRP antibodies (Cell Signaling Technology Inc.) were then used and bands revealed using ECL reagents (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK).

Histopathology for myocardial interstitial space (MIS) assessment

Hearts were fixed in 10% formol for 48hrs, embedded and myocardial interstitial spaces were quantified in four randomly selected and equally spaced regions in the mid myocardium of the left ventricular free wall for each H&E-stained, 5-10 μm thick slices, as described previously (21). Sections were examined using an Olympus BX51 (Olympus Canada Inc., Markham,

Ontario) microscope at a magnification of 400x under nonpolarized light, with photomicrograph images captured using a Retiga 2000R color digital camera (QImaging, Surrey, BC)). Images were processed using Image-Pro Plus 6.2 software (Media Cybernetics, Inc., Bethesda, MD) and imaging analysis was performed with the Adobe PhotoShop CS4 image processing software (Adobe Systems Inc., San Jose, CA). An interstitial space pixel was selected with PhotoShop and used to count the number of pixels corresponding to the interstitial space with a tolerance setting of 50. The interstitial space was expressed as a ratio relative to the total number of specimen pixels. Three out of six cardiac specimens were randomly and blindly selected in each group for image analysis.

Immuno-staining of endogenous Albumin interstitial space/sarcolemmal content

Heart specimens were fixed in 4% paraformaldehyde at 4⁰C for 4hrs, followed by an overnight wash in 20% cold sucrose and paraffin embedded. Rehydrated 5µm poly-L-lysine-coated slides were first incubated for 10 min at 37⁰C with pepsin (Digest-All; Invitrogen, Burlington, ON) for antigen unmasking. Non-specific binding was prevented by incubation with 10% goat serum (Rockland Immunochemicals, Gilbertsville, PA) and slices were covered with a FITC-conjugated sheep polyclonal anti-albumin antibody (1:25; Pierce Biotechnology, Rockford, IL)(26). Slides were mounted using Vectashield hardset mounting medium with DAPI (Vector Laboratories, Burlingame, CA) and analyzed using an Axioskop 2 fluorescence microscope (Carl Zeiss Inc., Thornwood, NY) at a magnification of 400 x. For endogenous albumin quantification, 30 acquisitions from three groups (sham-control, LPS 24hrs and LPS+Alb 24hrs) were randomly selected for quantification purposes, after interstitial space assessment. Acquisitions were converted to 8-bit images and analyzed using ImageJ 1.42q software (National Institute of Health – <http://rsb.info.nih.gov/ij>). Selected images were pixel

inverted and background-adjusted using the threshold function and mean densities were obtained using the measure function.

Apoptosis assessment

Caspase-3 activity was measured on myocardial protein extracts as described previously (22). Briefly, homogenates from experimental frozen heart extracts (100 μ g) were incubated in assay buffer with Ac-DEVD-pNA (200 μ Mol/L; Biomol, Plymouth, PA) and cleavage of pNA dye from the peptide substrate was determined by measuring the absorbance at 405nm in a ThermoMax microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Results were expressed in mDO/hr/mg protein.

DNA fragmentation was quantified with a Cell Death Detection ELISA^{PLUS} kit (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) according to the manufacturer's instructions, as previously described (22). Briefly, small pieces (40 to 50mg) of hearts were homogenized in the provided lysis buffer for 45min at room temperature, followed by centrifugation for 10min at 2 000 rpm. After determination of protein content, supernatants (20 μ l aliquots) were subjected to the ELISA kit. Results were expressed as a ratio of optical density relative to total protein concentration.

STATISTICAL ANALYSIS

Results are expressed as mean \pm SD. Analysis of variance was used to assess an overall difference among the groups for each of the variables. Normality was tested by the Kolmogorov and Smirnov method. When equal variances of groups were not assumed as assessed by the Bartlett's test, an unpaired two-tailed t test with Welch correction was applied. Differences were considered significant at $p < 0.05$. Graph InStat[®] (GraphPad Software Inc, San Diego, CA) was

used for both between-group and within-group analyses, along with the appropriate Tukey or Dunnett posttest for multiple comparisons.

RESULTS

The study design is described in Fig 1. In order to focus on the primary objective which was to evaluate the impact of fluids on LPS-induced myocardial dysfunction, data from the internal control groups (i.e. non LPS-challenged but fluid-infused rats) are not shown.

Impact of fluid resuscitation on myocardial function after LPS challenge

- i) LPS injection decreased fractional shortening (FS) at 6hrs ($p < 0.01$ vs. sham control) (Fig 2 C), as previously described (21-22), and increased LVRWD thickness at 6 and 24hrs post-challenge, ($p < 0.05$ and < 0.01 vs. sham control, Fig 2 D). Heart rates were not significantly changed (data not shown).
- ii) NS required 24hrs for FS restoration ($p < 0.01$ vs. LPS, Fig 2 C) and transiently increased LVEDv at 6hrs ($p < 0.05$ vs. LPS) with late restoration of LVRWD thickness at 24hrs (Fig 2 B & D).
- iii) HSS totally prevented LPS-induced cardiac dysfunction (i.e. FS) ($p < 0.001$ vs. LPS) at 6hrs and gradually reduced LVESv at 6 and 24hrs ($p < 0.05$ and 0.01 vs. LPS, respectively) (Fig 2 A & C).
- iv) Although Alb infusion did not significantly modulate FS, LVESv or LVEDv after LPS challenge, it significantly reduced LVRWD thickness at 6 and 24hrs post-challenge ($p < 0.01$ vs. LPS) (Fig 2 D).

Figure 2

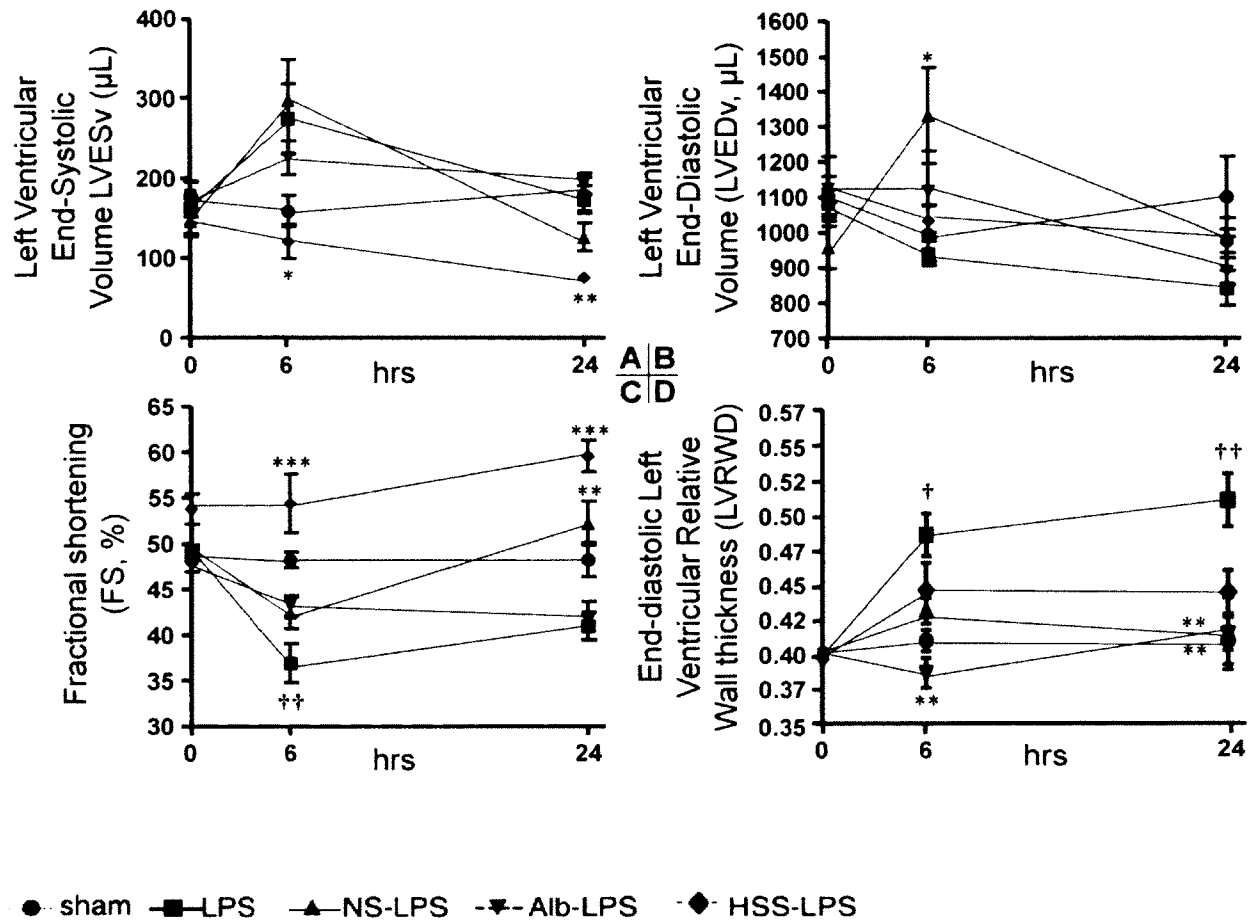


Fig 2: Echocardiographic evaluation of heart function following endotoxin (LPS) challenge with fluid resuscitation. Rats (n= 8) were challenged according to the methodology described under Methods. The curves represent analysis (mean± SD) of parameters from baseline (T0) to 6 and 24hrs post-challenge. (A) left ventricular end-systolic volume (LVESv), (B) left ventricular end-diastolic volume (LVEDv), (C) fractional shortening (FS, %) and (D) left ventricular relative wall diastolic thickness (LVRWD). Panels A to D: black circle (sham), black square (LPS), black upward triangle (NS-LPS), black downward triangle (Alb-LPS), black lozenge (HSS-LPS). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. LPS, ††: $p < 0.01$ vs. T0.

Impact of fluid resuscitation on myocardial apoptosis after LPS challenge

- i) LPS produced a 4-fold increase in myocardial caspase 3 activity and a 1.7-fold increase in DNA fragmentation, a marker of completed apoptosis, at 6 and 24hrs post-challenge respectively ($p < 0.001$ and < 0.05 vs. control, respectively, Fig 3 A & B), as previously described [\(21-22\)](#).
- ii) Alb as well as HSS, but not NS resuscitation, reduced by 25-50% both aforementioned myocardial apoptotic processes after LPS challenge ($p < 0.05$ vs. LPS, Fig 3 A & B).

Figure 3

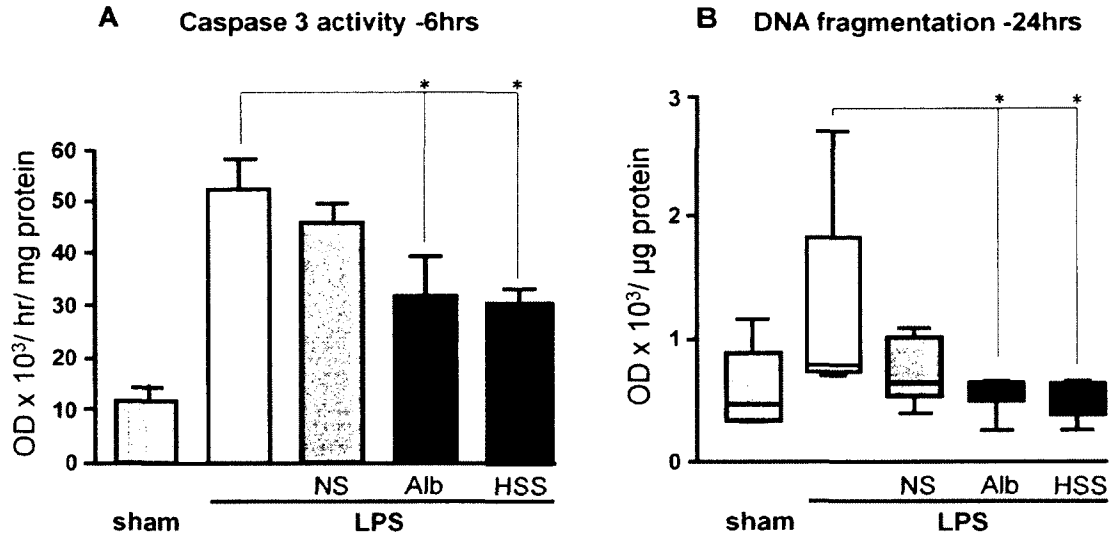


Fig 3: Modulation of heart apoptosis following endotoxin (LPS) challenge with fluid resuscitation. Graphs are represented as bar charts (mean \pm SD) for panel A, and box and whiskers plots (median, box 25th-75th percentile range; error bars 10-90th percentile range) for panel B. (A) caspase 3 activity at 6hrs post-challenge and (B) DNA fragmentation at 24hrs post-challenge, as described in Methods. Data are representative from groups with the following assignments: vertical hatched bar (sham), white bar (LPS), light grey bar (NS-LPS), dark grey bar (Alb-LPS), black bar (HSS-LPS). * $p < 0.05$ vs. LPS.

Impact of fluid resuscitation on LPS-induced modulation of myocardial interstitial space (MIS) and endogenous albumin content

- i) LPS provoked a 3- and 5.5-fold increase in myocardial interstitial spaces (MIS) at 6 and 24hrs post-challenge ($p < 0.001$ vs. sham control, Fig 4 A&B), and a 1.7-fold enhancement of endogenous albumin interstitial/sarcolemmal content at 24hrs post-challenge ($p < 0.05$ vs. sham control, respectively, Fig 4 C).
- ii) Alb infusion was the only fluid able to reduce both MIS enlargement at 6 and 24hrs post LPS-challenge ($p < 0.05$ and < 0.001 vs. LPS, respectively, Fig 4 A&B) and endogenous albumin interstitial/sarcolemmal content ($p < 0.05$ vs. LPS, Fig 4 C).

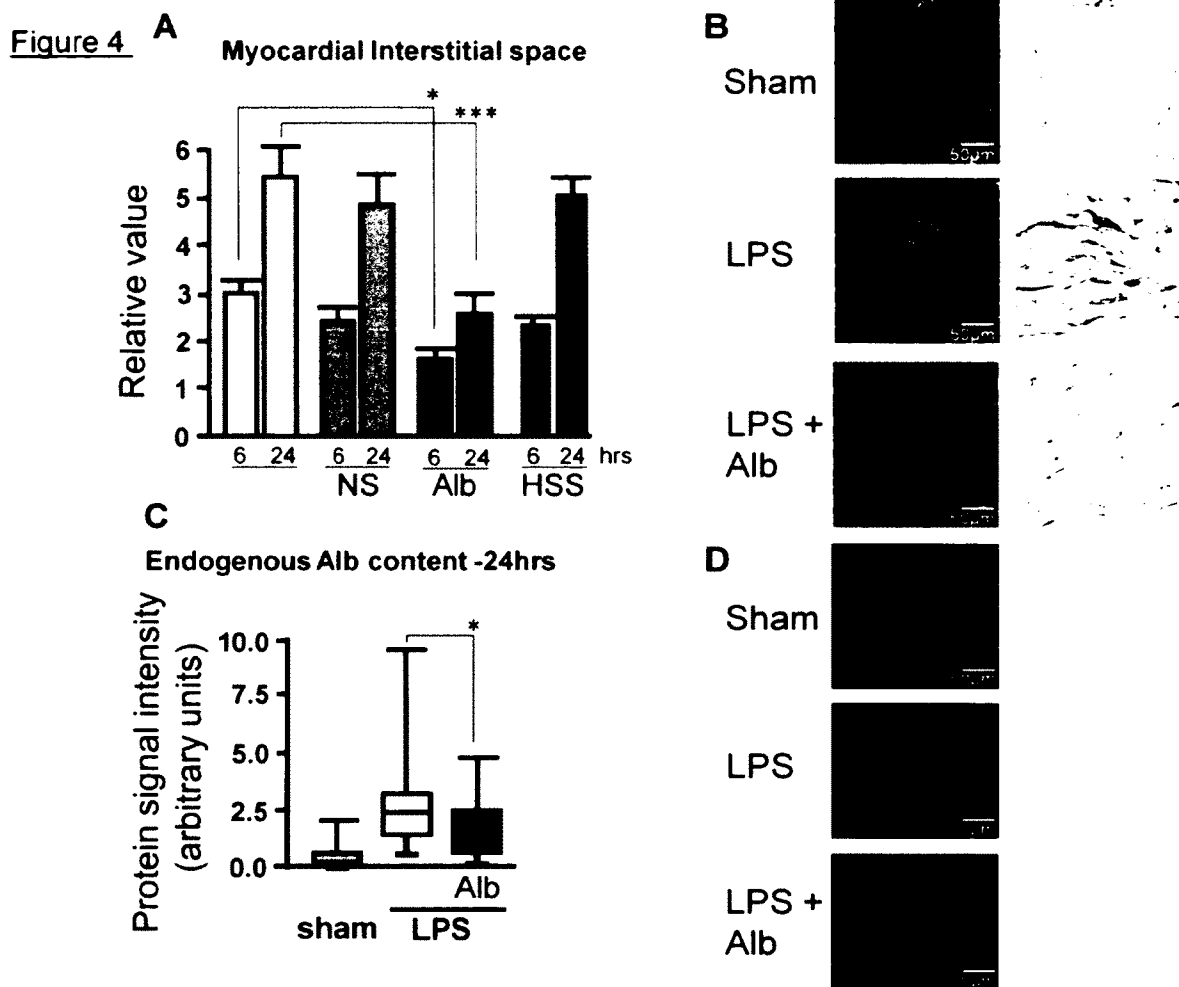


Fig 4: Modulation of heart interstitial space and endogenous albumin content following endotoxin (LPS) challenge with fluid resuscitation. Graphs are represented as bar charts (mean \pm SD) for panel A, and box and whiskers plots (median, box 25th-75th percentile range; error bars 10-90th percentile range) for panel C. Myocardial interstitial space analysis (A); representative imaging of panel A (B); endogenous albumin interstitial/sarcolemmal content at 24hrs post-challenge (C); representative imaging of panel C (D), as described in Methods. Data are representative from groups with assignment as described in Fig 3. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ vs. LPS.

Impact of fluid resuscitation on myocardial key-molecular expression after LPS challenge

- i) LPS challenge led to opposing trends in myocardial HO-1 and iNOS molecular expressions at 6hrs (Fig 5 A&B).
- ii) Alb infusion enhanced heart HO-1 without influencing iNOS expression ($p < 0.001$, Fig 5 A&B), whereas HSS upregulated both HO-1 and iNOS.

Figure 5

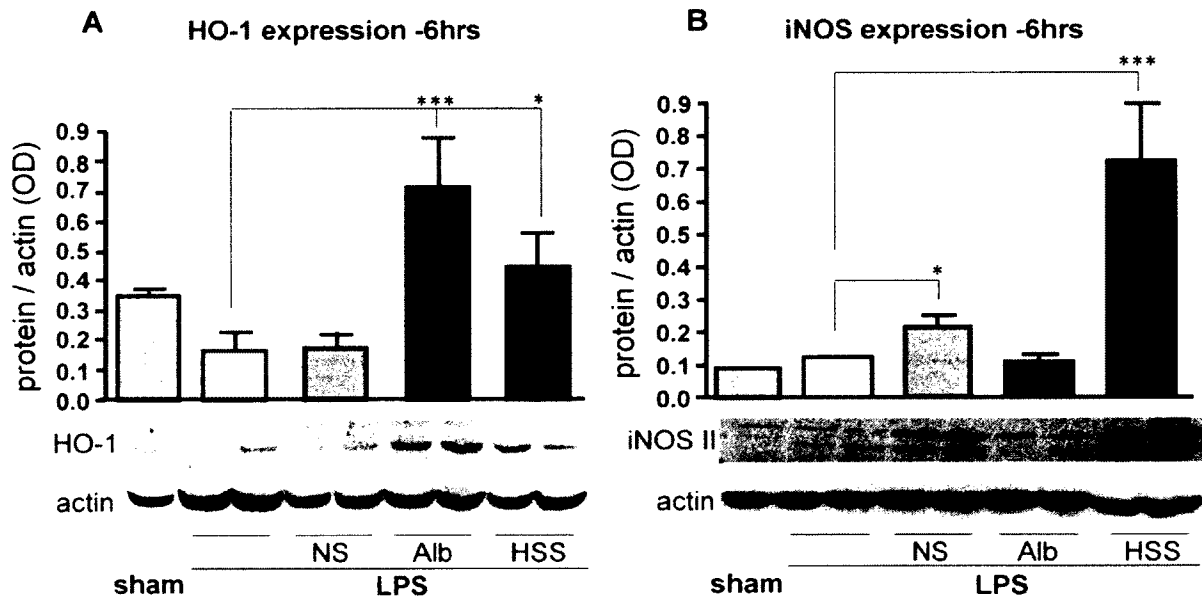


Fig 5: Modulation of heart heme-oxygenase-1 (HO-1) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) following endotoxin (LPS) challenge with fluid resuscitation. Bar charts in panels A (HO-1) and B (iNOS) represent quantification of specific band ODs (mean±SD) in at least 6 rats/group (at 6hrs post-challenge). Actin was used as a loading control. Data are representative from groups with assignment as described in Fig 3 * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ vs. LPS.

- iii) The time course of MAP ERK expression in heart tissues, which is extensively involved in controlling inflammatory and apoptotic processes, indicates LPS-induced sustained activation and that Alb infusion was the only fluid able to further enhance ERK phosphorylation at 24hrs ($p < 0.001$ vs. LPS, Fig 6).

Figure 6

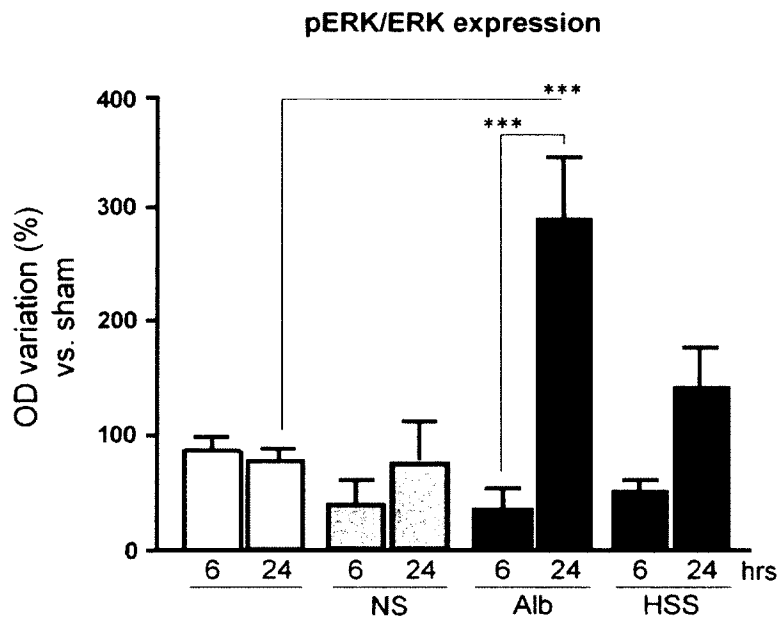


Fig 6: Variations in heart MAP ERK activation/expression profile following endotoxin (LPS) challenge with fluid resuscitation. Bar charts represent ODs (mean \pm SD) of specific bands obtained by Western blot for activated (phosphorylated) pERK 44-42 and adjusted to ERK 44-42, as loading control, at 6 and 24hrs post-challenge. Quantification was normalized to respective sham values. Data are representative from groups with assignment as described in Fig 3. *** $p < 0.001$ vs. LPS

DISCUSSION

In the present study, we demonstrate for the first time distinct molecular impacts of isovolumic resuscitation on endotoxin-related myocardial dysfunction, according to the type of fluid used. Albumin (Alb) exhibited pleiotropic effects, namely by reducing heart apoptosis, interstitial space enlargement and endogenous albumin tissue permeability; by enhancing HO-1 while decreasing iNOS myocardial expressions, and by further increasing ERK MAP kinase expression. These molecular responses were associated with a reduced relative wall thickness, a marker of diastolic functional improvement. Meanwhile, hypertonic saline solution (HSS) prevented endotoxin-induced myocardial dysfunction and reduced cardiac apoptosis with enhanced HO-1 expression.

Pathophysiology of sepsis-induced myocardial dysfunction and targeted efficient interventions

With the growing use of bedside echocardiographic monitoring, sepsis-induced myocardial dysfunction is now recognized as much more prevalent than initially reported, i.e. not only systolic but diastolic myocardial impairments can be observed early after septic shock onset (6-8, 10-12). Numerous mediators and pathways are involved in septic heart dysfunction, including: systemic and auto-paracrine inflammatory cytokines, imbalanced NOS activations, Ca²⁺ homeostasis mishandling with impaired contractile protein phosphorylation, and random “hypomicroperfusion”, all of which are often cross-linked (10-12). Histopathology associated with these events has come from experimental reports as well as human autopsies and includes: cardiomyocyte apoptosis/necrosis, subepicardial focal inflammatory cell infiltration, congestion and edema (14-16, 27). Importantly, by specifically targeting some of the above biopathological processes, several experimental studies have demonstrated that endotoxin-induced myocardial dysfunction can be prevented or reversed (22, 28-32). As recommended since many years,

aggressive fluid resuscitation is a cornerstone prerequisite treatment of septic shock aimed at optimizing heart pressure/volume loops before any consideration of adding direct inotropic support (5, 9). However, there is no comprehensive information to date as to the intrinsic loading-independent properties of resuscitation fluids in targeting functional as well as molecular impairments of endotoxin-induced heart depression.

Known impacts of resuscitation fluids on sepsis-induced shock and myocardial dysfunction

In the present study and taking normal saline (NS) as a baseline reference and molecularly “inert” fluid, Alb and HSS exhibited differential molecular impacts on endotoxin-challenged hearts. In addition to being the most powerful natural colloid dragging water into the intravascular compartment, Alb is known to enhance antioxidant potential and to share metallic ion binder properties (including Ca^{2+}) as well as to improve organ function in critically ill patients (33-34). Indeed, from a clinical point of view, Alb has long been considered as an alternative fluid candidate over NS in fluid resuscitation of shock. However, outcome issues in most trials and meta-analyses have been equivocal and at times even disfavored the use of Alb infusion (35). For instance, the SAFE trial comparing Alb 4% vs. NS in early shock did not find a distinct outcome (36), although subgroup analysis depicted a trend towards a positive impact of Alb 4% on 28-day mortality and on the relative risk of death in septic patients (37). From a cardiac-targeted standpoint, reported data have been nevertheless informative, although experimental: Alb infusion was shown to: i) improve myocardial contractility and tissue oxygenation in rat endotoxemia (25, 38); ii) protect cardiac vascular glycocalyx permeability and wall “edema” in this endotoxemic model as well as after I-R (39), and iii) preserve relative wall thickness as a structural determinant of heart diastolic function (40). Alb exposure has also been

reported to be protective of induced apoptosis, as observed in the present model of LPS-challenged hearts (41-42).

Much less is known as to the rescuing efficacy of HSS in human septic shock and on induced myocardial dysfunction (43). Indeed, from a clinical standpoint, HSS is not currently recommended as an evidence-based rescue fluid. From a cardiac-targeted standpoint, HSS has been shown however to improve experimentally septic myocardial performance and to reduce injury after I-R (44-46), and it is directly inotropic in septic hearts by means of a hypertonic/hyperosmolar effect (43); possibly by enhancing Na/Ca²⁺ exchanger activity; and Ca²⁺ availability/handling, as well as by alleviating myocardial edema (44-45, 47). HSS has also been recognized to prevent apoptosis and injury as well as microvascular permeability and edema in several tissues (48-51). Although the protective effect of HSS on heart apoptosis was obvious in this septic model, the impact on myocardial edema was not observed, for unclear reasons.

Molecular impacts of resuscitation fluids on cell/tissues and sepsis-induced myocardial dysfunction

Alb administration is known to inhibit neutrophil oxidative burst activity (52) and to decrease reactive oxygen species production and nitric oxide synthase II (iNOS) expression (26, 38, 42, 53-54). In the present model, Alb infusion did not noticeably alter myocardial iNOS expression whereas it significantly enhanced HO-1 (formerly known as heat shock protein 32). HO-1 is a rate-limiting enzyme catalyzing the degradation of heme, with by-products such as carbon monoxide, and has been identified as a powerful antioxidant and cytoprotective molecule (55). HO-1 and iNOS activities are coupled to increases in NO production associated with reductions in carbon monoxide production and vice-versa. For example, suprainduction of HO-1

has been shown to attenuate iNOS activity in glomerulonephritis (56). On the other hand, ubiquitous HO-1 protein expression and/or activity is varyingly increased in septic shock (57), whereas HO-1 overexpression/supra-induction is able to blunt oxidative stress and to prevent LPS- and TNF- α induced myocardial as well as smooth muscle cell dysfunctions (58-59). In myocardial I-R injury, HO-1 gene delivery has been reported to be protective and inhibit post infarct remodeling with restoration of ventricular function (60-61). Interestingly, HO-1 induction has also been associated with MAP ERK activation (62-63), and with neutralizing ERK-decreased HO-1 expression (64). ERK is a member of the MAPK family, mainly committed to antiapoptotic modulation when its activation is sustained such as in endotoxin-challenged hearts (22). In this respect, sustained ERK activation in Alb-infused hearts in the present model was typically associated with increased HO-1/iNOS expressions as well as with reduced caspase 3 activity and DNA fragmentation, thus reinforcing the commitment of this fluid in a protective cascade pathway.

Various immunomodulatory effects have already been described with the use of HSS in the treatment of sepsis (43, 45). HSS administration has also been shown to decrease apoptosis and enhance HO-1 expression in the gut after hemorrhagic shock and I-R (65-66), as observed in septic hearts in this study. This suggests a potential protective role of HSS infusion on insulted tissues, along with certain shared pathways and targets with Alb. However, this HSS infusion-induced dissociation of HO-1/iNOS expression profile, with huge elevations in iNOS in LPS-challenged hearts, has not been specifically monitored as to eventual longer-term consequences. Of note, excessive and/or sustained iNOS expression has a depressant effect on cardiomyocyte contractile function (67), and HSS administration/resuscitation could flare up iNOS with possible exacerbation of neutrophil deposition and tissue hyperpermeability, which are avoidable by

preliminary iNOS inhibition (68-69). The latter may offer plausible explanation for the lack of reduction in LPS-induced myocardial edema with HSS infusion in the current model.

Study limitations This study is experimental and *per se* limited as to its immediate translation in humans. While the model selected is the one currently used in the laboratory (21-22) and provides consistent myocardial dysfunction without evidence of shock, it cannot necessarily be compared with other experimental models of sepsis. Resuscitation solutions chosen were representative of the available clinical fluid supply with the exception of synthetic colloids. Lastly, while the targeted recorded parameters are relevant to the recognized bio-processes of sepsis-induced heart dysfunction, studied molecular events were nonetheless selective to the HO-1/iNOS/ERK network.

In conclusion, isovolumic fluid resuscitation induces distinct functional and molecular impacts on endotoxin-induced myocardial dysfunction. Alb and HSS are unique in their respective properties over NS: Alb reduces a recognized parameter of heart diastolic dysfunction (i.e. relative wall diastolic thickness), inhibits myocardial edema and apoptosis, and restores oxidant balance, whereas HSS is fast and powerful in preventing heart dysfunction, and reduces heart apoptosis with enhancing HO-1 but also iNOS expressions. Overall, this study suggests that the selection of fluid in the early management of septic shock may influence the outcome of myocardial dysfunction both on a functional and molecular standpoint.

Acknowledgements: the authors thank Dr. P. Farand for knowledge-translation of echocardiographic skills, and Dr. S. Bassem for pathological advice and tissue assessments.

References

1. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al.: Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001, 29:1303-1310
2. Martin G, Mannino D, Eaton S, et al.: The epidemiology of sepsis in the U-S from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003, 348:1546-1554
3. Wenzel RP: Treating sepsis. *N Engl J Med* 2002, 347:966-7
4. Vincent JL, Rello J, Marshall J et al.: International study of the prevalence and outcomes of infection in Intensive Care Units. *JAMA* 2009, 302: 2323-29
5. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM et al.: Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2008, 36: 296-327.
6. Vieillard-Baron A, Caille V, Charron C et al.: Actual incidence of global left ventricular hypokinesia in adult septic shock. *Crit Care Med* 2008, 36: 1701-6
7. Etchecopar-Chevreuril C, Francois B, Clavel M et al.: Cardiac morphological and functional changes during early septic shock: a transesophageal echocardiographic study. *Intensive Care Med* 2008, 34: 250-6
8. Bouhemad B, Nicolas-Robin A, Arbelot C et al.: Isolated and reversible impairment of ventricular relaxation in patients with septic shock. *Crit Care Med* 2008, 36:766-74
9. Rivers E, Nguyen B, Havstad S et al.: Early Goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *New Engl J Med* 2001, 345:1368-77
10. Lorts A, Burroughs T, Shanley TP et al.: Elucidating the role of reversible protein phosphorylation in sepsis-induced myocardial dysfunction. *Shock* 2009, 32:49-54
11. Zanotti-Cavazzoni SL, Hollenberg SM: Cardiac dysfunction in severe sepsis and septic shock. *Curr Opin Crit Care* 2009, 15:392-7
12. Rudiger A, Singer M: Mechanisms of sepsis-induced cardiac dysfunction. *Crit Care Med* 2007, 35:1599-1608
13. Nilsson JC, Nielsen G, Groenning BA et al.: Sustained postinfarction myocardial oedema in humans visualised by magnetic resonance imaging. *Heart* 2001, 85:639-42
14. Fernandes Jr CJ, Akamine N, Knobel E.: Myocardial depression in sepsis. *Shock* 2008, 30 (supl 1): 14-17
15. Rossi MA, Celes MR, Prado CM et al.: Myocardial structural changes in long-term human severe sepsis/ sepsis shock may be responsible for cardiac dysfunction. *Shock* 2007, 27: 10-18

16. dos Santos CC, Gattas DJ, Tsoporis JN et al.: Sepsis-induced myocardial depression is associated with transcriptional changes in energy metabolism and contractile related genes: a physiological and gene expression-based approach. *Crit Care Med* 2010, 38:894-902
17. Deng X, Wang X, Andersson R: Endothelial barrier resistance in multiple organs after septic and non septic challenges in rats. *J Appl Physiol* 1995, 78: 2052-61
18. van den Berg BM, Vink H, Spaan JAE: The endothelial glycocalyx protects against myocardial edema. *Circ Res* 2003, 92: 592-4
19. Gotloib L, Shostak A, Galdi P et al.: Loss of microvascular negative charges accompanied by interstitial edema in septic rats' heart. *Circ Shock* 1992, 36: 45-56
20. Henry CBS, Duling BR: TNF-alpha increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000, 279:H2815-23
21. Chagnon F, Bentourkia M, Lecomte R et al.: Endotoxin-induced heart dysfunction in rats: assessment of myocardial perfusion and permeability and the role of fluid resuscitation. *Crit Care Med* 2006, 34: 127-33
22. Chagnon F, Metz CN, Bucala R et al.: Endotoxin-induced myocardial dysfunction. Effects of Macrophage Migration Inhibitory Factor neutralization. *Circ Res* 2005, 96:1095-102
23. Watson LE, Shtth M, Denver RF, Dostal DE.: Baseline, echocardiographic values for adult male rats. *J Am Soc Echocardiog* 2004, 17: 161-7.
24. Sundström J, Sullivan L, Selhub J et al.: Relations of plasma homocysteine to left ventricular structure and function: the Framingham heart study. *Eur Heart J* 2004, 25: 523-30.
25. Walley KR, Mc Donald TE, Wang Y, et al.: Albumin resuscitation increases cardiomyocyte contractility and decreases nitric oxide synthase II expression in rat endotoxemia. *Crit Care Med* 2003, 31: 187-194
26. Celes MRN, Torres-Duenas D, Prado CM, et al.: Increased sarcolemmal permeability as an early event in experimental septic cardiomyopathy: a potential role for oxidative damage to lipids and proteins. *Shock*, 2010: 33: 322-331
27. Lancel S, Petillot P, Favory R et al.: Expression of apoptosis regulatory factors during myocardial dysfunction in endotoxemic rats. *Crit Care Med* 2005, 33:492-6
28. Lancel S, Joulin O, Favory R et al.: Ventricular myocyte caspases are directly responsible for endotoxin-induced cardiac dysfunction. *Circulation* 2005, 111:2596-604
29. Kumar A, Thota V, Dee L et al.: Tumor necrosis factor alpha and interleukin 1beta are responsible for in vitro myocardial cell depression induced by human septic shock serum. *J Exp Med* 1996, 183:949-58
30. Afulukwe IF, Cohen RI, Zeballos GA et al.: Selective NOS inhibition restores myocardial contractility in endotoxemic rats, however myocardial NO content does not correlate with myocardial dysfunction. *Am J Resp Cell Crit Care Med* 2000, 162:21-26

31. Hassoun SM, Marechal X, Montaigne D et al.: Prevention of endotoxin-induced sarcoplasmic reticulum calcium leak improves mitochondrial and myocardial dysfunction. *Crit Care Med* 2008, 36:2590-6
32. Nevriere R, Hassoun SM, Decoster B et al.: Caspase-dependent protein phosphatase 2A activation contributes to endotoxin-induced cardiomyocyte contractile dysfunction. *Crit Care Med* 2010, 38:2031-6
33. Quinlan GJ, MP Margaron, S Mumby, et al.: Administration of albumin to patients with sepsis syndrome: a possible beneficial role in plasma thiol repletion. *Clin Science* 1998; 95:459-65
34. Dubois MJ, Orellana-Jimenez C, Melot C, et al.: Albumin administration improves organ function in critically ill hypoalbuminemic patients: a prospective, randomized, controlled, pilot study. *Crit Care Med* 2006, 34:2536-40.
35. Choi PT, Yip G, Quinonez L, Cook DJ : Crystalloids vs. colloids in fluid resuscitation: A systematic review. *Crit Care Med* 1999; 27:200–210
36. The SAFE Study Investigators: a comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit. *New Engl J Med* 2004, 350:2247-56
37. The SAFE Study Investigators: Impact of albumin compared to saline on organ function and mortality of patients with severe sepsis. *Intensive Care Med* 2010, DOI 10.1007/s00134-010-2039-6
38. Tokunaga C, Bateman RM, Boyd J et al.: Albumin resuscitation improves ventricular contractility and myocardial tissue oxygenation in rat endotoxemia. *Crit Care Med* 2007, 35:1436-6
39. Jacob M, Brueger D, Rehm M et al.: Contrasting effects of colloid and crystalloid resuscitation fluids on cardiac vascular permeability. *Anesthesiology* 2006, 104:1223-31
40. Tang W, Arnett DK, Devereux RB et al.: Sibling resemblance for left ventricular structure, contractility, and diastolic filling. *Hypertension* 2002, 40:233-38
41. Jones DT, Ganeshaguru K, Anderson RJ et al.: Albumin activates the AKT signalling pathway and protects B-chronic lymphocytic leukemia cells from chlorambucil- and radiation-induced apoptosis. *Blood* 2003, 101:3174-80
42. Iglesias J, Abernethy VE, Wang Z et al.: Albumin is a major serum survival factor for renal tubular cells and macrophages through scavenging of ROS. *Am J Physiol Renal Physiol* 1999, 277:F711-22
43. Poli-de-Figueiredo LF, Cruz Jr RJ, Sannomiya P et al.: Mechanisms of action of hypertonic saline resuscitation in severe sepsis and septic shock. *Endoc, Metab & Immune Disorders-Drug Targets* 2006, 6:201-6
44. Ing RD, Nazeeri MN, Zeldes S et al.: Hypertonic saline/dextran improves septic myocardial performance. *Am Surg* 1994, 60:505-7

45. Oliveira RP, Velasco I, Garcia Soriano F et al.: Hypertonic saline resuscitation in sepsis. *Crit Care* 2002, 6:418-23
46. Chen LB, Liu T, Wu JX et al.: Hypertonic perfusion reduced myocardial injury during subsequent ischemia and reperfusion in normal and hypertensive rats. *Acta Pharm Sinica* 2003, 24:1077-82
47. Mouren S, Delayance S, Mion G et al.: Mechanisms of increased myocardial contractility with hypertonic saline solutions in isolated blood-perfused rabbit hearts. *Anest Analg* 1995, 81:777-82
48. Riffll WL, Carnaggio R, Moore EE et al.: Clinically relevant hypertonicity prevents stored blood- and lipid-mediated delayed neutrophil apoptosis independent of p38 MAPK or caspase-3 activation. *Surgery* 2003, 134:86-91
49. Murao Y, Hata M, Ohnishi K et al.: Hypertonic saline resuscitation reduces apoptosis and tissue damage of the small intestine in a mouse model of hemorrhagic shock. *Shock* 2003, 20:23-8
50. Victorino GP, Newton CR, Curran B: Effect of hypertonic saline on microvascular permeability in the activated endothelium. *J Surg Res* 2003, 112:79-83
51. Shi HP, Deitch EA, Da Xu Z et al.: Hypertonic saline improves intestinal mucosa barrier function and lung injury after trauma-hemorrhagic shock. *Shock* 2002, 17:496-501
52. Rhee P, Wang D, Ruff P et al.: Human neutrophil activation and increased adhesion by various resuscitation fluids. *Crit Care Med* 2000, 28: 74-8
53. Simpkins CO, Little D, Brenner A et al.: Heterogeneity in the effect of Albumin and other resuscitation fluids on intracellular oxygen free radical production. *J Trauma* 2004, 56: 548-59
54. Ekerbicer N, Inan S, Tarakci F et al.: Histophysiological effects of fluid resuscitation on heart, lung and brain tissues in rats with hypovolemia. *Acta Histochemica* 2006, 108: 373-83
55. Takahashi T, Shimizu H, Akagi R et al.: Heme Oxygenase-1: a new drug target in oxidative tissue injuries in critically ill conditions. *Drug Development Res* 2006, 67:130-53
56. Datta PK, Gross EJ, Lianos EA: Interactions between inducible nitric oxide synthase and heme oxygenase-1 in glomerulonephritis. *Kidney Int* 2002, 61:847-50
57. Takaki S, Takeyama N, Kajita Y et al.: Beneficial effects of the heme-oxygenase-1/carbon monoxide system in patients with severe sepsis/septic shock. *Intensive Care Med* 2010, 36: 42-8
58. Tamion F, Bauer F, Richard V et al.: Myocardial dysfunction in early state of endotoxemia: role of heme-oxygenase-1: *J Surg Res* 2010,158 : 94-103

59. Lee I-T, Luo S-F, Lee C-W et al.: Overexpression of HO-1 protects against TNF-alpha-mediated airway inflammation by down-regulation of TNFR1-dependent oxidative stress. *Am J Pathol* 2009, 175: 519-32
60. Lin HH, Chen YH, Chang PF et al.: Heme Oxygenase-1 promotes neovascularization in ischemic heart by coinduction of VEGF and SDF-1. *J Mol Cell Cardiol* 2008, 45: 44-45
61. Lui X, Pachori AS, Ward CA et al.: Heme Oxygenase-1 (HO-1) inhibits postmyocardial infarct remodeling and restores ventricular function. *FASEB J* 2006, 20: 207-16
62. Chen K, Maines MD: Nitric oxide induces heme oxygenase-1 via MAP ERK and p38. *Cell Mol Biol* 2000, 46:609-17
63. Gong P, Cederbaum AL, Nieto N: Increased expression of cytochrome P450 2E1 induces heme oxygenase-1 through ERK MPAK pathway. *J Biol Chem* 2003, 278: 29693-700
64. Benvenisti-Zarom L, Chen-Roetling J, Regan RF: Inhibition of the ERK/MAP kinase pathway attenuates heme oxygenase-1 expression and heme-mediated neuronal injury. *Neurosciences Letters* 2006, 398:230-4
65. Attuwaybi B, Kozar RA, Gates KS et al.: Hypertonic saline prevents inflammation, injury, and impaired intestinal transit after gut ischemia/reperfusion by inducing heme oxygenase 1 enzyme. *J Trauma* 2004, 56:749-58
66. Lu Y-q, Gu L-h, Huang W-d et al.: Effect of hypertonic saline resuscitation on heme oxygenase-1 mRNA expression and apoptosis of the intestinal mucosa in a rat model of hemorrhagic shock. *Chinese Med J* 2010, 123:1453-8
67. Joe EK, Schussheim AE, Longrois D et al.: Regulation of cardiac myocyte contractile function by inducible nitric oxide synthase (iNOS): mechanisms of contractile depression by nitric oxide. *J Mol Cell Cardiol* 1998, 30:303-15
68. Chen LW, Hwang B, Chang WJ et al.: Inducible nitric oxide synthase inhibitor reverses exacerbating effects of hypertonic saline on lung injury in burn. *Shock* 2004, 22:472-7
69. Tatemichi M, Ogura T, Sakurazawa N et al.: inducible nitric oxide synthase activity induced by sodium chloride solution prolongs luminal pH elevation in rat and mouse stomach. *J Gastro Enterol Hepatol* 2003, 18:1039-46

Abbreviations

I-P; Intra-Peritoneal, LPS; LipoPolySaccharides, NS; Normal Saline, HHS; Hypertonic Saline Solution, Alb; Albumin, HO-1; Heme Oxygenase-1, iNOS; inducible Nitric Oxide Synthase, MAPK; Mitogen Activated Protein Kinases, ICU; Intensive Care Unit, i-v; Intra-Venous, TNF- α ; Tumor Necrosis Factor- α , IL-1 β ; Interleukin-1 β , MIF; Macrophage migration Inhibitory Factor, NO; Nitric Oxide, LVEDd (v); Left Ventricular End-Diastolic diameter (volume), LVESd (v); Left Ventricular End-Systolic diameter (volume), FS; Fractional Shortening, IVSD, end-diastolic InterVentricular Septum thickness, LVPWD; end-diastolic left ventricular posterior wall thickness, LVRWD; end-diastolic left ventricular relative wall thickness, Ischemia-Reperfusion; I-R.

DISCUSSION

C'est grâce au raffinement des technologies, ainsi qu'à l'augmentation de leurs disponibilités au chevet des patients (principalement l'échocardiographie), que l'importance et la prévalence de la dysfonction myocardique sont dorénavant reconnues dans le sepsis. De plus, cela a permis d'observer que la dysfonction myocardique survenait à un stade précoce dans le choc septique et qu'elle n'était pas uniquement d'origine systolique, mais pouvait aussi bien être d'origine diastolique (Bouhemad *et al.*, 2008; Etchecopar-Chevreuril *et al.*, 2008; Vieillard-Baron *et al.*, 2008; Furian *et al.*, 2012; Pulido *et al.*, 2012). Plus encore, le processus physiopathologique menant à la dysfonction myocardique septique est très complexe et comporte un nombre important de médiateurs et de voies de signalisation, en plus d'être associé à des changements histologiques et d'être sous l'influence d'un support systémique déficient (Merx et Weber, 2007; Hunter et Doddi, 2010). Il est donc primordial de s'attaquer à ce problème en visant certaines de ces composantes physiopathologiques. Plusieurs études ont d'ailleurs démontré qu'il était possible de prévenir ou de renverser la dysfonction myocardique septique (Kumar *et al.*, 1996; Afulukwe *et al.*, 2000; Chagnon *et al.*, 2005; Lancel *et al.*, 2005; Hassoun *et al.*, 2008; Neviere *et al.*, 2010). Finalement, il est recommandé depuis plusieurs années qu'une réanimation ou « ressuscitation » liquidienne agressive soit le prérequis à tout autre traitement permettant d'optimiser la fonction cardiovasculaire dans le choc septique (Rivers *et al.*, 2001; Dellinger *et al.*, 2008).

En faisant suite à ces faits, cette étude confirme la présence d'impacts, autres que des effets purement de remplissage vasculaire, sur la fonction cardiaque induits par les liquides de réanimation utilisés dans le choc septique. De plus, elle est la première à démontrer des effets distinctifs sur la dysfonction myocardique endotoxinique lors d'une perfusion isovolémique (c'est-à-dire à volume indexé avec leurs caractéristiques de remplissage vasculaire) de différents liquides de réanimation, à savoir le normal salin 0,9 %, l'albumine à 5 % et le salin hypertonique à 7,5 %. Trois principaux niveaux d'incidence ont été évalués, soit : la fonction cardiaque globale, l'aspect histologique myocardique, ainsi que la modulation de certaines molécules clés impliquées dans le sepsis.

De prime abord, il a été observé que les liquides de réanimation ont des patrons d'impact sur la dysfonction cardiaque, qui sont modulés en fonction du temps et du type de liquide utilisé, et ce, indépendamment du volume administré. En effet, du point de vue de la fonction cardiaque globale, certains liquides, tels que le HTS, semblent renverser la dysfonction contractile plus précocement, entraînant un retour à la normale de la fraction de raccourcissement dans les premières heures du début de la perfusion. Bien que, cliniquement, les évidences probantes ne recommandent pas le HTS comme liquide de réanimation dans ce contexte. Ce retour à la normale aussi rapide des fonctions cardiaques laisse sous-entendre que le HTS aurait une mécanique d'action beaucoup plus efficace, plus rapide et/ou plus simple que les autres liquides utilisés.

L'action rapide du HTS pourrait s'expliquer par des impacts primaires davantage mécaniques, plutôt que par l'activation de voies complexes de signalisation. Le HTS est d'ailleurs reconnu pour son hyperosmolarité, réduisant initialement l'œdème périvasculaire, augmentant le volume intravasculaire et diminuant la perméabilité hydraulique, ce qui a pour effet d'améliorer la perfusion tissulaire et de réduire la dysfonction myocardique (Kreimeier *et al.*, 1991; Corso *et al.*, 1998; Oi *et al.*, 2000; Oliveira *et al.*, 2002; Victorino *et al.*, 2003). Cependant, pour des raisons incertaines, nous n'avons pu observer de nette diminution de l'œdème myocardique à la suite de ce traitement. Cela pourrait s'expliquer par l'effet du HTS, qui a augmenté l'expression d'iNOS, contribuant ainsi possiblement à l'infiltration des neutrophiles et à l'hyperperméabilité tissulaire. Si cela s'avère exact, il serait possible de le prévenir en inhibant l'iNOS (Tatemichi *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2004). De plus, le HTS améliorerait la contractilité cardiaque (action inotrope) en activant les échangeurs sodium/calcium cardiomyocytaires (Nakayama *et al.*, 1985; Ing *et al.*, 1994; Mouren *et al.*, 1995; Oliveira *et al.*, 2002). Cet effet du HTS contrecarrerait donc la surcharge calcique intracellulaire et mitochondriale engendrée par une mauvaise manutention du calcium par le réticulum sarcoplasmique (celle-ci étant provoquée par l'activation de cytokines pro-inflammatoires et du TNF- α), rétablissant ainsi l'homéostasie calcique cardiomyocytaire (Hassoun *et al.*, 2008).

Par le fait même, ce phénomène de réversibilité précoce de la dysfonction myocardique par le HTS dans notre modèle endotoxinique, corrèle et fournit une partie de l'explication de la diminution de l'activité de la caspase-3 (à 6 heures) et de la fragmentation de l'ADN cardiaque

(à 24 heures). En effet, le déséquilibre calcique étant temporisé par l'action des échangeurs sodium/calcium cardiomyocytaires, cela contribuerait à éviter les surcharges calciques et maintiendrait les fonctions mitochondriales, empêchant ainsi, hypothétiquement, l'activation de la voie intracellulaire (mitochondriale) de la caspase-3, normalement activée au moyen d'un déséquilibre de BAX/BCL-2, d'un largage du cytochrome C et d'une activation de la caspase-9 (Hotchkiss et Nicholson, 2006). Par conséquent, s'il n'y a pas d'activation ou s'il y a une inhibition des voies de l'apoptose, il est improbable qu'il y ait subséquemment une fragmentation de l'ADN. Il serait pertinent de valider cette théorie en évaluant l'activation d'autres molécules clés des deux voies apoptotiques, ainsi que de tenter de relever une corrélation entre le calcium mitochondrial et l'activité apoptotique dans ce même modèle. De plus, selon nos données, cette augmentation de la survie cellulaire par le HTS ne semble pas être médiée par les voies de signalisation intracellulaire d'ERK. De ce fait, il se pourrait aussi que l'hyper-expression d'iNOS (par le HTS) ait pu contribuer indirectement et en partie à l'inhibition de la phosphorylation d'ERK, par une s-nitrosylation induite par le NO (Feng *et al.*, 2013). Ce qui expliquerait les niveaux intermédiaires de pERK obtenus avec le HTS dans notre étude. Cela pourrait toutefois être compensé par une activation des voies pro-inflammatoires médiées par la COX-2, en réponse au stress osmotique engendré par le HTS. Il est imprécis si cette augmentation de l'expression de COX-2 est médiée par p38, par NF- κ B ou par une autre voie (Favale *et al.*, 2009; Tunctan *et al.*, 2013) (Voir Figure 10).

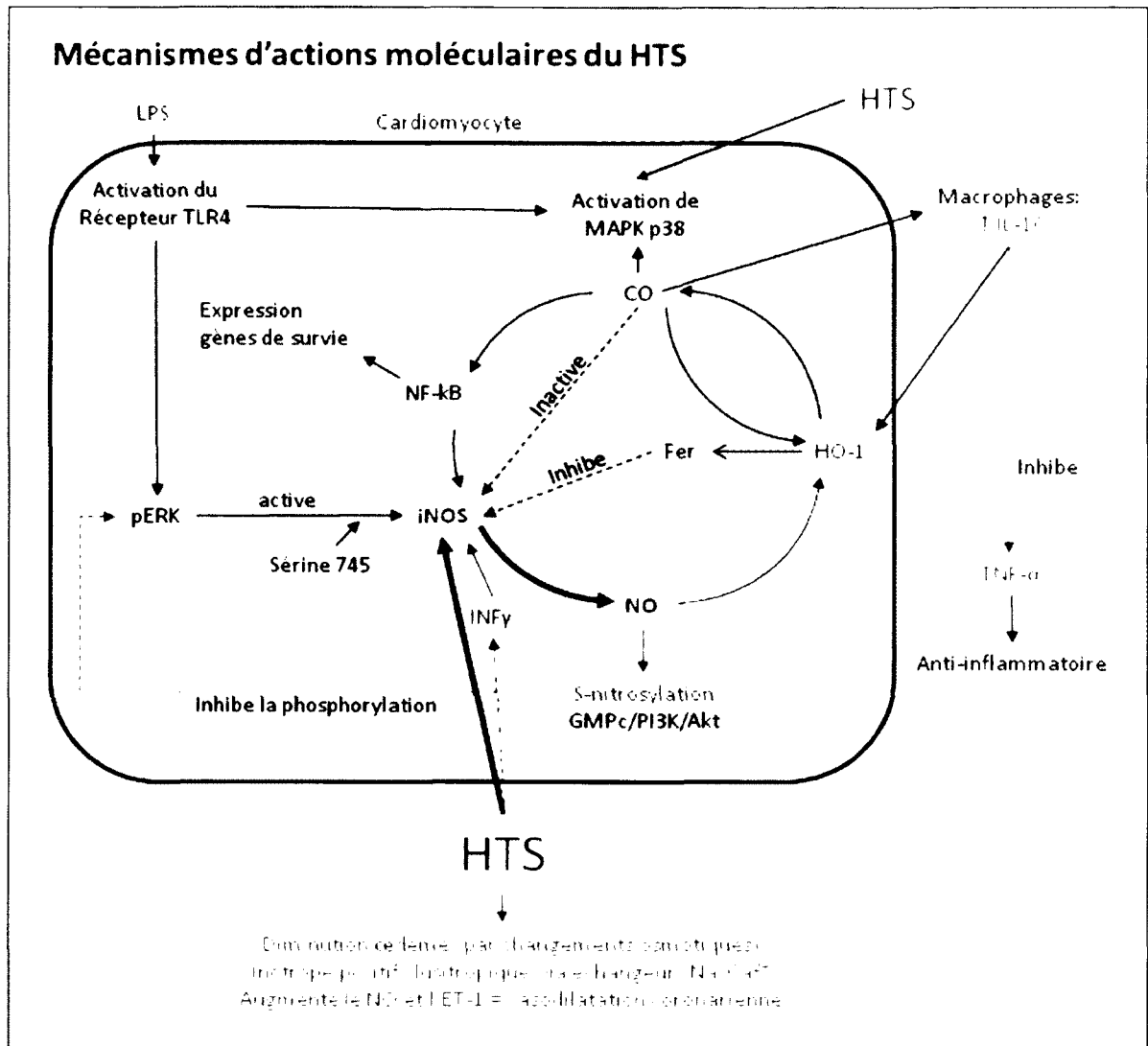


Figure 10 : Résumé des mécanismes d'actions moléculaires du HTS sur les cardiomyocytes dans la dysfonction myocardique septique

Légende : AKT = protéine kinase B ou AKT1, ERK = « extracellular signal-regulated kinase », ET = endothéline, GMPc = guanosine monophosphate cyclique, HO = hème-oxygénase, HTS = « hypertonic saline », iNOS = « inducible NO synthase », LPS = lipopolysaccharide, MAPK = « mitogen activated protein kinase », NF = « nuclear factor », PI3K = « Phosphatidylinositol 3-kinase », TLR = « Toll-like receptor », TNF = « tumor necrosis factor ».

Plus encore, la mitochondrie étant connue comme dysfonctionnelle et comme une source importante de radicaux libres délétères dans le sepsis (Supinski et Callahan, 2006; Lorigados *et al.*, 2010; Fernandes et de Assuncao, 2012), le maintien de ses fonctions par le HTS pourrait certainement contribuer à diminuer le stress oxydatif cellulaire et la production d'espèces réactives de l'oxygène et, ainsi, renverser la dysfonction myocardique septique. À la suite des travaux de Walley et de son équipe (Walley *et al.*, 2003) sur l'albumine et l'iNOS, notre première hypothèse proposait que le HTS puisse aussi agir grâce à une diminution de la production de NO, ce qui aurait une incidence majeure sur les fonctions cellulaires et, plus particulièrement, mitochondriales. Cependant, tel que dans le laboratoire de Monar (Molnar *et al.*, 2011), nous avons mesuré des niveaux anormalement élevés d'iNOS cardiaque à la suite de la perfusion de HTS. Bien que cette élévation d'iNOS n'ait pas eu d'impact sur la fonction contractile, cela pourrait tout de même affecter le comportement vasculaire du HTS et, indirectement, la perfusion et l'oxygénation des tissus (Chen *et al.*, 2004). De plus, ce niveau élevé d'iNOS laisse sous-entendre qu'il pourrait y avoir d'autres mécanismes compensatoires diminuant l'oxydation ou favorisant les fonctions mitochondriales, étant donné les nombreux effets délétères causés par le NO sur la cellule. Dans ce contexte, il serait peu probable que l'un de ces mécanismes compensatoires de l'oxydation intracellulaire provienne de la SOD (superoxyde dismutase), puisque la quantité de NO est importante et que son affinité avec les radicaux libres de l'oxygène est nettement supérieure à celle de la SOD. Cela resterait cependant à valider. Nous avons également démontré une augmentation de l'expression de l'HO-1 dans les cardiomyocytes grâce au HTS, ce qui pourrait fortement contribuer à la diminution de l'apoptose et du stress oxydatif, ce qui avait déjà été démontré dans le choc hémorragique, mais qui l'est pour la première fois dans le sepsis, à la suite d'une réanimation avec du HTS (Muraio *et al.*, 2003; Attuwaybi *et al.*, 2004; Lu *et al.*, 2008; Lu *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011). Tel que mentionné précédemment au chapitre 1.4.3, plusieurs facteurs peuvent contribuer à une augmentation de l'expression de l'HO-1 dans l'endotoxémie; c'est le cas de IL-1 β , PKC, PKA, AP-1, Nrf2, CREB, BVR et ATF-2A (Wiesel *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2003; Perrella et Yet, 2003; Furuichi *et al.*, 2009; Chan *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2011; Haines *et al.*, 2012). Le NO a aussi été démontré comme pouvant augmenter la production d'HO-1 (Foresti et Motterlini, 1999). Cependant, cette augmentation de l'HO-1 pourrait aussi avoir un rôle de rétroaction négative sur la signalisation du NO, plus particulièrement sur iNOS (Wang *et al.*, 2004), en plus

de pouvoir possiblement inhiber les effets du LPS ainsi que du TNF- α (Lee *et al.*, 2009; Tamion *et al.*, 2010), ce qui n'a pas été mesuré pour le HTS dans notre étude. Plus encore, le manque de proportionnalité entre les niveaux d'iNOS et d'HO-1 pour le HTS, comparativement à l'albumine, suggère des voies de signalisation plus complexes qu'une simple interaction entre ces deux molécules. De surcroît, l'augmentation de l'HO-1 a été associée avec l'activation de la MAP kinase ERK (Chen et Maines, 2000; Gong *et al.*, 2003), ce qui ne semble pas être aussi évident dans nos résultats pour le HTS à 6 heures. En bref, puisque l'iNOS a majoritairement des actions délétères et qu'il est fortement augmenté, et ce, sans conséquence dans la réanimation avec du HTS, cela suggère aussi des mécanismes compensatoires puissants et probablement plus nombreux qu'uniquement de l'HO-1. Beaucoup de pistes restent donc sans réponse et à investiguer davantage.

Parallèlement au HTS, nous avons aussi noté que, dès 6 heures post-LPS, l'albumine améliore la dysfonction myocardique en réduisant l'épaisseur relative du ventricule gauche (LVRWD); ce changement étant aussi un reflet de l'amélioration de la fonction diastolique. Cette diminution du LVRWD pourrait s'expliquer par les capacités de l'albumine à réduire l'élargissement de l'espace interstitiel et à protéger la perméabilité des glycocalyx vasculaires, diminuant ainsi l'œdème tissulaire qui est normalement entraîné à la suite de la réaction inflammatoire et de l'extravasation de l'albumine endogène. Tel que discuté par Anning (Anning *et al.*, 2004), l'albumine perfusée réduirait primordialement la perméabilité vasculaire par une atténuation du roulement et par l'adhésion des leucocytes dans le choc endotoxinique. Une diminution de l'autophagie par l'albumine pourrait aussi expliquer qu'il y ait moins de changements structuraux que dans le tissu myocardique septique perfusé avec du NS (Liu *et al.*, 2012). Encore une fois, similairement au HTS, ce serait possiblement des changements mécaniques qui précéderaient les modulations plus complexes, expliquant ainsi la rapidité et l'efficacité de la perfusion de l'albumine; toutefois moins efficace que le HTS, mais plus que le NS.

Plus encore, nos recherches ont démontré que l'albumine possédait aussi des propriétés pléiotropiques. En effet, une baisse significative de l'activité de la caspase-3 et de la fragmentation de l'ADN a aussi été observée avec l'albumine, ce qui pourrait être médié, entre autres, par les effets démontrés de l'ALB sur le TNF- α , ainsi que par ses propriétés

antioxydantes; réduisant l'activité oxydative des neutrophiles, réduisant la production de radicaux libres de l'oxygène, ainsi qu'inhibant l'expression d'iNOS (Bourdon et Blache, 2001; Zhang et Frei, 2002; Tamion, 2010; Bortoluzzi *et al.*, 2012). D'ailleurs, cette baisse de l'activité apoptotique corrèle avec la diminution de la dysfonction myocardique mesurée dans cette étude. Par notre modèle expérimental, nous avons aussi confirmé que le maintien des niveaux basaux d'iNOS cardiaque par l'albumine, tel que démontré par Walley et son équipe (Walley *et al.*, 2003), n'est pas une conséquence directe du remplissage vasculaire, mais bien le fruit direct de l'albumine.

À la suite de la perfusion d'albumine, une élévation marquée de l'expression de l'HO-1 a aussi été notée. Il serait nécessaire d'investiguer davantage cet aspect, puisqu'il est impossible de dire si celui-ci démontre une rétroaction déficiente face à la baisse de NO ou encore s'il serait causé par une augmentation du stress oxydatif ou de l'hémine disponible, ou encore causé par l'activation de protéines kinases, telles que PKC et PKA, modulées par l'administration d'albumine (Wiesel *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2003; Perrella et Yet, 2003; Furuichi *et al.*, 2009; Chan *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2011; Haines *et al.*, 2012). Mais, de façon intéressante, une piste pouvant expliquer cette élévation de l'expression de l'HO-1 nous est apparue. En effet, l'albumine a été le seul liquide perfusé dans cette étude qui a augmenté la phosphorylation de la MAPK ERK à 24 heures. Cette protéine kinase est abondamment connue pour son implication dans le contrôle de l'inflammation et du processus anti-apoptotique dans le cœur à la suite du choc endotoxinique (Chen et Maines, 2000; Gong *et al.*, 2003). De façon intéressante, l'HO-1 est connu pour être associé à l'activation de la MAPK ERK et, inversement, la neutralisation de ERK diminuerait l'expression de l'HO-1 (Chen et Maines, 2000; Gong *et al.*, 2003; Benvenisti-Zarom *et al.*, 2006). En bref, cela pourrait conférer à l'albumine des effets possiblement protecteurs ou temporisateurs, à plus long terme, que les autres liquides étudiés, tel que cela est déjà le cas pour les impacts engendrés par sa propriété oncotique (Voir Figure 11).

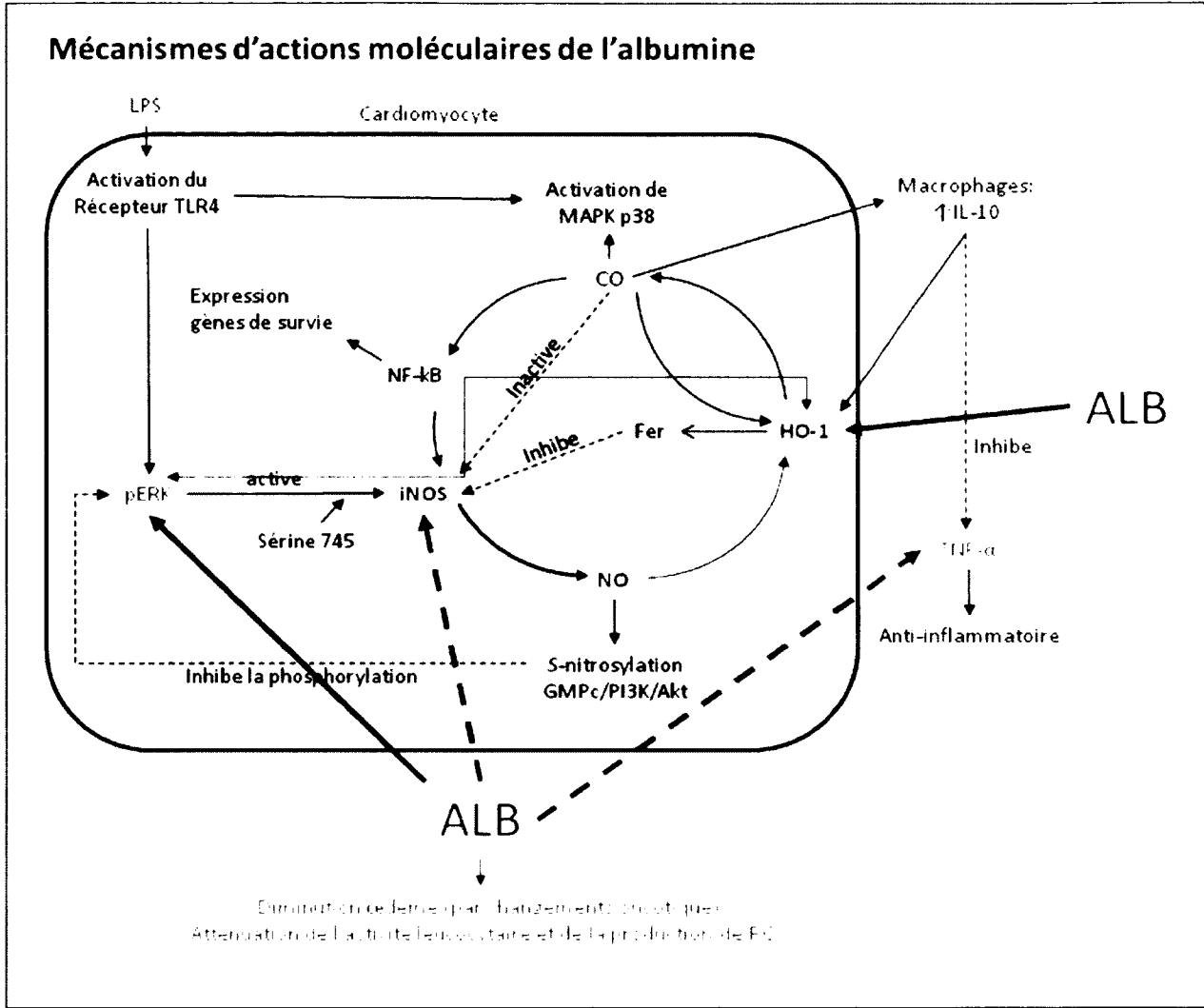


Figure 11 : Résumé des mécanismes d'actions moléculaires de l'albumine sur les cardiomyocytes dans la dysfonction myocardique septique

Légende : ALB = albumine, AKT = protéine kinase B ou AKT1, ERK = « extracellular signal-regulated kinase », ET = endothéline, GMPc = guanosine monophosphate cyclique, HO = hème-oxygénase, iNOS = « inductible NO synthase », LPS = lipopolysaccharide, MAPK = « mitogen activated protein kinase », NF = « nuclear factor », PI3K = Phosphatidylinositol 3-kinase, ROS = « Reactive oxygen species », TLR = « Toll-like receptor », TNF = « tumor necrosis factor ».

Plus encore, l'utilisation de la perfusion de NS comme contrôle dans cette étude a permis de renchérir sur ces résultats, puisque celui-ci n'a montré que peu d'impacts sur la dysfonction myocardique endotoxinique, tant au niveau échographique, histologique que moléculaire, et ce, malgré le fait qu'il a été perfusé en plus grande quantité que les autres liquides (en terme de quantité absolue).

En conclusion, cette étude met vraiment en évidence que les liquides de réanimation utilisés ont des impacts mécaniques et moléculaires distincts, qui sont indépendants de l'effet de remplissage vasculaire.

PERTINENCE CLINIQUE

Cette présente étude permet donc d'élargir les connaissances sur l'impact des liquides de réanimation dans la dysfonction myocardique septique, en plus de confirmer certains aspects déjà démontrés antérieurement par d'autres chercheurs. Plus encore, elle permet d'apporter de nouveaux éléments dans le débat concernant le choix du liquide de réanimation idéal à utiliser dans le sepsis et le choc septique; à savoir, entre les colloïdes ou les cristalloïdes, lesquels sont davantage bénéfiques et apportent le moins d'effets secondaires néfastes. Dans cette étude, le HTS a renversé la dysfonction myocardique très rapidement, il n'a donc pas été possible d'en mesurer totalement l'ampleur. C'est pourquoi l'albumine est le liquide de réanimation qui a apporté le plus de changements tant structurels, fonctionnels que moléculaires dans notre modèle. Malheureusement, d'autres expérimentations seront nécessaires afin de percer la mécanique de ces impacts. Finalement, dans l'optique de formuler une recommandation chez l'humain, beaucoup d'autres études seront nécessaires avant qu'un choix franc du liquide à utiliser dans le sepsis puisse se cristalliser.

LIMITATIONS ET PERSPECTIVES

Malgré tous nos efforts pour minimiser les effets du remplissage vasculaire en perfusant les liquides utilisés avec des volumes respectant leurs propriétés oncotique et osmotique, c'est-à-dire indexés à leurs propriétés distinctes, il en demeure que, pour les liquides hypertoniques et les hyperoncotiques, un certain délai subsiste entre la perfusion et l'atteinte du volume intravasculaire attendu; délais durant lesquels l'eau se déplace, par pression osmotique ou oncotique, des milieux extravasculaires vers l'intravasculaire, ce qui crée un certain biais temporel, que nous ne pouvons mesurer et qui nous procure une certaine limitation quant à l'interprétation de nos résultats.

De plus, pour des raisons de limitation, entre autres de temps, nous n'avons pu comparer tous les liquides de réanimation disponibles en clinique. Il serait donc pertinent de poursuivre cette investigation en évaluant les amidons, les gélatines, le RL ou même d'autres nouvelles molécules telles que les substituts sanguins (exemple : les perfluorocarbones). Il serait aussi pertinent d'évaluer à plus long terme les effets de ces liquides (dont le HTS) et leurs impacts sur d'autres organes.

Finalement, il serait important de creuser davantage les impacts moléculaires intracellulaires sur la mitochondrie, ainsi que sur l'inflammation, de ces liquides de réanimation afin de comprendre leurs fonctionnements; cela pouvant aboutir à de nouvelles approches thérapeutiques.

CONCLUSION

En conclusion, cette étude montre, par sa méthodologie unique, qu'outre des effets de remplissage vasculaire, les liquides de réanimation utilisés dans le sepsis et dans le choc septique peuvent engendrer des impacts distincts à différents niveaux, en ayant des incidences directes sur la réaction inflammatoire ainsi que sur l'issue de la dysfonction myocardique, ici mimées par le choc endotoxinique dans un modèle murin. Plus encore, quelques liquides ont montré de forts potentiels ou des propriétés inotropiques, antioxydantes, anti-apoptotiques et anti-œdémateuses, conférant particulièrement à l'albumine et au salin hypertonique un pouvoir de protection du cœur après une atteinte septique. Ceux-ci deviennent donc fortement intéressants cliniquement. Malgré ces aspects prometteurs, davantage de recherches devraient être faites afin d'en comprendre les mécanismes sous-jacents et de s'assurer qu'il n'y ait pas d'effets secondaires néfastes, entre autres sur d'autres organes, ou tout simplement non mesurés dans cette étude.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier mon directeur de recherche, le docteur Olivier Lesur, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et pour m'avoir guidé au cours de ma maîtrise. Je tiens à souligner l'excellent soutien qu'il m'a apporté, en me permettant d'apprendre les rigueurs de la recherche.

J'aimerais également remercier mes collègues et amis de travail de l'Unité respiratoire pulmonaire : Frédéric Chagnon, Jean-François Roussy, Béatrice Débarges, ainsi que Marc Martel, pour leur disponibilité et leur aide. Finalement, j'adresse un merci particulier au docteur Paul Farand, pour l'enseignement des techniques d'échocardiographie, sans qui je n'aurais pu collecter ces données cruciales.

RÉFÉRENCES

- Abdo, A. A., R. Castellanos, M. Rocha, E. Hernandez, G. Leal, J. Suarez, J. A. Gutierrez, F. Gomez et A. Cueto. "Continuous venovenous hemodiafiltration in patients with multiple organ dysfunction syndrome in an intensive care unit." *MEDICC Rev* **14**(3): 26-30.(2012)
- Afulukwe, I. F., R. I. Cohen, G. A. Zeballos, M. Iqbal et S. M. Scharf. "Selective NOS inhibition restores myocardial contractility in endotoxemic rats; however, myocardial NO content does not correlate with myocardial dysfunction." *Am J Respir Crit Care Med* **162**(1): 21-26.(2000)
- Ainley, C. C., S. J. Williams, A. C. Smith, A. R. Hatfield, R. C. Russell et W. R. Lees. "Gallbladder sepsis after stent insertion for bile duct obstruction: management by percutaneous cholecystostomy." *Br J Surg* **78**(8): 961-963.(1991)
- Alberti, C., C. Brun-Buisson, H. Burchardi, C. Martin, S. Goodman, A. Artigas, A. Sicignano, M. Palazzo, R. Moreno, R. Boulme, E. Lepage et R. Le Gall. "Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study." *Intensive Care Med* **28**(2): 108-121.(2002)
- Alderson, P., F. Bunn, C. Lefebvre, L. Li, A. Li Wan Po, I. Roberts et G. Schierhout. "Human albumin administration in critically ill patients: systematic review of randomised controlled trials. Cochrane Injuries Group Albumin Reviewers." *BMJ* **317**(7153): 235-240.(1998)
- Andrades, M. E., A. Morina, S. Spasic et I. Spasojevic. "Bench-to-bedside review: sepsis - from the redox point of view." *Crit Care* **15**(5): 230.(2011)
- Angus, D. C., W. T. Linde-Zwirble, J. Lidicker, G. Clermont, J. Carcillo et M. R. Pinsky. "Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care." *Crit Care Med* **29**(7): 1303-1310.(2001)
- Anning, P. B., S. J. Finney, S. Singh, C. P. Winlove et T. W. Evans. "Fluids reverse the early lipopolysaccharide-induced albumin leakage in rodent mesenteric venules." *Intensive Care Med* **30**(10): 1944-1949.(2004)
- Ao, L., Y. Song, D. A. Fullerton, C. A. Dinarello et X. Meng. "The interaction between myocardial depressant factors in endotoxemic cardiac dysfunction: role of TNF-alpha in TLR4-mediated ICAM-1 expression." *Cytokine* **38**(3): 124-129.(2007)
- Araujo, A. V., C. Z. Ferezin, C. P. Ad, G. J. Rodrigues, M. D. Grando, D. Bonaventura et L. M. Bendhack. "Augmented nitric oxide production and up-regulation of endothelial nitric oxide synthase during cecal ligation and perforation." *Nitric Oxide* **27**(1): 59-66.(2012)
- Araujo, A. V., C. Z. Ferezin, G. J. Rodrigues, C. N. Lunardi, J. A. Vercesi, M. D. Grando, D. Bonaventura et L. M. Bendhack. "Prostacyclin, not only nitric oxide, is a mediator of the vasorelaxation induced by acetylcholine in aortas from rats submitted to cecal ligation and perforation (CLP)." *Vascul Pharmacol* **54**(1-2): 44-51.(2011)
- Arbabi, S., I. Garcia, G. Bauer et R. V. Maier. "Hypertonic saline induces prostacyclin production via extracellular signal-regulated kinase (ERK) activation." *J Surg Res* **83**(2): 141-146.(1999)
- Arbabi, S., M. R. Rosengart, I. Garcia et R. V. Maier. "Hypertonic saline solution induces prostacyclin production by increasing cyclooxygenase-2 expression." *Surgery* **128**(2): 198-205.(2000)

- Arcaroli, J., E. Silva, J. P. Maloney, Q. He, D. Svetkauskaite, J. R. Murphy et E. Abraham. "Variant IRAK-1 haplotype is associated with increased nuclear factor-kappaB activation and worse outcomes in sepsis." *Am J Respir Crit Care Med* **173**(12): 1335-1341.(2006)
- Armistead, C. W., Jr., J. L. Vincent, J. C. Preiser, D. De Backer et M. Thuc Le. "Hypertonic saline solution-hetastarch for fluid resuscitation in experimental septic shock." *Anesth Analg* **69**(6): 714-720.(1989)
- Attuwaybi, B., R. A. Kozar, K. S. Gates, S. Moore-Olufemi, N. Sato, N. W. Weisbrodt et F. A. Moore. "Hypertonic saline prevents inflammation, injury, and impaired intestinal transit after gut ischemia/reperfusion by inducing heme oxygenase 1 enzyme." *J Trauma* **56**(4): 749-758; discussion 758-749.(2004)
- Avlas, O., R. Fallach, A. Shainberg, E. Porat et E. Hochhauser. "Toll-like receptor 4 stimulation initiates an inflammatory response that decreases cardiomyocyte contractility." *Antioxid Redox Signal* **15**(7): 1895-1909.(2011)
- Bahrami, S., K. Zimmermann, Z. Szelenyi, J. Hamar, F. Scheiflinger, H. Redl et W. G. Junger. "Small-volume fluid resuscitation with hypertonic saline prevents inflammation but not mortality in a rat model of hemorrhagic shock." *Shock* **25**(3): 283-289.(2006)
- Balija, T. M. et S. F. Lowry. "Lipopolysaccharide and sepsis-associated myocardial dysfunction." *Curr Opin Infect Dis* **24**(3): 248-253.(2011)
- Barbagallo, I., F. Galvano, A. Frigiola, F. Cappello, G. Riccioni, P. Murabito, N. D'Orazio, M. Torella, D. Gazzolo et G. Li Volti. "Potential therapeutic effects of natural heme oxygenase-1 inducers in cardiovascular diseases." *Antioxid Redox Signal*.(2012)
- Barcellos-Hoff, M. H. "How tissues respond to damage at the cellular level: orchestration by transforming growth factor- β (TGF- β)." *BJR Suppl* **27**: 123-127.(2005)
- Barraud, D., V. Faivre, T. Damy, S. Welschbillig, E. Gayat, C. Heymes, D. Payen, A. M. Shah et A. Mebazaa. "Levosimendan restores both systolic and diastolic cardiac performance in lipopolysaccharide-treated rabbits: comparison with dobutamine and milrinone." *Crit Care Med* **35**(5): 1376-1382.(2007)
- Benvenisti-Zarom, L., J. Chen-Roetling et R. F. Regan. "Inhibition of the ERK/MAP kinase pathway attenuates heme oxygenase-1 expression and heme-mediated neuronal injury." *Neurosci Lett* **398**(3): 230-234.(2006)
- Berg, S., M. Golster et B. Lisander. "Albumin extravasation and tissue washout of hyaluronan after plasma volume expansion with crystalloid or hypooncotic colloid solutions." *Acta Anaesthesiol Scand* **46**(2): 166-172.(2002)
- Berger, A. "Why albumin may not work." *BMJ* **317**(7153): 240.(1998)
- Bianchi, M. E. "DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger." *J Leukoc Biol* **81**(1): 1-5.(2007)
- Blanco, A. M., S. L. Valles, M. Pascual et C. Guerri. "Involvement of TLR4/type I IL-1 receptor signaling in the induction of inflammatory mediators and cell death induced by ethanol in cultured astrocytes." *J Immunol* **175**(10): 6893-6899.(2005)
- Boldt, J. "Modern rapidly degradable hydroxyethyl starches: current concepts." *Anesth Analg* **108**(5): 1574-1582.(2009)
- Boldt, J. et C. Ince. "The impact of fluid therapy on microcirculation and tissue oxygenation in hypovolemic patients: a review." *Intensive Care Med* **36**(8): 1299-1308.(2010)
- Boldt, J. et S. Suttner. "Plasma substitutes." *Minerva Anesthesiol* **71**(12): 741-758.(2005)
- Bone, R. C., R. A. Balk, F. B. Cerra, R. P. Dellinger, A. M. Fein, W. A. Knaus, R. M. Schein et W. J. Sibbald. "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* **101**(6): 1644-1655.(1992)
- Bopp, C., A. Bierhaus, S. Hofer, A. Bouchon, P. P. Nawroth, E. Martin et M. A. Weigand. "Bench-to-bedside review: The inflammation-perpetuating pattern-recognition receptor RAGE as a therapeutic target in sepsis." *Crit Care* **12**(1): 201.(2008)
- Borgers, M., L. Voipio-Pulkki et S. Izumo. "Apoptosis." *Cardiovasc Res* **45**(3): 525-527.(2000)
- Bortoluzzi, A., G. Ceolotto, E. Gola, A. Sticca, S. Bova, F. Morando, S. Piano, F. Silvano, S. Rosi, A. Gatta et P. Angeli. "Positive cardiac inotropic effect of albumin infusion in rats with cirrhosis and ascites: Molecular mechanisms." *Hepatology*.(2012)
- Bouferrache, K., J. B. Amiel, L. Chimot, V. Caille, C. Charron, P. Vignon et A. Vieillard-Baron. "Initial resuscitation guided by the Surviving Sepsis Campaign recommendations and early echocardiographic assessment of hemodynamics in intensive care unit septic patients: A pilot study." *Crit Care Med*.(2012)
- Bougaki, M., R. J. Searles, K. Kida, J. Yu, E. S. Buys et F. Ichinose. "Nos3 protects against systemic inflammation and myocardial dysfunction in murine polymicrobial sepsis." *Shock* **34**(3): 281-290.(2010)
- Bouhemad, B., A. Nicolas-Robin, C. Arbelot, M. Arthaud, F. Feger et J. J. Rouby. "Isolated and reversible impairment of ventricular relaxation in patients with septic shock." *Crit Care Med* **36**(3): 766-774.(2008)
- Bourdon, E. et D. Blache. "The importance of proteins in defense against oxidation." *Antioxid Redox Signal* **3**(2): 293-311.(2001)
- Brandt, S., T. Regueira, H. Bracht, F. Porta, S. Djafarzadeh, J. Takala, J. Gorrasi, E. Borotto, V. Krejci, L. B. Hildebrand, L. E. Bruegger, G. Beldi, L. Wilkens, P. M. Lepper, U. Kessler et S. M. Jakob. "Effect of fluid resuscitation on mortality and organ function in experimental sepsis models." *Crit Care* **13**(6): R186.(2009)
- Brenner, T., S. Hofer, C. Rosenhagen, J. Steppan, C. Lichtenstern, J. Weitz, T. Bruckner, I. K. Lukic, E. Martin, A. Bierhaus, U. Hoffmann et M. A. Weigand. "Macrophage migration inhibitory factor (MIF) and manganese superoxide dismutase (MnSOD) as early predictors for survival in patients with severe sepsis or septic shock." *J Surg Res* **164**(1): e163-171.(2010)
- Brierley, J., J. A. Carcillo, K. Choong, T. Cornell, A. Decaen, A. Deymann, A. Doctor, A. Davis, J. Duff, M. A. Dugas, A. Duncan, B. Evans, J. Feldman, K. Felmet, G. Fisher, L. Frankel, H. Jeffries, B. Greenwald, J. Gutierrez, M. Hall, Y. Y. Han, J. Hanson, J. Hazelzet, L. Hernan, J. Kiff, N. Kissoon, A. Kon, J. Irazuzta, J. Lin, A. Lorts, M. Mariscalco, R. Mehta, S. Nadel, T. Nguyen, C. Nicholson, M. Peters, R. Okhuysen-Cawley, T. Poulton, M. Relves, A. Rodriguez, R. Rozenfeld, E. Schnitzler, T. Shanley, S. Kache, P. Skippen, A. Torres, B. von Dessauer, J. Weingarten, T. Yeh, A. Zaritsky, B. Stojadinovic, J. Zimmerman et A. Zuckerberg. "Clinical practice parameters for hemodynamic support of pediatric and neonatal septic shock: 2007 update from the American College of Critical Care Medicine." *Crit Care Med* **37**(2): 666-688.(2009)
- Broccard, A., J. M. Humi, P. Eckert, L. Liaudet, M. D. Schaller, R. Lazor, C. Perret et F. Feihl. "Tissue oxygenation and hemodynamic response to NO synthase inhibition in septic shock." *Shock* **14**(1): 35-40.(2000)
- Brown, J. M., M. A. Grosso et E. E. Moore. "Hypertonic saline and dextran: impact on cardiac function in the isolated rat heart." *J Trauma* **30**(6): 646-650; discussion 650-641.(1990)

- Brunkhorst, F. M., C. Engel, F. Bloos, A. Meier-Hellmann, M. Ragaller, N. Weiler, O. Moerer, M. Gruendling, M. Oppert, S. Grond, D. Olthoff, U. Jaschinski, S. John, R. Rossaint, T. Welte, M. Schaefer, P. Kern, E. Kuhnt, M. Kiehntopf, C. Hartog, C. Natanson, M. Loeffler et K. Reinhart. "Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis." *N Engl J Med* **358**(2): 125-139.(2008)
- Buerke, U., J. M. Carter, A. Schlitt, M. Russ, H. Schmidt, U. Sibelius, U. Grandel, F. Grimminger, W. Seeger, U. Mueller-Werdan, K. Werdan et M. Buerke. "Apoptosis contributes to septic cardiomyopathy and is improved by simvastatin therapy." *Shock* **29**(4): 497-503.(2008)
- Bunn, F. et D. Trivedi. "Colloid solutions for fluid resuscitation." *Cochrane Database Syst Rev* **6**: CD001319.(2012)
- Bunn, F. et D. Trivedi. "Colloid solutions for fluid resuscitation." *Cochrane Database Syst Rev* **7**: CD001319.(2012)
- Burke-Gaffney, A. et T. W. Evans. "Lest we forget the endothelial glycocalyx in sepsis." *Crit Care* **16**(2): 121.(2012)
- Cao, W., X. Q. Li, X. N. Zhang, Y. Hou, A. G. Zeng, Y. H. Xie et S. W. Wang. "Madecassoside suppresses LPS-induced TNF-alpha production in cardiomyocytes through inhibition of ERK, p38, and NF-kappaB activity." *Int Immunopharmacol* **10**(7): 723-729.(2010)
- Carlsen, S. et A. Perner. "Initial fluid resuscitation of patients with septic shock in the intensive care unit." *Acta Anaesthesiol Scand* **55**(4): 394-400.(2011)
- Carlton, C. E. et P. J. Ferreira. "In situ TEM nanoindentation of nanoparticles." *Micron*.(2012)
- Casserly, B., R. Read et M. M. Levy. "Hemodynamic monitoring in sepsis." *Crit Care Nurs Clin North Am* **23**(1): 149-169.(2011)
- Cavaillon, J. M. et M. Adib-Conquy. "Bench-to-bedside review: endotoxin tolerance as a model of leukocyte reprogramming in sepsis." *Crit Care* **10**(5): 233.(2006)
- Cavaillon, J. M., C. Adrie, C. Fitting et M. Adib-Conquy. "Endotoxin tolerance: is there a clinical relevance?" *J Endotoxin Res* **9**(2): 101-107.(2003)
- Celes, M. R., D. Torres-Duenas, J. C. Alves-Filho, D. B. Duarte, F. Q. Cunha et M. A. Rossi. "Reduction of gap and adherens junction proteins and intercalated disc structural remodeling in the hearts of mice submitted to severe cecal ligation and puncture sepsis." *Crit Care Med* **35**(9): 2176-2185.(2007)
- Celes, M. R., D. Torres-Duenas, C. M. Prado, E. C. Campos, J. E. Moreira, F. Q. Cunha et M. A. Rossi. "Increased sarcolemmal permeability as an early event in experimental septic cardiomyopathy: a potential role for oxidative damage to lipids and proteins." *Shock* **33**(3): 322-331.(2010)
- Chagnon, F., M. Bentourkia, R. Lecomte, M. Lessard et O. Lesur. "Endotoxin-induced heart dysfunction in rats: assessment of myocardial perfusion and permeability and the role of fluid resuscitation." *Crit Care Med* **34**(1): 127-133.(2006)
- Chagnon, F., C. N. Metz, R. Bucala et O. Lesur. "Endotoxin-induced myocardial dysfunction: effects of macrophage migration inhibitory factor neutralization." *Circ Res* **96**(10): 1095-1102.(2005)
- Chan, K. H., M. K. Ng et R. Stocker. "Haem oxygenase-1 and cardiovascular disease: mechanisms and therapeutic potential." *Clin Sci (Lond)* **120**(12): 493-504.(2011)
- Changsirivathanathamrong, D., Y. Wang, D. Rajbhandari, G. J. Maghzal, W. M. Mak, C. Woolfe, J. Duflou, V. Gebiski, C. G. dos Remedios, D. S. Celermajer et R. Stocker.

- "Tryptophan metabolism to kynurenine is a potential novel contributor to hypotension in human sepsis." *Crit Care Med* **39**(12): 2678-2683.(2011)
- Chelazzi, C., G. Villa et A. R. De Gaudio. "Cardiorenal syndromes and sepsis." *Int J Nephrol* **2011**: 652967.(2011)
- Chen, H. W., C. Hsu, T. S. Lu, S. J. Wang et R. C. Yang. "Heat shock pretreatment prevents cardiac mitochondrial dysfunction during sepsis." *Shock* **20**(3): 274-279.(2003)
- Chen, K. et M. D. Maines. "Nitric oxide induces heme oxygenase-1 via mitogen-activated protein kinases ERK and p38." *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* **46**(3): 609-617.(2000)
- Chen, L. W., B. Hwang, W. J. Chang, J. S. Wang, J. S. Chen et C. M. Hsu. "Inducible nitric oxide synthase inhibitor reverses exacerbating effects of hypertonic saline on lung injury in burn." *Shock* **22**(5): 472-477.(2004)
- Chen, L. W., M. T. Su, P. H. Chen, W. C. Liu et C. M. Hsu. "Hypertonic saline enhances host defense and reduces apoptosis in burn mice by increasing toll-like receptors." *Shock* **35**(1): 59-66.(2011)
- Chen, Y. H., S. F. Yet et M. A. Perrella. "Role of heme oxygenase-1 in the regulation of blood pressure and cardiac function." *Exp Biol Med (Maywood)* **228**(5): 447-453.(2003)
- Cheng, B., G. Xie, S. Yao, X. Wu, Q. Guo, M. Gu, Q. Fang, Q. Xu, D. Wang, Y. Jin, S. Yuan, J. Wang, Z. Du, Y. Sun et X. Fang. "Epidemiology of severe sepsis in critically ill surgical patients in ten university hospitals in China." *Crit Care Med* **35**(11): 2538-2546.(2007)
- Cheung, A. T., J. S. Savino, S. J. Weiss, S. J. Aukburg et J. A. Berlin. "Echocardiographic and hemodynamic indexes of left ventricular preload in patients with normal and abnormal ventricular function." *Anesthesiology* **81**(2): 376-387.(1994)
- Chilton, P. M., C. A. Embry et T. C. Mitchell. "Effects of Differences in Lipid A Structure on TLR4 Pro-Inflammatory Signaling and Inflammasome Activation." *Front Immunol* **3**: 154.(2012)
- Chopra, M., P. Das et A. C. Sharma. "Caspase-3 knock-down reverses contractile dysfunction induced by sepsis in adult rat ventricular myocytes." *Br J Pharmacol* **160**(1): 93-100.(2010)
- Chopra, M., H. B. Golden, S. Mullapudi, W. Dowhan, D. E. Dostal et A. C. Sharma. "Modulation of myocardial mitochondrial mechanisms during severe polymicrobial sepsis in the rat." *PLoS One* **6**(6): e21285.(2011)
- Chopra, M. et A. C. Sharma. "Contractile response of norepinephrine is modulated by caspase-3 in adult rat ventricular myocytes isolated from septic rat heart." *Pharmacol Res* **60**(4): 303-313.(2009)
- Cohen, R. I., S. Huberfeld, J. Genovese, H. N. Steinberg et S. M. Scharf. "A comparison between the acute effects of nitric oxide synthase inhibition and fluid resuscitation on myocardial function and metabolism in entotoxemic dogs." *J Crit Care* **11**(1): 27-36.(1996)
- Corso, C. O., S. Okamoto, R. Leiderer et K. Messmer. "Resuscitation with hypertonic saline dextran reduces endothelial cell swelling and improves hepatic microvascular perfusion and function after hemorrhagic shock." *J Surg Res* **80**(2): 210-220.(1998)
- Costa, A., R. Gupta, G. Signorino, A. Malara, F. Cardile, C. Biondo, A. Midiri, R. Galbo, P. Trieu-Cuot, S. Papasergi, G. Teti, P. Henneke, G. Mancuso, D. T. Golenbock et C. Beninati. "Activation of the NLRP3 inflammasome by group B streptococci." *J Immunol* **188**(4): 1953-1960.(2012)

- Court, O., A. Kumar et J. E. Parrillo. "Clinical review: Myocardial depression in sepsis and septic shock." *Crit Care* **6**(6): 500-508.(2002)
- Creagh-Brown, B. C., G. J. Quinlan, T. W. Evans et A. Burke-Gaffney. "The RAGE axis in systemic inflammation, acute lung injury and myocardial dysfunction: an important therapeutic target?" *Intensive Care Med* **36**(10): 1644-1656.(2010)
- Cudd, T. A., S. Purinton, N. C. Patel et C. E. Wood. "Cardiovascular, adrenocorticotropin, and cortisol responses to hypertonic saline in euvoletic sheep are altered by prostaglandin synthase inhibition." *Shock* **10**(1): 32-36.(1998)
- Cunnion, R. E. et J. E. Parrillo. "Myocardial dysfunction in sepsis." *Crit Care Clin* **5**(1): 99-118.(1989)
- Cunnion, R. E., G. L. Schaer, M. M. Parker, C. Natanson et J. E. Parrillo. "The coronary circulation in human septic shock." *Circulation* **73**(4): 637-644.(1986)
- Danese, S., S. Vetrano, L. Zhang, V. A. Poplis et F. J. Castellino. "The protein C pathway in tissue inflammation and injury: pathogenic role and therapeutic implications." *Blood* **115**(6): 1121-1130.(2010)
- Darcy, C. J., J. S. Davis, T. Woodberry, Y. R. McNeil, D. P. Stephens, T. W. Yeo et N. M. Anstey. "An observational cohort study of the kynurenine to tryptophan ratio in sepsis: association with impaired immune and microvascular function." *PLoS One* **6**(6): e21185.(2011)
- Dart, A. B., T. C. Mutter, C. A. Ruth et S. P. Taback. "Hydroxyethyl starch (HES) versus other fluid therapies: effects on kidney function." *Cochrane Database Syst Rev*(1): CD007594.(2010)
- Dastani, Z., M. F. Hivert, N. Timpson, J. R. Perry, X. Yuan, R. A. Scott, P. Henneman, I. M. Heid, J. R. Kizer, L. P. Lyttikainen, C. Fuchsberger, T. Tanaka, A. P. Morris, K. Small, A. Isaacs, M. Beekman, S. Coassin, K. Lohman, L. Qi, S. Kanoni, J. S. Pankow, H. W. Uh, Y. Wu, A. Bidulescu, L. J. Rasmussen-Torvik, C. M. Greenwood, M. Ladouceur, J. Grimsby, A. K. Manning, C. T. Liu, J. Kooner, V. E. Mooser, P. Vollenweider, K. A. Kapur, J. Chambers, N. J. Wareham, C. Langenberg, R. Frants, K. Willems-Vandijk, B. A. Oostra, S. M. Willems, C. Lamina, T. W. Winkler, B. M. Psaty, R. P. Tracy, J. Brody, I. Chen, J. Viikari, M. Kahonen, P. P. Pramstaller, D. M. Evans, B. St Pourcain, N. Sattar, A. R. Wood, S. Bandinelli, O. D. Carlson, J. M. Egan, S. Bohringer, D. van Heemst, L. Kedenko, K. Kristiansson, M. L. Nuotio, B. M. Loo, T. Harris, M. Garcia, A. Kanaya, M. Haun, N. Klopp, H. E. Wichmann, P. Deloukas, E. Katsareli, D. J. Couper, B. B. Duncan, M. Kloppenburg, L. S. Adair, J. B. Borja, J. G. Wilson, S. Musani, X. Guo, T. Johnson, R. Semple, T. M. Teslovich, M. A. Allison, S. Redline, S. G. Buxbaum, K. L. Mohlke, I. Meulenbelt, C. M. Ballantyne, G. V. Dedoussis, F. B. Hu, Y. Liu, B. Paulweber, T. D. Spector, P. E. Slagboom, L. Ferrucci, A. Jula, M. Perola, O. Raitakari, J. C. Florez, V. Salomaa, J. G. Eriksson, T. M. Frayling, A. A. Hicks, T. Lehtimaki, G. D. Smith, D. S. Siscovick, F. Kronenberg, C. van Duijn, R. J. Loos, D. M. Waterworth, J. B. Meigs, J. Dupuis, J. B. Richards, B. F. Voight, L. J. Scott, V. Steinthorsdottir, C. Dina, R. P. Welch, E. Zeggini, C. Huth, Y. S. Aulchenko, G. Thorleifsson, L. J. McCulloch, T. Ferreira, H. Grallert, N. Amin, G. Wu, C. J. Willer, S. Raychaudhuri, S. A. McCarroll, O. M. Hofmann, A. V. Segre, M. van Hoek, P. Navarro, K. Ardlie, B. Balkau, R. Benediktsson, A. J. Bennett, R. Blagieva, E. Boerwinkle, L. L. Bonnycastle, K. B. Bostrom, B. Bravenboer, S. Bumpstead, N. P. Burtt, G. Charpentier, P. S. Chines, M. Cornelis, G. Crawford, A. S. Doney, K. S. Elliott, A. L. Elliott, M. R. Erdos, C. S. Fox,

C. S. Franklin, M. Ganser, C. Gieger, N. Grarup, T. Green, S. Griffin, C. J. Groves, C. Guiducci, S. Hadjadj, N. Hassanali, C. Herder, B. Isomaa, A. U. Jackson, P. R. Johnson, T. Jorgensen, W. H. Kao, A. Kong, P. Kraft, J. Kuusisto, T. Lauritzen, M. Li, A. Lieverse, C. M. Lindgren, V. Lyssenko, M. Marre, T. Meitinger, K. Midthjell, M. A. Morken, N. Narisu, P. Nilsson, K. R. Owen, F. Payne, A. K. Petersen, C. Platou, C. Proenca, I. Prokopenko, W. Rathmann, N. W. Rayner, N. R. Robertson, G. Rocheleau, M. Roden, M. J. Sampson, R. Saxena, B. M. Shields, P. Shrader, G. Sigurdsson, T. Sparso, K. Strassburger, H. M. Stringham, Q. Sun, A. J. Swift, B. Thorand, J. Tichet, T. Tuomi, R. M. van Dam, T. W. van Haefen, T. van Herpt, J. V. van Vliet-Ostaptchouk, G. B. Walters, M. N. Weedon, C. Wijmenga, J. Witteman, R. N. Bergman, S. Cauchi, F. S. Collins, A. L. Gloyn, U. Gyllensten, T. Hansen, W. A. Hide, G. A. Hitman, A. Hofman, D. J. Hunter, K. Hveem, M. Laakso, A. D. Morris, C. N. Palmer, I. Rudan, E. Sijbrands, L. D. Stein, J. Tuomilehto, A. Uitterlinden, M. Walker, R. M. Watanabe, G. R. Abecasis, B. O. Boehm, H. Campbell, M. J. Daly, A. T. Hattersley, O. Pedersen, I. Barroso, L. Groop, R. Sladek, U. Thorsteinsdottir, J. F. Wilson, T. Illig, P. Froguel, C. M. van Duijn, K. Stefansson, D. Altshuler, M. Boehnke, M. I. McCarthy, N. Soranzo, E. Wheeler, N. L. Glazer, N. Bouatia-Naji, R. Magi, J. Randall, P. Elliott, D. Rybin, A. Dehghan, J. J. Hottenga, K. Song, A. Goel, T. Lajunen, A. Doney, C. Cavalcanti-Proenca, M. Kumari, N. J. Timpson, C. Zabena, E. Ingelsson, P. An, J. O'Connell, J. Luan, A. Elliott, R. M. Roccasecca, F. Pattou, P. Sethupathy, Y. Ariyurek, P. Barter, J. P. Beilby, Y. Ben-Shlomo, S. Bergmann, M. Bochud, A. Bonnefond, K. Borch-Johnsen, Y. Bottcher, E. Brunner, S. J. Bumpstead, Y. D. Chen, P. Chines, R. Clarke, L. J. Coin, M. N. Cooper, L. Crisponi, I. N. Day, E. J. de Geus, J. Delplanque, A. C. Fedson, A. Fischer-Rosinsky, N. G. Forouhi, M. G. Franzosi, P. Galan, M. O. Goodarzi, J. Graessler, S. Grundy, R. Gwilliam, G. Hallmans, N. Hammond, X. Han, A. L. Hartikainen, C. Hayward, S. C. Heath, S. Hercberg, D. R. Hillman, A. D. Hingorani, J. Hui, J. Hung, M. Kaakinen, J. Kaprio, Y. A. Kesaniemi, M. Kivimaki, B. Knight, S. Koskinen, P. Kovacs, K. O. Kyvik, G. M. Lathrop, D. A. Lawlor, O. Le Bacquer, C. Lecoeur, Y. Li, R. Mahley, M. Mangino, M. T. Martinez-Larrad, J. B. McAteer, R. McPherson, C. Meisinger, D. Melzer, D. Meyre, B. D. Mitchell, S. Mukherjee, S. Naitza, M. J. Neville, M. Orru, R. Pakyz, G. Paolisso, C. Pattaro, D. Pearson, J. F. Peden, N. L. Pedersen, A. F. Pfeiffer, I. Pichler, O. Polasek, D. Posthuma, S. C. Potter, A. Pouta, M. A. Province, K. Rice, S. Ripatti, F. Rivadeneira, O. Rolandsson, A. Sandbaek, M. Sandhu, S. Sanna, A. A. Sayer, P. Scheet, U. Sedorf, S. J. Sharp, B. Shields, G. Sigurethsson, E. J. Sijbrands, A. Silveira, L. Simpson, A. Singleton, N. L. Smith, U. Sovio, A. Swift, H. Syddall, A. C. Syvanen, A. Tonjes, A. G. Uitterlinden, K. W. van Dijk, D. Varma, S. Visvikis-Siest, V. Vitart, N. Vogelzangs, G. Waeber, P. J. Wagner, A. Walley, K. L. Ward, H. Watkins, S. H. Wild, G. Willemsen, J. C. Witteman, J. W. Yarnell, D. Zelenika, B. Zethelius, G. Zhai, J. H. Zhao, M. C. Zillikens, I. B. Borecki, P. Meneton, P. K. Magnusson, D. M. Nathan, G. H. Williams, K. Silander, S. R. Bornstein, P. Schwarz, J. Spranger, F. Karpe, A. R. Shuldiner, C. Cooper, M. Serrano-Rios, L. Lind, L. J. Palmer, F. B. s. Hu, P. W. Franks, S. Ebrahim, M. Marmot, A. F. Wright, M. Stumvoll, A. Hamsten, T. A. Buchanan, T. T. Valle, J. I. Rotter, B. W. Penninx, D. I. Boomsma, A. Cao, A. Scuteri, D. Schlessinger, M. Uda, A. Ruokonen, M. R. Jarvelin, L. Peltonen, V. Mooser, K. Musunuru, A. V. Smith, A. C. Edmondson, I. M. Stylianou, M. Koseki, J. P. Pirruccello, D. I. Chasman, C. T. Johansen, S. W. Fouchier, G. M. Peloso, M. Barbalic, S. L.

- Ricketts, J. C. Bis, M. F. Feitosa, M. Orho-Melander, O. Melander, X. Li, Y. S. Cho, M. J. Go, Y. J. Kim, J. Y. Lee, T. Park, K. Kim, X. Sim, R. T. Ong, D. C. Croteau-Chonka, L. A. Lange, J. D. Smith, A. Ziegler, W. Zhang, R. Y. Zee, J. B. Whitfield, J. R. Thompson, I. Surakka, J. H. Smit, J. Sinisalo, J. Scott, J. Saharinen, C. Sabatti, L. M. Rose, R. Roberts, M. Rieder, A. N. Parker, G. Pare, C. J. O'Donnell, M. S. Nieminen, D. A. Nickerson, G. W. Montgomery, W. McArdle, D. Masson, N. G. Martin, F. Marroni, G. Lucas, R. Luben, M. L. Lokki, G. Lettre, L. J. Launer, E. G. Lakatta, R. Laaksonen, I. R. Konig, K. T. Khaw, L. M. Kaplan, A. Johansson, A. C. Janssens, W. Igl, G. K. Hovingh, C. Hengstenberg, A. S. Havulinna, N. D. Hastie, T. B. Harris, T. Haritunians, A. S. Hall, L. C. Groop, E. Gonzalez, N. B. Freimer, J. Erdmann, K. G. Ejebe, A. Doring, A. F. Dominiczak, S. Demissie, U. de Faire, M. J. Caulfield, S. M. Boekholdt, T. L. Assimes, T. Quertermous, M. Seielstad, T. Y. Wong, E. S. Tai, A. B. Feranil, C. W. Kuzawa, H. A. Taylor, Jr., S. B. Gabriel, H. Holm, V. Gudnason, R. M. Krauss, J. M. Ordovas, P. B. Munroe, J. S. Kooner, A. R. Tall, R. A. Hegele, J. J. Kastelein, E. E. Schadt, D. P. Strachan, M. P. Reilly, N. J. Samani, H. Schunkert, L. A. Cupples, M. S. Sandhu, P. M. Ridker, D. J. Rader et S. Kathiresan. "Novel loci for adiponectin levels and their influence on type 2 diabetes and metabolic traits: a multi-ethnic meta-analysis of 45,891 individuals." *PLoS Genet* **8**(3): e1002607.(2012)
- Datta, P. K., E. J. Gross et E. A. Lianos. "Interactions between inducible nitric oxide synthase and heme oxygenase-1 in glomerulonephritis." *Kidney Int* **61**(3): 847-850.(2002)
- De Cruz, S. J., N. J. Kenyon et C. E. Sandrock. "Bench-to-bedside review: the role of nitric oxide in sepsis." *Expert Rev Respir Med* **3**(5): 511-521.(2009)
- Deitch, E. A., H. P. Shi, E. Feketeova, C. J. Hauser et D. Z. Xu. "Hypertonic saline resuscitation limits neutrophil activation after trauma-hemorrhagic shock." *Shock* **19**(4): 328-333.(2003)
- Dellinger, R. P., J. M. Carlet, H. Masur, H. Gerlach, T. Calandra, J. Cohen, J. Gea-Banacloche, D. Keh, J. C. Marshall, M. M. Parker, G. Ramsay, J. L. Zimmerman, J. L. Vincent et M. M. Levy. "Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock." *Crit Care Med* **32**(3): 858-873.(2004)
- Dellinger, R. P., M. M. Levy, J. M. Carlet, J. Bion, M. M. Parker, R. Jaeschke, K. Reinhart, D. C. Angus, C. Brun-Buisson, R. Beale, T. Calandra, J. F. Dhainaut, H. Gerlach, M. Harvey, J. J. Marini, J. Marshall, M. Ranieri, G. Ramsay, J. Sevransky, B. T. Thompson, S. Townsend, J. S. Vender, J. L. Zimmerman et J. L. Vincent. "Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008." *Crit Care Med* **36**(1): 296-327.(2008)
- Dhanantwari, P., S. Nadaraj, A. Kenessey, D. Chowdhury, Y. Al-Abed, E. J. Miller et K. Ojamaa. "Macrophage migration inhibitory factor induces cardiomyocyte apoptosis." *Biochem Biophys Res Commun* **371**(2): 298-303.(2008)
- Dias-Peixoto, M. F., A. J. Ferreira, P. W. Almeida, V. B. Braga, D. C. Coutinho, D. S. Melo, A. G. Filho, M. B. Melo, L. Greco, M. J. Campagnole-Santos, R. F. Lima, R. A. Santos et S. Guatimosim. "The cardiac expression of Mas receptor is responsive to different physiological and pathological stimuli." *Peptides* **35**(2): 196-201.(2012)
- Dickensheets, H. L. et R. P. Donnelly. "IFN-gamma and IL-10 inhibit induction of IL-1 receptor type I and type II gene expression by IL-4 and IL-13 in human monocytes." *J Immunol* **159**(12): 6226-6233.(1997)

- Dispersyn, G. D., M. Borgers et W. Flameng. "Apoptosis in chronic hibernating myocardium: sleeping to death?" *Cardiovasc Res* **45**(3): 696-703.(2000)
- Dourado, M. N., A. Ferreira, W. L. Araujo, J. L. Azevedo et P. T. Lacava. "The diversity of endophytic methylotrophic bacteria in an oil-contaminated and an oil-free mangrove ecosystem and their tolerance to heavy metals." *Biotechnol Res Int* **2012**: 759865.(2012)
- Drose, S. et U. Brandt. "The mechanism of mitochondrial superoxide production by the cytochrome bc1 complex." *J Biol Chem* **283**(31): 21649-21654.(2008)
- Dubey, J. P., D. E. Hill, D. W. Rozeboom, C. Rajendran, S. Choudhary, L. R. Ferreira, O. C. Kwok et C. Su. "High prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from organic pigs in northern USA." *Vet Parasitol*.(2012)
- Dubin, A., M. O. Pozo, C. A. Casabella, G. Murias, F. Palizas, Jr., M. C. Moseinco, V. S. Kanoore Edul, F. Palizas, E. Estenssoro et C. Ince. "Comparison of 6% hydroxyethyl starch 130/0.4 and saline solution for resuscitation of the microcirculation during the early goal-directed therapy of septic patients." *J Crit Care* **25**(4): 659 e651-658.(2010)
- Dubois, M. J., C. Orellana-Jimenez, C. Melot, D. De Backer, J. Berre, M. Leeman, S. Brimiouille, O. Appoloni, J. Creteur et J. L. Vincent. "Albumin administration improves organ function in critically ill hypoalbuminemic patients: A prospective, randomized, controlled, pilot study." *Crit Care Med* **34**(10): 2536-2540.(2006)
- Duncan, D. J., Z. Yang, P. M. Hopkins, D. S. Steele et S. M. Harrison. "TNF-alpha and IL-1beta increase Ca²⁺ leak from the sarcoplasmic reticulum and susceptibility to arrhythmia in rat ventricular myocytes." *Cell Calcium* **47**(4): 378-386.(2010)
- Eachempati, S. R., C. Young, J. Alexander, F. D. Cirisano, G. C. Rodriguez et R. L. Reed, 2nd. "The clinical use of an esophageal Doppler monitor for hemodynamic monitoring in sepsis." *J Clin Monit Comput* **15**(3-4): 223-225.(1999)
- El-Solh, A. A., P. Abou Jaoude et J. Porhomayon. "Bicarbonate therapy in the treatment of septic shock: a second look." *Intern Emerg Med* **5**(4): 341-347.(2010)
- Ernest, D., A. S. Belzberg et P. M. Dodek. "Distribution of normal saline and 5% albumin infusions in septic patients." *Crit Care Med* **27**(1): 46-50.(1999)
- Etchecopar-Chevreuil, C., B. Francois, M. Clavel, N. Pichon, H. Gastinne et P. Vignon. "Cardiac morphological and functional changes during early septic shock: a transesophageal echocardiographic study." *Intensive Care Med* **34**(2): 250-256.(2008)
- Fang, Z. X., Y. F. Li, X. Q. Zhou, Z. Zhang, J. S. Zhang, H. M. Xia, G. P. Xing, W. P. Shu, L. Shen et G. Q. Yin. "Effects of resuscitation with crystalloid fluids on cardiac function in patients with severe sepsis." *BMC Infect Dis* **8**: 50.(2008)
- Fauvel, H., P. Marchetti, C. Chopin, P. Formstecher et R. Neviere. "Differential effects of caspase inhibitors on endotoxin-induced myocardial dysfunction and heart apoptosis." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **280**(4): H1608-1614.(2001)
- Favale, N. O., C. I. Casali, L. G. Lepera, L. G. Pescio et M. C. Fernandez-Tome. "Hypertonic induction of COX2 expression requires TonEBP/NFAT5 in renal epithelial cells." *Biochem Biophys Res Commun* **381**(3): 301-305.(2009)
- Feng, X., T. Sun, Y. Bei, S. Ding, W. Zheng, Y. Lu et P. Shen. "S-nitrosylation of ERK inhibits ERK phosphorylation and induces apoptosis." *Sci Rep* **3**: 1814.(2013)
- Feng, X., W. Yan, X. Liu, M. Duan, X. Zhang et J. Xu. "Effects of hydroxyethyl starch 130/0.4 on pulmonary capillary leakage and cytokines production and NF-kappaB activation in CLP-induced sepsis in rats." *J Surg Res* **135**(1): 129-136.(2006)

- Feng, X., W. Yan, Z. Wang, J. Liu, M. Yu, S. Zhu et J. Xu. "Hydroxyethyl starch, but not modified fluid gelatin, affects inflammatory response in a rat model of polymicrobial sepsis with capillary leakage." *Anesth Analg* **104**(3): 624-630.(2007)
- Fernandes, C. J., Jr. et M. S. de Assuncao. "Myocardial dysfunction in sepsis: a large, unsolved puzzle." *Crit Care Res Pract* **2012**: 896430.(2012)
- Fernandes Junior, C. J., M. Iervolino, R. A. Neves, E. L. Sampaio et E. Knobel. "Interstitial myocarditis in sepsis." *Am J Cardiol* **74**(9): 958.(1994)
- Ferreira, A. M. et Y. Sakr. "Organ dysfunction: general approach, epidemiology, and organ failure scores." *Semin Respir Crit Care Med* **32**(5): 543-551.(2011)
- Finfer, S., R. Bellomo, N. Boyce, J. French, J. Myburgh et R. Norton. "A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit." *N Engl J Med* **350**(22): 2247-2256.(2004)
- Finfer, S., R. Bellomo, S. McEvoy, S. K. Lo, J. Myburgh, B. Neal et R. Norton. "Effect of baseline serum albumin concentration on outcome of resuscitation with albumin or saline in patients in intensive care units: analysis of data from the saline versus albumin fluid evaluation (SAFE) study." *BMJ* **333**(7577): 1044.(2006)
- Finfer, S., S. McEvoy, R. Bellomo, C. McArthur, J. Myburgh et R. Norton. "Impact of albumin compared to saline on organ function and mortality of patients with severe sepsis." *Intensive Care Med* **37**(1): 86-96.(2011)
- Fink, M. P. "Bench-to-bedside review: Cytopathic hypoxia." *Crit Care* **6**(6): 491-499.(2002)
- Flannery, S. et A. G. Bowie. "The interleukin-1 receptor-associated kinases: critical regulators of innate immune signalling." *Biochem Pharmacol* **80**(12): 1981-1991.(2010)
- Fleck, A., G. Raines, F. Hawker, J. Trotter, P. I. Wallace, I. M. Ledingham et K. C. Calman. "Increased vascular permeability: a major cause of hypoalbuminaemia in disease and injury." *Lancet* **1**(8432): 781-784.(1985)
- Flierl, M. A., D. Rittirsch, M. S. Huber-Lang, J. V. Sarma et P. A. Ward. "Molecular events in the cardiomyopathy of sepsis." *Mol Med* **14**(5-6): 327-336.(2008)
- Flynn, A., B. Chokkalingam Mani et P. J. Mather. "Sepsis-induced cardiomyopathy: a review of pathophysiologic mechanisms." *Heart Fail Rev* **15**(6): 605-611.(2010)
- Fonseca-Maldonado, R., T. L. Ferreira et R. J. Ward. "The bactericidal effect of human secreted group IID phospholipase A(2) results from both hydrolytic and non-hydrolytic activities." *Biochimie* **94**(6): 1437-1440.(2012)
- Foresti, R. et R. Motterlini. "The heme oxygenase pathway and its interaction with nitric oxide in the control of cellular homeostasis." *Free Radic Res* **31**(6): 459-475.(1999)
- Francis, S. E., H. Holden, C. M. Holt et G. W. Duff. "Interleukin-1 in myocardium and coronary arteries of patients with dilated cardiomyopathy." *J Mol Cell Cardiol* **30**(2): 215-223.(1998)
- Frangogiannis, N. G. "The pathological basis of myocardial hibernation." *Histol Histopathol* **18**(2): 647-655.(2003)
- Freitas, F. G., R. Salomao, N. Tereran, B. F. Mazza, M. Assuncao, M. Jackiu, H. Fernandes et F. R. Machado. "The impact of duration of organ dysfunction on the outcome of patients with severe sepsis and septic shock." *Clinics (Sao Paulo)* **63**(4): 483-488.(2008)
- Friedman, G., S. Jankowski, M. Shahla, J. Gomez et J. L. Vincent. "Hemodynamic effects of 6% and 10% hydroxyethyl starch solutions versus 4% albumin solution in septic patients." *J Clin Anesth* **20**(7): 528-533.(2008)

- Fry, D. E. "Sepsis, systemic inflammatory response, and multiple organ dysfunction: the mystery continues." *Am Surg* **78**(1): 1-8.(2012)
- Fukuda, K., S. S. Davies, T. Nakajima, B. H. Ong, S. Kupersmidt, J. Fessel, V. Amarnath, M. E. Anderson, P. A. Boyden, P. C. Viswanathan, L. J. Roberts, 2nd et J. R. Balsler. "Oxidative mediated lipid peroxidation recapitulates proarrhythmic effects on cardiac sodium channels." *Circ Res* **97**(12): 1262-1269.(2005)
- Furian, T., C. Aguiar, K. Prado, R. V. Ribeiro, L. Becker, N. Martinelli, N. Clausell, L. E. Rohde et A. Biolo. "Ventricular dysfunction and dilation in severe sepsis and septic shock: relation to endothelial function and mortality." *J Crit Care* **27**(3): 319 e319-315.(2012)
- Furuichi, M., M. Yokozuka, K. Takemori, Y. Yamanashi et A. Sakamoto. "The reciprocal relationship between heme oxygenase and nitric oxide synthase in the organs of lipopolysaccharide-treated rodents." *Biomed Res* **30**(4): 235-243.(2009)
- Galley, H. F. "Bench-to-bedside review: Targeting antioxidants to mitochondria in sepsis." *Crit Care* **14**(4): 230.(2010)
- Garner, L. B., M. S. Willis, D. L. Carlson, J. M. DiMaio, M. D. White, D. J. White, G. A. t. Adams, J. W. Horton et B. P. Giroir. "Macrophage migration inhibitory factor is a cardiac-derived myocardial depressant factor." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **285**(6): H2500-2509.(2003)
- Garrabou, G., C. Moren, S. Lopez, E. Tobias, F. Cardellach, O. Miro et J. Casademont. "The effects of sepsis on mitochondria." *J Infect Dis* **205**(3): 392-400.(2012)
- Gastinel, P. et J. Reilly, Eds. *Séminologie générale de l'état septicémique. Précis de médecine.*(1948)
- Gentile, L. F., A. G. Cuenca, P. A. Efron, D. Ang, A. Bihorac, B. A. McKinley, L. L. Moldawer et F. A. Moore. "Persistent inflammation and immunosuppression: a common syndrome and new horizon for surgical intensive care." *J Trauma Acute Care Surg* **72**(6): 1491-1501.(2012)
- Geroulanos, S. et E. T. Douka. "Historical perspective of the word "sepsis". " *Intensive Care Med* **32**(12): 2077.(2006)
- Gheorghiadu, M., M. Vaduganathan, A. Ambrosy, M. Bohm, U. Campia, J. G. Cleland, F. Fedele, G. C. Fonarow, A. P. Maggioni, A. Mebazaa, M. Mehra, M. Metra, S. Nodari, P. S. Pang, P. Ponikowski, H. N. Sabbah, M. Komajda et J. Butler. "Current management and future directions for the treatment of patients hospitalized for heart failure with low blood pressure." *Heart Fail Rev.*(2012)
- Gong, P., A. I. Cederbaum et N. Nieto. "Increased expression of cytochrome P450 2E1 induces heme oxygenase-1 through ERK MAPK pathway." *J Biol Chem* **278**(32): 29693-29700.(2003)
- Gotes, J., K. Kasian, H. Jacobs, Z. Q. Cheng et S. N. Mink. "Mechanisms of systemic vasodilation by lysozyme-c in septic shock." *J Appl Physiol* **112**(4): 638-650.(2012)
- Green, D. R. et J. C. Reed. "Mitochondria and apoptosis." *Science* **281**(5381): 1309-1312.(1998)
- Greenfield, N. et R. A. Balk. "Evaluating the adequacy of fluid resuscitation in patients with septic shock: controversies and future directions." *Hosp Pract (Minneapolis)* **40**(2): 147-157.(2012)
- Groeneveld, A. B. "Albumin and artificial colloids in fluid management: where does the clinical evidence of their utility stand?" *Crit Care* **4 Suppl 2**: S16-20.(2000)
- Gryzunov, Y. A., A. Arroyo, J. L. Vigne, Q. Zhao, V. A. Tyurin, C. A. Hubel, R. E. Gandle, Y. A. Vladimirov, R. N. Taylor et V. E. Kagan. "Binding of fatty acids facilitates oxidation

- of cysteine-34 and converts copper-albumin complexes from antioxidants to prooxidants." *Arch Biochem Biophys* **413**(1): 53-66.(2003)
- Gustafsson, A. B. et R. A. Gottlieb. "Autophagy in ischemic heart disease." *Circ Res* **104**(2): 150-158.(2009)
- Haines, D. D., I. Lekli, P. Teissier, I. Bak et A. Tosaki. "Role of haeme oxygenase-1 in resolution of oxidative stress-related pathologies: focus on cardiovascular, lung, neurological and kidney disorders." *Acta Physiol (Oxf)* **204**(4): 487-501.(2012)
- Han, C., S. H. Choi, Y. H. Yoon, Y. D. Cho, J. Y. Kim, Y. S. Hong, S. W. Lee, S. W. Moon, H. J. Cho et Y. J. Cheon. "Hypertonic saline downregulate the production level of lipopolysaccharide-induced migration inhibitory factor in THP-1 cells." *J Korean Surg Soc* **82**(1): 1-7.(2012)
- Hankeln, K., C. Radel, M. Beez, P. Laniewski et F. Bohmert. "Comparison of hydroxyethyl starch and lactated Ringer's solution on hemodynamics and oxygen transport of critically ill patients in prospective crossover studies." *Crit Care Med* **17**(2): 133-135.(1989)
- Hannemann, L., K. Reinhart, R. Korell, C. Spies et D. L. Bredle. "Hypertonic saline in stabilized hyperdynamic sepsis." *Shock* **5**(2): 130-134.(1996)
- Hasibeder, W. R. "Fluid resuscitation during capillary leakage: does the type of fluid make a difference." *Intensive Care Med* **28**(5): 532-534.(2002)
- Hasslacher, J., K. Bijuklic, C. Bertocchi, J. Kountchev, R. Bellmann, S. Dunzendorfer et M. Joannidis. "Levosimendan inhibits release of reactive oxygen species in polymorphonuclear leukocytes in vitro and in patients with acute heart failure and septic shock: a prospective observational study." *Crit Care* **15**(4): R166.(2011)
- Hassoun, S. M., X. Marechal, D. Moutagne, Y. Bouazza, B. Decoster, S. Lancel et R. Neviere. "Prevention of endotoxin-induced sarcoplasmic reticulum calcium leak improves mitochondrial and myocardial dysfunction." *Crit Care Med* **36**(9): 2590-2596.(2008)
- Henry, T. et D. M. Monack. "Activation of the inflammasome upon *Francisella tularensis* infection: interplay of innate immune pathways and virulence factors." *Cell Microbiol* **9**(11): 2543-2551.(2007)
- Hersch, M., A. A. Gnidec, A. D. Bersten, M. Troster, F. S. Rutledge et W. J. Sibbald. "Histologic and ultrastructural changes in nonpulmonary organs during early hyperdynamic sepsis." *Surgery* **107**(4): 397-410.(1990)
- Heusch, G., R. Schulz et S. H. Rahimtoola. "Myocardial hibernation: a delicate balance." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **288**(3): H984-999.(2005)
- Hiraki, S., S. Ono, H. Tsujimoto, M. Kinoshita, R. Takahata, H. Miyazaki, D. Saitoh et K. Hase. "Neutralization of interleukin-10 or transforming growth factor-beta decreases the percentages of CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells in septic mice, thereby leading to an improved survival." *Surgery* **151**(2): 313-322.(2012)
- Hochstadt, A., Y. Meroz et G. Landesberg. "Myocardial dysfunction in severe sepsis and septic shock: more questions than answers?" *J Cardiothorac Vasc Anesth* **25**(3): 526-535.(2011)
- Hofer, C. K. et M. Cannesson. "Monitoring fluid responsiveness." *Acta Anaesthesiol Taiwan* **49**(2): 59-65.(2011)
- Hoffmann, R. "[Tissue Doppler echocardiography--already of clinical significance?]." *Z Kardiol* **91**(9): 677-684.(2002)
- Hollenberg, S. M. "Inotrope and vasopressor therapy of septic shock." *Crit Care Nurs Clin North Am* **23**(1): 127-148.(2011)

- Hollenberg, S. M., T. S. Ahrens, D. Annane, M. E. Astiz, D. B. Chalfin, J. F. Dasta, S. O. Heard, C. Martin, L. M. Napolitano, G. M. Susla, R. Totaro, J. L. Vincent et S. Zanotti-Cavazzoni. "Practice parameters for hemodynamic support of sepsis in adult patients: 2004 update." *Crit Care Med* **32**(9): 1928-1948.(2004)
- Hoogerwerf, J. J., G. J. Van Der Windt, D. C. Blok, A. J. Hoogendijk, A. F. De Vos, C. Van 't Veer, S. Florquin, K. S. Kobayashi, R. A. Flavell et T. Van Der Poll. "Interleukin-1-receptor-associated kinase M deficient mice demonstrate an improved host defense during gram-negative pneumonia." *Mol Med*.(2012)
- Horton, J. W., D. L. Maass et D. J. White. "Hypertonic saline dextran after burn injury decreases inflammatory cytokine responses to subsequent pneumonia-related sepsis." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **290**(4): H1642-1650.(2006)
- Hotchkiss, R. S. et I. E. Karl. "The pathophysiology and treatment of sepsis." *N Engl J Med* **348**(2): 138-150.(2003)
- Hotchkiss, R. S. et D. W. Nicholson. "Apoptosis and caspases regulate death and inflammation in sepsis." *Nat Rev Immunol* **6**(11): 813-822.(2006)
- Hotchkiss, R. S., S. K. Song, J. J. Neil, R. D. Chen, J. K. Manchester, I. E. Karl, O. H. Lowry et J. J. Ackerman. "Sepsis does not impair tricarboxylic acid cycle in the heart." *Am J Physiol* **260**(1 Pt 1): C50-57.(1991)
- Hsieh, C. H., P. Y. Pai, H. W. Hsueh, S. S. Yuan et Y. C. Hsieh. "Complete induction of autophagy is essential for cardioprotection in sepsis." *Ann Surg* **253**(6): 1190-1200.(2011)
- Hsieh, Y. C., M. Athar et I. H. Chaudry. "When apoptosis meets autophagy: deciding cell fate after trauma and sepsis." *Trends Mol Med* **15**(3): 129-138.(2009)
- Huang, J., G. Y. Lam et J. H. Brumell. "Autophagy signaling through reactive oxygen species." *Antioxid Redox Signal* **14**(11): 2215-2231.(2011)
- Hubbard, L. L. et B. B. Moore. "IRAK-M regulation and function in host defense and immune homeostasis." *Infect Dis Rep* **2**(1).(2010)
- Hunter, J. D. et M. Doddi. "Sepsis and the heart." *Br J Anaesth* **104**(1): 3-11.(2010)
- Huttunen, R. et J. Aittoniemi. "New concepts in the pathogenesis, diagnosis and treatment of bacteremia and sepsis." *J Infect* **63**(6): 407-419.(2011)
- Ibe, W., A. Saraste, S. Lindemann, S. Bruder, M. Buerke, H. Darius, K. Pulkki et L. M. Voipio-Pulkki. "Cardiomyocyte apoptosis is related to left ventricular dysfunction and remodelling in dilated cardiomyopathy, but is not affected by growth hormone treatment." *Eur J Heart Fail* **9**(2): 160-167.(2007)
- Ichinose, F., E. S. Buys, T. G. Neilan, E. M. Furutani, J. G. Morgan, D. S. Jassal, A. R. Graveline, R. J. Searles, C. C. Lim, M. Kaneki, M. H. Picard, M. Scherrer-Crosbie, S. Janssens, R. Liao et K. D. Bloch. "Cardiomyocyte-specific overexpression of nitric oxide synthase 3 prevents myocardial dysfunction in murine models of septic shock." *Circ Res* **100**(1): 130-139.(2007)
- Ignacio-Souza, L. M., S. R. Reis, V. C. Arantes, B. L. Botosso, R. V. Veloso, F. Ferreira, A. C. Boscherio, E. M. Carneiro, M. A. de Barros Reis et M. Q. Latorraca. "Protein restriction in early life is associated with changes in insulin sensitivity and pancreatic beta-cell function during pregnancy." *Br J Nutr*: 1-12.(2012)
- Ing, R. D., M. N. Nazeeri, S. Zeldes, S. A. Dulchavsky et L. N. Diebel. "Hypertonic saline/dextran improves septic myocardial performance." *Am Surg* **60**(7): 505-507; discussion 508.(1994)

- Isayama, K., Y. Murao, F. Saito, A. Hirakawa et T. Nakatani. "Effects of hypertonic saline on CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells after hemorrhagic shock in relation to iNOS and cytokines." *J Surg Res* **172**(1): 137-145.(2012)
- Jannat, R. A., G. P. Robbins, B. G. Ricart, M. Dembo et D. A. Hammer. "Neutrophil adhesion and chemotaxis depend on substrate mechanics." *J Phys Condens Matter* **22**(19): 194117.(2010)
- Jardin, F., B. Valtier, A. Beauchet, O. Dubourg et J. P. Bourdarias. "Invasive monitoring combined with two-dimensional echocardiographic study in septic shock." *Intensive Care Med* **20**(8): 550-554.(1994)
- Jeanneret, S., B. Sanchez et L. Liaudet. "[Pathophysiological mechanisms and treatment of septic shock-induced vasoplegia]." *Rev Med Suisse* **7**(321): 2435-2438.(2011)
- Jozwiak, M., R. Persichini, X. Monnet et J. L. Teboul. "Management of myocardial dysfunction in severe sepsis." *Semin Respir Crit Care Med* **32**(2): 206-214.(2011)
- Kao, Y. H., Y. C. Chen, C. C. Cheng, T. I. Lee, Y. J. Chen et S. A. Chen. "Tumor necrosis factor-alpha decreases sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase expressions via the promoter methylation in cardiomyocytes." *Crit Care Med* **38**(1): 217-222.(2010)
- Kapadia, S. R., H. Oral, J. Lee, M. Nakano, G. E. Taffet et D. L. Mann. "Hemodynamic regulation of tumor necrosis factor-alpha gene and protein expression in adult feline myocardium." *Circ Res* **81**(2): 187-195.(1997)
- Kaprielian, R. R., M. Gunning, E. Dupont, M. N. Sheppard, S. M. Rothery, R. Underwood, D. J. Pennell, K. Fox, J. Pepper, P. A. Poole-Wilson et N. J. Severs. "Downregulation of immunodetectable connexin43 and decreased gap junction size in the pathogenesis of chronic hibernation in the human left ventricle." *Circulation* **97**(7): 651-660.(1998)
- Kaufman, B. S., E. C. Rackow et J. L. Falk. "Fluid resuscitation in circulatory shock. Colloids versus crystalloids." *Curr Stud Hematol Blood Transfus*(53): 186-198.(1986)
- Kellum, J. A., M. Song et E. Almasri. "Hyperchloremic acidosis increases circulating inflammatory molecules in experimental sepsis." *Chest* **130**(4): 962-967.(2006)
- Khan, R., L. A. Kirschenbaum, C. Larow et M. E. Astiz. "The effect of resuscitation fluids on neutrophil-endothelial cell interactions in septic shock." *Shock* **36**(5): 440-444.(2011)
- Kheirabadi, B. S., J. M. Crissey, R. Deguzman, M. R. Perez, A. B. Cox, M. A. Dubick et J. B. Holcomb. "Effects of synthetic versus natural colloid resuscitation on inducing dilutional coagulopathy and increasing hemorrhage in rabbits." *J Trauma* **64**(5): 1218-1228; discussion 1228-1219.(2008)
- Kim, Y. M., H. O. Pae, J. E. Park, Y. C. Lee, J. M. Woo, N. H. Kim, Y. K. Choi, B. S. Lee, S. R. Kim et H. T. Chung. "Heme oxygenase in the regulation of vascular biology: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities." *Antioxid Redox Signal* **14**(1): 137-167.(2011)
- Kotsovolis, G. et K. Kallaras. "The role of endothelium and endogenous vasoactive substances in sepsis." *Hippokratia* **14**(2): 88-93.(2010)
- Kovach, M. A. et T. J. Standiford. "The function of neutrophils in sepsis." *Curr Opin Infect Dis* **25**(3): 321-327.(2012)
- Kreimeier, U., L. Frey, J. Dentz, T. Herbel et K. Messmer. "Hypertonic saline dextran resuscitation during the initial phase of acute endotoxemia: effect on regional blood flow." *Crit Care Med* **19**(6): 801-809.(1991)
- Krown, K. A., K. Yasui, M. J. Brooker, A. E. Dubin, C. Nguyen, G. L. Harris, P. M. McDonough, C. C. Glembotski, P. T. Palade et R. A. Sabbadini. "TNF alpha receptor

- expression in rat cardiac myocytes: TNF alpha inhibition of L-type Ca²⁺ current and Ca²⁺ transients." *FEBS Lett* **376**(1-2): 24-30.(1995)
- Kumar, A. et J. E. Parrillo. "Myocardial depressant substances in meningococcal septic shock." *Crit Care Med* **30**(10): 2379-2380.(2002)
- Kumar, A., V. Thota, L. Dec, J. Olson, E. Uretz et J. E. Parrillo. "Tumor necrosis factor alpha and interleukin 1beta are responsible for in vitro myocardial cell depression induced by human septic shock serum." *J Exp Med* **183**(3): 949-958.(1996)
- Kussmaul, L. et J. Hirst. "The mechanism of superoxide production by NADH:ubiquinone oxidoreductase (complex I) from bovine heart mitochondria." *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**(20): 7607-7612.(2006)
- Lambris, J. D., D. Ricklin et B. V. Geisbrecht. "Complement evasion by human pathogens." *Nat Rev Microbiol* **6**(2): 132-142.(2008)
- Lancel, S., O. Joulin, R. Favory, J. F. Goossens, J. Kluza, C. Chopin, P. Formstecher, P. Marchetti et R. Neviere. "Ventricular myocyte caspases are directly responsible for endotoxin-induced cardiac dysfunction." *Circulation* **111**(20): 2596-2604.(2005)
- LaRosa, S. P., S. M. Opal, B. Utterback, S. C. Yan, J. Helterbrand, A. J. Simpson, W. Chaowagul, N. J. White et C. J. Fisher, Jr. "Decreased protein C, protein S, and antithrombin levels are predictive of poor outcome in Gram-negative sepsis caused by *Burkholderia pseudomallei*." *Int J Infect Dis* **10**(1): 25-31.(2006)
- Laxenaire, M. C., C. Charpentier et L. Feldman. "[Anaphylactoid reactions to colloid plasma substitutes: incidence, risk factors, mechanisms. A French multicenter prospective study]." *Ann Fr Anesth Reanim* **13**(3): 301-310.(1994)
- Lee, I. T., S. F. Luo, C. W. Lee, S. W. Wang, C. C. Lin, C. C. Chang, Y. L. Chen, L. Y. Chau et C. M. Yang. "Overexpression of HO-1 protects against TNF-alpha-mediated airway inflammation by down-regulation of TNFR1-dependent oxidative stress." *Am J Pathol* **175**(2): 519-532.(2009)
- Lee, W. L. et W. C. Liles. "Endothelial activation, dysfunction and permeability during severe infections." *Curr Opin Hematol* **18**(3): 191-196.(2011)
- Lefer, A. M. "The pathophysiologic role of myocardial depressant factor as a mediator of circulatory shock." *Klin Wochenschr* **60**(14): 713-716.(1982)
- Lefer, A. M. "Interaction between myocardial depressant factor and vasoactive mediators with ischemia and shock." *Am J Physiol* **252**(2 Pt 2): R193-205.(1987)
- Levy, M. M., R. P. Dellinger, S. R. Townsend, W. T. Linde-Zwirble, J. C. Marshall, J. Bion, C. Schorr, A. Artigas, G. Ramsay, R. Beale, M. M. Parker, H. Gerlach, K. Reinhart, E. Silva, M. Harvey, S. Regan et D. C. Angus. "The Surviving Sepsis Campaign: results of an international guideline-based performance improvement program targeting severe sepsis." *Intensive Care Med* **36**(2): 222-231.(2010)
- Levy, R. J., D. A. Piel, P. D. Acton, R. Zhou, V. A. Ferrari, J. S. Karp et C. S. Deutschman. "Evidence of myocardial hibernation in the septic heart." *Crit Care Med* **33**(12): 2752-2756.(2005)
- Li, J., F. R. Fronczek, D. Ferreira, C. L. Burandt, Jr., V. Setola, B. L. Roth et J. K. Zjawiony. "Bis-spirolabdane Diterpenoids from *Leonotis nepetaefolia*." *J Nat Prod* **75**(4): 728-734.(2012)
- Liao, P., D. Georgakopoulos, A. Kovacs, M. Zheng, D. Lerner, H. Pu, J. Saffitz, K. Chien, R. P. Xiao, D. A. Kass et Y. Wang. "The in vivo role of p38 MAP kinases in cardiac

- remodeling and restrictive cardiomyopathy." *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**(21): 12283-12288.(2001)
- Linde-Zwirble, W. T. et D. C. Angus. "Severe sepsis epidemiology: sampling, selection, and society." *Crit Care* **8**(4): 222-226.(2004)
- Liu, S. Y., C. L. Chen, T. T. Yang, W. C. Huang, C. Y. Hsieh, W. J. Shen, T. T. Tsai, C. C. Shieh et C. F. Lin. "Albumin prevents reactive oxygen species-induced mitochondrial damage, autophagy, and apoptosis during serum starvation." *Apoptosis* **17**(11): 1156-1169.(2012)
- Ljungstrom, K. G. "Pretreatment with dextran 1 makes dextran 40 therapy safer." *J Vasc Surg* **43**(5): 1070-1072.(2006)
- Lobo, D. N., Z. Stanga, M. M. Aloysius, C. Wicks, Q. M. Nunes, K. L. Ingram, L. Risch et S. P. Allison. "Effect of volume loading with 1 liter intravenous infusions of 0.9% saline, 4% succinylated gelatine (Gelofusine) and 6% hydroxyethyl starch (Voluven) on blood volume and endocrine responses: a randomized, three-way crossover study in healthy volunteers." *Crit Care Med* **38**(2): 464-470.(2010)
- Lobo, D. N., Z. Stanga, J. A. Simpson, J. A. Anderson, B. J. Rowlands et S. P. Allison. "Dilution and redistribution effects of rapid 2-litre infusions of 0.9% (w/v) saline and 5% (w/v) dextrose on haematological parameters and serum biochemistry in normal subjects: a double-blind crossover study." *Clin Sci (Lond)* **101**(2): 173-179.(2001)
- Lobo, S. M., S. R. Orrico, M. M. Queiroz, L. M. Contrim et P. M. Cury. "Comparison of the effects of lactated Ringer solution with and without hydroxyethyl starch fluid resuscitation on gut edema during severe splanchnic ischemia." *Braz J Med Biol Res* **41**(7): 634-639.(2008)
- Lodha, R., T. P. Oleti et S. K. Kabra. "Management of septic shock." *Indian J Pediatr* **78**(6): 726-733.(2011)
- Lorigados, C. B., F. G. Soriano et C. Szabo. "Pathomechanisms of myocardial dysfunction in sepsis." *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* **10**(3): 274-284.(2010)
- Lu, Y. C., W. C. Yeh et P. S. Ohashi. "LPS/TLR4 signal transduction pathway." *Cytokine* **42**(2): 145-151.(2008)
- Lu, Y. Q., L. H. Gu, W. D. Huang et H. Z. Mou. "Effect of hypertonic saline resuscitation on heme oxygenase-1 mRNA expression and apoptosis of the intestinal mucosa in a rat model of hemorrhagic shock." *Chin Med J (Engl)* **123**(11): 1453-1458.(2010)
- Lu, Y. Q., W. D. Huang, X. J. Cai, L. H. Gu et H. Z. Mou. "Hypertonic saline resuscitation reduces apoptosis of intestinal mucosa in a rat model of hemorrhagic shock." *J Zhejiang Univ Sci B* **9**(11): 879-884.(2008)
- Maciel, F., M. Mook, H. Zhang et J. L. Vincent. "Comparison of hypertonic with isotonic saline hydroxyethyl starch solution on oxygen extraction capabilities during endotoxic shock." *Shock* **9**(1): 33-39.(1998)
- Maclaren, G. et W. Butt. "Extracorporeal membrane oxygenation and sepsis." *Crit Care Resusc* **9**(1): 76-80.(2007)
- Maeder, M., T. Fehr, H. Rickli et P. Ammann. "Sepsis-associated myocardial dysfunction: diagnostic and prognostic impact of cardiac troponins and natriuretic peptides." *Chest* **129**(5): 1349-1366.(2006)
- Mahjoub, Y., H. Benoit-Fallet, N. Airapetian, E. Lorne, M. Levrard, A. A. Seydi, N. Amennouche, M. Slama et H. Dupont. "Improvement of left ventricular relaxation as

- assessed by tissue Doppler imaging in fluid-responsive critically ill septic patients." *Intensive Care Med* **38**(9): 1461-1470.(2012)
- Margarson, M. P. et N. C. Soni. "Effects of albumin supplementation on microvascular permeability in septic patients." *J Appl Physiol* **92**(5): 2139-2145.(2002)
- Marrel, J., D. Christ et D. R. Spahn. "Anaphylactic shock after sensitization to gelatin." *Br J Anaesth* **107**(4): 647-648.(2011)
- Marshall, J. C. "Endotoxin in the pathogenesis of sepsis." *Contrib Nephrol* **167**: 1-13.(2010)
- Martinet, W., M. W. Knaapen, M. M. Kockx et G. R. De Meyer. "Autophagy in cardiovascular disease." *Trends Mol Med* **13**(11): 482-491.(2007)
- Marx, G. "Fluid therapy in sepsis with capillary leakage." *Eur J Anaesthesiol* **20**(6): 429-442.(2003)
- Marx, G., M. Cobas Meyer, T. Schuerholz, B. Vangerow, K. F. Gratz, H. Hecker, R. Sumpelmann, H. Rueckoldt et M. Leuwer. "Hydroxyethyl starch and modified fluid gelatin maintain plasma volume in a porcine model of septic shock with capillary leakage." *Intensive Care Med* **28**(5): 629-635.(2002)
- Massion, P. B. et J. L. Balligand. "Modulation of cardiac contraction, relaxation and rate by the endothelial nitric oxide synthase (eNOS): lessons from genetically modified mice." *J Physiol* **546**(Pt 1): 63-75.(2003)
- McDonald, T. E., M. N. Grinman, C. M. Carthy et K. R. Walley. "Endotoxin infusion in rats induces apoptotic and survival pathways in hearts." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **279**(5): H2053-2061.(2000)
- Mehta, N. J., I. A. Khan, V. Gupta, K. Jani, R. M. Gowda et P. R. Smith. "Cardiac troponin I predicts myocardial dysfunction and adverse outcome in septic shock." *Int J Cardiol* **95**(1): 13-17.(2004)
- Meldrum, D. R. "Tumor necrosis factor in the heart." *Am J Physiol* **274**(3 Pt 2): R577-595.(1998)
- Merx, M. W., E. A. Liehn, U. Janssens, R. Luttkicken, J. Schrader, P. Hanrath et C. Weber. "HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin profoundly improves survival in a murine model of sepsis." *Circulation* **109**(21): 2560-2565.(2004)
- Merx, M. W. et C. Weber. "Sepsis and the heart." *Circulation* **116**(7): 793-802.(2007)
- Meziani, F., H. Kremer, A. Tesse, C. Baron-Menguy, C. Mathien, H. A. Mostefai, N. Carusio, F. Schneider, P. Asfar et R. Andriantsitohaina. "Human serum albumin improves arterial dysfunction during early resuscitation in mouse endotoxic model via reduced oxidative and nitrosative stresses." *Am J Pathol* **171**(6): 1753-1761.(2007)
- Molnar, G., E. Csonka, A. Vass, M. Boros et J. Kaszaki. "Circulatory consequences of reduced endogenous nitric oxide production during small-volume resuscitation." *Acta Physiol Hung* **98**(4): 393-408.(2011)
- Molnar, Z., A. Mikor, T. Leiner et T. Szakmany. "Fluid resuscitation with colloids of different molecular weight in septic shock." *Intensive Care Med* **30**(7): 1356-1360.(2004)
- Montuschi, P., P. Barnes et L. J. Roberts, 2nd. "Insights into oxidative stress: the isoprostanes." *Curr Med Chem* **14**(6): 703-717.(2007)
- Morelli, A., S. De Castro, J. L. Teboul, M. Singer, M. Rocco, G. Conti, L. De Luca, E. Di Angelantonio, A. Orecchioni, N. G. Pandian et P. Pietropaoli. "Effects of levosimendan on systemic and regional hemodynamics in septic myocardial depression." *Intensive Care Med* **31**(5): 638-644.(2005)

- Morisaki, H., F. Bloos, J. Keys, C. Martin, A. Neal et W. J. Sibbald. "Compared with crystalloid, colloid therapy slows progression of extrapulmonary tissue injury in septic sheep." *J Appl Physiol* **77**(3): 1507-1518.(1994)
- Mortaza, S., M. C. Martinez, C. Baron-Menguy, M. Burban, M. de la Bourdonnaye, L. Fizanne, M. Pierrot, P. Cales, D. Henrion, R. Andriantsitohaina, A. Mercat, P. Asfar et F. Meziani. "Detrimental hemodynamic and inflammatory effects of microparticles originating from septic rats." *Crit Care Med* **37**(6): 2045-2050.(2009)
- Mouren, S., S. Delayance, G. Mion, R. Souktani, J. L. Fellahi, M. Arthaud, J. F. Baron et P. Viars. "Mechanisms of increased myocardial contractility with hypertonic saline solutions in isolated blood-perfused rabbit hearts." *Anesth Analg* **81**(4): 777-782.(1995)
- Muckart, D. J. et S. Bhagwanjee. "American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference definitions of the systemic inflammatory response syndrome and allied disorders in relation to critically injured patients." *Crit Care Med* **25**(11): 1789-1795.(1997)
- Muller, L., S. Jaber, N. Molinari, L. Favier, J. Larche, G. Motte, S. Lazarovici, L. Jacques, S. Alonso, M. Leone, J. M. Constantin, B. Allaouchiche, C. Suehs et J. Y. Lefrant. "Fluid management and risk factors for renal dysfunction in patients with severe sepsis and/or septic shock." *Crit Care* **16**(1): R34.(2012)
- Murao, Y., M. Hata, K. Ohnishi, K. Okuchi, Y. Nakajima, Y. Hiasa, W. G. Junger, D. B. Hoyt et T. Ohnishi. "Hypertonic saline resuscitation reduces apoptosis and tissue damage of the small intestine in a mouse model of hemorrhagic shock." *Shock* **20**(1): 23-28.(2003)
- Nagueh, S. F. "Noninvasive estimation of LV filling pressures in heart failure and reduced ejection fraction: revisited and verified." *JACC Cardiovasc Imaging* **4**(9): 935-937.(2011)
- Naing, C. M. et D. K. Win. "Do colloids in comparison to crystalloids for fluid resuscitation improve mortality?" *Trans R Soc Trop Med Hyg* **104**(5): 311-312.(2010)
- Nakayama, S., G. C. Kramer, R. C. Carlsen et J. W. Holcroft. "Infusion of very hypertonic saline to bled rats: membrane potentials and fluid shifts." *J Surg Res* **38**(2): 180-186.(1985)
- Nascimento, A. I., H. S. Ferreira, R. M. Saraiva, T. S. Almeida et J. B. Fregoneze. "Central kappa opioid receptors modulate salt appetite in rats." *Physiol Behav* **106**(4): 506-514.(2012)
- Negrao, E. M., D. S. Martins, A. G. Ferreira et B. M. Cunha. "An unusual coronary to LV cavitory fistula in a young patient." *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*.(2012)
- Nemchenko, A., M. Chiong, A. Turer, S. Lavandero et J. A. Hill. "Autophagy as a therapeutic target in cardiovascular disease." *J Mol Cell Cardiol* **51**(4): 584-593.(2011)
- Neviere, R., H. Fauvel, C. Chopin, P. Formstecher et P. Marchetti. "Caspase inhibition prevents cardiac dysfunction and heart apoptosis in a rat model of sepsis." *Am J Respir Crit Care Med* **163**(1): 218-225.(2001)
- Neviere, R., S. M. Hassoun, B. Decoster, Y. Bouazza, D. Montaigne, X. Marechal, C. Marciniak, P. Marchetti et S. Lancel. "Caspase-dependent protein phosphatase 2A activation contributes to endotoxin-induced cardiomyocyte contractile dysfunction." *Crit Care Med* **38**(10): 2031-2036.(2010)
- Nydam, T. L., E. E. Moore, R. C. McIntyre, Jr., F. L. Wright, F. Gamboni-Robertson, P. C. Eckels et A. Banerjee. "Hypertonic saline attenuates TNF-alpha-induced NF-kappaB activation in pulmonary epithelial cells." *Shock* **31**(5): 466-472.(2009)

- Oehmcke, S. et H. Herwald. "Contact system activation in severe infectious diseases." *J Mol Med (Berl)* **88**(2): 121-126.(2010)
- Offringa, M. "Excess mortality after human albumin administration in critically ill patients. Clinical and pathophysiological evidence suggests albumin is harmful." *BMJ* **317**(7153): 223-224.(1998)
- Ogasawara, S. et T. Stokol. "Interleukin-10 inhibits lipopolysaccharide-induced upregulation of tissue factor in canine peripheral blood monocytes." *Vet Immunol Immunopathol.*(2012)
- Ogura, H., T. Kawasaki, H. Tanaka, T. Koh, R. Tanaka, Y. Ozeki, H. Hosotsubo, Y. Kuwagata, T. Shimazu et H. Sugimoto. "Activated platelets enhance microparticle formation and platelet-leukocyte interaction in severe trauma and sepsis." *J Trauma* **50**(5): 801-809.(2001)
- Ohta, K. et A. Yachie. "Role of heme oxygenase-1 in cardiovascular diseases: a novel target for molecular intervention?" *J Endovasc Ther* **8**(5): 444-446.(2001)
- Oi, Y., A. Aneman, M. Svensson, S. Ewert, M. Dahlqvist et H. Haljamae. "Hypertonic saline-dextran improves intestinal perfusion and survival in porcine endotoxin shock." *Crit Care Med* **28**(8): 2843-2850.(2000)
- Oikonomopoulou, K., D. Ricklin, P. A. Ward et J. D. Lambris. "Interactions between coagulation and complement--their role in inflammation." *Semin Immunopathol* **34**(1): 151-165.(2012)
- Oliveira, R. P., I. Velasco, F. G. Soriano et G. Friedman. "Clinical review: Hypertonic saline resuscitation in sepsis." *Crit Care* **6**(5): 418-423.(2002)
- Otsuki, D. A., D. T. Fantoni, C. B. Margarido, C. K. Marumo, T. Intelizano, C. A. Pasqualucci et J. O. Costa Auler, Jr. "Hydroxyethyl starch is superior to lactated Ringer as a replacement fluid in a pig model of acute normovolaemic haemodilution." *Br J Anaesth* **98**(1): 29-37.(2007)
- Pacher, P., J. S. Beckman et L. Liaudet. "Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease." *Physiol Rev* **87**(1): 315-424.(2007)
- Panaro, M. A., M. Pricci, F. Mezziani, T. Ragot, R. Andriantsitohaina, V. Mitolo et A. Tesse. "Cyclooxygenase-2-derived prostacyclin protective role on endotoxin-induced mouse cardiomyocyte mortality." *Cardiovasc Toxicol* **11**(4): 347-356.(2011)
- Park, D. W., B. C. Chun, S. S. Kwon, Y. K. Yoon, W. S. Choi, J. W. Sohn, K. R. Peck, Y. S. Kim, Y. H. Choi, J. Y. Choi, S. I. Kim, J. S. Eom, H. Y. Kim, H. J. Cheong, Y. G. Song, H. J. Choi, J. M. Kim et M. J. Kim. "Red blood cell transfusions are associated with lower mortality in patients with severe sepsis and septic shock: A propensity-matched analysis." *Crit Care Med.*(2012)
- Parker, M. M., K. E. McCarthy, F. P. Ognibene et J. E. Parrillo. "Right ventricular dysfunction and dilatation, similar to left ventricular changes, characterize the cardiac depression of septic shock in humans." *Chest* **97**(1): 126-131.(1990)
- Parrillo, J. E., C. Burch, J. H. Shelhamer, M. M. Parker, C. Natanson et W. Schuette. "A circulating myocardial depressant substance in humans with septic shock. Septic shock patients with a reduced ejection fraction have a circulating factor that depresses in vitro myocardial cell performance." *J Clin Invest* **76**(4): 1539-1553.(1985)
- Parsons, M. J. et D. R. Green. "Mitochondria and apoptosis: a quick take on a long view." *F1000 Biol Rep* **1**: 17.(2009)

- Peng, T., X. Lu et Q. Feng. "NADH oxidase signaling induces cyclooxygenase-2 expression during lipopolysaccharide stimulation in cardiomyocytes." *FASEB J* **19**(2): 293-295.(2005)
- Peng, T., X. Lu et Q. Feng. "Pivotal role of gp91phox-containing NADH oxidase in lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha expression and myocardial depression." *Circulation* **111**(13): 1637-1644.(2005)
- Peng, T., X. Lu, M. Lei, G. W. Moe et Q. Feng. "Inhibition of p38 MAPK decreases myocardial TNF-alpha expression and improves myocardial function and survival in endotoxemia." *Cardiovasc Res* **59**(4): 893-900.(2003)
- Peng, T., T. Zhang, X. Lu et Q. Feng. "JNK1/c-fos inhibits cardiomyocyte TNF-alpha expression via a negative crosstalk with ERK and p38 MAPK in endotoxaemia." *Cardiovasc Res* **81**(4): 733-741.(2009)
- Perel, P. et I. Roberts. "Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients." *Cochrane Database Syst Rev*(3): CD000567.(2011)
- Perel, P. et I. Roberts. "Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients." *Cochrane Database Syst Rev* **6**: CD000567.(2012)
- Perner, A. et T. Faber. "Stroke volume variation does not predict fluid responsiveness in patients with septic shock on pressure support ventilation." *Acta Anaesthesiol Scand* **50**(9): 1068-1073.(2006)
- Perner, A., N. Haase, A. B. Guttormsen, J. Tenhunen, G. Klemenzson, A. Aneman, K. R. Madsen, M. H. Moller, J. M. Elkjaer, L. M. Poulsen, A. Bendtsen, R. Winding, M. Steensen, P. Berezowicz, P. Soe-Jensen, M. Bestle, K. Strand, J. Wiis, J. O. White, K. J. Thornberg, L. Quist, J. Nielsen, L. H. Andersen, L. B. Holst, K. Thormar, A. L. Kjaeldgaard, M. L. Fabritius, F. Mondrup, F. C. Pott, T. P. Moller, P. Winkel et J. Wetterslev. "Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis." *N Engl J Med* **367**(2): 124-134.(2012)
- Perrella, M. A. et S. F. Yet. "Role of heme oxygenase-1 in cardiovascular function." *Curr Pharm Des* **9**(30): 2479-2487.(2003)
- Petersen, M. B. "The effect of vasopressin and related compounds at V1a and V2 receptors in animal models relevant to human disease." *Basic Clin Pharmacol Toxicol* **99**(2): 96-103.(2006)
- Pinto, B. B., S. Rehberg, C. Ertmer et M. Westphal. "Role of levosimendan in sepsis and septic shock." *Curr Opin Anaesthesiol* **21**(2): 168-177.(2008)
- Piper, R. D., F. Y. Li, M. L. Myers et W. J. Sibbald. "Structure-function relationships in the septic rat heart." *Am J Respir Crit Care Med* **156**(5): 1473-1482.(1997)
- Post, F., L. S. Weilemann, C. M. Messow, C. Sinning et T. Munzel. "B-type natriuretic peptide as a marker for sepsis-induced myocardial depression in intensive care patients." *Crit Care Med* **36**(11): 3030-3037.(2008)
- Preiser, J. C., H. Zhang, B. Vray, A. Hrabak et J. L. Vincent. "Time course of inducible nitric oxide synthase activity following endotoxin administration in dogs." *Nitric Oxide* **5**(2): 208-211.(2001)
- Pulido, J. N., B. Afessa, M. Masaki, T. Yuasa, S. Gillespie, V. Herasevich, D. R. Brown et J. K. Oh. "Clinical Spectrum, Frequency, and Significance of Myocardial Dysfunction in Severe Sepsis and Septic Shock." *Mayo Clin Proc*.(2012)
- Qiu, P., Y. Li, Y. Ding, J. Weng, S. M. Banks, S. Kern, Y. Fitz, A. F. Suffredini, P. Q. Eichacker et X. Cui. "The individual survival benefits of tumor necrosis factor soluble receptor and

- fluid administration are not additive in a rat sepsis model." *Intensive Care Med* **37**(10): 1688-1695.(2011)
- Rabinovici, R., T. L. Yue, M. M. Krausz, T. S. Sellers, K. M. Lynch et G. Feuerstein. "Hemodynamic, hematologic and eicosanoid mediated mechanisms in 7.5 percent sodium chloride treatment of uncontrolled hemorrhagic shock." *Surg Gynecol Obstet* **175**(4): 341-354.(1992)
- Rabuel, C. et A. Mebazaa. "Septic shock: a heart story since the 1960s." *Intensive Care Med* **32**(6): 799-807.(2006)
- Reddy, R. C. et T. J. Standiford. "Effects of sepsis on neutrophil chemotaxis." *Curr Opin Hematol* **17**(1): 18-24.(2010)
- Regueira, T., S. Djafarzadeh, S. Brandt, J. Gorrasi, E. Borotto, F. Porta, J. Takala, H. Bracht, S. Shaw, P. M. Lepper et S. M. Jakob. "Oxygen transport and mitochondrial function in porcine septic shock, cardiogenic shock, and hypoxaemia." *Acta Anaesthesiol Scand*.(2012)
- Reid, F., D. N. Lobo, R. N. Williams, B. J. Rowlands et S. P. Allison. "(Ab)normal saline and physiological Hartmann's solution: a randomized double-blind crossover study." *Clin Sci (Lond)* **104**(1): 17-24.(2003)
- Renner, J., J. Scholz et B. Bein. "Monitoring fluid therapy." *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* **23**(2): 159-171.(2009)
- Riediger, C., P. Sauer, E. Matevossian, M. W. Muller, P. Buchler et H. Friess. "Herpes simplex virus sepsis and acute liver failure." *Clin Transplant* **23 Suppl 21**: 37-41.(2009)
- Ritter, C., M. Andrades, J. C. Moreira, F. Dal-Pizzol et S. N. Hussain. "Superoxide production during sepsis development." *Am J Respir Crit Care Med* **167**(3): 474; author reply 474-475.(2003)
- Rivers, E., B. Nguyen, S. Havstad, J. Ressler, A. Muzzin, B. Knoblich, E. Peterson et M. Tomlanovich. "Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock." *N Engl J Med* **345**(19): 1368-1377.(2001)
- Rivers, E. P., M. Katranji, K. A. Jaehne, S. Brown, G. Abou Dagher, C. Cannon et V. Coba. "Early interventions in severe sepsis and septic shock: a review of the evidence one decade later." *Minerva Anesthesiol* **78**(6): 712-724.(2012)
- Rivers, E. P., J. A. Kruse, G. Jacobsen, K. Shah, M. Loomba, R. Otero et E. W. Childs. "The influence of early hemodynamic optimization on biomarker patterns of severe sepsis and septic shock." *Crit Care Med* **35**(9): 2016-2024.(2007)
- Roberts, A., D. Bar-Or, J. V. Winkler et L. T. Rael. "Copper-induced oxidation of epinephrine: protective effect of D-DAHK, a synthetic analogue of the high affinity copper binding site of human albumin." *Biochem Biophys Res Commun* **304**(4): 755-757.(2003)
- Roberts, I., K. Blackhall, P. Alderson, F. Bunn et G. Schierhout. "Human albumin solution for resuscitation and volume expansion in critically ill patients." *Cochrane Database Syst Rev*(11): CD001208.(2011)
- Robotham, J. L., M. Takata, M. Berman et Y. Harasawa. "Ejection fraction revisited." *Anesthesiology* **74**(1): 172-183.(1991)
- Rocha, M., R. Herance, S. Rovira, A. Hernandez-Mijares et V. M. Victor. "Mitochondrial dysfunction and antioxidant therapy in sepsis." *Infect Disord Drug Targets* **12**(2): 161-178.(2012)
- Rodriguez, F., L. Barrera, G. De La Rosa, R. Dennis, C. Duenas, M. Granados, D. Londono, F. Molina, G. Ortiz et F. Jaimes. "The epidemiology of sepsis in Colombia: A prospective

- multicenter cohort study in ten university hospitals." *Crit Care Med* **39**(7): 1675-1682.(2011)
- Roger, T., C. Froidevaux, C. Martin et T. Calandra. "Macrophage migration inhibitory factor (MIF) regulates host responses to endotoxin through modulation of Toll-like receptor 4 (TLR4)." *J Endotoxin Res* **9**(2): 119-123.(2003)
- Roger, T., M. P. Glauser et T. Calandra. "Macrophage migration inhibitory factor (MIF) modulates innate immune responses induced by endotoxin and Gram-negative bacteria." *J Endotoxin Res* **7**(6): 456-460.(2001)
- Romero-Bermejo, F. J., M. Ruiz-Bailen, J. Gil-Cebrian et M. J. Huertos-Ranchal. "Sepsis-induced cardiomyopathy." *Curr Cardiol Rev* **7**(3): 163-183.(2011)
- Rossi, M. A., M. R. Celes, C. M. Prado et F. P. Saggioro. "Myocardial structural changes in long-term human severe sepsis/septic shock may be responsible for cardiac dysfunction." *Shock* **27**(1): 10-18.(2007)
- Rudiger, A. et M. Singer. "Mechanisms of sepsis-induced cardiac dysfunction." *Crit Care Med* **35**(6): 1599-1608.(2007)
- Rudolph, V. et B. A. Freeman. "Cardiovascular consequences when nitric oxide and lipid signaling converge." *Circ Res* **105**(6): 511-522.(2009)
- Russell, J. A. "Management of sepsis." *N Engl J Med* **355**(16): 1699-1713.(2006)
- Russell, J. A. "Bench-to-bedside review: Vasopressin in the management of septic shock." *Crit Care* **15**(4): 226.(2011)
- Sado, D. et K. Greaves. "Myocardial perfusion echocardiography: a novel use in the diagnosis of sepsis-induced left ventricular systolic impairment on the intensive care unit." *Eur J Echocardiogr* **12**(1): 81-84.(2011)
- Safranow, K., V. Dziedziejko, R. Rzeuski, E. Czyzycka, A. Wojtarowicz, A. Binczak-Kuleta, K. Jakubowska, M. Olszewska, A. Ciechanowicz, Z. Kornacewicz-Jach, B. Machalinski, A. Pawlik et D. Chlubek. "Plasma concentrations of TNF-alpha and its soluble receptors sTNFR1 and sTNFR2 in patients with coronary artery disease." *Tissue Antigens* **74**(5): 386-392.(2009)
- Sair, M., P. J. Etherington, C. Peter Winlove et T. W. Evans. "Tissue oxygenation and perfusion in patients with systemic sepsis." *Crit Care Med* **29**(7): 1343-1349.(2001)
- Sakr, Y., K. Reinhart, J. L. Vincent, C. L. Sprung, R. Moreno, V. M. Ranieri, D. De Backer et 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)
- Salvemini, D. et S. Cuzzocrea. "Oxidative stress in septic shock and disseminated intravascular coagulation." *Free Radic Biol Med* **33**(9): 1173-1185.(2002)
- Santé-Canada. "Base de données sur les produits pharmaceutiques " Retrieved 2012-10-15, 2012, from <http://webprod5.hc-sc.gc.ca/dpd-bdpp/dispatch-repartition.do?lang=fra#fnote1>.(2012, 2012-08-21)
- Santry, H. P. et H. B. Alam. "Fluid resuscitation: past, present, and the future." *Shock* **33**(3): 229-241.(2010)
- Scallan, J., V. H. Huxley et R. J. Korthuis.(2010)
- Schouten, M., W. J. Wiersinga, M. Levi et T. van der Poll. "Inflammation, endothelium, and coagulation in sepsis." *J Leukoc Biol* **83**(3): 536-545.(2008)

- Schroth, M., C. Plank, U. Meissner, K. P. Eberle, M. Weyand, R. Cesnjevar, J. Dotsch et W. Rascher. "Hypertonic-hyperoncotic solutions improve cardiac function in children after open-heart surgery." *Pediatrics* **118**(1): e76-84.(2006)
- Seeley, E. J., M. A. Matthay et P. J. Wolters. "Inflection Points in Sepsis Biology: From Local Defense to Systemic Organ Injury." *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*.(2012)
- Semeraro, N., C. T. Ammollo, F. Semeraro et M. Colucci. "Sepsis, thrombosis and organ dysfunction." *Thromb Res* **129**(3): 290-295.(2012)
- Sewchand, L. S. et P. B. Canham. "Modes of rouleaux formation of human red blood cells in polyvinylpyrrolidone and dextran solutions." *Can J Physiol Pharmacol* **57**(11): 1213-1222.(1979)
- Shanewise, J. S., A. T. Cheung, S. Aronson, W. J. Stewart, R. L. Weiss, J. B. Mark, R. M. Savage, P. Sears-Rogan, J. P. Mathew, M. A. Quinones, M. K. Cahalan et J. S. Savino. "ASE/SCA guidelines for performing a comprehensive intraoperative multiplane transesophageal echocardiography examination: recommendations of the American Society of Echocardiography Council for Intraoperative Echocardiography and the Society of Cardiovascular Anesthesiologists Task Force for Certification in Perioperative Transesophageal Echocardiography." *Anesth Analg* **89**(4): 870-884.(1999)
- Shanmugam, A., S. Rajoria, A. L. George, A. Mittelman, R. Suriano et R. K. Tiwari. "Synthetic Toll like receptor-4 (TLR-4) agonist peptides as a novel class of adjuvants." *PLoS One* **7**(2): e30839.(2012)
- Sharma, A. C. "Sepsis-induced myocardial dysfunction." *Shock* **28**(3): 265-269.(2007)
- Sheu, S. S., W. Wang, H. Cheng et R. T. Dirksen. "Superoxide flashes: illuminating new insights into cardiac ischemia/reperfusion injury." *Future Cardiol* **4**(6): 551-554.(2008)
- Shimada, H., Y. Yamaoka, R. Morita, T. Mizuno, K. Gotoh, T. Higuchi, T. Shiraishi et Y. Imamura. "Possible mechanism of superoxide formation through redox cycling of plumbagin in pig heart." *Toxicol In Vitro* **26**(2): 252-257.(2012)
- Shiramizo, S. C., A. R. Marra, M. S. Durao, A. T. Paes, M. B. Edmond et O. F. Pavao Dos Santos. "Decreasing mortality in severe sepsis and septic shock patients by implementing a sepsis bundle in a hospital setting." *PLoS One* **6**(11): e26790.(2011)
- Singer, M. "Cellular dysfunction in sepsis." *Clin Chest Med* **29**(4): 655-660, viii-ix.(2008)
- Singer, M., V. De Santis, D. Vitale et W. Jeffcoate. "Multiorgan failure is an adaptive, endocrine-mediated, metabolic response to overwhelming systemic inflammation." *Lancet* **364**(9433): 545-548.(2004)
- Singh, N. et L. Li. "Reduced oxidative tissue damage during endotoxemia in IRAK-1 deficient mice." *Mol Immunol* **50**(4): 244-252.(2012)
- Smeding, L., F. B. Plotz, A. B. Groeneveld et M. C. Kneyber. "Structural changes of the heart during severe sepsis or septic shock." *Shock* **37**(5): 449-456.(2012)
- Smith, M. F., Jr., D. Eidlen, W. P. Arend et A. Gutierrez-Hartmann. "LPS-induced expression of the human IL-1 receptor antagonist gene is controlled by multiple interacting promoter elements." *J Immunol* **153**(8): 3584-3593.(1994)
- Solomon, M. A., R. Correa, H. R. Alexander, L. A. Koev, J. P. Cobb, D. K. Kim, W. C. Roberts, Z. M. Quezado, T. D. Scholz, R. E. Cunnion et et al. "Myocardial energy metabolism and morphology in a canine model of sepsis." *Am J Physiol* **266**(2 Pt 2): H757-768.(1994)

- Song, G. Y., C. S. Chung, I. H. Chaudry et A. Ayala. "IL-4-induced activation of the Stat6 pathway contributes to the suppression of cell-mediated immunity and death in sepsis." *Surgery* **128**(2): 133-138.(2000)
- Song, G. Y., C. S. Chung, M. G. Schwacha, D. Jarrar, I. H. Chaudry et A. Ayala. "Splenic immune suppression in sepsis: A role for IL-10-induced changes in P38 MAPK signaling." *J Surg Res* **83**(1): 36-43.(1999)
- Soriano, F. G., A. C. Nogueira, E. G. Caldini, M. H. Lins, A. C. Teixeira, S. B. Cappi, P. A. Lotufo, M. M. Bernik, Z. Zsengeller, M. Chen et C. Szabo. "Potential role of poly(adenosine 5'-diphosphate-ribose) polymerase activation in the pathogenesis of myocardial contractile dysfunction associated with human septic shock." *Crit Care Med* **34**(4): 1073-1079.(2006)
- Sort, P., M. Navasa, V. Arroyo, X. Aldeguer, R. Planas, L. Ruiz-del-Arbol, L. Castells, V. Vargas, G. Soriano, M. Guevara, P. Gines et J. Rodes. "Effect of intravenous albumin on renal impairment and mortality in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis." *N Engl J Med* **341**(6): 403-409.(1999)
- Spasojevic, I., B. Obradovic et S. Spasic. "Bench-to-bedside review: Neonatal sepsis - redox processes in pathogenesis." *Crit Care* **16**(3): 221.(2012)
- Sprung, C. L., Y. Sakr, J. L. Vincent, J. R. Le Gall, K. Reinhart, V. M. Ranieri, H. Gerlach, J. Fielden, C. B. Groba et D. Payen. "An evaluation of systemic inflammatory response syndrome signs in the Sepsis Occurrence In Acutely Ill Patients (SOAP) study." *Intensive Care Med* **32**(3): 421-427.(2006)
- Staudenmayer, K. L., R. V. Maier, S. Jelacic et E. M. Bulger. "Hypertonic saline modulates innate immunity in a model of systemic inflammation." *Shock* **23**(5): 459-463.(2005)
- Steinberg, B. E., N. M. Goldenberg et W. L. Lee. "Do viral infections mimic bacterial sepsis? The role of microvascular permeability: A review of mechanisms and methods." *Antiviral Res* **93**(1): 2-15.(2012)
- Stewart, D. L., T. V. Dela Cruz, C. Ziegler et L. J. Goldsmith. "The use of extracorporeal membrane oxygenation in patients with gram-negative or viral sepsis." *Perfusion* **12**(1): 3-8.(1997)
- Su, F., Z. Wang, Y. Cai, P. Rogiers et J. L. Vincent. "Fluid resuscitation in severe sepsis and septic shock: albumin, hydroxyethyl starch, gelatin or ringer's lactate-does it really make a difference?" *Shock* **27**(5): 520-526.(2007)
- Suliman, H. B., M. S. Carraway et C. A. Piantadosi. "Postlipopolysaccharide oxidative damage of mitochondrial DNA." *Am J Respir Crit Care Med* **167**(4): 570-579.(2003)
- Suliman, H. B., K. E. Welty-Wolf, M. Carraway, L. Tatro et C. A. Piantadosi. "Lipopolysaccharide induces oxidative cardiac mitochondrial damage and biogenesis." *Cardiovasc Res* **64**(2): 279-288.(2004)
- Supinski, G. S. et L. A. Callahan. "Polyethylene glycol-superoxide dismutase prevents endotoxin-induced cardiac dysfunction." *Am J Respir Crit Care Med* **173**(11): 1240-1247.(2006)
- Suzuki, T., T. Kumazaki et Y. Mitsui. "Endothelin-1 is produced and secreted by neonatal rat cardiac myocytes in vitro." *Biochem Biophys Res Commun* **191**(3): 823-830.(1993)
- Szabo, C. et K. Modis. "Pathophysiological roles of peroxynitrite in circulatory shock." *Shock* **34 Suppl 1**: 4-14.(2010)

- Takahashi, M., J. Nishihira, M. Shimpo, Y. Mizue, S. Ueno, H. Mano, E. Kobayashi, U. Ikeda et K. Shimada. "Macrophage migration inhibitory factor as a redox-sensitive cytokine in cardiac myocytes." *Cardiovasc Res* **52**(3): 438-445.(2001)
- Takeda, K. et S. Akira. "Microbial recognition by Toll-like receptors." *J Dermatol Sci* **34**(2): 73-82.(2004)
- Takeuchi, O. et S. Akira. "Pattern recognition receptors and inflammation." *Cell* **140**(6): 805-820.(2010)
- Takil, A., Z. Eti, P. Irmak et F. Yilmaz Gogus. "Early postoperative respiratory acidosis after large intravascular volume infusion of lactated ringer's solution during major spine surgery." *Anesth Analg* **95**(2): 294-298, table of contents.(2002)
- Tamion, F. "[Albumin in sepsis]." *Ann Fr Anesth Reanim* **29**(9): 629-634.(2010)
- Tamion, F., F. Bauer, V. Richard, K. Laude, S. Renet, M. Slama et C. Thuillez. "Myocardial dysfunction in early state of endotoxemia role of heme-oxygenase-1." *J Surg Res* **158**(1): 94-103.(2010)
- Tatemichi, M., T. Ogura, N. Sakurazawa, H. Nagata, M. Sugita et H. Esumi. "Inducible nitric oxide synthase activity induced by sodium chloride solution prolongs luminal pH elevation in rat and mouse stomachs." *J Gastroenterol Hepatol* **18**(9): 1039-1046.(2003)
- Tattevin, P., D. Monnier, O. Tribut, J. Dulong, N. Bescher, F. Mourcin, F. Uhel, Y. Le Tulzo et K. Tarte. "Enhanced indoleamine 2,3-dioxygenase activity in patients with severe sepsis and septic shock." *J Infect Dis* **201**(6): 956-966.(2010)
- Tavener, S. A. et P. Kubes. "Cellular and molecular mechanisms underlying LPS-associated myocyte impairment." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **290**(2): H800-806.(2006)
- Teijaro, J. R., K. B. Walsh, S. Cahalan, D. M. Fremgen, E. Roberts, F. Scott, E. Martinborough, R. Peach, M. B. Oldstone et H. Rosen. "Endothelial cells are central orchestrators of cytokine amplification during influenza virus infection." *Cell* **146**(6): 980-991.(2011)
- Terman, A. et U. T. Brunk. "Autophagy in cardiac myocyte homeostasis, aging, and pathology." *Cardiovasc Res* **68**(3): 355-365.(2005)
- Thalayasingam, N. et J. D. Isaacs. "Anti-TNF therapy." *Best Pract Res Clin Rheumatol* **25**(4): 549-567.(2011)
- Thys, D. M. "Training, certification, and credentialing in transesophageal echocardiography." *J Cardiothorac Vasc Anesth* **10**(3): 309-310.(1996)
- Tokunaga, C., R. M. Bateman, J. Boyd, Y. Wang, J. A. Russell et K. R. Walley. "Albumin resuscitation improves ventricular contractility and myocardial tissue oxygenation in rat endotoxemia." *Crit Care Med* **35**(5): 1341-1347.(2007)
- Torgersen, C., P. Moser, G. Luckner, V. Mayr, S. Jochberger, W. R. Hasibeder et M. W. Dunser. "Macroscopic postmortem findings in 235 surgical intensive care patients with sepsis." *Anesth Analg* **108**(6): 1841-1847.(2009)
- Torres-Duenas, D., C. F. Benjamim, S. H. Ferreira et F. Q. Cunha. "Failure of neutrophil migration to infectious focus and cardiovascular changes on sepsis in rats: Effects of the inhibition of nitric oxide production, removal of infectious focus, and antimicrobial treatment." *Shock* **25**(3): 267-276.(2006)
- Trof, R. J. et A. B. Groeneveld. "Use of synthetic colloids in sepsis: a critical review on efficacy, safety and patient benefits." *Minerva Anesthesiol* **77**(12): 1216-1223.(2011)
- Trof, R. J., S. P. Sukul, J. W. Twisk, A. R. Girbes et A. B. Groeneveld. "Greater cardiac response of colloid than saline fluid loading in septic and non-septic critically ill patients with clinical hypovolaemia." *Intensive Care Med* **36**(4): 697-701.(2010)

- Tsao, C. M., H. C. Huang, Z. F. Chen, W. J. Liaw, W. M. Lue, A. Chen, S. J. Chen et C. C. Wu. "Beneficial effects of hyperoncotic albumin on liver injury and survival in peritonitis-induced sepsis rats." *Shock* **35**(2): 210-216.(2011)
- Tu, J., Q. Shan, H. Jin, J. P. Bourreau et Q. Xia. "Endothelin-1-mediated coronary vasoconstriction deteriorates myocardial depression in hearts isolated from lipopolysaccharide-treated rats: interaction with nitric oxide." *Clin Exp Pharmacol Physiol* **31**(9): 571-574.(2004)
- Tunctan, B., B. Korkmaz, A. N. Sari, M. Kacan, D. Unsal, M. S. Serin, C. K. Buharalioglu, S. Sahan-Firat, T. Cuez, W. H. Schunck, V. L. Manthati, J. R. Falck et K. U. Malik. "Contribution of iNOS/sGC/PKG pathway, COX-2, CYP4A1, and gp91 to the protective effect of 5,14-HEDGE, a 20-HETE mimetic, against vasodilation, hypotension, tachycardia, and inflammation in a rat model of septic shock." *Nitric Oxide* **33C**: 18-41.(2013)
- Turdi, S., X. Han, A. F. Huff, N. D. Roe, N. Hu, F. Gao et J. Ren. "Cardiac-specific overexpression of catalase attenuates lipopolysaccharide-induced myocardial contractile dysfunction: Role of autophagy." *Free Radic Biol Med* **53**(6): 1327-1338.(2012)
- Turner, K. L., L. J. Moore, S. R. Todd, J. F. Sucher, S. A. Jones, B. A. McKinley, A. Valdivia, R. M. Sailors et F. A. Moore. "Identification of cardiac dysfunction in sepsis with B-type natriuretic peptide." *J Am Coll Surg* **213**(1): 139-146; discussion 146-137.(2011)
- Urbano, J., J. Lopez-Herce, M. J. Solana, J. Del Castillo, M. Botran et J. M. Bellon. "Comparison of normal saline, hypertonic saline and hypertonic saline colloid resuscitation fluids in an infant animal model of hypovolemic shock." *Resuscitation* **83**(9): 1159-1165.(2012)
- van der Poll, T., J. D. de Boer et M. Levi. "The effect of inflammation on coagulation and vice versa." *Curr Opin Infect Dis* **24**(3): 273-278.(2011)
- Van der Poll, T. et M. Levi. "Crosstalk between Inflammation and Coagulation: The Lessons of Sepsis." *Curr Vasc Pharmacol*.(2012)
- van Haren, F. M., J. Sleigh, E. C. Boerma, M. La Pine, M. Bahr, P. Pickkers et J. G. van der Hoeven. "Hypertonic fluid administration in patients with septic shock: a prospective randomized controlled pilot study." *Shock* **37**(3): 268-275.(2012)
- Velasco, I. T., V. Pontieri, M. Rocha e Silva, Jr. et O. U. Lopes. "Hyperosmotic NaCl and severe hemorrhagic shock." *Am J Physiol* **239**(5): H664-673.(1980)
- ver Elst, K. M., H. D. Spapen, D. N. Nguyen, C. Garbar, L. P. Huyghens et F. K. Gorus. "Cardiac troponins I and T are biological markers of left ventricular dysfunction in septic shock." *Clin Chem* **46**(5): 650-657.(2000)
- Victorino, G. P., C. R. Newton et B. Curran. "Effect of hypertonic saline on microvascular permeability in the activated endothelium." *J Surg Res* **112**(1): 79-83.(2003)
- Vieillard-Baron, A., V. Caille, C. Charron, G. Belliard, B. Page et F. Jardin. "Actual incidence of global left ventricular hypokinesia in adult septic shock." *Crit Care Med* **36**(6): 1701-1706.(2008)
- Vincent, J. L., M. J. Dubois, R. J. Navickis et M. M. Wilkes. "Hypoalbuminemia in acute illness: is there a rationale for intervention? A meta-analysis of cohort studies and controlled trials." *Ann Surg* **237**(3): 319-334.(2003)
- Vincent, J. L. et H. Gerlach. "Fluid resuscitation in severe sepsis and septic shock: an evidence-based review." *Crit Care Med* **32**(11 Suppl): S451-454.(2004)

- Vincent, J. L. et L. Gattin. "Type of fluid in severe sepsis and septic shock." *Minerva Anestesiol* **77**(12): 1190-1196.(2011)
- Vincent, J. L., Y. Sakr, K. Reinhart, C. L. Sprung, H. Gerlach et V. M. Ranieri. "Is albumin administration in the acutely ill associated with increased mortality? Results of the SOAP study." *Crit Care* **9**(6): R745-754.(2005)
- Vincent, J. L., Y. Sakr, C. L. Sprung, V. M. Ranieri, K. Reinhart, H. Gerlach, R. Moreno, J. Carlet, J. R. Le Gall et D. Payen. "Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study." *Crit Care Med* **34**(2): 344-353.(2006)
- Vlahakos, D., N. Arkadopoulos, G. Kostopanagiotou, S. Siasiakou, L. Kaklamanis, D. Degiannis, M. Demonakou et V. Smyrniotis. "Deferoxamine attenuates lipid peroxidation, blocks interleukin-6 production, ameliorates sepsis inflammatory response syndrome, and confers renoprotection after acute hepatic ischemia in pigs." *Artif Organs* **36**(4): 400-408.(2012)
- Waagstein, L., H. Haljamae, S. E. Ricksten et L. Sahlman. "Effects of hypertonic saline on myocardial function and metabolism in nonischemic and ischemic isolated working rat hearts." *Crit Care Med* **23**(11): 1890-1897.(1995)
- Waikar, S. S. et G. M. Chertow. "Crystalloids versus colloids for resuscitation in shock." *Curr Opin Nephrol Hypertens* **9**(5): 501-504.(2000)
- Walley, K. R., T. E. McDonald, Y. Wang, S. Dai et J. A. Russell. "Albumin resuscitation increases cardiomyocyte contractility and decreases nitric oxide synthase II expression in rat endotoxemia." *Crit Care Med* **31**(1): 187-194.(2003)
- Wang, C. Y. et L. Y. Chau. "Heme oxygenase-1 in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and clinical perspectives." *Chang Gung Med J* **33**(1): 13-24.(2010)
- Wang, H. et S. Ma. "The cytokine storm and factors determining the sequence and severity of organ dysfunction in multiple organ dysfunction syndrome." *Am J Emerg Med* **26**(6): 711-715.(2008)
- Wang, W. W., D. L. Smith et S. D. Zucker. "Bilirubin inhibits iNOS expression and NO production in response to endotoxin in rats." *Hepatology* **40**(2): 424-433.(2004)
- Wang, Y., H. Liu, G. McKenzie, P. K. Witting, J. P. Stasch, M. Hahn, D. Changsirivathanathamrong, B. J. Wu, H. J. Ball, S. R. Thomas, V. Kapoor, D. S. Celermajer, A. L. Mellor, J. F. Keaney, Jr., N. H. Hunt et R. Stocker. "Kynurenine is an endothelium-derived relaxing factor produced during inflammation." *Nat Med* **16**(3): 279-285.(2010)
- Ward, P. A. "Role of C5 activation products in sepsis." *ScientificWorldJournal* **10**: 2395-2402.(2010)
- Ward, P. A., R. F. Guo et N. C. Riedemann. "Manipulation of the complement system for benefit in sepsis." *Crit Care Res Pract* **2012**: 427607.(2012)
- Ware, L. B., J. P. Fessel, A. K. May et L. J. Roberts, 2nd. "Plasma biomarkers of oxidant stress and development of organ failure in severe sepsis." *Shock* **36**(1): 12-17.(2011)
- Watanabe, E., J. T. Muenzer, W. G. Hawkins, C. G. Davis, D. J. Dixon, J. E. McDunn, D. J. Brackett, M. R. Lerner, P. E. Swanson et R. S. Hotchkiss. "Sepsis induces extensive autophagic vacuolization in hepatocytes: a clinical and laboratory-based study." *Lab Invest* **89**(5): 549-561.(2009)
- Watters, T. M., E. F. Kenny et L. A. O'Neill. "Structure, function and regulation of the Toll/IL-1 receptor adaptor proteins." *Immunol Cell Biol* **85**(6): 411-419.(2007)

- Weber, T. P., A. Meissner, P. Boknik, M. G. Hartlage, T. Mollhoff, H. Van Aken et N. Rolf. "Hemin, inducer of heme-oxygenase 1, improves functional recovery from myocardial stunning in conscious dogs." *J Cardiothorac Vasc Anesth* **15**(4): 422-427.(2001)
- Westphal, M., M. F. James, S. Kozek-Langenecker, R. Stocker, B. Guidet et H. Van Aken. "Hydroxyethyl starches: different products--different effects." *Anesthesiology* **111**(1): 187-202.(2009)
- Weytjens, C., B. Cosyns, J. D'Hooge, C. Gallez, S. Droogmans, T. Lahoute, P. Franken et G. Van Camp. "Doppler myocardial imaging in adult male rats: reference values and reproducibility of velocity and deformation parameters." *Eur J Echocardiogr* **7**(6): 411-417.(2006)
- Wiedermann, C. J. "Systematic review of randomized clinical trials on the use of hydroxyethyl starch for fluid management in sepsis." *BMC Emerg Med* **8**: 1.(2008)
- Wiersinga, W. J. "Current insights in sepsis: from pathogenesis to new treatment targets." *Curr Opin Crit Care* **17**(5): 480-486.(2011)
- Wiesel, P., A. P. Patel, N. DiFonzo, P. B. Marria, C. U. Sim, A. Pellacani, K. Maemura, B. W. LeBlanc, K. Marino, C. M. Doerschuk, S. F. Yet, M. E. Lee et M. A. Perrella. "Endotoxin-induced mortality is related to increased oxidative stress and end-organ dysfunction, not refractory hypotension, in heme oxygenase-1-deficient mice." *Circulation* **102**(24): 3015-3022.(2000)
- Wildenthal, K., C. L. Skelton et H. N. Coleman, 3rd. "Cardiac muscle mechanics in hyperosmotic solutions." *Am J Physiol* **217**(1): 302-306.(1969)
- Wolin, M. S., S. A. Gupte et R. A. Oeckler. "Superoxide in the vascular system." *J Vasc Res* **39**(3): 191-207.(2002)
- Woodcock, T. E. et T. M. Woodcock. "Revised Starling equation and the glycocalyx model of transvascular fluid exchange: an improved paradigm for prescribing intravenous fluid therapy." *Br J Anaesth* **108**(3): 384-394.(2012)
- Worou, M. E., K. Belmokhtar, P. Bonnet, P. Vourc'h, M. C. Machet, G. Khamis et V. Eder. "Hemin decreases cardiac oxidative stress and fibrosis in a rat model of systemic hypertension via PI3K/Akt signalling." *Cardiovasc Res* **91**(2): 320-329.(2011)
- Wu, A. H. "Increased troponin in patients with sepsis and septic shock: myocardial necrosis or reversible myocardial depression?" *Intensive Care Med* **27**(6): 959-961.(2001)
- Wu, C. C. "Possible interventional therapies in severe sepsis or septic shock." *Acta Anaesthesiol Taiwan* **50**(2): 74-77.(2012)
- Wu, Y. W. et Y. H. Tsai. "Characterization of and mechanism for copper-induced thioureation of serum albumin." *Bioconjug Chem* **19**(9): 1822-1830.(2008)
- Xiong, Y. et A. E. Medvedev. "Induction of endotoxin tolerance in vivo inhibits activation of IRAK4 and increases negative regulators IRAK-M, SHIP-1, and A20." *J Leukoc Biol* **90**(6): 1141-1148.(2011)
- Xiong, Y., F. Qiu, W. Piao, C. Song, L. M. Wahl et A. E. Medvedev. "Endotoxin tolerance impairs IL-1 receptor-associated kinase (IRAK) 4 and TGF-beta-activated kinase 1 activation, K63-linked polyubiquitination and assembly of IRAK1, TNF receptor-associated factor 6, and IkappaB kinase gamma and increases A20 expression." *J Biol Chem* **286**(10): 7905-7916.(2011)
- Xu, C., C. Yi, H. Wang, I. C. Bruce et Q. Xia. "Mitochondrial nitric oxide synthase participates in septic shock myocardial depression by nitric oxide overproduction and mitochondrial permeability transition pore opening." *Shock* **37**(1): 110-115.(2012)

- Yang, J. J., M. H. Ji, J. Sun et Y. G. Peng. "Levosimendan for treatment of septic shock: homeotherapy or inadequate therapy?" *Acta Anaesthesiol Scand* **55**(9): 1147; author reply 1147-1148.(2011)
- Yang, K. H., H. Fang, J. S. Ye, J. Z. Gong, J. T. Wang et W. F. Xu. "The main functions and structural modifications of tripeptide N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP) as a chemotactic factor." *Pharmazie* **63**(11): 779-783.(2008)
- Yao, H., J. Tu, Q. X. Shan et Q. Xia. "[Endothelin-1 and nitric oxide mediated the lipopolysaccharide-induced cardiac negative inotropic role]." *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi* **25**(2): 228-232.(2009)
- Yoon, S. H. "Concerns of the anesthesiologist: anesthetic induction in severe sepsis or septic shock patients." *Korean J Anesthesiol* **63**(1): 3-10.(2012)
- Yoon, Y. H., S. H. Choi, Y. S. Hong, S. W. Lee, S. W. Moon, H. J. Cho, C. Han, Y. J. Cheon et V. Bansal. "Effect of hypertonic saline and macrophage migration inhibitory factor in restoration of T cell dysfunction." *J Korean Surg Soc* **81**(4): 229-234.(2011)
- Yost, C. C., A. S. Weyrich et G. A. Zimmerman. "The platelet activating factor (PAF) signaling cascade in systemic inflammatory responses." *Biochimie* **92**(6): 692-697.(2010)
- Young, J. D. "The heart and circulation in severe sepsis." *Br J Anaesth* **93**(1): 114-120.(2004)
- Young, J. D. et E. M. Cameron. "Dynamics of skin blood flow in human sepsis." *Intensive Care Med* **21**(8): 669-674.(1995)
- Yu, H. P., P. W. Lui, T. L. Hwang, C. H. Yen et Y. T. Lau. "Propofol improves endothelial dysfunction and attenuates vascular superoxide production in septic rats." *Crit Care Med* **34**(2): 453-460.(2006)
- Yuhki, K., F. Kojima, H. Kashiwagi, J. Kawabe, T. Fujino, S. Narumiya et F. Ushikubi. "Roles of prostanoids in the pathogenesis of cardiovascular diseases: Novel insights from knockout mouse studies." *Pharmacol Ther* **129**(2): 195-205.(2011)
- Zang, Q., D. L. Maass, S. J. Tsai et J. W. Horton. "Cardiac mitochondrial damage and inflammation responses in sepsis." *Surg Infect (Larchmt)* **8**(1): 41-54.(2007)
- Zanotti-Cavazzoni, S. L., M. Guglielmi, J. E. Parrillo, T. Walker, R. P. Dellinger et S. M. Hollenberg. "Fluid resuscitation influences cardiovascular performance and mortality in a murine model of sepsis." *Intensive Care Med* **35**(4): 748-754.(2009)
- Zanotti-Cavazzoni, S. L. et S. M. Hollenberg. "Cardiac dysfunction in severe sepsis and septic shock." *Curr Opin Crit Care* **15**(5): 392-397.(2009)
- Zarychanski, R., A. F. Turgeon, D. A. Fergusson, D. J. Cook, P. Hebert, S. M. Bagshaw, D. Monsour et L. McIntyre. "Renal outcomes and mortality following hydroxyethyl starch resuscitation of critically ill patients: systematic review and meta-analysis of randomized trials: ATTENTION: The analysis and conclusions of this article are being revised by the authors. This is due to the journal *Anesthesia and Analgesia*'s retraction of a paper by Dr. Joachim Boldt, an author in seven of the studies analyzed in this review. As such, the editors of *Open Medicine* recommend interpreting this review with extreme caution until Zarychanski et al. publish a new analysis and interpretation in *Open Medicine*. For more information, see *Anesthesia and Analgesia*'s press release." *Open Med* **3**(4): e196-209.(2009)
- Zausig, Y. A., D. Geilfus, G. Missler, B. Sinner, B. M. Graf et W. Zink. "Direct cardiac effects of dobutamine, dopamine, epinephrine, and levosimendan in isolated septic rat hearts." *Shock* **34**(3): 269-274.(2010)

- Zhang, T. et Q. Feng. "Nitric oxide and calcium signaling regulate myocardial tumor necrosis factor-alpha expression and cardiac function in sepsis." *Can J Physiol Pharmacol* **88**(2): 92-104.(2010)
- Zhang, T., X. Lu, P. Arnold, Y. Liu, R. Baliga, H. Huang, J. A. Bauer et Q. Feng. "Mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 inhibits myocardial TNF-alpha expression and improves cardiac function during endotoxemia." *Cardiovasc Res* **93**(3): 471-479.(2012)
- Zhang, W. J. et B. Frei. "Albumin selectively inhibits TNF alpha-induced expression of vascular cell adhesion molecule-1 in human aortic endothelial cells." *Cardiovasc Res* **55**(4): 820-829.(2002)
- Ziolo, M. T. et D. M. Bers. "The real estate of NOS signaling: location, location, location." *Circ Res* **92**(12): 1279-1281.(2003)