

Mémoire de Maîtrise en médecine No 2426

# **La carboxyhémoglobine, un nouveau marqueur pronostique après chirurgie cardiaque en circulation extra-corporelle?**

## **Etudiante**

Marie-Pierre Mathey

## **Tuteur**

Prof. Lucas Liaudet

Service de Médecine Intensive Adulte, CHUV

## **Expert**

Dr Piergiorgio Tozzi, PD MER

Service de Chirurgie Cardio-Vasculaire, CHUV

Lausanne, Mai 2015

## 1. Table des matières

1. Table des matières.....	2
2. Résumé. ....	2
3. Introduction .....	4
3.1. Biologie du monoxyde de carbone (CO).....	4
3.1.1. Détection de la formation endogène de CO .....	5
3.1.1.1. Concentration de CO exhalé .....	5
3.1.1.2. Taux de carboxyhémoglobine sanguine .....	5
3.1.1.3. Conditions associées avec une augmentation de la production endogène de CO ....	6
3.2. Chirurgie cardiaque et circulation extracorporelle.....	6
4. But du travail .....	7
5. Matériel et méthode .....	7
5.1. Type d'étude .....	7
5.2. Population étudiée .....	7
5.3. Données recueillies.....	7
5.4. Considérations éthiques.....	8
5.5. Présentation des données et analyses statistiques .....	8
6. Résultats.....	9
6.1. Caractéristiques de la population étudiée: données démographiques, durée de CEC, durée de séjour, mortalité, type de chirurgie .....	9
6.2. Evolution du taux de carboxyhémoglobine .....	10
6.3. Facteurs influençant l'évolution du taux de carboxy-hémoglobine après CEC.....	11
6.4. Corrélation entre CO-Hb et hémodynamique post-CEC. Analyse univariée .....	12
6.5. Corrélation entre CO-Hb post-CEC et marqueurs de lésion/dysfonction d'organes. Analyse univariée .....	14
6.6. Rôle prédicteur indépendant de la CO-Hb sur l'évolution clinique post-CEC. Analyse multivariée. ....	15
6.7. Comparaison du rôle prédicteur indépendant de plusieurs biomarqueurs avec la durée de séjour aux soins intensifs: analyse multivariée. ....	15
6.8. CO-Hb et mortalité post-CEC.....	16
7. Discussion.....	17
7.1. La CEC entraîne une augmentation de la production endogène de CO .....	17
7.2. Production de CO et défaillance circulatoire après CEC.....	18
7.3. Production de CO et dysfonctions d'organes après CEC. ....	19
7.4. La CO-Hb est corrélée de manière indépendante avec l'évolution clinique après CEC .....	21
7.5. CO-Hb et mortalité .....	21
7.6. Limitations de l'étude .....	22
8. Conclusions .....	22
9. Remerciements.....	24
10. Bibliographie .....	25

## 2. Résumé.

**Etat des connaissances.** Le monoxyde de carbone (CO) est un gaz considéré comme un polluant atmosphérique, mais qui est également produit de manière endogène par une enzyme appelée hème oxygénase (HO), qui catabolise le noyau hème de l'hémoglobine en bilirubine, en libérant une molécule de CO. Une isoforme constitutive, dite HO-2, est responsable du catabolisme basal de l'hème, et une autre, dite inductible, ou HO-1, est exprimée sous l'effet de cytokines inflammatoires et de radicaux libres d'oxygène. La production de CO par HO-1 joue un rôle adaptatif, limitant les conséquences du stress inflammatoire. Le CO se lie à l'hémoglobine, formant de la carboxyhémoglobine (CO-Hb) témoignant de la production de CO. Des taux élevés de CO-Hb ont été détectés chez des patients avec état inflammatoire sévère, comme le choc septique. Un état inflammatoire généralisé peut aussi se rencontrer dans d'autres situations, notamment après chirurgie cardiaque sous circulation extra-corporelle (CEC), qui est une technique de maintien du débit de sang oxygéné lorsque le cœur est arrêté. De par son caractère non pulsatile et le contact du sang avec les surfaces de l'appareillage, la CEC peut entraîner un état inflammatoire généralisé, compliqué parfois d'une insuffisance circulatoire et de dysfonctions d'organes. Une étude portant sur un petit nombre de patients a montré que la CEC entraînait une augmentation de la production de CO, mais aucune donnée n'existe évaluant l'impact de cette augmentation sur l'évolution clinique après CEC.

**But du travail.** Nous avons tout d'abord cherché à confirmer que la CEC est associée à une augmentation de la production de CO, puis nous avons voulu déterminer d'éventuelles relations entre cette production de CO et l'évolution post-opératoire des patients.

**Méthode.** Etude rétrospective sur 203 patients opérés cardiaques en CEC en 2011-2012. La CO-Hb a été mesurée par spectrophotométrie du sang artériel au début et à la fin de la CEC, puis toutes les 6 heures pendant 48 heures. Les données démographiques, les scores de gravité SAPS II et APACHE II, la durée de la CEC et la durée de séjour aux soins intensifs ont été répertoriées, ainsi que des données biologiques, hémodynamiques et de traitement. L'hypothèse d'une association entre CO-Hb (valeur moyenne et valeur maximale des premières 48 heures) et les diverses variables a été testée par régression linéaire univariée et le calcul du coefficient de corrélation de Pearson. Le rôle indépendant de la CO-Hb à prédire une mauvaise évolution clinique (définie par un séjour aux soins intensifs de > 48 heures ou une dose de noradrénaline > 30 mg en 48h) a été testé par une analyse de régression logistique multivariée.

**Résultats.** Dans cette étude, nous avons confirmé que la chirurgie cardiaque en CEC était associée à une élévation de la production endogène de CO, évaluée par le taux de CO-Hb. Nous avons en outre pu montrer que cette augmentation était directement corrélée à la durée de la CEC, et qu'elle était associée à une plus grande défaillance circulatoire, une plus grande dysfonction pulmonaire, et, à l'inverse, à une moindre dysfonction hépatique. Finalement, la CO-Hb mesurée dans les suites de la CEC s'est avérée prédire de manière indépendante une mauvaise évolution clinique après la chirurgie.

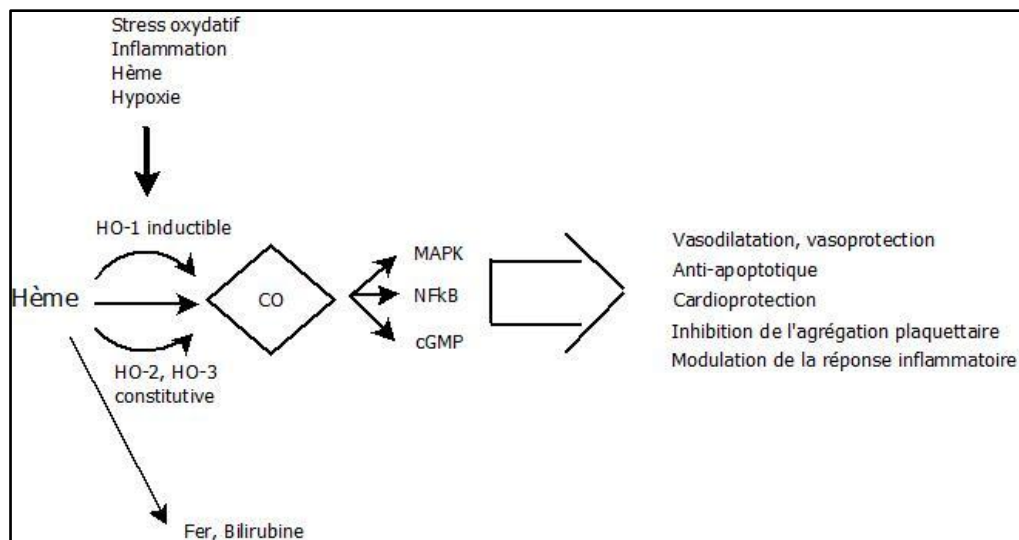
**Conclusions.** La chirurgie cardiaque en CEC entraîne une augmentation de la concentration de carboxy-hémoglobine, directement liée à la durée de la CEC, et corrélée avec divers indices de mauvaise évolution clinique. La carboxy-hémoglobine pourrait ainsi représenter un biomarqueur utile au clinicien pour évaluer la sévérité de la réponse inflammatoire après chirurgie cardiaque en CEC.

### 3. Introduction

#### 3.1. Biologie du monoxyde de carbone (CO)

Le monoxyde de carbone (CO) est un gaz de bas poids moléculaire principalement connu comme polluant atmosphérique, mais qui est aussi produit physiologiquement de manière endogène par l'enzyme hème oxygénase (HO). Cette dernière existe sous 2 isoformes, l'une dite constitutive, ou HO-2, et la seconde, dite induite, ou HO-1, dont l'expression est augmentée sous l'effet de cytokines pro-inflammatoires ou d'un stress oxydatif, via l'activation de facteurs de transcription redox-sensibles. Cette induction enzymatique atteint son maximum une heure après l'exposition au stress, et retourne à son niveau de base après environ six heures. Il s'agit donc d'un phénomène rapidement observable et qui est directement corrélé à l'intensité du stress responsable de son induction, notamment aux concentrations de certaines cytokines telles que l'Interleukine-6 (IL-6) et le tumor-necrosis alpha (TNF- $\alpha$ ), qui représentent des médiateurs prototypiques de l'inflammation (1-4). A noter encore qu'une troisième isoforme (HO-3) a été décrite, dont la fonction et l'existence même sont controversées (2, 5).

HO-1 et HO-2 catalysent la dégradation de l'hème, un groupe prosthétique capable de fixer un métal de transition (principalement le fer) et entrant dans la composition de nombreuses protéines, notamment l'hémoglobine qui transporte l'oxygène dans le sang. La dégradation de l'hème par HO produit de la bilirubine et libère des atomes de fer. Une molécule de CO est également libérée comme produit annexe de cette réaction, tel qu'illustré dans la **Figure 1**. Le CO formé de manière endogène provient pour plus de 80% de la dégradation de l'hème lié à l'hémoglobine, et pour environ 20% de la dégradation d'autres hémoprotéines telles que la myoglobine, les cytochromes ou certaines peroxydases (2, 6, 7). A noter que l'activité des isoformes de HO est stimulée par son substrat. En cas d'hémolyse notamment, l'augmentation de la quantité d'hémoglobine libérée par les globules rouges détruits entraîne ainsi une élévation significative du CO endogène (8).



**Figure 1: Le catabolisme de l'hème par l'enzyme hème-oxygénase.** Lors de la réaction sont formés du monoxyde de carbone (CO), du fer et de la bilirubine. Le CO exerce des effets de signalisation notamment sur la voie des MAP kinases, du

nuclear factor kappaB (NF- $\kappa$ B) et entraîne l'élévation des taux cellulaires de GMP cyclique (cGMP). Ces effets entraînent de multiples actions du CO, telles qu'indiquées.

Le CO possède de nombreuses propriétés biologiques, liées à sa capacité de moduler diverses voies de signalisation, telles les "mitogen-activated protein kinases" (MAP kinases), le facteur de transcription "nuclear factor kappa B" (NF- $\kappa$ B), ou l'enzyme guanylyl-cyclase (GC). L'activation de la GC par le CO entraîne la génération de GMP cyclique (cGMP), un messenger secondaire produisant des effets vasodilatateurs, cytoprotecteurs et anti-inflammatoires. Ces effets confèrent au CO des propriétés régulatrices du système cardiovasculaire, du rythme circadien, de la neurotransmission ou de la réponse immune, pour n'en citer que quelques-unes. Il est remarquable de noter que la capacité du CO de moduler l'activité de la GC est similaire (quoique 30-100 fois moins puissante) à celle d'un autre gaz très important dans la physiologie des eukaryotes, le monoxyde d'azote, ou NO. Au vu de ses nombreuses propriétés, le CO à faibles concentrations pourrait être utile en tant qu'agent thérapeutique, notamment dans les pathologies cardiovasculaires et inflammatoires (2, 4, 7).

### **3.1.1. Détection de la formation endogène de CO**

#### **3.1.1.1. Concentration de CO exhalé**

L'élimination de CO se fait presque exclusivement par les poumons sous forme de CO exhalé. Le CO exhalé augmente par conséquent lors de l'augmentation de pression partielle de CO dans le sang, qui survient soit lors d'exposition excessive (fumeur notamment) ou en cas d'augmentation de l'activité des isoformes de HO, en particulier dans les états inflammatoires et en cas d'hémolyse. La mesure du CO exhalé peut s'effectuer avec des techniques complexes incluant des analyseurs de gaz à infrarouges ou des spectrophotomètres au laser, et de manière plus simple par l'emploi de senseurs électrochimiques ou de spectromètres photo-acoustiques (9). Les valeurs normales de CO exhalé chez le sujet sain sont de l'ordre de 1 à 5 ppm (parts per million), et sont nettement plus élevées chez le fumeur (9) et dans diverses pathologies inflammatoires, notamment le sepsis (10).

#### **3.1.1.2. Taux de carboxyhémoglobine sanguine**

Le CO se lie avec une très grande affinité à l'hémoglobine (200-250 fois supérieure à l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène), formant de la carboxyhémoglobine (CO-Hb), dont la demi-vie est de 4-6 heures (11). La concentration "physiologique" de CO-Hb est très basse (< 1%), reflétant le turnover des protéines hémiques par l'HO-2. La formation de CO-Hb augmente significativement lors d'exposition au CO exogène (cigarette, intoxication au CO accidentelle ou suicidaire), ou lors d'augmentation de production en cas d'hémolyse (12) ou d'état inflammatoire (13). Dans les situations de forte élévation de la CO-Hb (>20%, essentiellement lors d'intoxication), le transport d'oxygène s'en trouve fortement réduit, pouvant entraîner des complications graves, voire le décès (2, 4, 7). Le dosage de la CO-Hb se fait par spectrophotométrie, et le résultat est exprimé en pourcentage de l'hémoglobine totale. Techniquement, un prélèvement de sang (artériel en règle générale) est introduit dans un gazomètre, qui mesure les pressions partielles de certains gaz (oxygène et dioxyde de carbone) par des électrodes spécifiques, et qui mesure également la concentration de l'oxyhémoglobine et de la carboxy-hémoglobine par spectrométrie. Une technique non invasive peut également être utilisée, à savoir la co-oxymétrie de pouls, qui mesure à l'aide d'un capteur transcutané différentes formes d'hémoglobine via leur spectre spécifique d'absorption de la lumière, dont la CO-Hb (SpCO) (14).

### **3.1.1.3. Conditions associées avec une augmentation de la production endogène de CO**

Comme discuté précédemment, une augmentation de la production de CO reflète l'induction de HO-1 par l'inflammation et/ou le stress oxydant, ainsi que l'activation de HO-2 (et de HO-1 lorsqu'elle est induite) par son substrat (hème). Des taux élevés de CO exhalé ou de CO-Hb, témoins de l'augmentation de production endogène de CO, ont été rapportés dans de multiples situations cliniques, incluant des maladies inflammatoires pulmonaires comme l'asthme, la pneumonie, la fibrose idiopathique, la mucoviscidose et le syndrome de détresse respiratoire aiguë (15-19), le sepsis et le trauma (10, 20), ou encore l'anémie hémolytique (12, 21). Il semble en outre exister un lien entre production de CO et pronostic au cours des affections critiques traitées en milieu de soins intensifs. De manière intéressante la mortalité est plus élevée en présence de valeurs très basses ou, au contraire, très hautes (22), suggérant que l'induction de HO-1 puisse avoir des effets protecteurs ou dommageables en fonction du niveau de cette induction.

### **3.2. Chirurgie cardiaque et circulation extracorporelle**

La circulation extracorporelle (CEC, "bypass cardiopulmonaire") est une technique de remplacement transitoire des fonctions cardiaque et pulmonaire utilisée en chirurgie cardiaque afin d'intervenir sur le cœur temporairement arrêté. Les gaz du sang (oxygène, gaz carbonique) sont maintenus au moyen d'un appareil d'échange gazeux extracorporel recevant le sang veineux du patient, et le sang ainsi "artérialisé" est réinjecté dans l'aorte au moyen d'une pompe mécanique. Deux canules sont insérées dans ce but, une dans l'oreillette droite et l'autre dans l'aorte ascendante, ceci permettant de shunter le cœur et les poumons durant l'intervention (23).

La CEC peut entraîner diverses complications liées (a) au caractère non pulsatile du flux sanguin qu'elle génère, (b) au contact du sang avec l'air et les surfaces étrangères de l'appareillage, (c) à l'anticoagulation nécessaire au bon fonctionnement de la CEC et (d) à l'hypothermie induite par le refroidissement du sang dans le circuit extracorporel. Couplée au traumatisme chirurgical, ces perturbations favorisent le développement d'une réaction inflammatoire systémique, communément appelé syndrome post-pompe ("postperfusion syndrome"), ou SIRS (syndrome inflammatoire systémique), caractérisé par une dysfonction d'organes (rein, cœur, poumon, intestin, coagulation, cerveau) et un état fébrile d'origine non infectieuse (24-26). Les mécanismes principaux de cette inflammation comportent l'activation de la coagulation et du complément, ainsi que des phénomènes d'ischémie-reperfusion, notamment au niveau du cœur, des poumons, des reins et de l'intestin. Le dommage secondaire de la muqueuse intestinale induit une hyperperméabilité de cette dernière, favorisant la translocation de molécules telle que l'endotoxine bactérienne dans le sang. Il s'ensuit une libération systémique de cytokines et de radicaux libres, ainsi qu'une activation cellulaire (leucocytes, cellules endothéliales), provoquant une réponse inflammatoire généralisée, dont la sévérité est proportionnelle à la durée de CEC (24).

Le stress oxydatif et l'inflammation associés à la CEC, de même qu'un certain degré d'hémolyse par traumatisme mécanique des globules rouges dans le circuit de CEC, sont autant de facteurs pouvant favoriser l'activation de HO-1 et ainsi, élever la production endogène

de CO. Cette hypothèse est soutenue par l'observation d'une augmentation de l'expression de HO-1 dans les globules blancs circulants de patients, après CEC (27), et par l'observation d'une élévation du CO exhalé et de la CO-Hb après CEC rapportée dans une petite étude clinique (28). Toutefois, cette étude n'a donné aucune indication concernant d'éventuelles relations entre le taux de CO-Hb (ou CO exhalé) après CEC et l'évolution de certaines variables cliniques. Il serait notamment important d'évaluer si un lien existe entre l'augmentation de la production endogène de CO et la durée de CEC, la sévérité de l'inflammation post-CEC, ou des marqueurs pronostiques comme la durée de séjour et la mortalité. De telles observations permettraient d'envisager la mesure de la CO-Hb comme un biomarqueur cliniquement utile chez les patients subissant une CEC. C'est dans cette optique que le présent travail a été effectué.

#### **4. But du travail**

Dans le contexte de l'état inflammatoire induit par la CEC, il a été montré dans une étude de petite taille une augmentation de la production endogène de CO (28), mais sans qu'aucune relation entre cette augmentation et d'éventuelles conséquences cliniques n'aient été établies. Notre travail a par conséquent poursuivi trois objectifs principaux:

- a) Confirmer à large échelle l'augmentation de la production endogène de CO après la CEC, évaluée par le dosage de la CO-Hb et décrire la cinétique de cette production.
- b) Rechercher des corrélations possibles entre les taux de CO-Hb post-CEC et la durée de la CEC, ainsi que diverses variables cliniques, biologiques, thérapeutiques et pronostiques après la chirurgie.
- c) Tester l'hypothèse que le taux de carboxyhémoglobine dans la période post-opératoire est un biomarqueur de l'inflammation systémique associée à la CEC au cours de la chirurgie cardiaque.

#### **5. Matériel et méthode**

##### **5.1. Type d'étude**

Etude rétrospective par analyse de la base de données clinique Metavision (iMDsoft®). Metavision est un logiciel d'information clinique utilisé dans le service de médecine intensive adulte (SMIA) du CHUV. Nous avons également répertorié les informations contenues dans les rapports médicaux de sortie des patients, avec l'aval de la commission d'éthique de l'hôpital. Les données ont été incorporées à un fichier Excel dédié spécifiquement à notre étude.

##### **5.2. Population étudiée**

203 patients consécutifs admis dans le SMIA après chirurgie cardiaque en CEC entre 2011 et 2012.

##### **5.3. Données recueillies**

Les données démographiques, les scores de gravité SAPS II et APACHE II (scores effectués à partir d'un grand nombre de valeurs physiologiques et biologiques obtenues au cours des premières 24 heures aux soins intensifs), la durée de la CEC et les données concernant la mortalité et la durée de séjour hospitalier ont été répertoriées. Nous avons ensuite recueilli, sur

une période de 48 heures post-opératoires des données biologiques, hémodynamiques, ainsi que des données relatives aux différents traitements administrés, tel qu'indiqué dans le tableau 1. Concernant la détermination de la carboxy-hémoglobine, celle-ci a été effectuées par spectrophotométrie du sang artériel prélevé juste avant la CEC, à l'arrivée aux soins intensifs, puis toutes les 6 heures durant les 48 premières heures, au moyen d'un co-oxymètre de marque Chiron Diagnostics RL865 (Dietikon, Suisse).

Données cliniques	Données biologiques (0-48 h)	Hémodynamique (0-48h)	Traitement (0-48h)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Age</li> <li>• Genre</li> <li>• Scores SAPS II et APACHE II</li> <li>• Type de chirurgie</li> <li>• Durée de la CEC</li> <li>• Durée de séjour</li> <li>• Décès / Survie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CO-Hb</li> <li>• Gaz du sang</li> <li>• Lactate</li> <li>• Créatinine, urée</li> <li>• ASAT, ALAT</li> <li>• CK, Troponine</li> <li>• Formule sanguine</li> <li>• CRP</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FC</li> <li>• PAM</li> <li>• Rythme</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Noradrénaline</li> <li>• Bilan hydrique</li> </ul>

Tableau 1. Données recueillies.

Abréviations: ALAT: alanine aminotransférase; APACHE : Acute Physiology And Chronic Health Evaluation; ASAT: aspartate aminotransférase; CK: créatine kinase; FC: fréquence cardiaque; PAM: pression artérielle moyenne; SAPS: Simplified Acute Physiology Score ; CRP: Protéine C-réactive; CO-Hb: Carboxy-hémoglobine.

#### 5.4. Considérations éthiques

La commission d'éthique cantonale de la recherche sur l'être humain a donné son accord pour notre projet. L'analyse des données des patients s'est faite anonymement, rendant impossible l'identification des patients ayant été inclus dans cette étude.

#### 5.5. Présentation des données et analyses statistiques

Les variables continues sont présentées par leurs moyennes et leurs déviations standards. Les variables catégorielles sont présentées en pourcentages. L'hypothèse d'une association entre les valeurs de CO-Hb (valeur moyenne et valeur maximale des premières 48 heures) et l'ensemble des variables continues a été testée par régression linéaire univariée et le calcul du coefficient de corrélation ( $R^2$ , coefficient de Pearson).

Dans un deuxième temps, nous avons construit un modèle d'analyse multivariée par régression logistique pour évaluer le rôle prédictif indépendant de la CO-Hb sur diverses variables associées avec une évolution clinique défavorable, incluant la durée de séjour aux soins intensifs, la quantité de noradrénaline administrée, et la durée de ventilation mécanique, ces



dernières ayant été dichotomisées en variables catégorielles pour effectuer l'analyse (durée de séjour < ou > 48 h, durée de ventilation < ou > 48 h et noradrénaline < ou > que la quantité médiane administrée à la population étudiée). Outre la CO-Hb, nous avons intégré au modèle diverses autres variables prédictives potentielles, à savoir le score SAPS II, l'âge, le sexe, le type de chirurgie (coronarienne, valvulaire, mixte) et la durée de la CEC.

Nous avons également comparé la capacité prédictive de divers biomarqueurs inflammatoires (CRP, leucocytes, lactate et CO-Hb) à pronostiquer une mauvaise évolution, décrite comme une durée de séjour aux soins intensifs > 48h, en intégrant ces diverses variables dans un modèle de régression logistique multivarié.

Finalement, nous avons comparé l'évolution de la CO-Hb (ainsi que de nombreuses autres variables) entre patients survivants et non survivants, en utilisant le test *t* de Student. Nous n'avons pas fait d'analyse plus avancée sur la mortalité, en raison de sa faible incidence (13/203, 6.4%).

Pour les différents tests, une valeur de probabilité *p* de l'hypothèse nulle (qui est celle de l'absence d'association entre les variables) plus petite que 5% ( $p < 0.05$ ) a été retenue comme statistiquement significative. Toutes les analyses ont été effectuées avec le programme JMP version 11.11.1 (SAS institute Inc.).

## 6. Résultats

### 6.1. Caractéristiques de la population étudiée: données démographiques, durée de CEC, durée de séjour, mortalité, type de chirurgie

Notre population se compose de 203 patients, dont une majorité d'homme (68,5%), d'âge moyen de 64 ans (**Tableau 2**). Les scores moyens SAPS II (32) et APACHE II (18.9), indiquent un risque de mortalité théorique de 13 % (SAPS II) et 17 % (APACHE II). La mortalité effective dans notre population a été de 13 patients, soit une proportion de 6.4%. Les autres valeurs sont

Âge (années)	64 (12)
Genre (F/H; n; %)	64 /139 (31.5/68.5)
SAPS II	32.0 (12.2)
APACHE II	18.9 (5.8)
Durée CEC (min)	96.1 (34.8)
LOS, hôpital (jours)	20.5 (24.0)
LOS, SMIA (jours)	3.7 (6.0)
Mortalité (n)	13 (6.4%)

Tableau 2. Caractéristiques de la population.

Toutes les valeurs (sauf mortalité) sont indiquées en moyennes (déviations standard).

Abréviations: APACHE, Acute Physiology And Chronic Health Evaluation; LOS, Length of Stay (durée de séjour); SAPS II, Simplified Acute Physiology Score.

indiquées dans le tableau 2. Le type de chirurgie pratiquée chez les patients étudiés a consisté prioritairement en chirurgie valvulaire, suivie de la chirurgie coronarienne. Une intervention mixte a été pratiquée chez 11% des patients. Ces données sont indiquées dans le **tableau 3**.

Valvulaire	46%
Coronaire	37.5%
Coronaire + Valvulaire	11%
Autre	5.5%

Tableau 3. Type de chirurgie.

Autre chirurgie : transplantation, chirurgie de l'aorte thoracique, myomectomie.

## 6.2. Evolution du taux de carboxyhémoglobine

L'analyse du sang artériel juste avant la chirurgie a permis de mesurer un taux basal moyen de CO-Hb moyen de  $1.28 \pm 0.47\%$  dans notre population. En l'absence d'exposition externe (notamment, pas de prise de cigarettes le matin de l'intervention), ce taux de CO-Hb est à mettre en relation avec la production basale de CO liée à l'activité physiologique de l'hème-oxygénase (6).

Le taux de CO-Hb s'élève par la suite, et dès l'admission aux soins intensifs jusqu'à 48 heures post-opératoires, nous notons une augmentation progressive de ce taux, comme illustré dans la **Figure 2**. La valeur moyenne de CO-Hb au cours des 48 premières heures post-opératoires est ainsi de  $1,45 \pm 0.40\%$ , soit *1,13 fois* la valeur de base. De plus, la valeur maximale de CO-Hb, obtenue le plus souvent à 48 heures, s'élève à  $1,74 \pm 0,51\%$ , soit *1,4 fois* la valeur de base, témoignant de l'activation de l'hème-oxygénase chez les patients ayant subi une CEC.

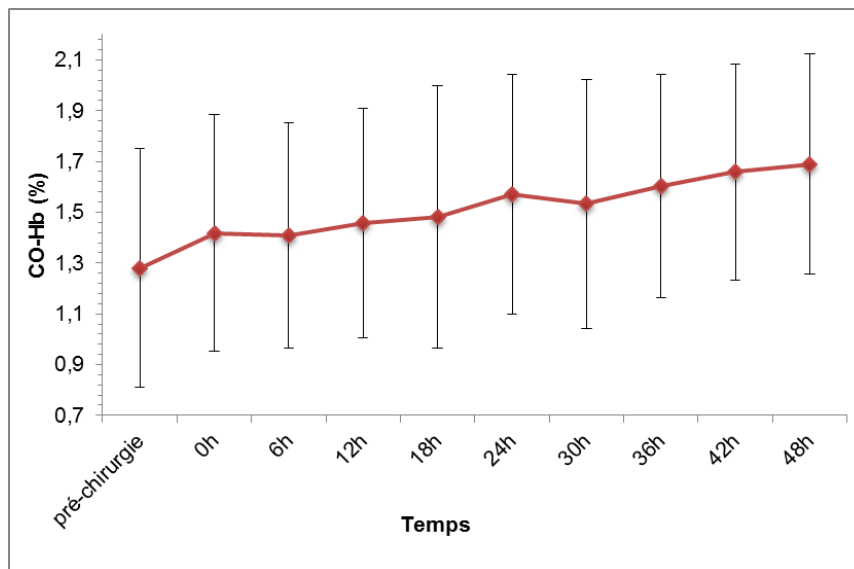
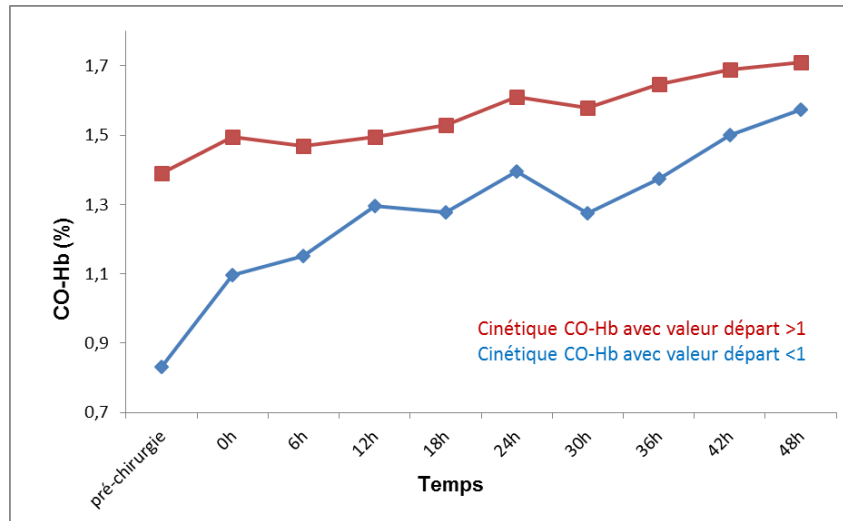


Figure 2. Cinétique de la carboxyhémoglobine artérielle après CEC

De manière intéressante, nous avons relevé que la cinétique était influencée par la valeur de CO-Hb pré-chirurgicale. Bien que la valeur maximale post-opératoire restait légèrement inférieure chez les patients avec CO-Hb basale plus basse, la cinétique d'élévation était plus rapide dans cette population (**Figure 3**).



**Figure 3. Cinétique d'élévation de la CO-Hb post-opératoire en fonction de la valeur pré-opératoire.** La population a été séparée en 2 groupes, selon que la valeur préchirurgicale de CO-Hb était < ou > à 1%. La cinétique d'élévation de la CO-Hb est plus rapide chez les patients dont la valeur pré-opératoire est plus basse.

### 6.3. Facteurs influençant l'évolution du taux de carboxy-hémoglobine après CEC

Nous avons évalué, par statistique univariée (coefficient de corrélation de Pearson), si l'évolution du de CO-Hb post-opératoire était influencée par divers facteurs, tels que des éléments démographiques (âge, sexe, score de gravité), le type de chirurgie (coronaire, valvulaire, mixte) et la durée de la CEC. Les résultats de cette analyse sont présentés dans le **tableau 4**. Seule la durée de la CEC s'est trouvée significativement corrélée avec la CO-Hb post-opératoire. Cette corrélation est également illustrée dans la **Figure 4**.

	CO-Hb maximale		CO-Hb moyenne	
	valeur $p$	coefficient $r$	valeur de $p$	coefficient $r$
<i>SAPS II</i>	0.208	0.04	0.382	0.06
<i>APACHE II</i>	0.66	0.03	0.79	0.02
Âge	0.098	0.16	0.26	0.07
Sexe	0.61	0.04	0.59	0.05

<i>Durée CEC (min)</i>	<b>0.0039</b>	<b>0.2</b>	<b>0.0014</b>	<b>0.23</b>
<i>Type de chirurgie</i>	10.8	0.22	0.5	57.5

Tableau 4. Corrélation linéaire entre scores de gravité, données démographiques, données chirurgicales et carboxy-hémoglobine post-CEC.

*Statistiques:* Analyse univariée par régression linéaire, test de Pearson. Les résultats significatifs sont indiqués **en gras**. La corrélation entre CO-Hb et durée de CEC est une corrélation positive.

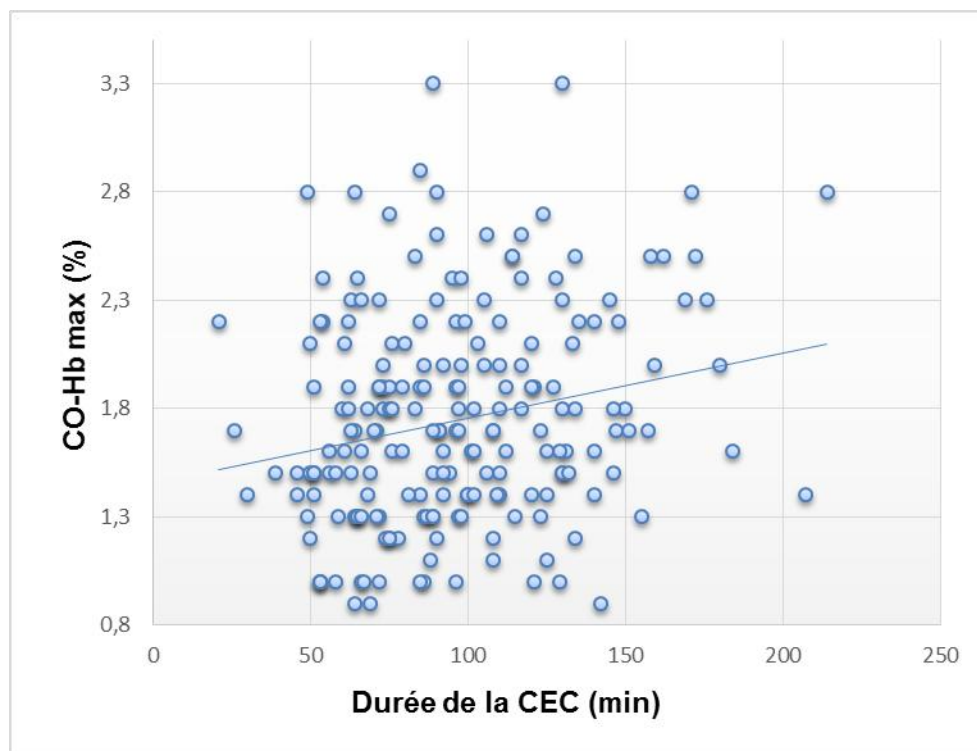


Figure 4. Corrélation entre la durée de la CEC et la CO-Hb max post-opératoire.

#### 6.4. Corrélation entre CO-Hb et hémodynamique post-CEC. Analyse univariée

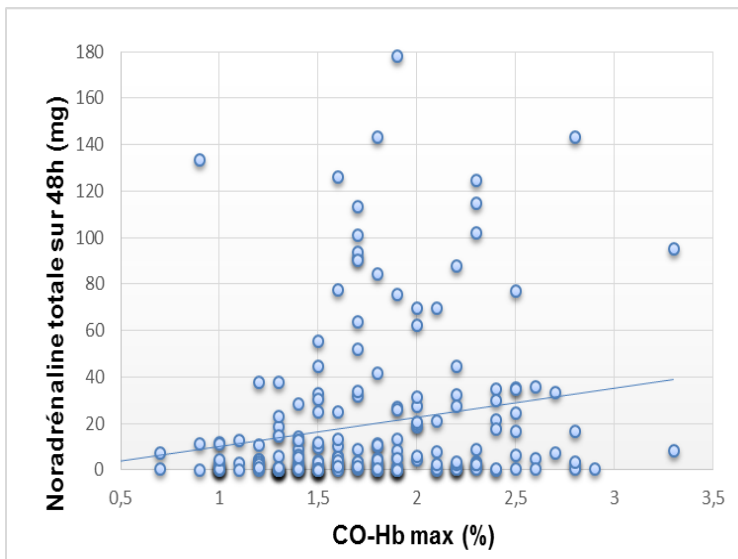
Afin de déterminer une éventuelle association entre élévation de la CO-Hb après CEC et dysfonction circulatoire, nous avons évalué la relation existant entre la CO-Hb (valeur moyenne et valeur maximale des premières 48 heures), la pression artérielle moyenne, le traitement vasopresseur par noradrénaline, et le bilan hydrique, en tant que reflet de la quantité de fluides administrés. Les résultats, présentés dans le **tableau 5** indiquent que la CO-Hb est corrélée positivement avec le bilan hydrique et l'administration de noradrénaline, alors qu'elle est (de manière marginalement significative) corrélée négativement avec la pression artérielle dans la période 24-48h. Ces corrélations sont également présentées schématiquement dans la **Figure 5, A et B**.

Variable	CO-Hb maximale		CO-Hb moyenne	
	Valeur <i>p</i>	coefficient <i>r</i>	valeur <i>p</i>	coefficient <i>r</i>
<i>PAM 0-24h</i>	0.28	0.077	0.65	0.03
<i>PAM 24-48h</i>	0.18	0.188	<i>0.058</i>	0,17
<i>Bilan hydrique 0-24h</i>	0.45	0.06	0.49	0.05
<i>Bilan hydrique 24-48h</i>	<b>0.013</b>	0,18	<b>0.01</b>	0,18
<i>Noradrénaline 0-24h</i>	<b>0.025</b>	0.16	<b>0.013</b>	0.17
<i>Noradrénaline 24-48h</i>	<b>0.00035</b>	0.2	<b>0.0026</b>	0.21
<i>Noradrénaline totale</i>	<b>0.0057</b>	0.2	<b>0.0031</b>	0.21

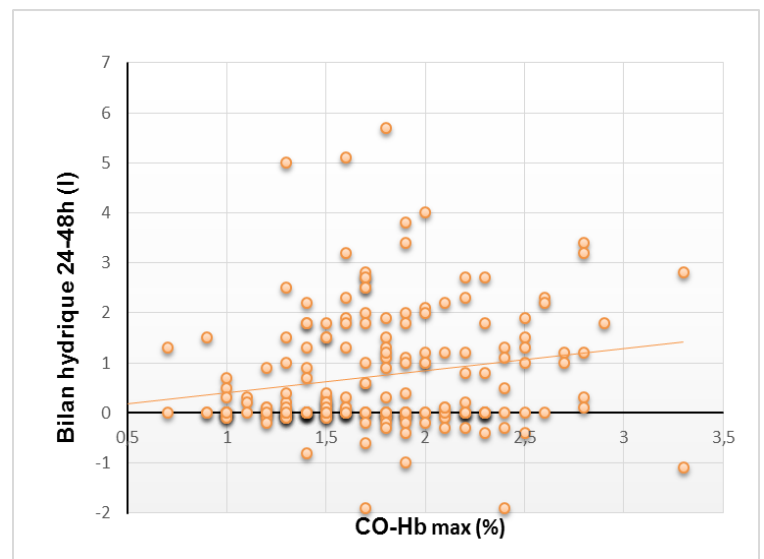
Tableau 5. Corrélation linéaire entre carboxy-hémoglobine et hémodynamique post-CEC.

*Abréviations:* PAM: Pression artérielle moyenne.

*Statistiques:* Analyse univariée par régression linéaire, test de Pearson. En gras, différences significatives, en italique, différences marginales. La *corrélation est négative pour la PAM, et positive pour le bilan hydrique et la noradrénaline administrée.*



A.



B.

Figure 5. La CO-Hb post-CEC est corrélée à l'administration de noradrénaline (A) et au bilan hydrique (B) de manière positive.

### 6.5. Corrélation entre CO-Hb post-CEC et marqueurs de lésion/dysfonction d'organes. Analyse univariée

Dans cette partie du travail, nous avons recherché une possible association entre la CO-Hb post-CEC et divers marqueurs de dysfonction d'organes.

- Il existe une corrélation négative marginale entre CO-Hb maximale et la transaminase hépatique ALAT à 24-48 heures, qui suggère la possibilité d'une réduction des dommages hépatiques. Il existe en revanche une forte corrélation positive entre CO-Hb et bilirubine, et cela dès l'arrivée aux soins intensifs, soit immédiatement après la CEC. Toutefois, cette association est parfaitement attendue, la bilirubine étant produite parallèlement au CO lors d'activation de l'hème-oxygénase. Dans ces conditions, la bilirubine ne peut être utilisée comme biomarqueur de dommage/dysfonction hépatique.
- Une corrélation positive entre CO-Hb maximale et valeur de CK totales (mais pas de CKMB, ni de la troponine) à 24-48 heures est notée, pouvant suggérer un plus grand dommage musculaire post-CEC chez les patients avec CO-Hb plus élevée. Il est aussi possible que la libération de myoglobine au cours de la lyse musculaire ait entraîné une formation accrue de CO par augmentation du substrat (hème) de l'hème-oxygénase.
- Une corrélation négative entre la CO-Hb et la pression en oxygène dans le sang artériel ( $PaO_2$ ) et une corrélation positive avec la durée de ventilation mécanique. Ces éléments suggèrent une association négative entre CO-Hb et fonction respiratoire.
- En revanche, nous n'avons objectivé aucune corrélation entre CO-Hb et créatinine (marqueur de dysfonction rénale), ni entre CO-Hb et taux de lactates, un produit de la glycolyse anaérobie reconnu comme un important marqueur pronostique chez les patients de soins intensifs.

Variable	CO-Hb maximale		CO-Hb moyenne	
	valeur $p$	coefficient $r$	valeur $p$	coefficient $r$
<i>ALAT 0-24h</i>	0.68	0.03	0.74	0.03
<i>ALAT 24-48h</i>	<i>0.08</i>	0.21	<b>0.0137</b>	0.17
<i>Bilirubine T0</i>	<b>0.004</b>	0.53	<b>0.002</b>	0.55
<i>Bilirubine 0-24h</i>	<b>0.0004</b>	0.48	<b>0.0001</b>	0.48
<i>Bilirubine 24-48h</i>	<b>0.0029</b>	0.69	<b>0.003</b>	0.68
<i>CK 24-48h</i>	<b>0.041</b>	0.22	<i>0.09</i>	0.18
<i>PaO<sub>2</sub> moyenne/48h</i>	<b>0.0008</b>	0.23	<b>0.002</b>	0.22
<i>Heures de VM</i>	<b>0.002</b>	0.21	<b>0.005</b>	0.2

Tableau 6. Corrélation linéaire entre carboxy-hémoglobine et dysfonction d'organe post-CEC.

*Abréviations:* ALAT: alanine aminotransférase; CK: créatine-kinase;  $PaO_2$ : pression partielle en oxygène du sang artériel; VM: ventilation mécanique.

*Statistiques:* Analyse univariée par régression linéaire, test de Pearson. En gras, différences significatives, en italique, différences marginales. La corrélation est négative pour ALAT et  $PaO_2$ , et positive pour bilirubine, CK et VM

### 6.6. Rôle prédicteur indépendant de la CO-Hb sur l'évolution clinique post-CEC. Analyse multivariée.

La mise en évidence d'une corrélation significative en analyse univariée entre CO-Hb post-CEC et plusieurs variables de mauvaise évolution (quantité de noradrénaline, durée de ventilation mécanique), nous a conduit à effectuer une analyse multivariée pour déterminer si cette relation était indépendante ou dépendante de facteurs confondants potentiels, qui ont été intégrés à un modèle de régression logistique, soit le score SAPS II, la durée de la CEC, le sexe et le type de chirurgie. Les effets de ces variables et de la CO-Hb maximale ont été évalués sur 2 variables catégorielles: la durée de séjour aux soins intensifs < ou > 48 heures, ainsi que la quantité totale de noradrénaline < ou > 30 mg/48 heures (valeur médiane la population). Les résultats de ces analyses sont présentés dans le **tableau 7**. Toutes les variables explicatives, à l'exception du type de chirurgie, apparaissent corrélées de manière indépendante à une durée de séjour > 48 heures. En revanche, seuls le SAPS II, la durée de CEC et la CO-Hb max sont des prédicteurs indépendants de la quantité de noradrénaline administrée.

Variable	Séjour SI >48h	Nor totale
	<i>valeur p</i>	<i>valeur p</i>
<b>SAPS II</b>	<b>0.015</b>	<b>0.003</b>
<b>Durée CEC</b>	<b>0.005</b>	<b>0.009</b>
<b>Sexe</b>	<b>0.046</b>	0.057
<b>Type de chirurgie</b>	0.366	0.281
<b>CO-Hb max</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.009</b>

Tableau 7. Variables associées à une mauvaise évolution clinique. Analyse multivariée.

*Abréviations:* CEC: circulation extra-corporelle; CO-Hb: carboxy-hémoglobine; Nor: noradrénaline; SAPS: Simplified Acute Physiology Score; VM: ventilation mécanique. *Statistiques:* analyse multivariée, régression logistique. Les résultats significatifs sont indiqués en **gras**.

### 6.7. Comparaison du rôle prédicteur indépendant de plusieurs biomarqueurs avec la durée de séjour aux soins intensifs: analyse multivariée.

Afin de déterminer l'intérêt clinique de la mesure de la CO-Hb en tant que biomarqueur pronostique après CEC, nous l'avons comparée à divers marqueurs biologiques communément mesurés chez ces patients. Nous avons choisi comme variable binaire la durée de séjour aux soins intensifs, en considérant une durée > 48 heures comme un indicateur de mauvaise évolution clinique (choix arbitraire). Comme indiqué dans le tableau 8, seules les

valeurs maximales de CO-Hb et de CRP (au cours des 48 heures) sont associées de manière indépendantes à une longue durée de séjour aux soins intensifs, contrairement aux valeurs de leucocytes, de lactate et de CK.

	<b>Leucocytes</b>	<b>CRP</b>	<b>Lactate</b>	<b>CO-Hb</b>
<b>valeur p</b>	0.105	<b>&lt;0.001</b>	0.868	<b>&lt;0.001</b>

Tableau 8. Analyse multivariée comparant le rôle prédictif indépendant de plusieurs biomarqueurs (valeurs maximales sur 48h) sur la durée de séjour aux soins intensifs (> ou < 48h)

*Abréviations:* CRP: protéine C-réactive; CO-Hb: carboxy-hémoglobine.

*Statistiques:* analyse multivariée, régression logistique. Les résultats significatifs sont indiqués en **gras**.

### 6.8. CO-Hb et mortalité post-CEC

La mortalité de notre collectif a concerné 13 malades sur 203, soit un taux de 6,4%. Au vu de cette incidence faible, nous n'avons pas envisagé d'évaluation statistique avancée. Quelques statistiques descriptives sont présentées dans le tableau 9, indiquant, sans surprise, que les patients décédés sont plus âgés, restent plus longtemps aux soins intensifs, et présentent des scores de gravité plus hauts que les survivants. Concernant la CO-Hb, nous ne relevons pas de différence significative entre survivants et décédés, bien qu'il y ait une légère tendance à des valeurs plus élevées chez les patients décédés, comme illustré dans la **Figure 6**.

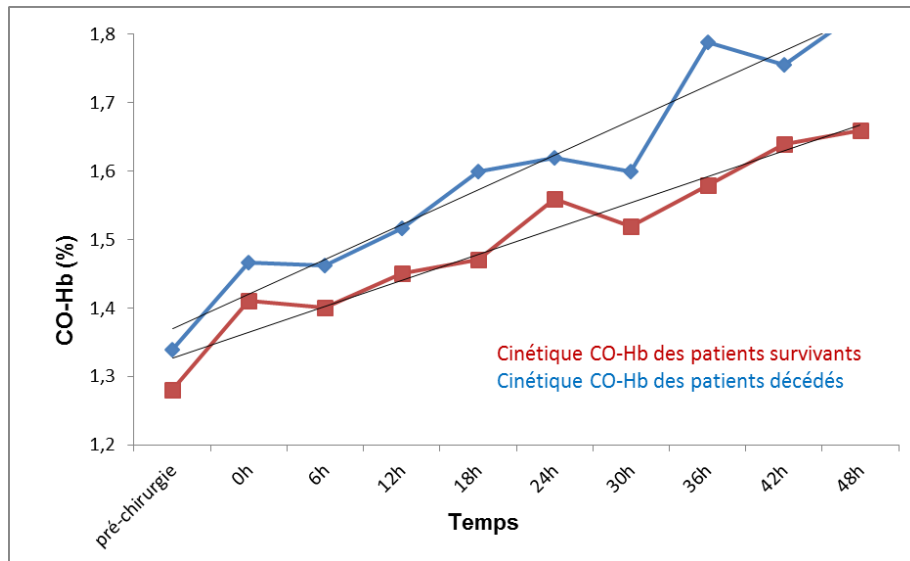
	<b>Survivants (n=190)</b>	<b>Décédés (n=13)</b>	<b>valeur p</b>
Âge	67 (12)	73 (9)	<i>0.07</i>
Durée CEC (min)	96.2 (34.4)	94.4 (40.8)	0.85
Durée séjour SI (j)	3.3 (6.0)	7 (9)	<b>0.02</b>
SAPS II	31.3 (11.3)	42.6 (19.3)	<b>0.001</b>
APACHE II	18.6 (6,4)	20.1 (8.6)	<b>0.0007</b>
CO-Hb pré-chirurgie (%)	1.28	1.34	0.65
CO-Hb max (%)	1.73	1.91	0.2
CO-Hb moyenne/48h (%)	1.45	1.5	0.36

Tableau 9. Éléments démographiques, durée de CEC et CO-Hb chez les survivants et décédés.

*Abréviations:* APACHE: Acute Physiology And Chronic Health Evaluation; CEC: circulation extra-corporelle; CO-Hb: carboxy-hémoglobine.

Toutes les valeurs sont indiquées en moyennes (déviations standard). *Statistiques:* analyse univariée, coefficient de corrélation de Pearson. En **gras**, résultats significatifs, en *italique*, résultats marginalement significatifs.





**Figure 6. Evolution de la CO-Hb post-opératoire chez les patients survivants et décédés.**

## 7. Discussion

Les principaux résultats de notre étude indiquent que (a) La chirurgie cardiaque en CEC est associée à une élévation de la production endogène de CO, déterminée par l'augmentation de la CO-Hb; (b) Cette augmentation est directement corrélée à la durée de la CEC; (c) L'élévation de la CO-Hb après CEC est corrélée à une plus grande défaillance circulatoire, une plus grande dysfonction pulmonaire, et, en revanche, corrélée, à une moindre dysfonction hépatique; (d) la CO-Hb post-CEC est une variable indépendante prédisant une mauvaise évolution après la chirurgie, suggérant son utilisation comme biomarqueur précoce de complications post-CEC.

### 7.1. La CEC entraîne une augmentation de la production endogène de CO

Nos données montrant l'augmentation de la CO-Hb après CEC confirment très largement les résultats d'une étude antérieure par Schober et coll., qui ont démontré dans un collectif de 40 patients opérés cardiaques, une augmentation de la CO-Hb de 40% (valeur passant de 0.9% à 1.3%) entre le début et la fin de la CEC, indiquant que cette dernière favorise la production endogène de CO. En l'absence de groupe contrôle (chirurgie sans CEC) dans notre étude comme dans celle de Schober et coll., on ne peut exclure que le trauma chirurgical ou/et l'anesthésie, aient pu participer à stimuler la production de CO, indépendamment de la CEC. Cependant, 2 précédentes études n'ont démontré aucune augmentation (29), ou uniquement une augmentation marginale (0.1%) (30) de la CO-Hb après anesthésie générale et chirurgie non cardiaque, suggérant que, dans notre population, la CEC a été le principal stimulus de la production accrue de CO.

Plusieurs mécanismes peuvent être incriminés pour expliquer ce phénomène. La CEC entraîne une importante réponse inflammatoire ("postperfusion syndrome") induit par l'activation de la cascade du complément et de la coagulation, et par des mécanismes d'ischémie-reperfusion, affectant plus particulièrement le cœur, les poumons et l'intestin, avec translocation secondaire

de micro-organismes et de leurs constituants (par exemple endotoxine) de la lumière intestinale vers la circulation systémique (24). L'activation subséquente de cellules inflammatoires (leucocytes) et de l'endothélium vasculaire entraîne la libération de cytokines et de radicaux libres pro-oxydants, qui à leur tour activent l'expression de l'hème-oxygénase inducible (HO-1), qui fait partie du groupe des protéines induite par le stress ("stress-induced protein") (31). De plus, la CEC favorise un certain degré d'hémolyse par traumatisme physique des globules rouges dans le circuit de CEC (32), avec élévation de l'hème libre, le substrat de l'hème-oxygénase. Le rôle clé de la CEC comme déterminant critique de l'activation de HO-1 après chirurgie cardiaque a été notamment bien démontrée dans un travail récent de Okubo et coll (27). Ces auteurs ont comparé l'expression de cytokines inflammatoires et de HO-1 dans des leucocytes prélevés chez des malades 6 heures après chirurgie cardiaque, soit avec CEC ("on-pump"), soit sans CEC ("off-pump"). Seuls les malades opérés sous CEC ont présenté une augmentation d'expression des cytokines et de HO-1, confirmant le rôle central de la CEC dans le déclenchement de l'inflammation après chirurgie cardiaque.

Le stress inflammatoire et oxydant, ainsi que l'augmentation de l'hème libre, représentent donc les mécanismes primaires contribuant à stimuler l'expression de HO-1 et la production endogène de CO au cours de la CEC. Nous ne pouvons en revanche pas établir si l'induction de HO-1 après CEC concerne l'ensemble de l'organisme, ou si elle est plutôt localisée à certains organes. On peut envisager toutefois que les poumons ont probablement contribué de manière importante à la production de CO après CEC. En effet, il a été rapporté qu'en cas d'élévation de la CO-Hb lors d'état inflammatoire systémique, l'augmentation est plus marquée dans le sang artériel que dans le sang veineux, en dépit de l'élimination du CO dans l'air exhalé, suggérant une production préférentielle de CO dans le poumon (33, 34). Une telle situation est envisageable à la suite de la CEC, car l'ischémie et l'inflammation des poumons consécutives au bypass cardio-pulmonaire (35, 36) peuvent être des facteurs importants d'activation de l'expression de HO-1 dans cet organe.

Les conséquences de la CEC sont d'autant plus importantes que sa durée est longue (37). Une corrélation entre durée du clamage aortique lors de la CEC et intensité du stress oxydatif systémique a notamment bien été démontrée, ce dernier augmentant de manière sensible au-delà d'une durée de clamage de 50 minutes (38). Notre observation d'une corrélation hautement significative entre durée de CEC et degré d'élévation de la CO-Hb post-opératoire est donc parfaitement explicable. A cet égard, il est important de noter que la durée de la CEC a été le facteur principal déterminant l'augmentation de CO-Hb. En effet, la CO-Hb n'a été influencée ni par les indices de sévérité SAPS II et APACHE II, l'âge, le sexe, ni par le type de chirurgie (tableau 4 et figure 4), suggérant qu'elle est un marqueur spécifique des conséquences de la CEC sur l'organisme, n'étant pas biaisée par d'autres facteurs jouant un rôle dans l'évolution post-opératoire.

## **7.2. Production de CO et défaillance circulatoire après CEC.**

Le syndrome vasoplégique est une complication fréquente de la CEC affectant environ 20% des cas, se caractérisant par une hypotension artérielle sur baisse primaire des résistances vasculaires systémiques, nécessitant un remplissage vasculaire et l'administration de médicaments vasopresseurs à doses élevées (39). En cas de vasoplégie persistante (>36-48 heures), une mortalité atteignant 25% des cas a été rapportée (39). De nombreux facteurs de

risques sont associés à ce syndrome, un des plus importants étant la durée de la CEC. Ainsi, Levin et coll. ont calculé une augmentation du risque de 38% pour chaque augmentation de 30 minutes de la durée de CEC (39). Les mécanismes de cette vasoplégie comportent un épuisement de la sécrétion de vasopressine, une production en excès de monoxyde d'azote (NO) et l'activation de canaux potassiques ATP-dépendants (canaux  $K_{ATP}$ ) dans la paroi des vaisseaux au cours de l'inflammation post-CEC (40).

Nous avons identifié une forte corrélation positive entre la valeur de CO-Hb (maximale et moyenne) et le bilan hydrique, ainsi que la quantité de noradrénaline administrée. En outre, une corrélation négative, marginalement significative, a été retrouvée entre CO-Hb moyenne et pression artérielle au 2<sup>e</sup> jour post-opératoire, impliquant une association entre production endogène de CO et vasoplégie post-CEC, qui peut être interprétée de deux manières distinctes. Premièrement, l'association peut être fortuite, au vu de la forte corrélation existant entre CO-Hb et durée de CEC, cette dernière étant le déterminant majeur de la défaillance circulatoire post-opératoire. Une seconde interprétation serait celle d'une relation de causalité entre CO et vasoplégie, tout à fait possible au regard des propriétés vasodilatatrices du CO. En effet, tel le NO, le CO active la guanylyl cyclase, entraînant une augmentation de la concentration en GMP cyclique intracellulaire (41), avec activation subséquente de la protéine kinase G et réduction du calcium intracellulaire, déclenchant la relaxation du vaisseau (4). Il est utile de mentionner ici que cet effet vasodilatateur du CO a été proposé comme jouant un rôle dans la vasoplégie et l'hypotension associée au sepsis expérimental (42) et chez l'homme (43), et, dans ces conditions, l'inhibition de l'hème-oxygénase exerce des effets hémodynamiques favorables (44). On peut donc assumer qu'un rôle semblable puisse être considéré dans la vasoplégie associée à la CEC.

### **7.3. Production de CO et dysfonctions d'organes après CEC.**

Tel que mentionné dans l'introduction de ce travail, la CEC peut avoir des conséquences négatives sur les fonctions de multiples organes, secondaires à l'état inflammatoire et aux phénomènes d'ischémie-reperfusion qu'elle entraîne. A des degrés divers, il est ainsi fréquent de constater une altération des fonctions rénale, cardiaque, respiratoire et hépatique après CEC, dont la durée et la sévérité sont proportionnelles à l'intensité de la réponse inflammatoire (24). Dans ce contexte, l'augmentation de la production de CO pourrait jouer un rôle bénéfique, compte tenu des nombreuses fonctions cytoprotectrices, anti-apoptotiques, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-oxydantes du CO. L'induction de l'hème oxygénase de type I et la production de CO représentent en effet un mécanisme de protection important pour maintenir l'intégrité cellulaire et restaurer l'homéostasie dans diverses situations de stress, telles que l'inflammation (45), le sepsis (46) et l'ischémie-reperfusion (47, 48). Ces effets protecteurs sont la conséquence des effets modulateurs du CO sur diverses enzymes (l'exemple type étant l'activation de la guanylyl cyclase par le CO), et protéines de signalisation intracellulaire, telles que les MAP kinases, HIF1 (hypoxia-inducible factor-1) ou STAT3 (signal transducer and activation of transcription 3) (31).

La possibilité de tels effets protecteurs du CO après CEC est suggérée par notre observation d'une corrélation négative entre la CO-Hb et l'activité plasmatique de l'ALAT, plaidant pour un effet bénéfique du CO sur le dommage hépatique post-CEC. A cet égard, il existe de nombreuses études expérimentales ayant indiqué un rôle hépatoprotecteur du CO, notamment

au cours du sepsis (49), du choc hémorragique (50), de l'ischémie-reperfusion (51) et de l'hépatopathie alcoolique (52), via des effets tels que la réduction de la mort des hépatocytes (52), l'amélioration de la perfusion des sinusoides hépatiques (50) et l'inhibition de l'inflammation hépatique (51). A l'évidence, nos résultats, même s'ils suggèrent un effet bénéfique du CO sur la dysfonction hépatique post-CEC, ne permettent en aucun cas de spéculer sur l'un ou l'autre de ces mécanismes.

Au contraire du foie, nous n'avons pas d'arguments en faveur d'effets protecteurs du CO sur d'autres organes, notamment le cœur et le rein, puisqu'aucune corrélation n'a été observée entre CO-Hb et créatinine d'une part, et enzymes cardiaques d'autre part. Concernant le poumon, nos résultats indiquent, à l'inverse, une corrélation négative entre CO-Hb et PaO<sub>2</sub>, parallèlement à une corrélation positive entre CO-Hb et durée de ventilation mécanique. Il est possible que la corrélation négative entre PO<sub>2</sub> et CO-Hb ait même pu être amoindrie par le phénomène physico-chimique de PO<sub>2</sub>-dépendance de l'affinité du CO pour l'hémoglobine. Cette affinité est en effet d'autant plus grande que la saturation en O<sub>2</sub> augmente (53). Ce phénomène implique que la valeur de CO-Hb de nos patients les plus hypoxémiques peut avoir été artificiellement réduite par cette baisse d'affinité, ce qui aurait eu pour effet d'atténuer la corrélation négative observée.

La dysfonction pulmonaire est une complication fréquente de la CEC, allant de la simple dyspnée au tableau sévère de syndrome de détresse respiratoire aiguë. On estime qu'environ 20% des patients restent ventilés plus de 48 heures après CEC en raison de cette complication (36), d'autant plus qu'il existe des facteurs prédisposants comme l'âge, le tabagisme ou une maladie pulmonaire préexistante. Les mécanismes de l'atteinte pulmonaire par la CEC comportent, d'une part, l'ischémie du poumon (au cours du bypass cardio-pulmonaire), suivi de sa reperfusion, et, d'autre part, l'activation de cascades inflammatoires favorisant le recrutement de neutrophiles dans les alvéoles pulmonaires (36). Il a été démontré qu'au cours d'une inflammation pulmonaire, la production locale de CO s'élève à la suite de l'induction de HO-1, ce qui jouerait un rôle clé d'adaptation au stress inflammatoire. Le CO permettrait ainsi de dilater les bronchioles, de réduire la production de cytokines et de limiter la formation de l'œdème pulmonaire. Dans divers modèles expérimentaux de lésions pulmonaires inflammatoires, l'inhalation de petites concentrations de CO s'est ainsi avérée efficace pour limiter le dommage (7).

A la lumière de ces observations, l'augmentation de la CO-Hb, parallèle à la sévérité de la dysfonction pulmonaire post-CEC, suggère qu'un degré d'activation plus élevé de HO-1 a eu lieu afin de s'adapter à un stress inflammatoire plus marqué. Une interprétation alternative serait que l'élévation primaire du CO produit localement aggraverait le dommage et la dysfonction pulmonaire post-CEC, même si cette hypothèse paraît peu vraisemblable, au vu des effets globalement protecteurs du CO sur le poumon rapportés dans la littérature (54). Clairement, des études ultérieures seront nécessaires pour préciser le rôle du CO sur le poumon après chirurgie cardiaque en CEC.

#### **7.4. La CO-Hb est corrélée de manière indépendante avec l'évolution clinique après CEC**

L'ensemble des observations discutées ci-dessus suggère que la CO-Hb pourrait être utilisée comme biomarqueur prédictif de l'évolution clinique après CEC. Nous avons testé cette hypothèse par une analyse multivariée, qui a confirmé la capacité de la CO-Hb sanguine à détecter les patients dont l'évolution clinique était défavorable (défini par l'administration de > 30 mg de noradrénaline pendant les premières 48h ou une durée de séjour en soins intensifs > 48h), au même titre que la durée de la CEC et le score de gravité SAPS II. Ce résultat implique que la CO-Hb pourrait être utilisée comme un marqueur biologique simple à mesurer pour évaluer le risque de complications après CEC. Il faudrait pour ce faire affiner encore davantage nos mesures, afin notamment de définir une valeur seuil de CO-Hb au cours des premières 48h, ou une valeur seuil de la variation entre CO-Hb pré- et post-opératoire, au-delà de laquelle existerait une augmentation substantielle du risque de complications. L'intérêt d'un tel biomarqueur est évident, puisqu'il permettrait d'adapter la surveillance clinique (par exemple monitoring hémodynamique) et d'adapter le traitement de manière individuelle en fonction du niveau de risque de complications. Des études plus complexes, portant sur un plus grand nombre de patients seraient nécessaires pour définir de telles valeurs seuil.

En clinique, il est commun de mesurer la protéine C-reactive plasmatique (CRP), de même que le taux de leucocytes sanguins, comme des marqueurs biologiques d'inflammation. De plus, en médecine intensive, le taux sanguin de lactate est également très utile pour sa valeur pronostique dans de nombreuses situations cliniques. Dès lors, nous avons évalué, dans une seconde analyse multivariée, la capacité de chacun de ces marqueurs biologiques, et celle de la CO-Hb, à prédire une évolution clinique défavorable (définie ici comme une durée de séjour aux soins intensifs > 48h) après la CEC. Seules la CO-Hb et la CRP (valeurs maximales sur les premières 48 heures) se sont avérées prédire de manière indépendante le séjour de plus de 48 heures aux soins intensifs, confirmant le rôle central de la sévérité de l'inflammation systémique dans l'évolution clinique après CEC. L'absence, en revanche de corrélation avec le taux de lactate peut paraître surprenant, étant donnée la valeur pronostique reconnue de ce marqueur chez le malade critique. L'explication la plus probable est que nos patients, en dépit de l'état inflammatoire, n'ont pas développé de manière notable de phénomènes de dysoxie tissulaire, responsable de l'établissement d'un métabolisme anaérobie et d'une élévation du taux de lactate.

#### **7.5. CO-Hb et mortalité**

Compte tenu du petit nombre de décès dans notre collectif (13 sur 203 patients), toute interprétation concernant d'éventuelles différences (ou absence de différences) de CO-Hb entre survivants et non survivants serait extrêmement spéculative. Nous nous bornerons donc à décrire le comportement de la CO-Hb dans ces 2 populations. Nous avons observé une cinétique d'augmentation de CO-Hb comparable entre survivants et non survivants, avec cependant une pente légèrement plus raide chez les non survivants, entraînant une tendance à des valeurs maximales marginalement plus élevées, toutefois statistiquement non interprétables pour les motifs précités. Il est ici intéressant de citer les quelques données disponibles de la littérature corrélant les taux de CO-Hb ou de CO exhalé avec la mortalité chez des patients en soins intensifs. Zegdi et coll. ont rapporté, chez 24 patients en choc septique, des valeurs de

CO exhalé plus élevé au jour 1 chez les survivants (10), suggérant plutôt des effets bénéfiques de l'induction de HO-1 dans ce contexte. Dans une étude rétrospective portant sur plus de 1200 patients admis en soins intensifs cardio-thoraciques, Melley et coll. ont eux noté que les patients décédés présentaient des valeurs minimales de CO-Hb significativement plus basses et, à l'inverse, des valeurs maximales plus hautes (22). Ces observations sont confortées par l'étude de Fazekas et coll., dans laquelle les mesures extrêmes de CO-Hb étaient corrélées statistiquement avec la mortalité chez des malades de soins intensifs. Ces observations indiquent qu'il existe sans doute une activité optimale de HO-1, en-dessous de laquelle les effets bénéfiques du CO seraient perdus, et en-dessus de laquelle des effets néfastes seraient, au contraire, induits. Effets liés soit au CO produit en excès, ou, plus probablement, à la libération de fer lors de la réaction catalysée par HO-1, comme cela a été suggéré par Sutner et al. (55).

### **7.6. Limitations de l'étude**

Un certain nombre de limitations de notre travail sont à évoquer. Tout d'abord, la plupart des mesures effectuées nous ont permis certes de relever certaines associations entre valeurs de CO-Hb et diverses variables cliniques et biologiques, mais ces associations n'impliquent pas nécessairement des liens de causalité entre le CO produit et la variable examinée. Cette critique est d'ailleurs une limitation générale de ce type d'étude rétrospective, dont la nature même est en règle purement descriptive et non explicative. Une deuxième limitation est le fait que nous n'avons pas mesuré les taux de CO-Hb au-delà du 2<sup>e</sup> jour post-opératoire. Or, chez la plupart des patients, le pic de CO-Hb ne semblait pas atteint à J2, et il aurait été instructif de suivre cette variable jusqu'à sa valeur maximale au cours du séjour. Une troisième limitation est l'absence du calcul d'une valeur seuil de CO-Hb au-delà de laquelle le risque de complications serait majoré, avec un intérêt clinique évident. Toutefois, la puissance de notre étude est insuffisante pour déterminer une telle valeur seuil. D'autre part, force est de constater que, malgré la relation existant entre valeurs élevées de CO-Hb et indicateurs pronostiques (durée de séjour, sévérité de la défaillance circulatoire), il existe un important "overlap" des valeurs de CO-Hb entre les groupes de patients, rendant la détermination d'une valeur seuil assez compliquée. Enfin, nous n'avons pas monitoré de manière précise l'éventuelle survenue de phénomènes hémolytiques chez nos malades, en mesurant par exemple l'hémoglobine libre plasmatique ou les taux circulants d'haptoglobine. Nous n'avons pas non plus effectué de dosages plus complexes de médiateurs de l'inflammation, notamment de la cytokine Interleukine-6. Ces mesures auraient sans doute permis de mieux comprendre le mécanisme responsable de l'élévation de la CO-Hb (hémolyse vs inflammation) chez nos patients.

## **8. Conclusions**

Notre étude rétrospective a permis de démontrer que le taux de CO-Hb était corrélé à la durée de la CEC au cours de la chirurgie cardiaque. De plus, nous avons montré que la CO-Hb mesurée au cours de 48 premières heures post-opératoires était significativement associée avec la sévérité de la vasoplégie et de la dysfonction pulmonaire post-CEC, alors qu'elle était au contraire associée avec un moindre dommage hépatique. En analyse multivariée, la CO-Hb s'est avérée corrélée de manière indépendante avec des éléments de mauvaise évolution clinique tels que la dose totale de vasopresseurs et la durée de séjour aux soins intensifs.

Ces données originales indiquent que la carboxy-hémoglobine est un biomarqueur de l'inflammation systémique et des complications liées à la CEC, et nous proposons que sa mesure fasse partie intégrante du suivi biologique de ces patients. Toutefois, une étude à plus large échelle est nécessaire afin d'établir d'éventuelles valeurs seuil de ce biomarqueur, qui seraient très utiles au clinicien pour adapter précocement la surveillance clinique et le traitement des malades à plus haut risque de complications.

## **9. Remerciements**

Je souhaite adresser mes remerciements à toutes les personnes ayant collaboré à l'accomplissement de ce travail.

Tout particulièrement à mon tuteur, le Professeur Lucas Liaudet qui s'est toujours montré disponible malgré son emploi du temps chargé, pour son soutien ainsi que son enthousiasme à partager ses connaissances.

Je remercie également l'équipe de recherche clinique en neuro-réanimation du SMIA et Mme Brigitte Therriault, infirmière référente Métavision, pour leurs explications et leur aide quant aux analyses informatiques et statistiques.

Merci au Docteur Piergorgio Tozzi qui m'a permis de l'accompagner au bloc opératoire afin de découvrir in vivo l'utilisation de la CEC et la beauté de la chirurgie cardiaque.



## 9. Bibliographie

1. Bauer, M., K. Huse, U. Settmacher, and R. A. Claus. 2008. The heme oxygenase-carbon monoxide system: regulation and role in stress response and organ failure. *Intensive Care Med* 34: 640-648.
2. Olas, B. 2014. Carbon monoxide is not always a poison gas for human organism: Physiological and pharmacological features of CO. *Chem Biol Interact* 222C: 37-43.
3. Bauer, M., and I. Bauer. 2002. Heme oxygenase-1: redox regulation and role in the hepatic response to oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 4: 749-758.
4. Rochette, L., Y. Cottin, M. Zeller, and C. Vergely. 2013. Carbon monoxide: mechanisms of action and potential clinical implications. *Pharmacol Ther* 137: 133-152.
5. Maines, M. D. 1997. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 37: 517-554.
6. Owens, E. O. 2010. Endogenous carbon monoxide production in disease. *Clin Biochem* 43: 1183-1188.
7. Motterlini, R., and L. E. Otterbein. 2010. The therapeutic potential of carbon monoxide. *Nat Rev Drug Discov* 9: 728-743.
8. Christensen, R. D., D. K. Lambert, E. Henry, H. M. Yaish, and J. T. Prchal. 2015. End-tidal carbon monoxide as an indicator of the hemolytic rate. *Blood Cell Mol Dis* 54: 292-296.
9. Moscato, U., A. Poscia, R. Gargaruti, G. Capelli, and F. Cavaliere. 2014. Normal values of exhaled carbon monoxide in healthy subjects: comparison between two methods of assessment. *BMC Pulm Med* 14: 204.
10. Zegdi, R., D. Perrin, M. Burdin, R. Boiteau, and A. Tenaillon. 2002. Increased endogenous carbon monoxide production in severe sepsis. *Intensive Care Med* 28: 793-796.
11. Guzman, J. A. 2012. Carbon monoxide poisoning. *Crit Care Clin* 28: 537-548.
12. Hampson, N. B. 2007. Carboxyhemoglobin elevation due to hemolytic anemia. *J Emerg Med* 33: 17-19.
13. Fazekas, A. S., M. Wewalka, C. Zauner, and G. C. Funk. 2012. Carboxyhemoglobin levels in medical intensive care patients: a retrospective, observational study. *Crit Care* 16: R6.
14. Hampson, N. B. 2012. Noninvasive pulse CO-oximetry expedites evaluation and management of patients with carbon monoxide poisoning. *Am J Emerg Med* 30: 2021-2024.
15. Zayas, K., K. Sekizawa, S. Okinaga, M. Yamaya, T. Ohru, and H. Sasaki. 1997. Increased carbon monoxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 156: 1140-1143.
16. Antuni, J. D., S. A. Kharitonov, D. Hughes, M. E. Hodson, and P. J. Barnes. 2000. Increase in exhaled carbon monoxide during exacerbations of cystic fibrosis. *Thorax* 55: 138-142.

17. Ryter, S. W., and J. M. Sethi. 2007. Exhaled carbon monoxide as a biomarker of inflammatory lung disease. *J Breath Res* 1: 026004.
18. Yasuda, H., M. Yamaya, M. Yanai, T. Ohrui, and H. Sasaki. 2002. Increased blood carboxyhaemoglobin concentrations in inflammatory pulmonary diseases. *Thorax* 57: 779-783.
19. Rusca, M., M. Oddo, M. D. Schaller, and L. Liaudet. 2004. Carboxyhemoglobin formation as an unexpected side effect of inhaled nitric oxide therapy in severe acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 32: 2537-2539.
20. Moncure, M., C. E. Brathwaite, E. Samaha, R. Marburger, and S. E. Ross. 1999. Carboxyhemoglobin elevation in trauma victims. *J Trauma* 46: 424-427.
21. Christensen, R. D., D. K. Lambert, E. Henry, H. M. Yaish, and J. T. Prchal. 2014. End-tidal carbon monoxide as an indicator of the hemolytic rate. *Blood Cell Mol Dis* 54: 292-296.
22. Melley, D. D., S. J. Finney, A. Elia, A. L. Lagan, G. J. Quinlan, and T. W. Evans. 2007. Arterial carboxyhemoglobin level and outcome in critically ill patients. *Crit Care Med* 35: 1882-1887.
23. Chassot, P., and M. C. 2010. Circulation extracorporelle en chirurgie cardiaque. In *Précis d'Anesthésie Cardiaque*. PAC 4.0, chapitre 7.
24. Warren, O. J., A. J. Smith, C. Alexiou, P. L. Rogers, N. Jawad, C. Vincent, A. W. Darzi, and T. Athanasiou. 2009. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass: part 1 - mechanisms of pathogenesis. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 23: 223-231.
25. Dieleman, J. M. 2013. Corticosteroids for the inflammatory response to cardiopulmonary bypass: an update. *Curr Pharm Des* 19: 3979-3991.
26. Sniecinski, R. M., and W. L. Chandler. 2011. Activation of the hemostatic system during cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 113: 1319-1333.
27. Okubo, N., N. Hatori, M. Ochi, and S. Tanaka. 2003. Comparison of m-RNA expression for inflammatory mediators in leukocytes between on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 9: 43-49.
28. Schober, P., M. Kalmanowicz, L. A. Schwarte, and S. A. Loer. 2009. Cardiopulmonary bypass increases endogenous carbon monoxide production. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 23: 802-806.
29. Takeda, R., A. Tanaka, T. Maeda, Y. Yamaoka, K. Nakamura, K. Sano, M. Kataoka, Y. Nakamura, T. Morimoto, and S. Mukaiharu. 2002. Perioperative changes in carbonylhemoglobin and methemoglobin during abdominal surgery: alteration in endogenous generation of carbon monoxide. *J Gastroenterol Hepatol* 17: 535-541.
30. Hayashi, M., T. Takahashi, H. Morimatsu, H. Fujii, N. Taga, S. Mizobuchi, M. Matsumi, H. Katayama, M. Yokoyama, M. Taniguchi, and K. Morita. 2004. Increased carbon monoxide concentration in exhaled air after surgery and anesthesia. *Anesth Analg* 99: 444-448, table of contents.
31. Wegiel, B., D. W. Hanto, and L. E. Otterbein. 2013. The social network of carbon monoxide in medicine. *Trends Mol Med* 19: 3-11.

32. Vermeulen Windsant, I. C., S. J. Hanssen, W. A. Buurman, and M. J. Jacobs. 2011. Cardiovascular surgery and organ damage: time to reconsider the role of hemolysis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 142: 1-11.
33. Meyer, J., T. Prien, H. Van Aken, H. G. Bone, R. Waurick, G. Theilmeier, and M. Booke. 1998. Arterio-venous carboxyhemoglobin difference suggests carbon monoxide production by human lungs. *Biochem Biophys Res Commun* 244: 230-232.
34. Eletr, D., A. Reich, H. D. Stubbe, M. Booke, F. Daudel, M. Erren, and M. Westphal. 2004. Arteriovenous carboxyhemoglobin difference is not correlated to TNF-alpha, IL-6, PCT, CRP and leukocytes in critically ill patients. *Clin Chem Acta* 349: 75-80.
35. Chai, P. J., J. A. Williamson, A. J. Lodge, C. W. Daggett, J. E. Scarborough, J. N. Meliones, I. M. Cheifetz, J. J. Jaggars, and R. M. Ungerleider. 1999. Effects of ischemia on pulmonary dysfunction after cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 67: 731-735.
36. Clark, S. C. 2006. Lung injury after cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 21: 225-228.
37. de Vroege, R., F. te Meerman, L. Eijssman, W. R. Wildevuur, R. Wildevuur Ch, and W. van Oeveren. 2004. Induction and detection of disturbed homeostasis in cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 19: 267-276.
38. Garcia-de-la-Asuncion, J., E. Pastor, J. Perez-Griera, F. J. Belda, T. Moreno, E. Garcia-del-Olmo, and F. Marti. 2013. Oxidative stress injury after on-pump cardiac surgery: effects of aortic cross clamp time and type of surgery. *Redox Rep* 18: 193-199.
39. Levin, M. A., H. M. Lin, J. G. Castillo, D. H. Adams, D. L. Reich, and G. W. Fischer. 2009. Early on-cardiopulmonary bypass hypotension and other factors associated with vasoplegic syndrome. *Circulation* 120: 1664-1671.
40. Fischer, G. W., and M. A. Levin. 2010. Vasoplegia during cardiac surgery: current concepts and management. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 22: 140-144.
41. Furchgott, R. F., and D. Jothianandan. 1991. Endothelium-dependent and -independent vasodilation involving cyclic GMP: relaxation induced by nitric oxide, carbon monoxide and light. *Blood Vessels* 28: 52-61.
42. Pellacani, A., P. Wiesel, A. Sharma, L. C. Foster, G. S. Huggins, S. F. Yet, and M. A. Perrella. 1998. Induction of heme oxygenase-1 during endotoxemia is downregulated by transforming growth factor-beta1. *Circ Res* 83: 396-403.
43. Reade, M. C., J. L. Millo, J. D. Young, and C. A. Boyd. 2005. Nitric oxide synthase is downregulated, while haem oxygenase is increased, in patients with septic shock. *Br J Anaesth* 94: 468-473.
44. Yet, S. F., A. Pellacani, C. Patterson, L. Tan, S. C. Folta, L. Foster, W. S. Lee, C. M. Hsieh, and M. A. Perrella. 1997. Induction of heme oxygenase-1 expression in vascular smooth muscle cells. A link to endotoxic shock. *J Biol Chem* 272: 4295-4301.
45. Ryter, S. W., and A. M. Choi. 2010. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: novel therapeutic strategies in critical care medicine. *Curr Drug Targ* 11: 1485-1494.
46. MacGarvey, N. C., H. B. Suliman, R. R. Bartz, P. Fu, C. M. Withers, K. E. Welty-Wolf, and C. A. Piantadosi. 2012. Activation of mitochondrial biogenesis by heme oxygenase-1-mediated NF-E2-related factor-2 induction rescues mice from lethal *Staphylococcus aureus* sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 185: 851-861.

47. Katada, K., T. Takagi, K. Uchiyama, and Y. Naito. 2015. Therapeutic roles of carbon monoxide in intestinal ischemia-reperfusion injury. *J Gastroenterol Hepatol* 30 Suppl 1: 46-52.
48. Ruan, Y., L. Wang, Y. Zhao, Y. Yao, S. Chen, J. Li, H. Guo, C. Ming, S. Chen, F. Gong, and G. Chen. 2014. Carbon monoxide potently prevents ischemia-induced high-mobility group box 1 translocation and release and protects against lethal renal ischemia-reperfusion injury. *Kidney Int* 86: 525-537.
49. Hoetzel, A., T. Dolinay, R. Schmidt, A. M. Choi, and S. W. Ryter. 2007. Carbon monoxide in sepsis. *Antioxid Redox Signal* 9: 2013-2026.
50. Nassour, I., B. Kautza, M. Rubin, D. Escobar, J. Luciano, P. Loughran, H. Gomez, J. Scott, D. Gallo, J. Brumfield, L. E. Otterbein, and B. S. Zuckerbraun. 2015. Carbon monoxide protects against hemorrhagic shock and resuscitation-induced microcirculatory injury and tissue injury. *Shock* 43: 166-171.
51. Richards, J. A., S. J. Wigmore, and L. R. Devey. 2010. Heme oxygenase system in hepatic ischemia-reperfusion injury. *World J Gastroenterol : WJG* 16: 6068-6078.
52. Bakhautdin, B., D. Das, P. Mandal, S. Roychowdhury, J. Danner, K. Bush, K. Pollard, J. W. Kaspar, W. Li, R. G. Salomon, M. R. McMullen, and L. E. Nagy. 2014. Protective role of HO-1 and carbon monoxide in ethanol-induced hepatocyte cell death and liver injury in mice. *J Hepatol* 61: 1029-1037.
53. Westphal, M., T. P. Weber, J. Meyer, S. von Kegler, H. Van Aken, and M. Booke. 2002. Affinity of carbon monoxide to hemoglobin increases at low oxygen fractions. *Biochem Biophys Res Commun* 295: 975-977.
54. Faller, S., and A. Hoetzel. 2012. Carbon monoxide in acute lung injury. *Curr Pharm Biotech* 13: 777-786.
55. Suttner, D. M., and P. A. Dennery. 1999. Reversal of HO-1 related cytoprotection with increased expression is due to reactive iron. *FASEB J* 13: 1800-1809.