

Fraternité

VetAgro Sup

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2022 - Thèse n° 092

ÉTUDE DE L'INFLUENCE DE L'HÉMODYNAMIQUE SYSTÉMIQUE SUR L'ÉVALUATION DE LA MICROCIRCULATION CHEZ LE PORC ANESTHÉSIÉ

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1 (Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 17 novembre 2022 Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

FOULON Elisa





Fraternité



CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2022 - Thèse n° 092

ÉTUDE DE L'INFLUENCE DE L'HÉMODYNAMIQUE SYSTÉMIQUE SUR L'ÉVALUATION DE LA MICROCIRCULATION CHEZ LE PORC ANESTHÉSIÉ

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1 (Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 17 novembre 2022 Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

FOULON Elisa



Liste des enseignants du Campus vétérinaire de Lyon (26-01-2022)

Mme	ABITBOL	Marie	Professeur
м.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
Mme	AYRAI	Florence	Maître de conférences
Mme	BECKER	Claire	Maître de conférences
Mmo	BELLICO	Sara	Maitre de conférences
Mme	BENAMOU CMITH	Sara	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnes	Maitre de conferences
м.	BENOIT	Etienne	Professeur
м.	BERNY	Philippe	Professeur
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur
м.	BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
м.	BRUTO	Maxime	Maître de conférences Stagiaire
Μ.	BRUYERE	Pierre	Maître de conférences
м	BUEF	Samuel	Professeur
M	BUDONEOSSE	Thiorry	Professour
M.	CACHON	Thibaut	
M.	CACHON	Thibaut	Maitre de conferences
м.	CADORE	Jean-Luc	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
м.	CHABANNE	Luc	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
м.	CHAMEL	Gabriel	Maître de conférences
М.	CHETOT	Thomas	Maître de conférences Stagiaire
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Maître de conférences
Mme		Maria Laura	Professour
Mine	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
Mme	DJELOUADJI	Zoree	Professeur
Mme	ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
м.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences
м.	GALIA	Wessam	Maître de conférences
м.	GILLET	Benoit	AERC
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur
М.	GONTHIER	Alain	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	Maître de conférences
Mmo		Marino	Maître de conférences
Mme		Anno	Chargé d'angelences
Mme	JUSSON-SCHRAMME	Anne	Charge d'enseignement contractuel
м.	JUNOT	Stephane	Professeur
м.	KODJO	Angeli	Professeur
Mme	KRAFFT	Emilie	Maître de conférences
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	Maître de conférences
Mme	LAMBERT	Véronique	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	Professeur
Mme	LEBLOND	Aanès	Professeur
Mmo	LEDOUX	Dorotháo	Maîtra de conférences
M		Cépaction	Maitre de conférences
M.		Sebastien	Maitre de conferences
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cecile	Maitre de conferences
м.	LEGROS	Vincent	Maître de conférences
м.	LEPAGE	Olivier	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	Professeur
м.	LURIER	Thibaut	Maître de conférences Stagiaire
м.	MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences Stagiaire
M	MARCHAI	Thierry	Professeur
Mme	MOSCA	Marion	Maître de conférences
M	MOUNTED	hanon	Professour
M.	PEDOZ		Moître de conférences
Mme	PEROZ	Carole	Maitre de conferences
м.	PIN	Didier	Professeur
Mme	PONCE	Frédérique	Professeur
Mme	PORTIER	Karine	Professeur
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	Maître de conférences
Mme	PROUILLAC	Caroline	Professeur
Mme	REMY	Denise	Professeur
Mme	RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences
M	POGER	Thierry	Drofossour
P1.		Carea	
M.	SAWATA	Serge	maicre de conferences
м.	SCHRAMME	Michael	Professeur
Mme	SERGENTET	Delphine	Professeur
м.	TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences
Mme	VICTONI	Tatiana	Maître de conférences
м.	VIGUIER	Eric	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	Chargé d'enseignement contractuel
Μ.	ZENNER	Lionel	Professeur

Remerciements

A Madame la Professeure Sophie COLLARDEAU-FRACHON,

De l'Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de Médecine de Lyon, Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse. Hommages respectueux.

A Monsieur le Docteur Mathieu MAGNIN,

De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon, Pour m'avoir fait découvrir le monde de la recherche au travers de ce sujet, Pour tes nombreuses corrections, ta patience et tes précieux conseils, Mais surtout pour ta grande bienveillance et ton soutien. Mes plus sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Stéphane JUNOT,

De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon, Pour m'avoir guidée dans les premiers pas de cette thèse, Pour votre gentillesse et votre accessibilité, Remerciements chaleureux.

TABLE DES MATIERES

Table	des matières	9
Table	des annexes	11
Table	des figures	13
Table	des tableaux	15
Liste a	les abréviations	17
INTR	ODUCTION	
1 La	a microcirculation ou circulation à l'échelle de l'organe	
1.1	Définitions et importance de la microcirculation	
1	1 1 Définitions	21
1.	1.2 Fonction de la microcirculation	27
1.	1.3 Les dysfonctions de la microcirculation	
1.2	Régulation de la microcirculation	
l.	2.1 Régulation locale de la perfusion tissulaire	
l. 1	2.2 Régulation systèmique de la perfusion tissulaire	
1.	2.3 Les interactions entre la micro et la macrocirculation	
1.3	Évaluation de la microcirculation par vidéomicroscopie	39
1.	3.1 Imagerie OPS et SDF	
1.	3.2 L'acquisition des images	41
1.	3.3 La qualité des vidéos	42
1.	3.4 Analyse des vidéos de microcirculation	44
1.	3.5 Incident Dark Field imaging	48
	valuation de la microcirculation par vidéomicroscopie SDF : impact du s	tatut
hémodynamiq	que sur la présence d'artefacts de compression	
2.1	Contexte et objectif de l'étude	
2.2	Matériel et méthode	53
2.	2.1 Animaux	53
2.	2.2 Protocole anesthésique	
2.	2.3 Surveillance hemodynamique	
2.	2.4 Protocole	
2.	2.5 Imagerie sublinguale	
2.	2.6 Analyse des videos	
Ζ.	2.7 Analyse statistique	
2.3	Résultats	57
2.	3.1 Score de qualité d'image de microcirculation	57
2.	3.2 Influence de l'état hémodynamique sur la qualité des vidéos	57
2.	3.3 Influence du score de compression sur les paramètres microcirculatoires	60
2.4	Discussion	63
2.4)	4.1 Limite de l'imagerie SDF	دی ۶۹
2. ?	4.2 Limites de l'étude	
2. 2.		1
3 Et	ude sur la relation entre la microcirculation sublinguale et la macrocircu	ilation 67

3.1	Contexte et objectif de l'étude	67
3.2	Matériel et méthode	68
3.2.	1 Analyse des vidéos	68
3.2.	2 Analyse statistique	68
3.3	Résultats	70
3.3.	 Visualisation de l'évolution des paramètres microcirculatoires en fonction de la P. 70 	AM
3.3.	2 Visualisation de l'évolution du MFI en fonction de la PAM chez chaque porc	71
3.3.	3 Modélisations de la relation entre MFI et PAM	72
3.4	Discussion	75
3.4.	1 Relation macro- microcirculation	75
3.4.	2 Variabilité interindividuelle	76
3.4.	3 Limites de l'étude	77
C onclus	ion	79
Bibliogr	aphie	81
Annexes	5	87

TABLE DES ANNEXES

TABLE DES FIGURES

Figure 1 Croquis de la paroi capillaire en section transversale, a) Capillaire continu. b)
Capillaire fenestré. (c) Capillaire discontinu. C cavéole (vésicule ouverte) ; FD fenestration avec
diaphragme ; G glycocalyx ; ICC fissure intercellulaire ; LD lamina densa de la lame basale ; M
mitochondrie ; O espace ouvert ; P péricyte ; TJ jonction serrée ; V vésicule. Source : d'après
Herring et al. (6)
Figure 2 Les réseaux microvasculaires dans différents tissus visualisés par microscopie
électronique à balavage. Les barres d'échelle indiquent une longueur de 40 µm. Source : d'après
Pries AR et al.(7).
Figure 3 Organisation de la microcirculation. Source : d'après Young et al. (12)
Figure 4 Illustration de l'effet Farheus, Source - d'après M. Buwalda et al. (15) HA
Hématocrite artériolaire : Hean : Hématocrite capillaire 25
Figure 5 La perfusion capillaire Source · Elisa Foulon 26
Figure 6 Proportion de petits vaisseaux avec flux absent (A) ou intermittent (B) Les
volontaires sains sont représentés par des rectangles ouverts les patients présentant un sensis par
des rectangles gris. Les natients en sensis ont significativement une proportion de petits vaisseaux
avant un flux intermittent à absent plus important (p value < 0.001). Source : d'après De Backer
(24) 29
Figure 7 Evolution au cours du temps de la perfusion des petits vaisseaux chez des
patients survivants et non survivants à un choc septique. Une augmentation significative de la
perfusion des petits vaisseaux chez les survivants est constatée. Source : d'après Sakr et al. (26) 30
Figure 8 Interactions lors de l'hyperhémie d'activité Source : d'après Klein et al. (17) 32
Figure 9 Action des catécholamines sur le système cardiovasculaire. Source · Elisa Foulon
34
Figure 10 Système rénine angiotensine II. Source : Elisa Foulon
Figure 11 L'autorégulation : stabilisation du flux sanguin microcirculatoire. Source :
d'après Hall J.E. et al. (12)
Figure 12 Deux types de découplages entre macro et microcirculation. Source : d'après
Siegenthalter et al (2)
Figure 13 Sidestream Dark Field imaging. Source : d'après Ince C. et al (21)
(a)Fonctionnement de l'imagerie SDF ; (b)Exemple de qualité d'image fournie par l'imagerie
SDF. Visualisation d'hématies et de plusieurs leucocytes
Figure 14 Quadrants pour le calcul du score de De Backer. Source : d'après De Backer et
al. (16)
Figure 15 Quadrants pour la mesure de l'index de flux microvasculaire. Source : d'après
De Backer et al. (15)
Figure 16 Protocole de variation de la PAM au cours du temps
Figure 17 Exemple des résultats fournis par le logiciel AVA lors de l'analyse d'une vidéo
de microcirculation. Les centres des vaisseaux sont représentés par les traits verts, les contours
des vaisseaux par les traits rouges, la grille rose est la grille d'analyse. Source : M. Magnin (35)
Perfused number of crossings : nombre de vaisseaux perfusés croisant la grille, number of
crossings : nombre total de vaisseaux croisant la grille, PPV : proportion of perfused vessels ou
proportion de vaisseaux perfusés, small : résultats ne concernant que les petits vaisseaux
(diamètre < 20 μm)
Figure 18 Distribution des vidéos en fonctions de leur score de compression, leur qualité

Figure 19 Probabilité d'obtenir une vidéo « rejetée » en fonction de la PAM	59
Figure 20 Impact des artefacts de compression sur les paramètres microcirculatoires	62
Figure 21 Relation linéaire et bilinéaire entre MFI et PAM	69
Figure 22 Représentation graphique de l'évolution des paramètres microcirculatoires et	n
fonction de la PAM.	70
Figure 23 Évolution du MFI en fonction de la PAM. Les porcs sont représentés par	
différentes couleurs	71
Figure 24 Évolution du MFI en fonction de la PAM pour chaque porc, représenté	
individuellement dans 7 graphes différents	71
Figure 25 a) Modélisation du modèle linéaire mixte ajusté avec les valeurs de MFI	
prédites en fonction de la PAM. La surface grise autour de la ligne noire représente l'intervalle	e de
confiance à 95%. b) Superposition du modèle linéaire mixte modélisé avec l'intervalle de	
confiance à 95% et le nuage de points des valeurs de MFI en fonction de la PAM	72
Figure 26 Modèle non linéaire proposé entre le MFI et la PAM	73
Figure 27 Modèle non linéaire après ajustement entre le MFI et la PAM	73
Figure 28 Modélisation de la formule 5	73

TABLE DES TABLEAUX

Tableau I Signaux chimiques important dans la régulation locale de la perfusion
tissulaire. Source : d'après Klein et al. (18)
Tableau II Score de la qualité d'image de la microcirculation. Source : d'après Massey et
al. (48)
Tableau III Paramètres de perfusion et paramètres de densité utiles pour l'analyse de
vidéos de microcirculation. Source : d'après Ince et al. (46)
Tableau IV Influence des paramètres hémodynamiques sur la qualité des vidéos 59
Tableau V Probabilité d'obtenir une vidéo rejetée en fonction de la pression artérielle
moyenne
Tableau VI Impact des artefacts de compression sur les paramètres microcirculatoires.
Tableau extrait de notre étude (50) dont l'article est en annexe 161
Tableau VII Résultats de la modélisation linéaire72
Tableau VIII Résultats de la création d'un modèle bi linéaire pour représenter la relation
entre le MFI et la PAM

LISTE DES ABREVIATIONS

- ADH : hormone antidiurétique ou vasopressine
- ADP : adénosine diphosphate
- AIC : critère d'information d'Akaiké (AICc : AIC corrigé)
- AMP : adénosine monophosphate (AMPc : AMP cyclique)
- ANP : peptide atrial natriurétique
- ATP : adénosine triphosphate
- AVA : automated vascular analysis software (logiciel d'analyse de la microcirculation)
- CO2 : dioxyde de carbone
- DBs ou DB : score de De Backer
- DC : débit cardiaque
- FCD : densité de capillaires fonctionnels
- GMP : guanosine monophosphate (GMPc : GMP cyclique)
- HI : indice d'hétérogénéité du flux microcirculatoire
- IC : indice cardiaque ou débit cardiaque indexé
- IC95 : intervalle de confiance à 95%
- IDF : *incident dark field imaging*
- IM : intramusculaire
- IV : intraveineux
- K⁺: ion potassium
- MFI : indice de flux microcirculatoire
- Na⁺: ion sodium
- NO : monoxyde d'azote
- OPS : orthogonal polarized spectral imaging
- OR : odd ratio
- O₂ : dioxygène
- PA : pression artérielle
- PAD : pression artérielle diastolique
- PAM : pression artérielle moyenne
- PAS : pression artérielle systolique
- PDBs ou PDB : score de De Backer pour les vaisseaux perfusés
- PGI2 : prostacycline
- PPV : proportion de vaisseaux perfusés
- SDF : sidestream dark field imaging
- SQIM : score de qualité d'image de la microcirculation
- VPP : variation de la pression pulsée
- ΔP : pression de perfusion

INTRODUCTION

La microcirculation est la circulation à l'échelle de l'organe. Les altérations de cette circulation, fréquemment observées dans les états de choc, sont associées au développement d'une défaillance multiviscérale.

La régulation de la microcirculation est à la fois locale, systémique et sa relation avec la macrocirculation est complexe à identifier. Même lorsque les variables hémodynamiques systémiques atteignent les valeurs cibles définies lors de réanimation, les altérations microcirculatoires peuvent se produire. La persistance de ces altérations est associée à un moins bon pronostic. Un bon monitorage de la microcirculation pourrait alors permettre une meilleure prise en charge thérapeutique des patients en soins intensifs.

Si les troubles microcirculatoires sont étudiés depuis longtemps, leur intérêt dans la pratique clinique semble grandissant depuis quelques dizaines d'années. En 2002, la publication de deux articles traitant de l'analyse de la microcirculation sublinguale par vidéomicroscopie a créé un véritable engouement autour de cet outil permettant d'évaluer la perfusion tissulaire à la plus petite échelle, et de nombreuses publications s'en sont suivies. Cependant obtenir des vidéos de microcirculation de bonne qualité, acceptables pour l'analyse, reste le principal défi lors de l'acquisition d'images.

Ce travail de thèse s'intéresse à l'influence de l'hémodynamique systémique sur l'évaluation de la microcirculation chez le porc anesthésié. Le premier objectif est d'évaluer l'influence possible de l'hémodynamique systémique sur la qualité des enregistrements et donc sur l'estimation des paramètres de microcirculation. Le second objectif est de rechercher l'influence réelle des paramètres hémodynamique sur les paramètres microcirculatoires, c'est à dire chercher à mettre en évidence une relation entre macrocirculation et microcirculation sublinguale.

Dans un premier temps, une étude bibliographique vise à rappeler comment fonctionne et est évaluée la microcirculation. Dans un second temps, une étude expérimentale permettra d'étudier l'impact du statut hémodynamique sur la présence d'artefact de compression des microvaisseaux lors d'évaluation de la microcirculation par vidéomicroscopie utilisant l'imagerie Sidestream Dark Field (SDF). Dans un dernier temps, nous rapporterons les résultats d'une étude expérimentale ayant pour objectif la recherche d'une relation entre microcirculation sublinguale et macrocirculation chez des porcs anesthésiés.

1 LA MICROCIRCULATION OU CIRCULATION A L'ECHELLE DE L'ORGANE

1.1 DEFINITIONS ET IMPORTANCE DE LA MICROCIRCULATION

1.1.1 Définitions

1.1.1.1 La microcirculation

1.1.1.1.1 Composition

Comme son nom l'indique la microcirculation regroupe des réseaux de vaisseaux microscopiques de la circulation sanguine. Ils se situent au sein des tissus et jouent le rôle d'échangeur. Ces vaisseaux, d'un diamètre inférieur à $200\mu m$, peuvent être séparés en trois catégories : les artérioles, les veinules et les capillaires (1,2). Chacune de ces sections possède sa propre structure et fonction.

La microcirculation se compose principalement de cellules endothéliales entourant une lumière de 5 à 200µm de diamètre, de cellules musculaires lisses permettant, avec l'aide des cellules endothéliales, de moduler le diamètre des vaisseaux (vasoconstriction/vasodilatation) et de fibres élastiques dans certaines régions. Sans oublier le sang qui circule au sein de ces vaisseaux : érythrocytes, leucocytes et les composants du plasma (eau, sels minéraux, composés organiques, protéines) (3).

- Structure des artérioles en relation avec leur fonction : principalement composées de cellules musculaires lisses, les artérioles sont les artères de plus petits diamètres. Elles possèdent une compliance et une élasticité moyennes qui provoquent une diminution modérée de la pression sanguine. Ce sont des vaisseaux musculeux et résistifs précapillaires jouant un rôle fondamental dans la régulation du débit sanguin local des différents organes. Par ailleurs le réseau d'artérioles est remarquable par sa riche innervation par des fibres nerveuses sympathiques, cette innervation permet d'induire une vasoconstriction (et plus rarement une vasodilatation) (4).

- Structure des capillaires en relation avec leur fonction : ce sont les plus petits vaisseaux de l'organisme. Composée uniquement de cellules endothéliales reposant sur une lame basale, leur paroi est très mince et définit plusieurs types de capillaires suivant leurs dispositions. On distingue les capillaires continus (pas de pore entre les cellules endothéliales), les capillaires fenestrés (pores de 50 à 80nm), et les capillaires discontinus (pores de 100 à 1000 nm). La paroi de ces différents types de capillaires est illustrée figure 1. Ils jouent un rôle d'échangeur (échanges de nutriments, apport de dioxygène, évacuation du dioxyde de carbone et des déchets du métabolisme des tissus environnant) (4–6).

- Structure des veinules en relation avec leur fonction : principalement composées de fibres élastiques, leur diamètre est plus grand par rapport à celui des artères correspondantes. Elles ont une compliance importante, elles constituent le système capacitif postcapillaires de la microcirculation, autrement dit, un réservoir de sang (5).



Figure 1 Croquis de la paroi capillaire en section transversale, a) Capillaire continu. b) Capillaire fenestré. (c) Capillaire discontinu. C cavéole (vésicule ouverte) ; FD fenestration avec diaphragme ; G glycocalyx ; ICC fissure intercellulaire ; LD lamina densa de la lame basale ; M mitochondrie ; O espace ouvert ; P péricyte ; TJ jonction serrée ; V vésicule. Source : d'après Herring et al. (6)

1.1.1.1.2 Architecture de la microcirculation

Le nombre de microvaisseaux dans le corps humain et ses organes est extrêmement grand : il comprend environ 2 milliards de capillaires. Ces nombreux vaisseaux sont interconnectés en réseaux complexes qui présentent des différences suivant les diverses caractéristiques structurelles et fonctionnelles des tissus. Cependant dans chaque réseau le même schéma est retrouvé, les artères alimentent les artérioles et les capillaires en sang à travers de nombreuses branches divergentes. Une série de branches convergentes transporte ensuite le sang dans les veinules, puis dans les veines et dans le cœur. Les diamètres des vaisseaux et les longueurs des segments diminuent généralement des branches proximales à distales (7).

Les réseaux dit « nutritionnels » se disposent le long des cellules d'un tissu, permettant ainsi les échanges et l'irrigation de tout le tissu. Par exemple pour le muscle squelettique le réseau est parallèle aux fibres musculaires lisses, alors que pour les glandes, le réseau est disposé en « grappe » (2). La figure 2 montre un échantillon de la grande variété de modèles microvasculaires trouvés dans le corps. Différentes structures de réseau sont observées dans le muscle cardiaque, la peau, le cerveau, les poumons, le foie, la rate, les ganglions lymphatiques, la moelle osseuse etc...(7).



Figure 2 Les réseaux microvasculaires dans différents tissus visualisés par microscopie électronique à balayage. Les barres d'échelle indiquent une longueur de 40 µm. Source : d'après Pries AR et al.(7)

A l'échelle de l'organe, la microcirculation débute par la ramification de petites artères en un réseaux d'artérioles de plus en plus petites. Ces artérioles se poursuivent par des réseaux de capillaires, se poursuivant eux-mêmes par des veinules. Le sang peut également passer directement dans les veinules par des systèmes de shunt : les anastomoses artérioveineuses (ces anastomoses permettent de shunter des lits capillaires) (4).

Les artérioles ont un diamètre dépendant de la vasomotricité, de l'organe et de l'espèce considérée. En moyenne sa lumière n'excédera pas 100 μ m de diamètre (70 μ m dans les vaisseaux cutanés d'un hamster d'après Sakai et al. (8), 90 à 120 μ m dans les joues de hamster d'après Joyner et al. (9), 80 à 100 μ m pour les artérioles sous épicardiques et sous endocardiques dans un cœur porcin d'après Kuo et al. (10)). Pour les artérioles les plus terminales, c'est-à-dire les plus proches du réseau capillaire, leur lumière sera davantage de l'ordre de 5 μ m (4). Les

métarterioles (les artérioles terminales) n'ont pas une couche musculaire continue, mais des fibres musculaires lisses encerclent le vaisseau à différents endroits (4).

Le réseau de capillaires est le plus dense. Une artériole donne en moyenne 10 à 15 capillaires dans les fibres musculaires lisses. Dans ce réseau on retrouve des branches parallèles, séparées d'environ 20-30 μ m de distance ainsi que des points de liaisons entre ses branches (4,11). Au point de jonction entre chaque capillaire et la métarteriole d'où il prend son origine, une fibre musculaire lisse entoure habituellement le capillaire comme illustré sur la figure 3. Cette structure est appelée sphincter précapillaire. Ce sphincter peut ouvrir et fermer l'entrée du capillaire (12). Le diamètre d'un capillaire est inférieur à la taille d'une hématie au niveau de l'abouchement avec l'artériole. Ce diamètre augmente d'environ 20% au niveau de la réunion de tous les capillaires du réseau en un vaisseau plus large appelé veinule (4).

L'organisation des veinules est sensiblement similaire à celles des artérioles correspondantes. Les veinules sont cependant plus nombreuses et ont un diamètre plus large de 50% par rapport à une artériole de même niveau dans le réseau précapillaire. L'établissement de l'innervation du réseaux de veinules et de leurs réponses à une stimulation du système sympathique est variable (4).



Figure 3 Organisation de la microcirculation. Source : d'après Young et al. (12)

1.1.1.1.3 Spécificité de la microcirculation

Comme évoqué précédemment, notamment concernant son architecture, la microcirculation possède des caractéristiques qui lui sont propres. Entre autres, elle possède une pression partielle en oxygène plus basse que la macrocirculation (3).

L'hématocrite dans les capillaires est hétérogène. Les embranchements étant asymétriques et avec un angle variable suivant le diamètre de la bifurcation (plus le diamètre est petit, plus l'angle est important), la répartition des hématies est non uniforme. De façon général, l'hématocrite est plus bas que dans la macrocirculation. On parle d'effet Farhaeus, illustré figure 4 : l'hématocrite dans un tube est plus bas que dans le tube en amont, d'autant plus que le diamètre du nouvel embranchement est petit (13,14).

Enfin, le contrôle du flux sanguin dans la microcirculation est plus complexe que la circulation systémique car il dépend à la fois de facteurs systémiques et humoraux mais également du métabolisme local (3). Les métartérioles et les sphincters précapillaires sont en contact étroit avec les tissus et les composants du liquide interstitiel dont les concentrations varient suivant l'activité de l'organe. Nous reviendrons sur les facteurs locaux de régulation de la perfusion microcirculatoire dans la partie 1.2. (12).



Figure 4 Illustration de l'effet Farheus. Source : d'après M. Buwalda et al. (15) HA : Hématocrite artériolaire ; Hcap : Hématocrite capillaire

1.1.1.2 La perfusion capillaire

La perfusion capillaire est déterminée par la densité de capillaires ouverts et par le débit dans les capillaires. La densité de capillaires ouverts peut être quantifiée, on utilise le terme de **« densité de capillaires fonctionnels** » (FCD). La FCD varie en fonction des besoins du tissu perfusé. Elle peut également être modifiée dans des contextes pathologiques. De manière adaptative, la FCD va augmenter si le besoin en oxygène du tissu augmente, par exemple lors d'un exercice physique, l'ouverture des sphincters précapillaires permettent la perfusion d'un plus grand nombre de capillaires musculaires. Et, dans un contexte pathologique, par exemple lorsque des microthrombi obstruent des capillaires, la FCD diminue car certains vaisseaux ne sont plus perfusés, on parle alors de shunt ou encore de dérecrutement.

Le débit capillaire dépend du débit sanguin à la sortie de l'artériole pré-capillaire et de la pression de perfusion capillaire. La pression de perfusion capillaire est influencée par le degré

d'ouverture du réseau capillaire, par les résistances à l'écoulement des artérioles et par des facteurs propres au sang tel que sa viscosité (2,15). La figure 5 résume les facteurs influençant la perfusion capillaire.

La perfusion capillaire dépend donc du débit et de la FCD, dépendant eux-mêmes de paramètres métaboliques et pathologiques. Une certaine hétérogénéité de cette perfusion est caractéristique de la microcirculation. La perfusion n'est pas obligatoirement la même au sein de tout un organe. Des territoires hyperperfusés peuvent avoisiner des territoires hypoperfusés. La vidéomicroscopie permet de quantifier un « index d'hétérogénéité » sur lequel nous reviendrons par la suite (2,16).



Figure 5 La perfusion capillaire. Source : Elisa Foulon

Le débit ou flux sanguin est déterminé dans chaque tissu et organe par la pression de perfusion : ΔP = pression artérielle moins la pression veineuse et par les résistances des vaisseaux sanguins de ces tissus. Il est possible de l'écrire comme suit :

Débit sanguin = ΔP / résistances vasculaires (17)

A la fin des années 1800 le physicien français J. L. M. Poiseuille a démontré l'effet dominant du rayon sur la résistance d'un tube de faible diamètre avec la formule qui suit :

Résistance d'un tube = $8\eta l / \pi r^4$

où η est la viscosité du fluide, *l* la longueur du tube, et r le rayon du tube.

Cette équation, appelée « loi de Poiseuille », souligne que le rayon est un facteur prépondérant influençant la résistance d'un tube. La résistance est inversement proportionnelle au rayon à la puissance quatre. Autrement dit, doubler le rayon d'un tube diminue sa résistance

par un facteur de 16. Les artérioles sont le site non seulement de la plus grande résistance dans la circulation mais aussi de la régulation des résistances. La variation des résistances artérielles est le principal facteur qui détermine dans quelle mesure le sang circule à travers chaque organe dans le corps. Une augmentation des résistances artérielles dans un organe diminue le flux sanguin à travers cet organe et inversement, lorsque les résistances diminuent, le flux augmente(17).

La perfusion capillaire est contrôlée par les artérioles de grands diamètres, qui régulent le débit sanguin à l'échelle de l'organe, et par les artérioles précapillaires qui assurent la distribution aux différents réseaux capillaires, donc qui influencent la FCD (2).

1.1.1.3 La vasomotricité

La vasomotricité des artérioles est le mécanisme le plus important permettant d'augmenter (par vasoconstriction) ou de diminuer (par vasodilatation) le flux sanguin dans un organe par rapport à un autre. La paroi des artérioles est relativement épaisse et musclée. Comme vu précédemment en appliquant la loi de Poiseuille, la contraction du muscle lisse artériel diminue le rayon des artérioles et cette vasoconstriction augmente considérablement la résistance à la circulation sanguine. La relaxation du muscle lisse permet au rayon des vaisseaux d'augmenter, et cette vasodilatation réduit considérablement la résistance à la circulation sanguine (17).

Cette vasomotricité est affectée par des mécanismes extrinsèques (facteurs humoraux) et par des mécanismes locaux (interactions autocrine et paracrine) que nous verrons dans le 1.2.

1.1.2 Fonction de la microcirculation

La microcirculation est le lieu d'échange entre le sang et les tissus. Elle joue un rôle essentiel dans l'oxygénation des tissus, dans l'apport des nutriments ainsi que dans l'évacuation des déchets. On parle de rôle « nutritionnel ». Cette circulation possède également un rôle « non nutritionnel » qui consiste non pas dans le transport de particules en tant que telles, mais par exemple dans la régulation de la température corporelle, ou encore dans la filtration rénale comme au niveau des glomérules des reins. Sa propre fonction est en quelque sorte d'assurer le bon fonctionnement des organes, c'est donc un compartiment essentiel du système cardiovasculaire (2,18,19).

Les échanges gazeux, notamment d'O₂, au niveau des capillaires sont permis par la diffusion, le long d'un gradient de pression, de l'hémoglobine des globules rouges vers les mitochondries des cellules du tissu perfusé. Au sein du lit capillaire, la circulation y est lente (de l'ordre de 0,1cm/s), ce qui favorise les échanges (13). L'oxygénation des tissus est cependant variable étant donné l'hétérogénéité de l'hématocrite dans la microcirculation et l'hétérogénéité globale du réseaux microcirculatoire (des vaisseaux peuvent être perfusés alors que d'autres ne le sont pas), elle est donc très dépendante de la FCD, qui augmente par exemple lors d'entraînement physique ou lors d'hypoxie chronique. L'oxygénation des tissus est difficile à prédire ou évaluer à partir de mesure systémique (1,19).

Grâce à sa structure particulière, la microcirculation permet d'apporter les nutriments et d'éliminer les déchets des tissus. Elle assure également le maintien de la bonne santé de l'organisme, puisqu'elle permet aux cellules de l'immunité d'aller sur les lieux d'une inflection ou d'une inflammation, aux hormones d'assurer leur rôle ou encore aux molécules médicamenteuses d'atteindre leur cible. La microcirculation joue donc un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie (20,21).

1.1.3 Les dysfonctions de la microcirculation

Comme nous venons de le souligner, la microcirculation joue un rôle essentiel pour le fonctionnement de l'organisme. Elle s'illustre par ses multiples fonctions, son architecture et son organisation très spécifiques et relativement autonome. L'importance de la microcirculation peut également s'illustrer par les conséquences de ses dysfonctionnements.

1.1.3.1 Causes de ses dysfonctionnements

De très nombreuses conditions peuvent être à l'origine de troubles de la microcirculation. C'est notamment le cas du sepsis, du choc septique, et des chocs circulatoires au sens large (hémorragique, cardiogénique), ainsi que des processus comme l'inflammation, l'hypertension et le diabète (3,21). Depuis les années 2000, les troubles de la microcirculation (et leurs conséquences) ont particulièrement été étudiés dans le sepsis et le choc septique (2,15,16,22–24).

1.1.3.2 Perturbation de la microcirculation

La perturbation de la microcirculation se caractérise par une diminution de la densité de capillaires perfusés et par une hétérogénéité de cette perfusion. Des territoires, peu voire non perfusés, peuvent avoisiner des territoires bien perfusés. Le dérecrutement s'observe lorsque la densité des capillaires perfusés est diminuée. Le flux sanguin dans ces vaisseaux est alors intermittent à absent comme l'illustre la figure 6 (1,2,23,25). Cette perturbation du flux se retrouve davantage chez les patients en sepsis sur cette figure.

Ces altérations microcirculatoires peuvent exister même lorsque les variables de l'hémodynamiques systémiques sont dans les valeurs usuelles, comme nous le verrons ultérieurement (25).



Figure 6 Proportion de petits vaisseaux avec flux absent (A) ou intermittent (B). Les volontaires sains sont représentés par des rectangles ouverts, les patients présentant un sepsis par des rectangles gris. Les patients en sepsis ont significativement une proportion de petits vaisseaux ayant un flux intermittent à absent plus important (p value < 0,001). Source : d'après De Backer (24)

1.1.3.3 Conséquences de ses perturbations

De nombreuses études rapportent une association entre la présence de troubles de la microcirculation et l'augmentation de la mortalité chez les patients en réanimation, notamment lors de sepsis (23,24,26–28), de chocs septiques (16), hémorragiques (29) ou cardiogéniques (30). Certaines études, comme celle de Sakr et al. (25), ayant montré une augmentation significative de la perfusion des petits vaisseaux chez les survivants par rapport au non survivants (voir figure 7), suggèrent également une relation entre la gravité de ces perturbations et l'apparition de dysfonctions d'organes lors de chocs septiques. Bien que les paramètres hémodynamiques (macrocirculation) soient optimaux chez ces patients, les anomalies microcirculatoires peuvent conduire à des troubles de l'apport du dioxygène, à une hypoxie tissulaire pouvant induire la dysfonction des cellules et des organes. Ces dysfonctions d'organes sont généralement à l'origine du décès des patients (2).

Dans une étude, Trzeciak et al. (16) montrent qu'une amélioration précoce, au-delà des vingt-quatre premières heures, des paramètres de la microcirculation s'accompagne d'un meilleur pronostic de survie. En effet la perfusion des capillaires et leur densité augmentent chez les survivants par rapport aux non survivants.



Figure 7 Evolution au cours du temps de la perfusion des petits vaisseaux chez des patients survivants et non survivants à un choc septique. Une augmentation significative de la perfusion des petits vaisseaux chez les survivants est constatée. Source : d'après Sakr et al. (26)

1.2 REGULATION DE LA MICROCIRCULATION

Tous les tissus ne reçoivent pas la même part de flux sanguin car ils n'ont pas tous les mêmes besoins à un instant donné. Leur perfusion est donc contrôlée par une régulation fine de la microcirculation qui se fait, en grande partie, à l'échelle du tissu ou de l'organe.

Comme décrit précédemment le débit sanguin dépend de la pression de perfusion et des résistances vasculaires. Globalement, tous les organes sont normalement soumis à la même pression de perfusion. La différence des débits sanguins locaux et donc les différences de perfusion des tissus est déterminée par des variations dans leurs résistances vasculaires.

1.2.1 Régulation locale de la perfusion tissulaire

Le mécanisme par lequel les changements dans le métabolisme des tissus ou la disponibilité de l'oxygène modifient le flux sanguin des tissus n'est pas entièrement compris, mais plusieurs théories ont été proposées.

1.2.1.1 La régulation locale dépend de la pression partielle locale en oxygène

Beaucoup d'évènements peuvent faire varier la pression partielle locale en dioxygène (O_2) dans un organe. Une hypoperfusion, une hypoxémie, ou encore une activité accrue du tissu aboutissent à une diminution de cette ressource. Une diminution de la pression partielle locale en O_2 entraîne une vasodilatation.

The vasodilator substance theory (12) explique que les cellules parenchymateuses, les hématies et la paroi des vaisseaux libèrent des molécules vasodilatatrices en cas de manque en O₂. L'adénosine, les lactates, le dioxyde de carbone (CO2), les prostaglandines, l'adénosine triphosphate (ATP), le monoxyde d'azote (NO) ont été identifiés comme étant des molécules vasodilatatrices potentiellement impliqués dans ce mécanisme régulateur.

The nutriment demand theory (12) expose que la vasodilatation pourrait être directement liée à la baisse de pression partielle en O_2 (ou à la baisse de concentration d'autres nutriments). L'impossibilité de se contracter en l'absence de ces molécules forcerait les cellules musculaires lisses des parois vasculaires à se relâcher.

1.2.1.2 Exemple de l'hyperhémie d'activité

Bien que le mécanisme exact ne soit pas connu, nous savons dans quel sens les variations de pression partielle locale en oxygène et des concentrations d'autres molécules influencent la vasomotricité. Prenons l'exemple de l'hyperhémie d'activité pour comprendre les interactions entre les produits du métabolisme, la vasomotricité et le débit sanguin capillaire. L'hyperhémie d'activité correspond au fait que le débit sanguin dans un tissu augmente en réponse à un accroissement de l'activité métabolique du tissu. Une augmentation de l'activité métabolique d'un tissu est associée à une élévation de la consommation en dioxygène (O_2), et à une élévation de la concentration de déchets métaboliques, dans le liquide interstitiel, tels que le CO_2 , l'adénosine, l'acide lactique et des ions potassium (K⁺). La concentration interstitielle

en O₂ diminue alors et la concentration des déchets augmente. Pour le muscle, les plus importants sont la variation du pH et de l'adénosine. Pour le cerveau, le plus important est l'augmentation locale de la pression partielle en CO2. Ces deux variations de concentration ont un effet vasodilatateur sur les artérioles. Un bas niveau d'O2 et une concentration importante en K⁺ et produits métaboliques agissent également sur les sphincters précapillaires en favorisant leur relaxation. Davantage de capillaires sont alors ouverts et irrigués. Les résistances vasculaires diminuent donc et le tissu reçoit un débit sanguin plus important. De plus la surface couverte par les capillaires perfusés augmente, la distance de diffusion entre les cellules et le sang diminue et le flux sanguin augmente, permettant une meilleure délivrance de l' O_2 et des autres métabolites et une évacuation plus efficace des déchets. L'élimination des déchets s'accélérant, la concentration en vasodilatateurs diminue et un équilibre se crée lorsque l'augmentation du flux sanguin correspond étroitement aux besoins métaboliques du tissu. Toutes ces interactions sont résumées dans la figure 8 (12,17). La circulation cérébrale est un très bon exemple de ce qu'est l'hyperhémie d'activité. Le cerveau est un organe aérobie strict, il est donc important que la circulation cérébrale soit maintenue constamment. Le débit sanguin cérébral est étroitement couplé aux besoins métaboliques du tissu (12).



32

Figure 8 Interactions lors de l'hyperhémie d'activité. Source : d'après Klein et al. (17)

1.2.1.3 Les mécanismes dépendants des tensions pariétales

La théorie de la réponse myogénique explique que les vaisseaux sanguins répondent à une élévation de leur pression intraluminale par une vasoconstriction ou à une diminution de leur pression par une vasodilatation (31).

Les frottements exercés par les variations du flux sanguin sont à l'origine de forces de cisaillement appelées « shear stress ». Le mécanisme exact de cette réponse myogénique est encore incertain. Une hypothèse mécanique est avancée, l'étirement de la paroi entraîne une dépolarisation qui permet une entrée rapide de l'ion calcium dans les cellules musculaires, et ainsi la contraction de celles-ci (12,31). De plus, les cellules endothéliales détectent ces forces (via le glycocalyx notamment) et libèrent des molécules vasodilatatrices telles que le monoxyde d'azote et les prostacyclines (12).

Ce mécanisme est indépendant des mécanismes neuronaux, métaboliques ou hormonaux. Il concerne principalement les artérioles mais peut aussi agir dans certaines veinules. Il est essentiel dans le maintien d'un tonus vasculaire basal et dans l'autorégulation (l'autorégulation sera détaillée dans la partie 1.2.3) (31).

1.2.1.4 Les médiateurs de la régulation du diamètre vasculaire

Comme évoqué précédemment, de nombreux signaux chimiques agissent localement (en paracrine) pour exercer un contrôle important sur la résistance vasculaire et donc sur le débit sanguin. Certains d'entre eux sont énumérés dans le tableau I.

L'endothélium, partie très importante des vaisseaux de la microcirculation, est un organe endocrine ayant la capacité de réguler le flux sanguin au sein de ces vaisseaux. En effet il régule localement en sécrétant des substances vasodilatatrices (prostacyclines, monoxyde d'azote (NO), facteur hyperpolarisant) et vasoconstrictrices (endothéline, thromboxane, anions superoxydes). Deux mécanismes expliquent la libération de ces substances :

- L'activation de récepteurs membranaires à la surface de cet endothélium par des facteurs plaquettaires tels que la sérotonine ou l'adénosine diphosphate (ADP), la thrombine, et par des hormones circulantes telles que l'adrénaline et la vasopressine.

- Les forces de cisaillement ou « shear stress ». Plus elles sont fortes et plus il y a de facteurs libérés (17).

Tableau I Signaux chimiques important dans la régulation locale de la perfusion tissulaire. Source : d'après Klein et al. (18)

Signaux chimiques	Source	Effet			
Signaux liés au métabolisme					
Dioxygène (O2)	Dans le sang artériel, consommé par métabolisme aérobie	Vasoconstriction			
Dioxyde de carbone (CO2)	Produit du métabolisme aérobie	Vasodilatation			
lons potassium (K+)	Produit du métabolisme aérobie	Vasodilatation			
Adénosine	Produit du métabolisme aérobie	Vasodilatation			
Acide lactique	Produit du métabolisme anaérobie	Vasodilatation			
Autres signaux locaux (paracrines)					
Endothéline-1	Cellules endothéliales	Vasoconstriction			
Monoxyde d'azote (NO)	Cellules endothéliales	Vasodilatation			
Thromboxane A2	Plaquettes	Vasoconstriction			
Prostacycline (PGI2)	Cellules endothéliales	Vasodilatation			
Histamine	Mastocytes	Vasodilatation			
Bradykinine	Cellules endothéliales	Vasodilatation			

1.2.2 Régulation systémique de la perfusion tissulaire

1.2.2.1 Les catécholamines

Les catécholamines sont des hormones synthétisées à partir de la tyrosine. Les plus connues sont l'adrénaline et la noradrénaline. Chez l'homme, la médullo-surrénale libère 90% d'adrénaline et 10% de noradrénaline (12,32). Elles sont des neurotransmetteurs et des hormones du système nerveux autonome sympathique qui a un effet majoritairement vasoconstricteur (figure 9).



Figure 9 Action des catécholamines sur le système cardiovasculaire. Source : Elisa Foulon
1.2.2.2 Le système rénine-angiotensine : régulation à long terme

L'angiotensine II est un vasoconstricteur puissant. Le foie produit un précurseur, l'angiotensinogène, transformé en angiotensine I par la rénine, enzyme sécrétée par l'appareil juxta-glomérulaire des reins. L'angiotensine I est transformée en angiotensine II par des enzymes de conversion produites par les cellules endothéliales (cette transformation se remarque surtout dans les poumons où les réseaux capillaires sont bien développés, mais elle se déroule partout). L'angiotensine II est la forme biologiquement active, elle agit en se fixant sur des récepteurs AT1 et AT2. Sa fixation sur AT1 (situé sur les artères, le cœur, les reins...) provoque l'augmentation de l'AMPc intracellulaire et la libération de calcium, entraînant une contraction cellulaire et une vasoconstriction. L'angiotensine II est ensuite dégradée en angiotensine III puis en métabolites inactifs comme le montre la figure 10. Le facteur limitant de ce système (qui constitue donc le point de contrôle) est la rénine (12,17,32).



Figure 10 Système rénine angiotensine II. Source : Elisa Foulon

1.2.2.3 L'ADH ou vasopressine

L'ADH, aussi appelée vasopressine, est une neurohormone hypothalamique synthétisée au niveau des noyaux supraoptiques et paraventriculaires dans l'hypothalamus. Elle chemine le long des axones et est libérée dans le système vasculaire de la post hypophyse (neurohypophyse) dans l'artère hypophysaire. L'ADH participe donc au maintien de la pression artérielle grâce à deux actions :

- C'est un puissant vasoconstricteur. Elle se lie aux récepteurs V1 des vaisseaux et provoque une vasoconstriction donc une augmentation de la pression artérielle.

- C'est une hormone antidiurétique qui agit en se fixant sur des récepteurs V2 au niveau du tube collecteur du rein, par inclusion d'aquaporines qui va le rendre perméable. L'eau est

ainsi réabsorbée passivement suivant un gradient dans l'interstitium ou règne une osmolarité élevée (gradient cortico-papillaire). Cette rétention augmente la volémie et le volume d'éjection systolique, et participe ainsi à l'augmentation ou au maintien de la pression (12,17).

1.2.2.4 Le peptide atrial natriurétique (ANP)

L'ANP est un vasodilatateur direct et un diurétique de façon indirecte. Ce peptide appartient à la famille des peptides natriurétiques. L'ANP est un petit peptide (vingtaine d'acides aminés) synthétisé au niveau des oreillettes et contenu dans des granules. Lors d'une distension des oreillettes (ex : retour du sang), il est libéré dans la circulation et a un effet vasodilatateur direct : il se fixe sur la membrane des cellules musculaires lisses des vaisseaux et induit la formation d'un second messager, le GMPc, qui entraîne la vasodilatation. L'ANP agit également au niveau des surrénales en inhibant la production d'aldostérone, une hormone qui stimule la réabsorption de Na⁺ en agissant sur le tube contourné distal du néphron. La natriurèse (élimination de sodium dans les urines) et donc la diurèse (élimination d'eau) augmentent. Cette diminution de la volémie entraîne une baisse de la pression artérielle (12,17).

1.2.3 Les interactions entre la micro et la macrocirculation

Par opposition à la microcirculation, la macrocirculation est définie comme étant la circulation comprenant l'ensemble des vaisseaux supérieurs à 200µm de diamètre, elle transporte le sang du cœur aux organes et des organes au cœur. Elle se caractérise alors par des variables propres à l'hémodynamique systémique telles que la pression artérielle et le débit cardiaque.

Des valeurs cibles de ces paramètres macrocirculatoires sont utilisés en pratique comme objectifs thérapeutiques, lors de chocs septiques notamment (33), même si l'objectif final des procédures thérapeutiques est de maintenir une perfusion tissulaire satisfaisante. La question des liens entre micro- et macrocirculation semble donc particulièrement intéressante.

1.2.3.1 Autorégulation

Comme vu précédemment, le débit sanguin local dépend d'un gradient de pression et de la résistance vasculaire. Si la pression artérielle augmente, le débit sanguin local devrait donc augmenter également. Cependant un mécanisme d'autorégulation permet aux tissus de contrôler leur propre débit sanguin en l'absence d'influences neurales et hormonales et de le stabiliser. Une augmentation rapide de la pression artérielle entraîne une hausse immédiate du flux sanguin. Mais en quelques secondes, dans la plupart des tissus, ce flux retourne à une valeur basale, même si la pression artérielle continue d'augmenter. Cette régulation du débit sanguin local en fonction de la pression artérielle s'appelle l'**autorégulation**(12). Elle repose sur l'intervention des mécanismes de régulation locaux vu précédemment qui permettent la modification du diamètre des microvaisseaux (principalement sur la réponse myogénique). L'autorégulation est efficace entre des pressions artérielles moyennes (PAM) de 65-70mmHg à 175mmHg où l'on remarque une stabilisation du débit sanguin local (figure 11) (12). Dans cet intervalle de pression, une diminution de la PAM entraîne une vasodilatation et donc une augmentation du débit sanguin. Inversement, une augmentation de la PAM entraîne une

vasoconstriction et donc une diminution du débit sanguin localement (12), permettant une stabilisation du flux sanguin à l'échelle de l'organe.



Figure 11 L'autorégulation : stabilisation du flux sanguin microcirculatoire. Source : d'après Hall J.E. et al. (12)

1.2.3.2 La dissociation macro/microcirculation

L'autorégulation influence la perfusion microcirculatoire pour l'adapter aux variations macrocirculatoires, mais de nombreuses études mentionnent la persistance de troubles de la perfusion microcirculatoire alors que les anomalies macrohémodynamiques sont résolues (25,27,34). Partant de ce constat une dissociation semble pouvoir exister entre les deux systèmes.

Siegenthalter et al. décrit un certain équilibre entre ces deux circulations qui est représenté sur la figure 12 (2). Le débit cardiaque et la pression artérielle, pour les déterminants les plus caractéristiques de la macrocirculation, influencent obligatoirement à certains intervalles de leur valeur la perfusion tissulaire en agissant sur le flux et la densité de capillaires perfusés. Il expose l'existence de deux types de découplages et donc de perte d'équilibre entre les deux circulations. Lors de ces découplages, la perfusion tissulaire au niveau des capillaires n'est plus maintenue. Lors de chocs vasoplégiques (qui se caractérise par l'absence de tonus vasculaire), un découplage de type I peut être observé. Les résistances vasculaires sont trop faibles pour maintenir une pression de perfusion adéquate et ce, malgré une augmentation importante du débit cardiaque. On parle de découplage « fonctionnel de type I » (2). A l'opposé, lors de chocs cardiogéniques et hypovolémiques, la diminution du débit cardiaque associée à l'augmentation des résistances vasculaires se conclut par une baisse de la perfusion microcirculatoire. On parle de découplage « anatomique de type II » (2). Dans les deux extrêmes, la perfusion capillaire insuffisante se traduit par un « dérecrutement » microcirculatoire (2). Ce modèle pourrait apporter une première explication à la dissociation entre micro- et macrocirculation constatée dans certaines situations.



Figure 12 Deux types de découplages entre macro et microcirculation. Source : d'après Siegenthalter et al (2)

Cette dissociation peut également s'expliquer avec l'introduction des notions de **cohérence et d'incohérence hémodynamique** par Can Ince (35). La cohérence hémodynamique entre la macrocirculation et la microcirculation est la condition dans laquelle l'amélioration des troubles macrocirculatoires s'accompagne d'une amélioration de la perfusion régionale et microcirculatoire et donc de la correction de l'apport et de la consommation d'oxygène. L'incohérence hémodynamique correspond à la perte de cette cohérence, c'est-à-dire à la situation dans laquelle la correction des variables macrohémodynamiques ne s'accompagne pas d'une amélioration de la microcirculation. Il est important de comprendre que cette cohérence ou incohérence se rapporte davantage à la présence ou non d'une contradiction entre ce qui est attendu lors d'un traitement à visée hémodynamique plutôt qu'à un certain « couplage » entre macro- et microcirculation (36).

La cohérence hémodynamique est caractérisée par deux principaux critères : sa nature dynamique et sa non-réciprocité. Pour le caractère dynamique : il n'est pas possible de parler de cohérence ou d'incohérence sans essayer le moindre traitement. C'est-à-dire qu'on ne peut qualifier une situation d'incohérente seulement après la mise en place de procédés thérapeutiques à visée hémodynamique (fluidothérapie, vasopresseurs...) n'ayant pas permis d'améliorer la perfusion microcirculatoire mais ayant permis l'amélioration de l'hémodynamique (36,37).Concernant la non-réciprocité de la notion de cohérence hémodynamique : une situation dans laquelle la microcirculation est préservée alors que la macrocirculation ne l'est pas ne peut pas être qualifiée d'incohérente car c'est ce qui peut être attendu, notamment grâce aux mécanismes d'autorégulation (36).

Avec l'introduction de la vidéomicroscopie au chevet du patient, la nature des altérations microcirculatoires a davantage été étudiée. Ces altérations se sont révélées avoir une importance clinique en termes de morbidité et de mortalité, et la vidéomicroscopie portative semble prometteuse pour l'identification des altérations microcirculatoires qui caractérisent la perte de cohérence hémodynamique (35).

1.3 ÉVALUATION DE LA MICROCIRCULATION PAR VIDEOMICROSCOPIE

À la suite de l'observation de l'association entre la présence (et la persistance) de troubles de la microcirculation et d'une augmentation de la mortalité dans des cohortes de patients critiques, l'intérêt pour la surveillance microcirculatoire au chevet du patient a fortement augmenté depuis les années 2000.

Comme nous l'avons vu la microcirculation apparaît comme un acteur physiopathologique important dans une multitude d'affections. La complexité de sa régulation rend difficile la prédiction de son comportement. Aujourd'hui, différentes techniques d'imagerie rendent la surveillance de la microcirculation au chevet du patient possible. La seule qui permet l'étude directe du réseau microcirculatoire est la vidéomicroscopie. Plusieurs générations de vidéomicroscopes ont été développées. Les deux premières générations sont l'imagerie par OPS (Orthogonal polarisation spectral - 1^{ère} génération) et l'imagerie par SDF (Sidestream Dark Field – 2^{ème} génération) (38).

1.3.1 Imagerie OPS et SDF

1.3.1.1 Avancées scientifiques permises par l'Orthogonal polarization spectral imaging

L'imagerie par OPS a été introduite fin des années 1990 et a permis la première observation directe de la microcirculation des organes internes humains au chevet du patient (d'autres technologies avaient déjà été utilisée dans un contexte de recherche fondamentale (39)). La technique permet une visualisation microscopique du réseau microcirculatoire et du flux de globules rouges dans ces microvaisseaux (40).

Pour des raisons pratiques, les vidéomicroscopes sont généralement appliqués en région sublinguale (procédure non invasive réalisable sur un patient en réanimation) : les microvaisseaux étudiés sont donc ceux de cette région. En théorie, les vidéomicroscopes peuvent permettre d'étudier d'autres réseaux microcirculatoires d'autres régions (muqueuses ou surfaces d'organes). Ce type de procédure peut notamment être réalisé expérimentalement (41).

La vidéomicroscopie permet d'étudier directement les altérations de la distribution de l'oxygène chez des patients. La technologie présente donc un intérêt puisque ce type d'information n'est pas fournie par la surveillance conventionnelle de l'hémodynamique systémique ou par le dosage de biomarqueurs systémiques de l'hypoxie tissulaire tels que les lactates (20).

Des études menées par de Backer et al. (23), Spronk et al. (42), et Sakr et al. (25) réalisées chez des patients en choc septique à l'aide de l'imagerie OPS ont directement associé le degré de détresse microcirculatoire avec la sévérité de l'affection et/ou l'absence de réponse au traitement. Ces études ont montré que les anomalies microcirculatoires associé au sepsis sont caractérisées par un flux sanguin stagnant, et par la présence d'obstructions dans les capillaires (alors que le flux est proche de la normale dans les plus grands vaisseaux microcirculatoires à proximité). L'ensemble conduisant à l'observation d'un flux microcirculatoire hétérogène. Cela souligne la pertinence d'étudier le flux sanguin dans ces petits capillaires. Or, l'imagerie OPS est limitée à cet égard. En effet, les capillaires peuvent apparaitre floue et ne sont pas toujours

bien visualisables. C'est une des raisons pour lesquelles une nouvelle modalité de videomicroscopie, l'imagerie par SDF, a été mise au point (43,44).

1.3.1.2 Sidestream Dark Field imaging

L'imagerie SDF consiste en un tube entourant la lentille du microscope et dont l'extrémité possède un anneau de LED émettant de la lumière dont la longueur d'onde est de 530 nm (lumière verte), qui correspond à une longueur d'onde absorbées par l'hémoglobine. Les LED situées à l'extrémité du guide sont isolées optiquement de la caméra interne et envoient la lumière dans le tissu. L'appareil est connecté à une caméra et à un ordinateur qui permet l'enregistrement de courtes vidéos. Sur ces vidéos, on peut observer les hématies qui apparaissent sous la forme de cellules sombres circulant dans les capillaires et qui se détachent d'un fond clair (figure 13) (43).

Goedhart et al. ont validé, en 2007, l'imagerie SDF par comparaison avec l'imagerie OPS. Le contraste des veinules, la netteté et la qualité des vidéos se sont révélés comparables pour l'imagerie OPS et SDF. Cependant, il a été démontré que le contraste et la qualité de l'observation des capillaires étaient significativement plus élevés avec l'imagerie SDF (45).



Figure 13 Sidestream Dark Field imaging. Source : d'après Ince C. et al (21) (a)Fonctionnement de l'imagerie SDF ; (b)Exemple de qualité d'image fournie par l'imagerie SDF. Visualisation d'hématies et de plusieurs leucocytes

1.3.2 L'acquisition des images

En 2007 un premier consensus (15) résume, à partir des différents aspects techniques, physiologiques et cliniques de la surveillance microcirculatoire, les conditions à remplir pour l'acquisition d'images et les différentes méthodologies pour leur analyse. Mais dix ans plus tard, après le développement des technologies et après plus de 600 articles publiés traitant des investigations cliniques et expérimentales utilisant la vidéomicroscopie, une actualisation des connaissances fut organisée dans un second consensus (46). Ce dernier consensus donne des consignes sur l'acquisition et l'analyse des vidéos que nous résumerons ici.

1.3.2.1 Manipulation du microscope

En premier lieu, il faut retirer les sécrétions avant d'apposer le vidéomicroscope. Ensuite, il ne faut pas manipuler la langue pendant l'acquisition des vidéos. En effet, la compression de l'organe à certains endroits pourrait affecter la circulation dans des zones proches à éloignées. Les capillaires et les veinules se collabent très facilement, ils sont alors très sensibles à la pression appliquée à l'organe. Comme la microcirculation se trouve juste en dessous du microscope, l'excès de pression appliqué à la zone peut réduire la perfusion, et l'étude de la microcirculation peut devenir peu fiable dans ces conditions. Cet excès de pression exercée par le vidéomicroscope peut entraîner une baisse du débit dans les veinules : le flux apparaît alors artéfactuellement lent, absent ou intermittent. Des inversions du flux peuvent également être observées. On parle d'artefacts de compression des vaisseaux(15).

Lors d'altérations de la microcirculation, les études décrivent que la perfusion veinulaire est généralement préservée alors que les capillaires sont touchés. Ainsi, un flux sanguin veinulaire altéré est l'un des signes qui indique que la pression exercée par le manipulateur est trop importante et entraîne ces artefacts dit de « compression »(15,23).

Pour limiter ou éviter ces artefacts, il est recommandé de positionner le microscope sur la zone souhaitée, de le retirer doucement jusqu'à ce que le contact soit perdu, puis de faire avancer l'objectif à nouveau lentement jusqu'au point où le contact est retrouvé (15,47).

1.3.2.2 Choix de la région sublinguale

La région sublinguale est une zone simple d'accès et ayant une surface non kératinisée. L'étude de la microcirculation sublinguale s'étant révélée intéressante, la plupart des logiciels d'analyses ont été développés pour des enregistrements effectués dans cette région. Cependant le réseau microvasculaire sublingual présente une grande hétérogénéité et le dernier consensus recommande de réaliser plusieurs vidéos, sur différents sites en sublingual, puis de moyenner les résultats. Un minimum de 3 sites a été convenu (46).

1.3.3 La qualité des vidéos

La vidéomicroscopie sublinguale a le potentiel de fournir des informations au chevet des malades par une visualisation directe de la microcirculation. Il est cependant essentiel de se baser sur des images de bonnes qualités pour effectuer des analyses réalistes et pertinentes. C'est pourquoi l'utilisation de l'imagerie SDF exigent un apprentissage par l'utilisateur (46).

Le microscope est tenu à la main par l'utilisateur. La mise au point et l'éclairage sont réglés manuellement par l'opérateur qui visualise la vidéo sur l'écran de l'ordinateur auquel l'appareil est connecté. L'utilisateur doit maintenir la pointe du microscope stable (avec un mouvement latéral inférieur à 0,1 mm/s environ) tout en n'appliquant pas trop de pression pour éviter les artefacts liés à la compression des vaisseaux. De même, le patient doit rester immobile et coopératif (lorsque la vidéomicroscopie est réalisée sur des animaux, ces derniers doivent être anesthésiés). Compte tenu de la technicité de l'enregistrement des vidéos de microcirculation et des nombreux facteurs qui peuvent impacter la qualité des vidéos, l'enregistrement de vidéos contenant des images artéfactuelles est possible (15,46).

Partant de ce constat, Massey et al. (48) ont repris les éléments évoqués par De Backer et al. lors du premier consensus de 2007 et qui apparaissaient comme des limites potentielles de l'utilisation de la vidéomicroscopie par imagerie SDF afin de réaliser un score de qualité d'image de la microcirculation (SQIM) permettant de juger de la qualité des vidéos enregistrées. Sur la base de leur expérience, ils ont identifié 6 critères à l'origine de vidéos de mauvaise qualité : la mise au point (images floues), l'éclairage (trop clair ou trop sombre), le contenu (bulles de salive ou vaisseaux en boucles serrées), la durée (la vidéo est trop courte), les mouvements (translation) et les artefacts de compression (occlusion iatrogène du flux vasculaire due à une compression de la microcirculation par l'appareil). La liste des éléments permettant de qualifier une vidéo selon chaque critère est exposée dans le tableau II. Pour chacun de ces critères, la vidéo recoit un score reflétant sa qualité, soit bonne (recoit la note 0), soit acceptable (reçoit la note 1), soit non acceptable (reçoit la note 10). Le score total de qualité d'image de microcirculation est défini comme la somme des scores de toutes les catégories. Un score de 0 indique que la vidéo était « optimale » dans toutes les catégories, un score entre 1 et 6 indique que la vidéo n'était « pas optimale mais acceptable » dans une ou plusieurs des catégories. Un score de 10 ou plus indique que la vidéo était « non-acceptable » dans au moins une catégorie et n'est donc pas retenue pour l'analyse. En effet, les vidéos jugées non acceptables, donc de mauvaise qualité, ne doivent pas être conservées pour l'analyse finale de l'état de la microcirculation. Lorsque plusieurs vidéos sont disponibles pour un patient donné, le SQIM permet de sélectionner les meilleures vidéos (48).

L'étude de Massey et al. révèle une bonne reproductibilité de ce SQIM lorsqu'il est réalisé par différents observateurs, quand bien même certains éléments de jugement pourraient paraître subjectifs. Concernant le critère « durée des vidéos », le second consensus (46) préconise des séquences d'images sans mouvement d'au moins quatre secondes mais mentionne que 20 secondes est la durée idéale afin de ne pas manquer de flux intermittent. Cependant le SQIM (48) alerte sur le fait que réaliser des vidéos de plus de quatre secondes favorisent l'apparition d'autres artefacts (comme ceux d'instabilité et de compression). En effet, le vidéomicroscope n'étant pas fixe le risque de bouger augmente lorsque la durée s'allonge. De plus le traitement de vidéos longues est mal supporté par le logiciel couramment utilisé à cet effet (Automated Vascular Analysis (AVA)), et leur analyse peut être très chronophage (46,48).

	Tableau II	Score de la	qualité d'image	e de la mi	crocirculation.	Source : a	l'après
Massey	et al. (48)						

	Bonne qualité (0)	Qualité acceptable (1)	Qualité non- acceptable (10)
Éclairage : luminosité et contraste de la vidéo	Éclairage uniforme sur l'ensemble du champ. Contraste suffisant pour voir les petits vaisseaux se distinguer du fond tissulaire.	La vidéo est à la limite d'être trop sombre ou trop claire pour distinguer les vaisseaux des tissus, mais les vaisseaux sont toujours identifiables.	La vidéo est trop lumineuse ou trop sombre pour distinguer vaisseaux.
Durée : nombre d'images dans le clip vidéo.	Le segment vidéo analysable dure $\geq 5s$ (≥ 150 images).	Le segment vidéo analysable dure de 3 à 5 s (entre 90 et 150 images).	Le segment vidéo analysable dure < 3s (< 90 images).
Mise au point : netteté de l'image dans la région d'intérêt.	Bonne mise au point pour tous les vaisseaux (petits et grands) dans tout le champ de vision. Les hématies sont identifiables.	Moins de la moitié du champ de vision est flou ou les bords des vaisseaux sont légèrement flous.	La vidéo est complètement floue, de sorte qu'aucun petit vaisseau ne peut être observé.
Contenu : détermination des types de vaisseaux et absence d'éléments masquant le champ de vision (salive, bulles).	La vidéo n'est pas masquée par des éléments figurés. Bonne distribution des grands et petits vaisseaux. Moins de 30 % des vaisseaux forment des boucles.	La vidéo peut contenir quelques éléments figurés (< 30 % du champ de vision). Présence de grands et de petits vaisseaux. Environ 30 % à 50 % des vaisseaux forment des boucles.	Le champ de vision est masqué par des éléments figurés sur plus de 30 % de sa surface. Plus de 50 % des vaisseaux forment des boucles.
Stabilité : mouvements d'images potentiellement à l'origine de flou.	Le mouvement est inférieur à 1/4 du champ de vision. Pas de flou de mouvement.	Le mouvement est inférieur à 1/2 du champ de vision. Pas de flou de mouvement.	Le mouvement est supérieur à la moitié du champ de et / ou présence de flou de mouvement dans l'image.
Compression : compression mécanique iatrogène à l'origine d'une fausse représentation du flux.	Le flux est constant tout au long de la vidéo. Aucun signe évident de débit artificiellement lent ou arrêté. Bon débit dans les plus gros vaisseaux.	Signes de compression (écoulement lent localisé dans un gros vaisseau spécifique), mais globalement l'écoulement semble ne pas être entravé, sur la base d'un bon écoulement dans la plupart des grands vaisseaux.	Artefacts de compression évidents associés au mouvement de la sonde et/ou débit qui démarre et s'arrête, inversion du débit, écoulement faible ou changeant dans les veinules.

1.3.4 Analyse des vidéos de microcirculation

L'utilisation de logiciel, notamment AVA, a permis de fournir des paramètres de microcirculation de façon automatique, en plus de ceux déterminer manuellement. Ces paramètres sont classés en deux catégories : les paramètres de convections et les paramètres de diffusion et sont répertoriés dans le tableau III (46).

1.3.4.1 Le logiciel AVA 4.3C

AVA est un logiciel développé pour l'analyse des vidéos de microcirculation. La méthode est basée sur la stabilisation de l'image, la détection du centre des vaisseaux, de leur largeur et le traçage de leur contour. L'image est ensuite divisée en neuf quadrants, trois lignes horizontales et trois lignes verticales sont tracées à équidistance comme sur la figure 14.



Figure 14 Quadrants pour le calcul du score de De Backer. Source : d'après De Backer et al. (16)

1.3.4.2 Paramètres de densité

Ces paramètres reflètent la densité de vaisseaux perfusés et donc l'apport de l'oxygène au tissu (plus la densité augmente, plus la distance entre les vaisseaux et les cellules, donc la distance de diffusion de l'oxygène, est petite). Le premier paramètre de densité a été mis au points par De Backer et ses collaborateurs (23). Aujourd'hui AVA permet de calculer ces paramètres de façon automatisée (46).

Le logiciel calcule la densité de vaisseaux, appelé De Backer score (DBs), en divisant le nombre d'intersections (*number of crossings*) des vaisseaux avec la grille évoquée précédemment par la longueur totale des lignes de cette grille(36,46).

1.3.4.3 Paramètres de perfusion

Les paramètres de perfusion reflètent la qualité du flux microcirculatoire et du transport de l'oxygène.

1.3.4.3.1 Perfused De Backer score

De même qu'avec le De Backer score, le logiciel AVA identifie ensuite les intersections qui font intervenir des vaisseaux perfusés (*perfused number of crossings*) et donne le Perfused De Backer score (PDBs) en réalisant la même opération que précédemment. Ces paramètres s'expriment en nombre de vaisseaux par millimètre (n/mm)(46)

1.3.4.3.2 Proportion de vaisseaux perfusés

La proportion de vaisseaux perfusés (PPV) est un score utilisant également la grille de la figure 14. Il correspond au rapport du pourcentage de vaisseaux perfusés par le nombre total d'intersections de vaisseaux avec la grille. AVA calcule le PPV en divisant le Perfused De Backer score par le De Backer score. Le PPV s'exprime en pourcentage (%).

1.3.4.3.3 Microvascular flow index : l'indice de flux microvasculaire (MFI)

Pour calculer l'indice de flux microvasculaire (MFI), une grille 2x2 est créée comme sur la figure 15. Ce score est fondé sur la détermination du type de flux prédominant dans chacun des quatre quadrants ainsi formés. Il est calculé manuellement et donc subjectivement. Pour chaque quadrant, le débit est caractérisé comme étant absent (0), intermittent (1), lent (2) ou normal (3). Une moyenne des quatre quadrants est réalisée et donne le MFI. Un MFI inférieur à 2,6 est considéré comme un signe d'altération microcirculatoire (46). La reproductibilité de ce score intra et inter-observateur est autour des 85-90%. Le MFI est une mesure semi quantitative du débit microcirculatoire. Le principal inconvénient est qu'il ne fournit pas d'informations sur la FCD (15,42,47).



Figure 15 Quadrants pour la mesure de l'index de flux microvasculaire. Source : d'après De Backer et al. (15)

1.3.4.4 Heterogeneity index : l'indice d'hétérogénéité (HI)

Pour déterminer l'hétérogénéité de la perfusion entre différents sites sublinguaux, Trzeciack et al. (47) ont définit l'indice d'hétérogénéité du débit microcirculatoire (HI) comme étant la vitesse d'écoulement du site la plus élevée moins la vitesse d'écoulement du site la plus faible divisée par la moyenne des vitesses d'écoulement de tous les sites de l'organe étudié. Un HI élevé est caractéristique des anomalies de perfusion au sein d'un territoire microcirculatoire. Il est calculé comme la différence entre les valeurs extrêmes des notes attribuées aux quatre cadrans évoqués précédemment, divisée par la valeur du MFI (la moyenne des quatre notes)(15,47).

 $HI = (D\acute{e}bit_{max} [notre entre 0 -3] - D\acute{e}bit_{min} [notre entre 0 -3]) / MFI [notre entre 0 -3].$

Tableau III Paramètres de perfusion et paramètres de densité utiles pour l'analyse de vidéos de microcirculation. Source : d'après Ince et al. (46)

Paramètre	Définition	Caractéristiques	Unité
Proportion of perfused vessels (PPV)	Pourcentage de vaisseaux perfusés divisé par le nombre total de vaisseaux croisant la grille d'analyse 3x3.	Paramètre de perfusion.	%
De Backer score	Nombre de vaisseaux croisant la grille d'analyse 3x3 divisé par la longueur totale de la grille.	Proche de la densité totale en vaisseaux. Paramètre de densité.	n/mm
Perfused De Backer score	Nombre de vaisseaux perfusés croisant la grille d'analyse 3x3 divisé par la longueur totale de la grille.	Paramètre de perfusion.	n/mm
Microvascular Flow Index (MFI)	Calculé en moyennant les notes données aux 4 quadrants d'une vidéo (0 : flux arrêté, 1 : flux intermittent, 2 : flux ralenti, 3 : flux normal).	Approche semi quantitative de la vitesse globale du flux. Paramètre de perfusion.	UA
Heterogeneity Index (HI)	Analyse par quadrant ((note maximum – note minimum) /MFI).	Index d'hétérogénéité du flux.	UA

Les nombres d'intersections, les scores de De Backer et la PPV sont donnés par AVA pour l'ensemble des vaisseaux et également pour les vaisseaux ayant un diamètre inférieur à 20µm séparément (15,23).

1.3.5 Incident Dark Field imaging

Introduite en 2012, une troisième génération de vidéomicroscope portatif utilisant l'imagerie « incident dark field » (IDF) a été mise au point. Le score de qualité d'image microcirculatoire est en moyenne plus bas, les vidéos présentent alors moins d'artefacts qu'avec le SDF. De plus l'IDF permet entre autres d'observer davantage de microvaisseaux, fournit des vidéos de meilleure qualité et est plus léger donc plus maniable que le SDF. La qualité de l'acquisition d'images microcirculatoires sublinguales est supérieure avec l'imagerie IDF par rapport au vidéo-microscope SDF mais ce dernier reste encore très utilisé aujourd'hui (49).

2 ÉVALUATION DE LA MICROCIRCULATION PAR VIDEOMICROSCOPIE SDF : IMPACT DU STATUT HEMODYNAMIQUE SUR LA PRESENCE D'ARTEFACTS DE COMPRESSION

Nous avons réalisé une étude (50) confirmant l'impact de l'état hémodynamique du patient sur la qualité des vidéos et l'impact des artefacts de compression des vaisseaux sur l'analyse des résultats obtenus avec l'imagerie SDF. L'article complet est présenté en annexe 1 et a été publié dans le journal « Microvascular Research ».

2.1 CONTEXTE ET OBJECTIF DE L'ETUDE

La vidéomicroscopie permet l'observation directe des microvaisseaux au chevet du patient grâce à l'enregistrement de courtes vidéos. L'enregistrement de ces vidéos est technique et demande une formation au préalable. Des artefacts peuvent venir altérer la qualité des vidéos. Ainsi, avoir des vidéos de bonne qualité doit faire l'objet d'une attention particulière lors de l'enregistrement car l'analyse des vidéos présentant des artefacts conduit à des biais lors de l'analyse. L'étude de Damiani et al. (51) a révèlé que des vidéos de mauvaise qualité peuvent fournir des données erronées, conduisant à une surestimation des altérations microvasculaires notamment (diminution du MFI et du PPV). De plus, après avoir réalisé le SQIM sur 2455 vidéos, les auteurs ont rejetés 67% des enregistrements pour l'analyse, majoritairement à cause de vidéos de mauvaise qualité. Enfin, sur les 100 patients de l'étude, 20 n'ont présentés aucune vidéo exploitable. Leur étude a souligné également que la qualité semble dépendre du niveau de pratique de l'opérateur et du niveau de coopération du patient.

Parmi les artefacts pouvant altérer la qualité des vidéos, les artefacts de compression semblent particulièrement importants. Comme cela a déjà été reconnu lors du premier consensus (15). Le second consensus (46) souligne également que les artefacts de compression constituent le principal défi technique pour l'exploitation des vidéos obtenues par vidéomicroscopie.

Nous avons posé l'hypothèse que la présence d'artefacts de compression est liée à la pression intravasculaire et donc potentiellement à la pression artérielle. Les objectifs de notre étude sont alors de vérifier si la présence d'artefacts de compression dépend de l'état hémodynamique du patient. Puis de vérifier si la présence d'artefacts de compression, même si elle est considérée comme acceptable, peut influencer les paramètres microcirculatoires.

Objectifs de l'étude :

- Déterminer si la présence d'artefact de compression dépend de l'état hémodynamique du patient.

- Déterminer si la présence d'artefact de compression peut influencer les paramètres microcirculatoires.

2.2 MATERIEL ET METHODE

2.2.1 Animaux

7 truies ont été anesthésiées et équipées pour la surveillance de leur paramètres hémodynamiques.

2.2.2 Protocole anesthésique

Les animaux ont été prémédiqués avec un mélange de tilétamine et de zolazépam (Zoletil100, 100 mg/mL, Virbac, Carros, France) à 3 mg/kg en intramusculaire (IM), associé à de la morphine (Morphine, Aguettant, 10 mg/mL, Laboratoire Aguettant, Lyon, France) 0,2 mg/kg en IM, suivi d'une induction avec du propofol (Propovet 10 mg/mL, Zoetis, Malakoff, France) 4 mg/kg en intraveineux (IV) et un entretien avec du sévoflurane (Sevoflo, Zoetis, Malakoff, France) dans 30 % d'oxygène.

2.2.3 Surveillance hémodynamique

Une fois anesthésiés, la veine jugulaire externe droite a été disséquée pour la pose d'un cathéter veineux central (Multicath 3 7.5Fr, Vygon, Ecouen, France). Un cathéter de thermodilution 4F (cathéter PiCCO 5 Fr, Getinge, Orléans, France) a été inséré dans l'aorte abdominale inférieure par l'artère fémorale droite et connecté à un système PiCCO.

La pression artérielle moyenne (PAM), la pression artérielle systolique (PAS), la pression artérielle diastolique (PAD), le débit cardiaque (DC), et la variation de pression pulsée (VPP) ont été enregistrés en continu. L'indice cardiaque (IC) a été calculé à partir de l'équation suivante : IC = DC/surface corporelle.

2.2.4 Protocole

Après l'équipement et la stabilisation des animaux, une succession de périodes hypotensives et hypertensives a été effectuée pour un total de trois périodes hypotensives et deux périodes hypertensives comme illustré sur la figure 16. L'hypotension a été induite par inhalation d'une concentration accrue de sévoflurane. L'hypertension a été induite par administration de noradrénaline. La PAM ciblée pour l'hypotension était comprise entre 30 et 50 mmHg, tandis que la PAM ciblée pour l'hypertension était comprise entre 90 et 110 mmHg. Plusieurs vidéos ont été enregistrées sur chaque truie à différent temps. Le premier temps appelé « baseline » commençait dès que l'animal était stable après l'induction de l'anesthésie. Les temps suivants correspondaient à deux bolus de Ringer Lactacte, aux deux phases d'hypertension, aux trois phases d'hypotension et à deux phases de normotension (PAM entre 60 et 80 mmHg).



Figure 16 Protocole de variation de la PAM au cours du temps

2.2.5 Imagerie sublinguale

Nous avons utilisé un vidéomicroscope portatif utilisant l'imagerie SDF (Microscan, Microvision medical, Amsterdam, Pays-Bas).

Nous avons standardisé la durée des vidéos à 120 images soit environ 4 secondes de vidéos. Toutes les vidéos ont été réalisées et enregistrées par un manipulateur qualifié ayant eu une période de formation de deux semaines sur la réalisation et l'analyse de vidéos de microcirculation. Le vidéomicroscope a été connecté à un ordinateur à l'aide d'un logiciel dédié (AVA, version 4.3C, Microscan, Microvision medical, Amsterdam, Pays-Bas). Les paramètres microcirculatoires mesurés sont ceux donnés par AVA comme illustré sur la figure 17, ainsi que le MFI et le HI calculés manuellement. AVA donne des paramètres dit de perfusion : le Perfused De Backer score (PDBs), et le PPV. Le logiciel donne également des paramètres de densité comme le nombre de vaisseaux croisant la grille et le De Backer score (DBs).

Un nouveau capuchon stérile a été placé sur le vidéomicroscope pour chaque porc. Dès que la PAM atteignait la valeur cible, le vidéomicroscope a été placé dans la cavité buccale. Au préalable, les sécrétions de la bouche ont été essuyées avec des compresses, ainsi que le capuchon optique du microscope. La sonde a été placée délicatement en contact avec la muqueuse de la bouche, près du *frenulum* lingual, à un angle d'environ 60°. Puis nous avons suivi les recommandations de Trzeciak et al. (47), et du consensus de 2018 (46). Le videomicroscope a été appliqué au contact de la muqueuse sublinguale jusqu'à ce que la microcirculation soit observée. La caméra a été avancée dans la zone sublinguale jusqu'à ce que le flux soit partiellement ou complètement obstrué. Puis, la caméra a été retirée de la surface de la muqueuse sublinguale jusqu'à ce que le contact avec le tissu soit perdu. Ensuite, la sonde a été avancée à nouveau doucement jusqu'à ce qu'un contact soit rétabli et que les

microvaisseaux soient visibles. La stabilité, la mise au point et l'éclairage ont été évalués par le logiciel AVA et de 3 à 10 vidéos ont été enregistrées pour au moins trois sites différents.



Figure 17 Exemple des résultats fournis par le logiciel AVA lors de l'analyse d'une vidéo de microcirculation. Les centres des vaisseaux sont représentés par les traits verts, les contours des vaisseaux par les traits rouges, la grille rose est la grille d'analyse. Source : M. Magnin (35)

Perfused number of crossings : nombre de vaisseaux perfusés croisant la grille, number of crossings : nombre total de vaisseaux croisant la grille, PPV : proportion of perfused vessels ou proportion de vaisseaux perfusés, small : résultats ne concernant que les petits vaisseaux (diamètre $< 20 \,\mu$ m).

2.2.6 Analyse des vidéos

Mathieu Magnin et moi-même avons réalisé à l'aveugle le SQIM des vidéos obtenues, en ayant été préalablement formés à la lecture de vidéos de microcirculation et à l'exécution du SQIM décrit par Massey et al.(48). Nous avons réalisé cette notation individuellement, sans connaître les notes mises par l'autre et sans connaître le statut hémodynamique des porcs correspondant aux vidéos que nous analysions. En cas de désaccord sur certaines vidéos, nous nous sommes réunis pour dégager une note commune reflétant au mieux la qualité de la vidéo.

Les vidéos présentant un score de 10 pour des critères du SQIM autres que celui de « compression » ont été exclues de l'étude car leur qualité était jugée non-acceptable pour la suite (se référer au Tableau II de la partie 1.3.3 pour le détail du SQIM). Puis les vidéos ont été classées en deux catégories en fonction du score de compression obtenu : vidéos « acceptées » ou vidéos « rejetées ». Les vidéos ayant un score de compression de 0 (« bon ») et 1 (« acceptable ») ont été regroupées dans la catégorie des vidéos « acceptées ». Les vidéos ayant obtenu un score de compression de 10 (« non-acceptable ») ont été considérées comme des vidéos « rejetées ». Le MFI et le HI ont été calculés comme décrit dans le 1.3.4. Les scores de De Backer et le PPV ont été calculés par AVA 4.3c pour tous les vaisseaux et les petits vaisseaux. Les petits vaisseaux étaient définis comme des vaisseaux avec un diamètre inférieur à 20 µm.

2.2.7 Analyse statistique

Le coefficient kappa de Cohen (κ) a été calculé pour déterminer la reproductibilité inter observateur pour qualifier une vidéo d' « acceptée » ou de « rejetée ». Un modèle de régression logistique multivarié a été construit avec des effets aléatoires individuels pour tester l'influence des paramètres hémodynamiques sur la qualité de la vidéo. Les vidéos acceptées étaient jugées de bonne qualité et les vidéos rejetées étaient jugées de mauvaise qualité. Le modèle complet inclut comme effets fixes le IC, la PAM, et le VPP et les termes d'interaction de deuxième et troisième ordre (formule 1). Le critère Akaiké corrigé (AICc) a été calculé pour tous les sousmodèles possibles. Le meilleur de ces sous-modèles a ensuite été sélectionné comme le modèle ayant le plus faible AICc. En se basant sur le modèle sélectionné, le paquet « emmeans » a été utilisé pour prédire la probabilité d'obtenir une vidéo « rejetée » en fonction de l'état hémodynamique.

Afin de tester l'impact des artefacts de compression sur les variables microcirculatoires, une analyse univariée (formule 2) et une analyse multivariée (formule 3) ont été effectuées. Pour l'analyse univariée, un modèle linéaire mixte a été construit pour chaque paramètre microcirculatoire (DBs all, DBs small, PDBs all, PDBs small, PPV all, PPV small, MFI et HI). Le score de compression était choisi comme effet fixe et les individus comme effets aléatoires. Pour l'analyse multivariée, les paramètres hémodynamiques (PAM, VPP et IC) ont été ajoutés comme variables pour vérifier si l'effet des artefacts de compression était indépendant de l'état hémodynamique. Pour le MFI, des régressions logistiques ont également été effectuées, avec les mêmes variables que celles décrites ci-dessus. Le MFI a été préalablement transformé en une variable dichotomique : un MFI inférieur à 2,6 a été considéré comme anormal alors qu'un MFI supérieur à 2,6 a été considéré comme normal (46). Pour les régressions logistiques, les Odds ratio (OR) des effets fixes était calculés en effectuant l'exponentielle du coefficient de régression.

Pour chaque modèle linéaire mixte, l'homoscédasticité, la normalité des résidus ainsi que la distribution aléatoire de l'effet individu ont été vérifiées. L'estimation correcte des régressions logistiques a été vérifiée en effectuant une analyse des résidus de Pearson et un test d'Hosmer-le Cessie.

L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel R 3.5.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Autriche). Les paquets « ggplot2 » (52), « Lme4 » (53), « Lmertest » (54), « MuMIn » (55), « sjPlot » (56) et « emmeans » (57) ont été utilisés. Une valeur avec une p-value inférieure à 0,05 a été considérée comme significative.

Qualité de la vidéo (acceptée ou rejetée) ~ IC * PAM * VPP + (1 | individu) (formule 1)

Paramètre microcirculatoire ~ score de compression + (1 | individu) (formule 2)

Paramètre microcirculatoire ~ score de compression + IC + PAM + VPP + (1 | individu) (formule 3)

2.3 RESULTATS

684 vidéos obtenues à partir de la zone sublinguale des 7 truies ont été retenues pour l'étude.

2.3.1 Score de qualité d'image de microcirculation

Un accord entre les évaluateurs est observé dans 89,3% des cas (611/684) et un désaccord dans 10,7% (73/684). En ce qui concerne les désaccords, 46% (34/73) représentent de forts désaccords (une vidéo « 0 » ou « 1 » a été classé « 10 ») et 54 % (40/73) sont considérés comme des désaccords mineurs (une vidéo « 0 » a été classée « 1 »). En utilisant le κ de Cohen pour évaluer l'accord inter-opérateurs pour accepter ou rejeter une vidéo selon le score de compression attribué à l'aveugle, un accord acceptable est trouvé ($\kappa = 0,71$).

Après consensus entre les observateurs, 456 (66,7 %) vidéos sont considérées comme « bonnes » (note de 0), 139 (20,3 %) vidéos sont jugées « acceptables » (note de 1) et 89 (13 %) sont jugées « non-acceptables » (note de 10). Ainsi, 595 (87%) vidéos sont acceptées et 89 (13%) sont rejetées.

2.3.2 Influence de l'état hémodynamique sur la qualité des vidéos

La figure 18 illustre la distribution des vidéos en fonction du score de compression, de la qualité de la vidéo (sur l'axe des x) et des paramètres hémodynamiques (sur l'axe des y).



Figure 18 Distribution des vidéos en fonctions de leur score de compression, leur qualité et les paramètres hémodynamiques.

Le meilleur modèle pour prédire la qualité de la vidéo en fonction des paramètres hémodynamiques est le modèle qui inclut la PAM uniquement comme variable explicative (modèle 1 : **qualité de la vidéo (acceptée ou rejetée) ~ PAM + (1|individu)**).

Les résultats de l'analyse sont présentés dans le tableau 4 : ainsi, **les valeurs de PAM** influencent significativement le risque d'obtenir une vidéo « rejetée » (P = 0,0008). L'Odd Ratio (OR) est d'environ 0,98, ce qui indique approximativement que lorsque la pression artérielle augmente de 1 mmHg, la probabilité d'obtenir une vidéo avec des artefacts de compression non-acceptables est multipliée par 0,98. À mesure que la PAM diminue, la probabilité d'obtenir une vidéo « rejetée » augmente. Cette relation est présentée dans le tableau 5 et illustrée dans la figure 19. En conclusion, la probabilité d'obtenir une vidéo de mauvaise qualité en raison de la présence d'artefacts de compression augmente lorsque la PAM diminue.

Effet fixe				Effet aléatoire		
Variable	Estimation (SE)	OR [IC95]	Z value	Pr (> z)	Variable	Variance (SD)
РАМ	-0.024 (0.007)	0.98 [0.96–0.99]	-3.358	0.0008	Individu	0.852 (0.923)

Tableau IV Influence des paramètres hémodynamiques sur la qualité des vidéos

PAM : pression artérielle moyenne, SE : erreur standard, IC95 : intervalle de confiance à 95%, SD : déviation standard, NA : non applicable.

Tableau V Probabilité d'obtenir une vidéo rejetée en fonction de la pression artérielle moyenne

PAM (mmHg)	Probabilité d'obtenir une vidéo rejetée (SE) (%)	Intervalle de confiance à 95%
30	20 (7)	10-37
50	14 (4)	7-25
70	9 (3)	4-17
90	6 (2)	2-12
110	4 (2)	1-9

PAM : pression artérielle moyenne, SE : erreur standard



Figure 19 Probabilité d'obtenir une vidéo « rejetée » en fonction de la PAM

2.3.3 Influence du score de compression sur les paramètres microcirculatoires

Les résultats de l'analyse univariée et multivariée sont présentés dans le tableau VI. Les paramètres de densité (DBs, DBs small) ne sont pas influencés par le score de compression. Le PDB de tous les vaisseaux étaient nettement plus faibles dans les vidéos avec un score de compression de « 10 » comparativement aux vidéos avec un score de compression de « 0 ». Le PDB small, les VPP, le PPV all et PPV small et le MFI sont significativement plus bas dans les vidéos avec un score de compression de « 10 » comparativement aux vidéos avec un score de compression de « 10 » comparativement aux vidéos avec un score de compression de « 0 ». Le PDB small, les VPP, le PPV all et PPV small et le MFI sont significativement plus bas dans les vidéos avec un score de compression de « 10 » comparativement aux vidéos avec un score de compression de « 0 ». Le score de HI est significativement plus élevé dans les vidéos avec un score de « 1 » et de « 10 » comparativement aux vidéos avec un score de compression de « 0 ». Le score de HI est significativement plus élevé dans les vidéos avec un score de « 1 » et de « 10 » comparativement aux vidéos avec un score de compression de « 0 ». L'ampleur de l'effet est plus importante pour les vidéos avec un score de compression de « 10 ». Des représentations graphiques des paramètres microcirculatoires en fonction des scores de compression sont illustrées dans la figure 20. En conclusion, les artefacts de compression influencent significativement la majorité des paramètres microcirculatoires, même lorsque ces artefacts sont considérés comme acceptables.

Dependent variable	Fixed effect	Univariate analysis		Multivariate analysis	
		Estimate	P-value	Estimate	P-value
DBs all	Pressure score "1"	-0.05 (-0.49-0.39)	0.83	-0.10 (-0.54-0.34)	0.65
	Pressure score "10"	-0.34 (-0.89-0.22)	0.24	-0.28 (-0.84-0.29)	0.34
	MAP			-0.001 (-0.014-0.011)	0.82
	CI			0.09 (-0.02-0.19)	0.13
	PPV			-0.03 (-0.06-0.01)	0.08
DBs small	Pressure score "1"	-0.38 (-0.84-0.10)	0.11	-0.42 (-0.89-0.05)	0.08
	Pressure score "10"	-0.37 (-0.94-0.23)	0.22	-0.37 (-0.96-0.24)	0.23
	MAP			9.7 10 ⁻⁴ (-0.01-0.01)	0.89
	CI			-4.8 10 ⁻² (-0.16-0.07)	0.43
	PPV			$-5.54 \ 10^{-2}$ (-0.09 to -0.02)	0.002
PDBs all	Pressure score "1"	-0.26 (-0.76-0.25)	0.33	-0.29 (-0.81-0.22)	0.27
	Pressure score "10"	-1.01 (-1.65 to -0.38)	0.002	-1.05 (-1.72 to -0.39)	0.002
	MAP			-0.01 (-0.02-0.01)	0.26
	CI			0.06 (-0.07-0.19)	0.39
	PPV			-0.02 (-0.06-0.02)	0.26
PDBs small	Pressure score "1"	-0.55 (-0.98 to -0.12)	0.01	-0.59 (-1.02 to -0.16)	0.008
	Pressure score "10"	-1.0 (-1.53 to -0.47)	0.0002	-1.05 (-1.60 to -0.51)	0.0002
	MAP			-0.01 (-0.02-0.01)	0.29
	CI			-0.07 (-0.18-0.03)	0.16
	PPV			-0.05 (-0.08 to -0.02)	0.002
microPPV all	Pressure score "1"	-3.47 (-7.00 to -0.03)	0.05	-3.67 (-7.27 to -0.18)	0.04
	Pressure score "10"	-10.56 (-15.01 to -6.27)	< 0.0001	-11.57 (-16.24 to -7.11)	< 0.0001
	MAP			-0.10 (-0.20-0.00)	0.05
	CI			-0.02 (-0.91-0.85)	0.96
	PPV			-0.07 (-0.33-0.19)	0.57
microPPV small	Pressure score "1"	-3.57 (-7.33-0.08)	0.06	-3.75 (-7.58 to -0.04)	0.05
	Pressure score "10"	-12.08 (-16.81 to -7.52)	< 0.0001	-13.19 (-18.15 to -8.47)	< 0.0001
	MAP			-0.10 (-0.20-0.01)	0.07
	CI			-0.28 (-1.20-0.63)	0.55
	PPV			-0.11 (-0.38-0.17)	0.45
MFI	Pressure score "1"	-0.57 (-0.66 to -0.49)	< 0.0001	-0.58 (-0.66 to -0.49)	< 0.0001
	Pressure score "10"	-1.23 (-1.33 to -1.13)	< 0.0001	-1.23 (-1.33 to -1.12)	< 0.0001
	MAP			2.10 10 - (-0.002-0.002)	0.98
				-4.58 10 ⁻⁴ (-0.02-0.02)	0.97
	PPV			-3.38 10 (-0.01-0.01)	0.91
Binary MFI (normal or abnormal)	Pressure score "1"	OR = 11.9 (7.3-19.8)	< 0.0001	OR = 11.8 (7.3 - 19.9)	< 0.0001
	Pressure score "10"	OR = 114.4 (34.7 - 706)	< 0.0001	OR = 111 (33.8-692.3)	< 0.0001
	MAP			OR = 1 (0.9-1.1)	0.62
				OR = 1.1 (0.9 - 1.2)	0.46
	PPV #1			OR = 1 (0.9-1.1)	0.26
н	Pressure score "1"	0.47 (0.38-0.56)	< 0.0001	0.48 (0.38-0.57)	< 0.0001
	Pressure score "10"	0.85 (0.74-0.97)	< 0.0001	0.84 (0.72-0.96)	< 0.0001
	MAP			5.54 10 (-0.002-0.003)	0.67
	u			-0.02(-0.04-0.01)	0.17
	PPV			1.71 10 ⁻² (=0.01-0.01)	0.62

Tableau VI Impact des artefacts de compression sur les paramètres microcirculatoires. Tableau extrait de notre étude (50) dont l'article est en annexe 1.

Pressure score : score de compression ; MAP : pression artérielle moyenne (PAM) ; CI : indice cardiaque (IC); PPV : varation de pression pulsée (VPP) ; DBs : de Backer score ; PDBs : Perfused de Backer score ; microPPV : proportion de vaisseaux perfusés ; MFI : indice de flux microvasculaire ; HI : indice d'hétérogénéité du flux microvasculaire ; *fixed effect* : effet fixe ; *univariate analysis* : analyse univariée ; *multivariate analysis* : analyse multivariée



Figure 20 Impact des artefacts de compression sur les paramètres microcirculatoires

2.4 DISCUSSION

2.4.1 Limite de l'imagerie SDF

Nous avons vu que l'imagerie SDF permet de mieux caractériser la microcirculation en fournissant des informations sur la densité et la perfusion des microvaisseaux. De plus les vidéomicroscopes portatifs fournissent des informations anatomiques directement visualisables. Mais leur utilisation présente certaines limites, dont l'une est l'acquisition de vidéos de bonne qualité. Il n'est pas rare d'obtenir des vidéos de mauvaise qualité. Dans notre étude les vidéos rejetées, donc jugées de mauvaise qualité, représentent 13% des vidéos. Plusieurs études montrent que lorsque l'enregistrement est possible, la proportion de vidéos de mauvaise qualité obtenues n'est pas négligeable et varie de 18 à 70 % (51,58,59). Dans une cohorte de 240 vidéos obtenues en soins intensifs, seulement 30 % des séquences ont été considérées comme de bonne qualité (58).

Nos résultats montrent qu'analyser des vidéos de mauvaise qualité peut conduire à des biais et sont donc conformes aux résultats de Damiani et al. (51). Bien que notre étude ne se soit concentrée que sur les artefacts de compression, nous avons montré que ceux-ci influencent significativement les paramètres microcirculatoires. Damiani et al. (51) ont démontré que des vidéos de mauvaise qualité, donc avec des artefacts, étaient associées à une réduction du PPV, du MFI et de la densité des vaisseaux.

Notre étude suggère que des vidéos avec des artefacts de compression modérés peuvent être une source de biais. Ces résultats soulignent l'importance d'une des recommandations du second consensus : la nécessité d'écarter de l'analyse les vidéos de mauvaise qualité (avec un SQIM > 10) (46). En outre, les résultats de notre étude montrent que l'analyse de vidéos de qualité moyenne (contenant des artefacts acceptables) peut également avoir un impact sur l'estimation des paramètres microcirculatoires. Ceci soulève la question de savoir s'il ne serait pas pertinent d'écarter ce type de vidéos, recommandation qui n'est pas présente dans le consensus.

L'importance d'une meilleure compréhension des conditions pouvant favoriser l'enregistrement des vidéos de mauvaise qualité apparaît alors essentielle, comme le lien entre l'état hémodynamique du patient et le score de compression que nous avons mis en évidence dans notre étude. Dans les études présentées précédemment le fait que les patients soient en soins intensifs et dans des conditions critiques semblent favoriser l'obtention de vidéos de mauvaise qualité(51,58,59). Une des hypothèses expliquant ce fait pourrait provenir du lien entre hypotension et obtention de vidéos de mauvaise qualité (il est probable qu'un patient hospitalisé en soins intensifs puisse être en hypotension). Dans notre étude, les caractéristiques hémodynamiques, en particulier une PAM plus faible, est associées à la présence accrue d'artefacts de compression. Par conséquent, ces résultats tendent à montrer que plus le patient est en hypotension, plus il est difficile d'éviter les artefacts de compression. Cette relation entre la pression artérielle et les artefacts de compression semble logique : si la pression à l'intérieur d'un vaisseau est élevée, elle augmente la résistance aux forces de compression externes.

Une autre hypothèse peut être que l'instabilité des patients ait conduit à un enregistrement rapide des vidéos, donc dans des conditions moins favorables. Le manque d'expérience du manipulateur ou l'absence d'une zone de mesure normalisée et reproductible sont des causes à ne pas sous estimées.

Le consensus sur l'analyse des vidéos de microcirculation sublinguale a indiqué que les artefacts de compression constituaient « le principal défi technique » de la mesure par vidéomicroscopie (46). L'apparition d'artefacts de compression peut s'expliquer par des difficultés techniques. Le vidéomicroscope est tenu manuellement par l'opérateur qui le met en

contact avec la muqueuse sublinguale, mais sans aucun contrôle de la pression exercée. Dans l'étude de Sallisalmi et al., les auteurs évaluaient la courbe d'apprentissage associée à l'utilisation du videomicroscope pendant une formation. Ils ont constaté que la proportion d'artefacts de compression est restée élevée à la fin de la formation (28 %) (58). L'ignorance de la pression exercée représente donc une restriction de la technologie (60). Ainsi, une formation et une expérience appropriées sont d'une importance majeure et peuvent certainement aider à réduire ces artefacts mais il est probable que l'ajout d'un manomètre permettant de mesurer la pression exercée soit encore d'une plus grande utilité.

2.4.2 Limites de l'étude

Nous reconnaissons certaines limites à notre étude effectuée dans un cadre expérimental sur des porcs. Même si les porcs et les humains présentent des similitudes physiologiques, en particulier en ce qui concerne leur système cardio-vasculaire (61), ces résultats doivent être vérifiés chez les patients humains.

L'hypotension était secondaire à une surdose de sévoflurane et était donc principalement due à la vasoplégie. D'autres causes d'hypotension, telles que l'hypovolémie, n'ont pas été étudiées ici, alors qu'elles peuvent fournir des informations supplémentaires sur l'incidence des déterminants hémodynamiques.

Enfin, la caméra utilisée dans cette étude était un microscope SDF de deuxième génération, alors que les artefacts de compression semblent moins fréquents avec les dispositifs de dernière génération (49,62). La dernière génération de vidéomicroscope, utilisant la technologie IDF, a été développée pour réduire certaines limites de l'imagerie SDF. Ces dispositifs sont beaucoup plus légers, permettent un meilleur éclairage des tissus et une meilleure mise au point, avec une résolution améliorée. Une étude a comparé les vidéos obtenues avec les deux technologies (IDF et SDF) : la dernière génération a été associée à des scores de meilleure qualité. Dans cette étude, aucun artefact de compression n'a été observé avec l'IDF, ce qui est probablement lié au poids léger du microscope (320 g pour la SDF, 120 g pour la IDF) (49). Cependant, l'utilisation de ces dispositifs n'empêche pas la création d'artefacts si les conditions d'utilisation ne sont pas correctement remplies. Les dispositifs de stabilisation ont été décrits et peuvent réduire les artefacts de compression s'ils sont utilisés avec prudence (60), mais à notre connaissance, ils ne sont pas disponibles sur le marché.

En conclusion, cette étude réalisée sur un modèle porcin met en évidence la probabilité plus élevée d'obtenir des artefacts de compression lorsque la PAM est faible, lors d'enregistrements de vidéos de microcirculation avec l'imagerie SDF. Ces résultats démontrent la relation entre le statut hémodynamique et la qualité des vidéos. Le deuxième résultat de cette étude est que la présence d'artefacts de compression acceptables est associée à une modification significative de nombreux paramètres microcirculatoires (PDB small, PPV, MFI, HI). Cela suggère que l'analyse de vidéos contenant des artefacts peut conduire à des biais d'interprétation. En conséquence, une attention particulière doit être portée pour éviter les artefacts de compression lors de l'acquisition de vidéos de microcirculation, en particulier chez les patients en hypotension. Les paramètres microcirculatoires provenant de vidéos présentant des artefacts de compression modérés doivent être interprétés avec prudence ou ne pas être analysées du tout.

3 ÉTUDE SUR LA RELATION ENTRE LA MICROCIRCULATION SUBLINGUALE ET LA MACROCIRCULATION

3.1 CONTEXTE ET OBJECTIF DE L'ETUDE

Nous nous intéresserons ici à la relation entre la microcirculation sublinguale et la macrocirculation. Les interactions entre micro et macrocirculation sont complexes et la question de l'existence de relations entre ces deux systèmes semble particulièrement intéressante.

L'autorégulation, qui est la régulation du débit sanguin local en fonction de la pression artérielle, montre une relation entre le débit sanguin local (la microcirculation) et la PAM (représentant la macrocirculation). Ce phénomène est illustré dans la première partie par la figure 11.

L'autorégulation semble très théorique, en pratique les études sur l'interaction macromicrocirculation ne donnent pas toutes les mêmes résultats (63–65). Selon la situation, il existe des corrélations ou une incohérence entre ces deux systèmes (35). Par exemple, chez des adultes atteints d'un choc septique, Hernandez et al. (34) ont montré que l'administration de dobutamine améliorait les paramètres hémodynamiques globaux, alors qu'elle n'améliorait pas la microcirculation sublinguale ni les autres paramètres de perfusion périphérique.

Malheureusement, nous ne disposons pas de données concernant les interactions entre pression artérielle et microcirculation sublinguale dans un contexte non pathologique. Nous avons donc réalisé une étude expérimentale pour rechercher ce type de relation. Dans cette étude, nous nous sommes focalisés sur la relation entre la pression artérielle moyenne et le MFI, qui est une mesure semi-quantitative du débit sanguin local sublingual.

Objectif de l'étude :

- Explorer la relation entre la microcirculation et la PAM dans un contexte non pathologique

3.2 MATERIEL ET METHODE

Les animaux, le protocole anesthésique, la surveillance hémodynamique, le protocole avec alternance de phases hypotensives et hypertensives et l'obtention des vidéos par imagerie SDF en région sublinguale sont les mêmes que dans l'étude sur les artefacts de compression.

3.2.1 Analyse des vidéos

L'analyse des vidéos de microcirculation a été réalisée selon le consensus de Ince C. et al. de 2018 (46). Les analyses réalisées sont les mêmes que celles décrites dans la partie précédente. En accord avec les recommandations actuellement en vigueur, seules les vidéos ne contenant pas d'artefacts non-acceptables ont été analysées.

Pour rappel :

• Paramètres de densité :

- Score de De Backer (DBs) = nombre d'intersection / longueur totale de la grille de De Backer 3X3 (en n/mm). Ce paramètre a été calculé pour tous les vaisseaux (DBs all) et pour les petits vaisseaux, dont le diamètre est < $20 \mu m$ (DBs small).

• Paramètres de perfusion :

- Score de De Backer perfusé (PDB) = nombre d'intersections perfusés / longueur totale de la grille de De Backer 3X3 (en n/mm). Ce paramètre a été calculé pour tous les vaisseaux (PBD all) et pour les petits vaisseaux (PDB small).

- **Proportion de vaisseaux perfusés (PPV)** = (PDB/DBs) * 100 (en %). Ce paramètre a été calculé pour tous les vaisseaux (PPV all) et pour les petits vaisseaux (PPV small).

Le **MFI** a été déterminé manuellement à l'aide de calculs basés sur les quatre quadrants et le **HI** a été calculé à partir des valeurs extrêmes de MFI comme décrit dans le 1.3.4.4.

3.2.2 Analyse statistique

Des représentations graphiques sont réalisées pour évaluer visuellement l'évolution des paramètres de microcirculation (DBs, PDB, PPV, MFI et HI) en fonction de la PAM.

Concernant la relation entre la PAM et le MFI, deux hypothèses sont envisagées et sont représentées dans la figure 21 : une relation linéaire entre les paramètres ou une relation bilinéaire, qui pourrait s'expliquer par le phénomène d'autorégulation. Pour explorer ces hypothèses, deux modélisations sont réalisées, elles sont détaillées ci-dessous.



Figure 21 Relation linéaire et bilinéaire entre MFI et PAM

Un modèle mixte linéaire univarié (formule 4) est réalisé et il comprend la PAM comme variable dépendante et le MFI comme effet fixe. Nous avons choisi les porcs comme effets aléatoires.

Enfin un modèle non linéaire univarié a été réalisé afin d'explorer l'hypothèse du modèle bilinéaire caractéristique du phénomène d'autorégulation. Ce modèle non linéaire a été construit en considérant l'existence d'un seuil au-delà duquel la droite change de direction. Ce modèle prend donc en compte l'existence d'un point d'inflexion de la droite pour un « MFI seuil » et une « PAM seuil » comme indiqué sur la figure 21. Pour des valeurs de PAM inférieures à la « PAM seuil », la relation est du type : MFI = constante1*PAM + constante2. Et pour des valeurs de PAM supérieures à la « PAM seuil », nous avons choisis une relation de type : MFI = constante, et c'est cette constante que nous appelons « MFI seuil ». Ce modèle bilinéaire a été écrit selon la formule 5.

Pour chaque modèle, l'homoscédasticité, la normalité des résidus et la distribution aléatoire des résidus ont été vérifiées.

L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel R 3.5.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Autriche). Les paquets suivants ont été utilisés : "esquisse"(66), "ggplot2" (52), "lme4"(53), « MuMIn »(55), "LmerTest"(54), "dplyr"(67), "nlstools" (68). Un résultat avec une p-value inférieure à 0,05 a été considérée comme significative.

MFI ~ PAM + (1|porc) (formule 4) MFI ~ MFIseuil + (PAM<PAMseuil)*(PAM-PAMseuil)*μ (formule 5) Où MFIseuil et PAMseuil sont les coordonnées du point d'inflexion et μ une constante.

3.3 RESULTATS

3.3.1 Visualisation de l'évolution des paramètres microcirculatoires en fonction de la PAM

Graphiquement, il ne semble pas qu'il existe de relation entre la PAM et les paramètres microcirculatoires, excepté pour le MFI qui semble augmenter lorsque la PAM monte (voir figure 22). En gardant en mémoire qu'un MFI inférieur à 2,6 est le signe d'une altération de la microcirculation d'après le second consensus de 2018 (46), il semble y avoir moins d'altérations microcirculatoires, donc une amélioration du flux à partir d'une certaine valeur de PAM.



Figure 22 Représentation graphique de l'évolution des paramètres microcirculatoires en fonction de la PAM.
3.3.2 Visualisation de l'évolution du MFI en fonction de la PAM chez chaque porc.

Nous avons représenté le MFI en fonction de la PAM en faisant apparaitre chaque porc d'une couleur différente. Puis nous avons représenté pour chaque porc individuellement, l'évolution du MFI en fonction de la PAM. Ces représentations (figure 23 et 24) permettent de mettre en évidence une grande variabilité interindividuelle et intraindividuelle.



MFI en fonction de la PAM chez chaque porc

Figure 23 Évolution du MFI en fonction de la PAM. Les porcs sont représentés par différentes couleurs.



Figure 24 Évolution du MFI en fonction de la PAM pour chaque porc, représenté individuellement dans 7 graphes différents.

3.3.3 Modélisations de la relation entre MFI et PAM

3.3.3.1 Modèle linéaire mixte

La figure 25 illustre le modèle linéaire mixte du MFI en fonction de la PAM (formule 4) proposé et ajusté par le package « MuMIn ». Il représente graphiquement les valeurs de MFI prédites en fonction de la PAM si la relation entre les deux suit la formule 4. Les résultats de l'analyse sont présentés dans le tableau VII : les valeurs de MFI sont significativement dépendantes des valeurs de PAM (p = 0,026). L'estimation du coefficient de la PAM dans le modèle linéaire mixte est d'environ 0,0038. Ainsi lorsque la PAM augmente de 10mmHg, le MFI augmente de 0,038. L'effet aléatoire lié à l'individu (0,20) est du même ordre de grandeur que la valeur liée aux résidus (0,56). Ce résultat confirme ce qui avait été observé graphiquement : la forte variabilité interindividuelle. Cette variabilité contribue à augmenter significativement la variance globale.



Figure 25 a) Modélisation du modèle linéaire mixte ajusté avec les valeurs de MFI prédites en fonction de la PAM. La surface grise autour de la ligne noire représente l'intervalle de confiance à 95%. b) Superposition du modèle linéaire mixte modélisé avec l'intervalle de confiance à 95% et le nuage de points des valeurs de MFI en fonction de la PAM

Tableau VII Résultats de la modélisation linéaire

Effet fixe

Effet aléatoire

Variable	Estimation [IC95%]	p-value	Variable	Variance (SD)
PAM	3,838.10^-3 [4,592.10^-4 - 7,228.10^-3]	0,0269	porc	0,04018 (0,2004)

PAM : pression artérielle moyenne, IC95% : intervalle de confiance à 95%, SD : déviation standard

3.3.3.2 Modèle bilinéaire

Comme expliqué dans le 3.2.2, un modèle non linéaire univarié est construit. Ce modèle mime le phénomène de l'autorégulation qui se produit à partir d'une PAM seuil (illustré sur la figure 21). La figure 26 illustre le modèle non linéaire construit à partir d'une liste de valeur pour MFIseuil, μ et PAMseuil que j'ai estimé manuellement (formule 5). Cette étape est importante pour visualiser le modèle et fournir des valeurs cohérentes à partir desquelles Rstudio ajuste le modèle. La figure 27 représente le modèle une fois ajusté et analysé par le package « nlstools », contenant plusieurs outils et algorithmes évaluant la qualité d'ajustement d'un modèle non linéaire gaussien et permettant de donner une valeur ajustée des coefficients de la formule 5.

La figure 28 reprend le modèle non linéaire obtenu sur la figure 27 mais avec un changement d'échelle afin de bien visualiser le point d'inflexion des droites.



Figure 26 Modèle non linéaire proposé entre le MFI et la PAM

Figure 27 Modèle non linéaire après ajustement entre le MFI et la PAM



Figure 28 Modélisation de la formule 5

Les résultats de l'analyse sont présentés dans le tableau VIII : le point d'inflexion de la courbe possède **une PAM de 55,0mmHg** +/- **11,5 mmHg et un MFI de 2,58** +/- **0,05**.

Tableau VIII Résultats de la création d'un modèle bi linéaire pour représenter la relation entre le MFI et la PAM

Variable	Estimate (SE)	[IC95]	P value
MFI seuil	2,585	[2,494-2,676]	< 0,0001
	(0,0462)		
PAM seuil	55,000 (11,532)	[32,294 -77,705]	< 0,0001
μ	0,010625 (0,009219)	[-0,00752-0,0287]	0,25

SE : erreur standard ; IC95% : intervalle de confiance à 95%

Le modèle linéaire mixte révèle une grande variabilité dans l'estimation des valeurs microcirculatoires, ce qui rend difficile l'établissement d'un modèle fiable. Le modèle bilinéaire nous conforte dans l'hypothèse qu'il existe une relation entre PAM et MFI qui pourrait se rapprocher d'un modèle proche de celui de l'autorégulation.

Cependant dans les deux modèles, l'homoscédasticité des résidus obtenue pourrait être meilleure. Graphiquement aucun des deux modèles n'est très satisfaisant lorsqu'on les superpose au nuage de point.

3.4 DISCUSSION

Les principales conclusions de notre étude sont que les paramètres microcirculatoires dans leur globalité ne sont pas très dépendants de la PAM lors de changements hémodynamiques rapides induits pharmacologiquement. Seul le MFI est significativement dépendant de l'évolution de la PAM. Aussi il existe une très grande variabilité interindividuelle concernant les paramètres microcirculatoires. En outre, aucun modèle réalisé ne représente de façon très satisfaisante la relation entre le MFI et la PAM, certainement en raison de la grande variabilité évoquée précédemment.

3.4.1 Relation macro- microcirculation

L'évaluation de la microcirculation a été principalement utilisée chez les patients atteints d'un choc septique et il a été démontré qu'elle permet de prédire l'issue de ces patients (25) ainsi que celle des patients en arrêt cardiaque (69). De plus, il a été démontré que la PAM affecte les variables microcirculatoires chez ces patients. Or parfois une incohérence hémodynamique semble exister. Holmgaard et al. (70) ont montré que deux niveaux de PAM différents n'ont eu aucun impact significatif sur le débit microcirculatoire, évalué par MFI, ou d'autres variables microcirculatoires dans la muqueuse sublinguale lors d'un pontage cardio-pulmonaire.

Contrairement à de nombreuses recherches essayant de trouver une corrélation entre macro- et microcirculation (63,65,71,72), notre étude concerne des animaux qui ne sont pas en choc septique ni en situation critique, mais dont la PAM est modifiée pharmacologiquement. Dans la littérature, une relation entre micro- et macrocirculation est décrite et il s'agit de l'**autorégulation**(12). Le débit sanguin augmente avec la PAM jusqu'à un certain point, audelà duquel le flux se stabilise, jusqu'à ce que la PAM dépasse 160 mmHg. Un débit sanguin local quasi constant face à un changement de pression est dû au changement de résistance vasculaire dans la direction opposée à la pression. Cette autorégulation est importante parce qu'elle aide à stabiliser le débit sanguin vers un organe, comme le cerveau, en présence de pressions artérielles fluctuantes. L'autorégulation se produit à un degré plus ou moins grand dans la plupart des organes (6).

Dubin et al. (73) ont montré qu'une PAM au-dessus de 65mmHg ne permettait pas systématiquement d'améliorer la perfusion microvasculaire. Le franchissement de ce seuil était même nocif pour certains patients. Lors de l'élaboration de notre modèle non-linéaire, la valeur de PAM pour laquelle le débit sanguin local devient plus ou moins constant est de 55mmHg +/-11,5 mmHg (p-value 3,03.10^-06) ce qui est légèrement inférieur à ce qui est rapporté dans la littérature : Lopez et al. (72) ont identifié un seuil à 71+/- 6 mmHg chez des porcs en endotoxémie. Curieusement, le seuil de MFI associé au seuil de PAM évoqué précédemment est d'environ 2,6, soit le seuil au-delà duquel le MFI est considéré comme normal, d'après le dernier consensus. C'est également celui retrouvé par Lopez et al (72).

Néanmoins, comme évoqué précédemment, le résultat du seuil obtenu doit être interprété avec précautions car les modèles réalisés ne permettent pas d'expliquer précisément la relation entre PAM et MFI.

Il est fort probable qu'une des causes expliquant la difficulté rencontrée à mettre en évidence une relation entre PAM et MFI est liée à la nature de la variable MFI. Dans la littérature, la relation évoquée concerne la PAM et le débit sanguin local. Le MFI est un paramètre qui permet d'approcher le débit sanguin local mais qui ne permet pas de le mesurer précisément et de manière fiable puisqu'il s'agit d'une mesure semi-quantitative basée sur une évaluation subjective. L'autre cause semble être la très grande variabilité interindividuelle observée concernant l'estimation du MFI aux différents niveaux de PAM testés.

3.4.2 Variabilité interindividuelle

Nos résultats montrent une grande variabilité entre les truies. Les variations interindividuelles peuvent avoir plusieurs origines : l'administration d'anesthésiques, la technique utilisée pour mesurer la microcirculation et les individus sur lesquels les mesures ont été effectuées. Dans la littérature, cette variabilité est également retrouvée chez des porcs anesthésiés dans d'autres études (72,74–77). Dans l'étude de Lopez et al. (72), il y avait une variabilité de référence intragroupe et intergroupe importante. Cette grande variabilité se retrouve également dans les études sur des patients humains, comme avec l'étude de Dubin et al. (73) citée précédemment. Des études incluant un plus grand nombre de patients sont nécessaires. Ces observations ne sont pas en faveur d'un impact des opérateurs de notre étude ou des porcs utilisés. De plus, les deux opérateurs qui ont réalisé les vidéos pour notre étude ont reçu une formation adéquate. Tous les porcs utilisés dans notre étude étaient de la même race, du même âge et du même sexe. Ils provenaient tous du même élevage.

De même que des réponses macrocirculatoires variables d'un individu à l'autre peuvent être observées à la suite de l'administration d'agents anesthésiques, on peut imaginer que ces derniers puissent également avoir des effets variables à l'échelle de la microcirculation. Les agents anesthésiques peuvent causer des troubles de microcirculation et d'hypoperfusion. L'origine est multifactorielle : dépression macrocirculatoire, déficience de la réponse immunitaire... (78). Chez l'homme, l'administration de propofol réduit la densité des microvaisseaux et des microvaisseaux perfusés (79). Néanmoins, si c'est l'anesthésie qui est la source de ces variabilités, il semble que des anesthésiques différents peuvent être impliqués. En effet, dans l'étude de Lopez et al. (72) où une variabilité est également retrouvée, le protocole anesthésique était différent de celui utilisé dans notre étude : il contenait de la kétamine, du thiopental et du fentanyl. L'évaluation de l'impact réel de l'anesthésie semble néanmoins extrêmement complexe à mettre en place chez les porcs : il faudrait pouvoir mesurer la microcirculation sublinguale sur un animal éveillé, ce qui n'est pas faisable compte tenu de la stabilité nécessaire pour obtenir des vidéos de bonne qualité.

La variabilité de la microcirculation observée dans l'étude actuelle peut également être due à la technique de vidéomicroscopie utilisée. En effet, cette technique consiste à appliquer un vidéomicroscope sur la muqueuse sublinguale et à observer une petite surface d'environ 1 mm2. Il est possible que la variabilité soit partiellement liée à des variations dans les zones observées. Une étude fait état d'une faible reproductibilité des données microcirculatoires obtenues par SDF, mais les vidéos n'ont pas été analysées de la même manière et les paramètres étudiés ne sont pas les mêmes (80). De même, la variabilité des mesures réalisées grâce au vidéomicroscope pourrait être secondaire aux limites intrinsèques de cette technique et notamment à la présence d'artefacts qui induiraient des fluctuations des estimations des paramètres, ou encore, à la nature subjective de l'évaluation du MFI.

3.4.3 Limites de l'étude

Notre étude a plusieurs limites. Tout d'abord, elle a été réalisée sur un petit nombre de porcs, limitant la puissance des analyses statistiques et limitant les conclusions qui peuvent être faites. Cependant, plusieurs mesures ont été effectuées sur ces animaux dans le but d'augmenter la puissance statistique. Deuxièmement, nous avons effectué des variations rapides de la macrocirculation. Il est possible qu'un délai soit nécessaire pour que la microcirculation se synchronise avec la macrocirculation. Ne pas respecter ce délai pourrait expliquer en partie les difficultés rencontrées pour mettre en évidence la relation entre la macro- et la microcirculation. Enfin, nous avons répété les variations hémodynamiques qui ont généré un stress de cisaillement. Ce dernier pourrait être la cause de dysfonctionnement endothélial et pourrait donc avoir un impact sur le fonctionnement de la microcirculation (81,82).

De plus nous avons utilisé le MFI comme variable représentative du débit sanguin local. Mais le MFI n'est qu'une variable semi-quantitative. La difficulté à retrouver une relation de type autorégulation décrite dans la littérature peut possiblement venir de cette subtilité.

En conclusion, cette étude révèle une grande variabilité dans l'estimation des paramètres de microcirculation enregistrés par SDF. Cette grande variabilité est probablement partiellement en cause dans le fait que nous n'ayons pas pu identifier correctement la relation entre PAM et MFI. Si le MFI semble intéressant pour approcher de manière approximative le débit sanguin local, il semble qu'il serait tout de même intéressant de développer des outils plus performant pour évaluer ce paramètre.

CONCLUSION

L'objectif de ce travail de thèse était d'évaluer l'influence des paramètres macrocirculatoires – principalement de la pression artérielle – sur l'évaluation de la microcirculation sublinguale par vidéomicroscopie.

Dans un premier temps, nous avons cherché à montrer comment des variations hémodynamiques pouvaient biaiser les mesures microcirculatoires. Ainsi, nous avons réalisé une étude expérimentale pour tenter de déterminer si la présence d'artefact de compression des vaisseaux dépendait de l'état hémodynamique du patient. Nous avons également évalué l'impact des artefacts de compression sur l'estimation des paramètres microcirculatoires. Dans cette étude, 684 vidéos de microcirculation ont été enregistrées sur des porcs anesthésiés dont la pression artérielle était contrôlée pharmacologiquement. Treize pour cent des vidéos contiennent des artefacts de compression non-acceptables. Nous avons montré que la probabilité d'obtenir une vidéo de mauvaise qualité en raison de la présence d'artefacts de compression augmente significativement lorsque la PAM diminue (p-value = 0,008, OR = 0,98 [0,96-0,99]). De plus, les artefacts de compression influencent significativement la majorité des paramètres microcirculatoires, même lorsque ces artefacts ont été considérés comme acceptables.

Dans un second temps, nous avons exploré la relation existante entre micro- et macrocirculation dans un modèle porcin lors de changement hémodynamique induit pharmacologiquement. Nos résultats montrent que les paramètres microcirculatoires dans leur globalité ne semblent pas dépendant de la PAM lors de changements hémodynamiques rapides. La seule association mise en évidence concerne le MFI. Lors de la modélisation bilinéaire, un point d'inflexion ayant une PAM égale à 55,0 mmHg +/- 11,5mmHg a été trouvé. En deçà de cette PAM, le MFI, donc le débit sanguin local, diminue. Ce point d'inflexion s'est révélé être proche de celui trouvé dans la littérature et dans d'autres études. Néanmoins, ni le modèle linéaire mixte, ni le modèle bilinéaire n'ont permis de représenter de façon satisfaisante la relation entre le MFI et la PAM. En outre, dans cette étude, nous avons observé une très grande variabilité intra- et interindividuelle concernant l'estimation des paramètres microcirculatoires entre les truies utilisées.

Cette étude permet de mettre en évidence la difficulté d'utiliser la vidéomicroscopie dans la pratique courante à ce stade de développement, avec une analyse chronophage et des artefacts fréquents, dépendant de l'état hémodynamique du patient. En outre, nos résultats montrent que la présence d'artefacts normalement considérés comme acceptables est à l'origine de biais dans l'estimation des paramètres microcirculatoires, ce qui constitue une limite de cette technique. Ainsi, contrairement à ce qui est recommandé actuellement, il semble plus rigoureux de retirer de l'analyse les vidéos contenant ce type d'anomalie. La grande variabilité des mesures réalisées dans la seconde étude pose également question concernant la fiabilité de cette technologie. Incontestablement, les mesures microcirculatoires devraient être intégrées aux mesures macrocirculatoires pour fournir un tableau hémodynamique complet et évaluer la présence ou l'absence de mécanismes régulateurs responsables de la cohérence hémodynamique entre les différents niveaux de la circulation. L'essor de la vidéomicroscopie in vivo, réalisée au chevet du patient a permis une avancée majeure concernant l'évaluation de la microcirculation en temps réel mais comporte de nombreuses limites qui devront être contournées si l'on souhaite utiliser cette technique en pratique courante.

BIBLIOGRAPHIE

1. de Backer D. Interactions macro- et microcirculatoires dans le choc. Réanimation. mars 2013;22(2):191-5.

2. Siegenthaler N, Giraud R, Piriou V, Romand JA, Bendjelid K. Altérations de la microcirculation dans les états de choc : physiopathologie, surveillance et traitement. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation. févr 2010;29(2):135-44.

3. De Backer D. Anomalies de la microcirculation dans le choc septique. Réanimation. mars 2004;13(2):120-5.

4. Johnson PC. Overview of the Microcirculation. In: Microcirculation [Internet]. Elsevier; 2008 [cité 17 sept 2021]. 11-24. Disponible sur: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012374530900022X

5. Gillet B. Etablissement des valeurs de référence du rapport veine cave caudale sur aorte par approche échographique chez le chat en bonne santé. [Lyon 1]: Université Claude-Bernard; 2019. 97.

6. Herring N, Paterson DJ, Levick JR. Levick's introduction to cardiovascular physiology. Sixth edition. Boca Raton London New York: CRC Press; 2018. 426.

7. Pries AR, Secomb TW. Blood Flow in Microvascular Networks. In: Microcirculation [Internet]. Elsevier; 2008 [cité 4 févr 2022]. 3-36. Disponible sur: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123745309000012

8. Sakai H, Hara H, Tsai AG, Tsuchida E, Intaglietta M. Constriction of Resistance Arteries Determines 1-NAME-Induced Hypertension in a Conscious Hamster Model. Microvascular Research. juill 2000;60(1):21-7.

9. Joyner WL, Davis MJ, Gilmore JP. Intravascular pressure distribution and dimensional analysis of microvessels in hamsters with renovascular hypertension. Microvascular Research. sept 1981;22(2):190-8.

10. Kuo L, Davis MJ, Chilian WM. Myogenic activity in isolated subepicardial and subendocardial coronary arterioles. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 1 déc 1988;255(6):H1558-62.

11. Smaje L, Zweifach BW, Intaglietta M. Micropressures and capillary filtration coefficients in single vessels of the cremaster muscle of the rat. Microvascular Research. janv 1970;2(1):96-110.

12. Hall JE. Guyton and Hall textbook of medical physiology. 13th edition. Philadelphia, PA: Elsevier; 2016. 1145 .

13. Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P, Gross JF. Blood flow in microvascular networks. Experiments and simulation. Circ Res. oct 1990;67(4):826-34.

14. Azelvandre F, Oiknine C. Effet Fahraeus et effet Fahraeus-Lindqvist: résultats expérimentaux et modèles théoriques. BIR. 1 déc 1976;13(6):325-35.

15. De Backer D, Hollenberg S, Boerma C, Goedhart P, Büchele G, Ospina-Tascon G, et al. How to evaluate the microcirculation: report of a round table conference. Crit Care. 2007;11(5):R101.

16. Trzeciak S, Dellinger RP, Parrillo JE, Guglielmi M, Bajaj J, Abate NL, et al. Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: Relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival. Annals of Emergency Medicine. janv 2007;49(1):88-98.e2.

17. Klein BG, Cunningham JG. Cunningham's textbook of veterinary physiology. 2020. 624.

18. Segal SS. Regulation of Blood Flow in the Microcirculation. Microcirculation. 2 janv 2005;12(1):33-45.

19. Guven G, Hilty MP, Ince C. Microcirculation: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Application. Blood Purif. 2020;49(1-2):143-50.

20. Ince C. The microcirculation is the motor of sepsis. Crit Care. 2005;9(Suppl 4):S13.

21. Granger HJ, Schelling ME, Lewis RE, Zawieja DC, Meininger CJ. Physiology and pathobiology of the microcirculation. American Journal of Otolaryngology. nov 1988;9(6):264-77.

22. de Backer D. Interactions macro- et microcirculatoires dans le choc. Réanimation. mars 2013;22(2):191-5.

23. De Backer D, Creteur J, Preiser JC, Dubois MJ, Vincent JL. Microvascular Blood Flow Is Altered in Patients with Sepsis. Am J Respir Crit Care Med. juill 2002;166(1):98-104.

24. Collet M, Huot B, Barthélémy R, Damoisel C, Payen D, Mebazaa A, et al. Influence of systemic hemodynamics on microcirculation during sepsis. J Crit Care. 2019;52:213-8.

25. Sakr Y, Dubois MJ, De Backer D, Creteur J, Vincent JL. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock*: Critical Care Medicine. sept 2004;32(9):1825-31.

26. Shapiro NI, Arnold R, Sherwin R, O'Connor J, Najarro G, Singh S, et al. The association of near-infrared spectroscopy-derived tissue oxygenation measurements with sepsis syndromes, organ dysfunction and mortality in emergency department patients with sepsis. Crit Care. 2011;15(5):R223.

27. Trzeciak S, McCoy JV, Phillip Dellinger R, Arnold RC, Rizzuto M, Abate NL, et al. Early increases in microcirculatory perfusion during protocol-directed resuscitation are associated with reduced multi-organ failure at 24 h in patients with sepsis. Intensive Care Med. déc 2008;34(12):2210-7.

28. Doerschug KC, Delsing AS, Schmidt GA, Haynes WG. Impairments in microvascular reactivity are related to organ failure in human sepsis. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. août 2007;293(2):H1065-71.

29. Dubin A, Pozo MO, Ferrara G, Murias G, Martins E, Canullán C, et al. Systemic and microcirculatory responses to progressive hemorrhage. Intensive Care Med. mars 2009;35(3):556-64.

30. Jung C, Ferrari M, Rödiger C, Fritzenwanger M, Goebel B, Lauten A, et al. Evaluation of the sublingual microcirculation in cardiogenic shock. Clinical Hemorheology and Microcirculation. 2009;42(2):141-8.

31. Davis MJ, Hill MA, Kuo L. Local Regulation of Microvascular Perfusion. In: Terjung R, éditeur. Comprehensive Physiology [Internet]. 1^{re} éd. Wiley; 2008 [cité 4 janv 2022]. 161-284. Disponible sur: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cphy.cp020406

32. Watts SW, Kanagy NL, Lombard JH. Receptor-Mediated Events in the Microcirculation. In: Microcirculation [Internet]. Elsevier; 2008 [cité 27 janv 2022]. 285-348. Disponible sur: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123745309000073

33. Varpula M, Tallgren M, Saukkonen K, Voipio-Pulkki LM, Pettilä V. Hemodynamic variables related to outcome in septic shock. Intensive Care Med. août 2005;31(8):1066-71.

34. Hernández G, Teboul JL. Is the macrocirculation really dissociated from the microcirculation in septic shock? Intensive Care Med. oct 2016;42(10):1621-4.

35. Ince C. Hemodynamic coherence and the rationale for monitoring the microcirculation. Crit Care. 2015;19 Suppl 3:S8.

36. Magnin M. Évaluation des troubles de la perfusion tissulaire dans les états de chocs circulatoires et de l'intérêt thérapeutique du pimobendane - De la recherche expérimentale aux applications cliniques. Thèse de doctorat de l'université de Lyon; 2021. 280.

37. Morelli A, Passariello M. Hemodynamic coherence in sepsis. Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology. déc 2016;30(4):453-63.

38. Verdant C, Backer DD. How monitoring of the microcirculation may help us at the bedside: Current Opinion in Critical Care. juin 2005;11(3):240-4.

39. Losser MR, Payen de la Garanderie D. Évaluation de la microcirculation en pratique clinique. Anesthésie & Réanimation. mai 2019;5(3):193-9.

40. Groner W, Winkelman JW, Harris AG, Ince C, Bouma GJ, Messmer K, et al. Orthogonal polarization spectral imaging: A new method for study of the microcirculation. Nat Med. oct 1999;5(10):1209-12.

41. Vajda K, Szabó A, Boros M. Heterogeneous Microcirculation in the Rat Small Intestine during Hemorrhagic Shock: Quantification of the Effects of Hypertonic-Hyperoncotic Resuscitation. Eur Surg Res. 2004;36(6):338-44.

42. Spronk PE, Ince C, Gardien MJ, Mathura KR, Straaten HMO van, Zandstra DF. Nitroglycerin in septic shock after intravascular volume resuscitation. The Lancet. nov 2002;360(9343):1395-6.

43. Ince C. Sidestream dark field imaging: an improved technique to observe sublingual microcirculation. Crit Care. 2005;9(Suppl 1):72.

44. Bezemer R, Bartels SA, Bakker J, Ince C. Clinical review: Clinical imaging of the sublingual microcirculation in the critically ill - where do we stand? Crit Care. 2012;16(3):224.

45. Goedhart PT, Khalilzada M, Bezemer R, Merza J, Ince C. Sidestream Dark Field (SDF) imaging: a novel stroboscopic LED ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation. Opt Express. 12 nov 2007;15(23):15101.

46. Ince C, Boerma EC, Cecconi M, De Backer D, Shapiro NI, Duranteau J, et al. Second consensus on the assessment of sublingual microcirculation in critically ill patients: results from a task force of the European Society of Intensive Care Medicine. Intensive Care Med. mars 2018;44(3):281-99.

47. Trzeciak S, Dellinger RP, Parrillo JE, Guglielmi M, Bajaj J, Abate NL, et al. Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: Relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival. Annals of Emergency Medicine. janv 2007;49(1):88-98.e2.

48. Massey MJ, LaRochelle E, Najarro G, Karmacharla A, Arnold R, Trzeciak S, et al. The microcirculation image quality score: Development and preliminary evaluation of a proposed approach to grading quality of image acquisition for bedside videomicroscopy. Journal of Critical Care. déc 2013;28(6):913-7.

49. Gilbert-Kawai E, Coppel J, Bountziouka V, Ince C, Martin D. A comparison of the quality of image acquisition between the incident dark field and sidestream dark field videomicroscopes. BMC Med Imaging. déc 2016;16(1):10.

50. Magnin M, Foulon É, Lurier T, Allaouchiche B, Bonnet-Garin JM, Junot S. Evaluation of microcirculation by Sidestream Dark Field imaging: Impact of hemodynamic status on the occurrence of pressure artifacts – A pilot study. Microvascular Research. sept 2020;131:104025.

51. Damiani E, Ince C, Scorcella C, Domizi R, Carsetti A, Mininno N, et al. Impact of microcirculatory video quality on the evaluation of sublingual microcirculation in critically ill patients. J Clin Monit Comput. oct 2017;31(5):981-8.

52. Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis [Internet]. Springer-Verlag New York. 2016. [cité 13 fév 2021]. Disponible sur: https://ggplot2.tidyverse.org

53. Bates D, Machler M, Bolker B. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using {lme4}. 2015;67(1):1-48.

54. Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB. {lmerTest} Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. 2017;82(13):1-26.

55. Barton K. MuMIn: Multi-Model Inference [Internet]. 2022. [cité 13 fév 2021]. Disponible sur: https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn

56. Lüdecke D. sjPlot: Data Visualization for Statistics in Social Science [Internet]. 2021. [cité 13 fév 2021]. Disponible sur: https://CRAN.R-project.org/package=sjPlot

57. Lenth RV. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means [Internet]. 2022. [cité 13 fév 2021]. Disponible sur: https://CRAN.Rproject.org/package=emmeans

58. Sallisalmi M, Oksala N, Pettilä V, Tenhunen J. Evaluation of sublingual microcirculatory blood flow in the critically ill: SDF in critically ill. Acta Anaesthesiol Scand. mars 2012;56(3):298-306.

59. Bemelmans RHH, Boerma EC, Barendregt J, Ince C, Rommes JH, Spronk PE. Changes in the volume status of haemodialysis patients are reflected in sublingual microvascular perfusion. Nephrology Dialysis Transplantation. 1 nov 2009;24(11):3487-92.

60. Balestra GM, Bezemer R, Boerma EC, Yong ZY, Sjauw KD, Engstrom AE, et al. Improvement of Sidestream Dark Field Imaging with an Image Acquisition Stabilizer. BMC Med Imaging. déc 2010;10(1):15.

61. Swindle MM, Makin A, Herron AJ, Clubb FJ, Frazier KS. Swine as Models in Biomedical Research and Toxicology Testing. Vet Pathol. mars 2012;49(2):344-56.

62. van Elteren HA, Ince C, Tibboel D, Reiss IKM, de Jonge RCJ. Cutaneous microcirculation in preterm neonates: comparison between sidestream dark field (SDF) and incident dark field (IDF) imaging. J Clin Monit Comput. oct 2015;29(5):543-8.

63. Ospina-Tascon G, Neves AP, Occhipinti G, Donadello K, Büchele G, Simion D, et al. Effects of fluids on microvascular perfusion in patients with severe sepsis. Intensive Care Med. juin 2010;36(6):949-55.

64. Jhanji S, Stirling S, Patel N, Hinds CJ, Pearse RM. The effect of increasing doses of norepinephrine on tissue oxygenation and microvascular flow in patients with septic shock*: Critical Care Medicine. juin 2009;37(6):1961-6.

65. Dyson A, Cone S, Singer M, Ackland GL. Microvascular and macrovascular flow are uncoupled in early polymicrobial sepsis. British Journal of Anaesthesia. juin 2012;108(6):973-8.

66. Meyer F, Perrier V. esquisse: Explore and Visualize Your Data Interactively [Internet]. 2021. [cité 26 mars 2021]. Disponible sur: https://CRAN.R-project.org/package=esquisse

67. Wickham H, François R. dplyr: A Grammar of Data Manipulation [Internet]. 2021. [cité 26 mars 2021]. Disponible sur: https://CRAN.R-project.org/package=dplyr

68. Baty F, Ritz C, Charles S. A Toolbox for Nonlinear Regression in $\{R\}$: The Package {nlstools}. Journal of Statistical Software. 2015;66(5):21.

69. Donadello K, Favory R, Salgado-Ribeiro D, Vincent JL, Gottin L, Scolletta S, et al. Sublingual and muscular microcirculatory alterations after cardiac arrest: A pilot study. Resuscitation. juin 2011;82(6):690-5.

70. Holmgaard F, Vedel AG, Ravn HB, Nilsson JC, Rasmussen LS. Impact of mean arterial pressure on sublingual microcirculation during cardiopulmonary bypass-Secondary outcome from a randomized clinical trial. Microcirculation. juill 2018;25(5):e12459.

71. De Backer D, Ortiz JA, Salgado D. Coupling microcirculation to systemic hemodynamics: Current Opinion in Critical Care. juin 2010;16(3):250-4.

72. López A, Grignola JC, Angulo M, Alvez I, Nin N, Lacuesta G, et al. Effects of early hemodynamic resuscitation on left ventricular performance and microcirculatory function during endotoxic shock. ICMx. déc 2015;3(1):14.

73. Dubin A, Pozo MO, Casabella CA, Pálizas F, Murias G, Moseinco MC, et al. Increasing arterial blood pressure with norepinephrine does not improve microcirculatory blood flow: a prospective study. Crit Care. juin 2009;13(3):R92.

74. González R, Urbano J, López J, Solana MJ, Botrán M, García A, et al. Microcirculatory alterations during haemorrhagic shock and after resuscitation in a paediatric animal model. Injury. févr 2016;47(2):335-41.

75. Pranskunas A, Pilvinis V, Dambrauskas Z, Rasimaviciute R, Planciuniene R, Dobozinskas P, et al. Early course of microcirculatory perfusion in eye and digestive tract during hypodynamic sepsis. Crit Care. 2012;16(3):R83.

76. Yeh YC, Yu LCH, Wu CY, Cheng YJ, Lee CT, Sun WZ, et al. Effects of endotoxin absorber hemoperfusion on microcirculation in septic pigs. Journal of Surgical Research. mai 2017;211:242-50.

77. Jacquet-Lagrèze M, Allaouchiche B, Restagno D, Paquet C, Ayoub JY, Etienne J, et al. Gut and sublingual microvascular effect of esmolol during septic shock in a porcine model. Crit Care. déc 2015;19(1):241.

78. Turek Z, Sykora R, Matejovic M, Cerny V. Anesthesia and the Microcirculation. Semin Cardiothorac Vasc Anesth. déc 2009;13(4):249-58.

79. Koch M, De Backer D, Vincent JL, Barvais L, Hennart D, Schmartz D. Effects of propofol on human microcirculation. British Journal of Anaesthesia. oct 2008;101(4):473-8.

80. Valerio L, Peters RJ, Zwinderman AH, Pinto-Sietsma SJ. Reproducibility of sublingual microcirculation parameters obtained from sidestream darkfield imaging. Isgum I, éditeur. PLoS ONE. 14 mars 2019;14(3):e0213175.

81. Munoz CJ, Lucas A, Williams AT, Cabrales P. A Review on Microvascular Hemodynamics. Critical Care Clinics. avr 2020;36(2):293-305.

82. Davies PF. Hemodynamic shear stress and the endothelium in cardiovascular pathophysiology. Nat Rev Cardiol. janv 2009;6(1):16-26.

ANNEXES

ANNEXE 1

Evaluation of microcirculation by Sidestream Dark Field imaging: Impact of hemodynamic status on the occurrence of pressure artifacts – A pilot study

Mathieu Magnin^{a,b}, Élisa Foulon^{a,b}, Thibaut Lurier^{c,d,e}, Bernard Allaouchiche^{a,f}, Jeanne Marie Bonnet Garin^{a,b}, Stéphane Junot^{a,g*}

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

^b Université de Lyon, Vetagro Sup, Unité de Physiologie, Pharmacodynamie et Thérapeutique, 1 avenue Bourgelat F-69280 Marcy l'Etoile, France

^cUniversité Clermont Auvergne, INRAE, VetAgro Sup, UMR EPIA, Theix F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France

^d Université de Lyon, INRAE, VetAgro Sup, UMR EPIA, 1 avenue Bourgelat F-69280 Marcy F-69280 Marcy l'Etoile, France

^e Université de Lyon, INRAE, VetAgro Sup, Usc 1233 UR RS2GP, 1 avenue Bourgelat F-69280 Marcy F-69280 Marcy l'Etoile, France

^f Université de Lyon, Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon Sud, Réanimation Médicale, 165 Chemin du Grand Revoyet F-69310 Pierre-Bénite, France

⁸ Université de Lyon, VetAgro Sup, Anesthésiologie, 1 avenue Bourgelat F-69280 Marcy l'Etoile, France

*Corresponding author: stephane.junot@vetagro-sup.fr

Author emails: mathieu.magnin@vetagro-sup.fr, elisa.foulon@vetagro-sup.fr,

thibaut.lurier@vetagro-sup.fr, bernard.allaouchiche@gmail.com, jeanne-marie.bonnet@vetagrosup.fr, stephane.junot@vetagro-sup.fr

Conflict of interest statement: The authors declare that there are no conflicts of interest related to this article.

Source of support: This work was supported by VetAgro Sup - Veterinary Campus of Lyon, University of Lyon, France.

List of Abbreviations

AICc: Corrected Akaike Criterion BSA: Body surface area CI: cardiac index CO: Cardiac output DAP: Diastolic arterial pressure HI: Heterogeneity index HVM: Handheld videomicroscope IM: Intra-muscular IV: Intra-venous MAP: Mean arterial pressure MFI: Microvascular flow index MIQS: Microcirculation image quality score OR: Odd ratio PPV: Pulse pressure variation SAP: Systolic arterial pressure SDF: Sidestream dark field

Abstract

Objective: The aims of the study were to evaluate the influence of hemodynamic status on pressure artefacts and the impact of pressure artefacts on microcirculatory flow.

Methods: Sublingual microcirculation was assessed using a Sidestream Dark Field handheld imaging device in 7 anesthetized piglets, submitted to pharmacologically-induced blood pressure variations.

For each video, a pressure score of 0, 1, or 10 was assigned for the category "pressure artefacts" of the "microcirculation image quality score". Videos with a pressure score of 0 and 1 were considered as "passing videos". The videos with a score of 10 were considered as "failing videos". Multivariate logistic regression models and multivariate linear mixed models with individual random effects were used.

Results: As blood pressure decreased, the probability of obtaining a "failing video" increased (P = 0.0008). Pressure scores of 10 influenced significantly the perfused De Backer score (small and all vessels), the proportion of perfused vessels (small and all vessels), the microvascular flow index and the heterogeneity index. Pressure scores of 1 influenced significantly the parameters abovementioned, except the perfused De Backer score for all vessels.

Conclusion: The probability of obtaining pressure artefacts during recording of microcirculation videos was higher when the arterial pressure was low. The presence of acceptable pressure artifacts also influenced microcirculation analysis.

Keywords

- Microcirculation
- Image acquisition
- Artefacts
- Sidestream Dark Field

Introduction

Microcirculation is considered as a vital component of organ function. It is the component of circulation that regulates oxygen and nutrients supply to the cells [1]. Microvessels are defined as small vessels, with a diameter inferior to 20 μ m, that include arterioles, capillaries and venules [2]. Microcirculation alterations are associated with a poor outcome in various critical conditions [3,4]. In this regard, it is considered as a potential target for resuscitation maneuvers, particularly since the development of handheld videomicroscopes (HVM) and sidestream dark field (SDF) imaging that allow direct observation of microvessels at the patient's bedside. This second generation of HVM consists of a videomicroscope whose lens is surrounded by LEDs emitting green light ($\lambda = 530 - 550$ nm) captured by hemoglobin. The SDF microscope records short videos of a few seconds where dark vessels on a light field are observed [5]. With this technology, the sublingual area is most frequently used to monitor microcirculation [2,3].

In comparison with other technologies such as laser-based techniques, HVM has the advantage of allowing a direct visualization of microvessels and an estimation of functional parameters. Those include characterization of microvascular density and flow with dedicated scores. However, the calculation of these scores and their interpretation is highly dependent on the quality of the videos obtained. Thus, obtaining videos of good quality remains one the major limitation for videomicroscopy [6–9]. In order to better evaluate the recorded videos, Massey et al. have developed a quality score based on 6 criteria: illumination, duration, focus, content, stability and pressure [10]. In a study by Sallisalmi et al, only 30% of the videos were considered of excellent quality [6]. To a similar extent, Bemelmans et al. reported the impossibility of obtaining videos of good quality in around 20% of the patients included in their study [8]. Several factors may affect the quality of the videos : some are operator-dependent, others are patient-dependent such as the physical status or the degree of sedation [7].

The main operator-dependent artifacts are associated with image instability and compression of structures by the camera [6]. Pressure artifacts occur when the operator applies an excessive pressure on the sublingual area, causing a misrepresentation of capillary flow. Pressure artifacts are characterized by abnormally slow and heterogenous flow, capillary flows that stop and restart or reverse [6,10,11]. In the study of Sallisalmi et al., pressure artifacts were the most frequent, occurring in 36% of the videos [6]. The second consensus on the assessment of sublingual microcirculation considered pressure artifacts as "the main technical challenge in performing HVM measurement" [2]. Hence, the analysis of poor-quality videos can be the source of bias and erroneous conclusions.

Pressure artifacts were notably associated with a lower density of vessels, a lower percentage of vessels perfused and a lower flow rate [7].

Pressure artefacts are detected by observing the flow in the large venules, considered as sentinel vessels because of their greater sensitivity to pressure obstruction [2,10]. Even though it seems logical that the occurrence of pressure artifacts is correlated with low pressure inside the vessels, rendering them more compressible, this remains to be elucidated. To our knowledge, no study regarding a potential link between hemodynamic status and quality of videos has been published.

We performed a pilot study on an experimental pig model that aimed verify the following two hypotheses. The first hypothesis was that the occurrence of pressure artifacts is dependent on the pressure prevailing within the vessels and therefore on the patient's hemodynamic status. The second hypothesis was that the presence of pressure artefacts, even if considered as acceptable, can influence microcirculatory parameters.

Materials and methods

This study used video clips recorded as part of another study that aimed to validate a new medical device (this study was conducted in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and approved by the Ethics Committee of the institution – VetAgroSup - Campus Vétérinaire de Lyon - Ethical agreement: authorization number 1819).

Animals

For the purpose of the original study, 7 female piglets were anesthetized and equipped for hemodynamic monitoring. The anesthetic protocol consisted in a premedication with a 1:1 mixture of tiletamine-zolazepam (ZOLETIL100, 100 mg.mL⁻¹, Virbac, Carros, France) 3.0 mg.kg⁻¹ IM, associated with morphine (MORPHINE AGUETTANT, 10 mg.mL⁻¹, Laboratoire Aguettant, Lyon, France) 0.2 mg.kg⁻¹ IM, followed by an induction with propofol (PROPOVET 10 mg.mL⁻¹, Zoetis, Malakoff, France) 4.0 mg.kg⁻¹ IV, and a maintenance with sevoflurane (SEVOFLO, Zoetis, Malakoff, France) in 30% oxygen. Once anesthetized, the external right jugular vein was dissected for placement of a central venous catheter (Multicath 3 7.5Fr, Vygon, Ecouen, France). A 4F thermodilution catheter (PiCCO catheter 5 Fr, Getinge, Orléans, France) was inserted into the lower abdominal aorta through the right femoral artery and connected to a PiCCO system.

Hemodynamics monitoring

The following hemodynamics parameters were continuously recorded: mean arterial pressure (MAP), systolic arterial pressure (SAP), diastolic arterial pressure (DAP), cardiac output (CO), pulse pressure variation (PPV). Cardiac index (CI) was calculated based on conventional equations (CI = CO/BSA), with the body surface area (BSA) calculated as previously described [12].

Original study design

After equipment and stabilization of the animals, a succession of hypotensive and hypertensive periods was performed. Hypotension was induced by inhalation of an increased concentration of sevoflurane. Hypertension was performed by administration of norepinephrine. The targeted MAP for hypotension ranged from 30 to 50 mmHg, whereas the targeted MAP for hypertension ranged from 90 to 110 mmHg.

Microcirculation imaging and procedures

Six hundred and eighty-four video clips were considered in this study. They were taken from 7 pigs that were included in the original study (pig a: 108 videos, pig b: 87 videos, pig c: 79, pig d: 73 videos, pig e: 132 videos, pig f: 108 videos and pig g: 97 videos).

The video sequences were obtained from the sublingual area, using a SDF \times 5 lens camera (Microscan, Microvision medical, Amsterdam, The Netherlands), with a standardized duration of 120 frames. A detailed description of the SDF technology is provided elsewhere [5].

Every video clip was recorded by the same trained investigator (MM). The training period lasted 2 weeks. During this period, the principal investigator was trained on the recording and analysis of microcirculation video recorded by SDF. The training took place at VetAgroSup and was carried out on anesthetized live animals (dogs, cats and pigs) and was provided by SJ, who has 6 years of experience in the use of SDF.

The videos were recorded with the videomicroscope carried by hand, and not fixed. The videomicroscope was connected to a computer using a dedicated software (AVA, Version 4.3C, Microscan, Microvision medical, Amsterdam, The Netherlands). A new sterile cap was placed on the videomicroscope for each pig. As soon as the MAP reached the target value, the videomicroscope was positioned in the oral cavity. Beforehand, the secretions of the mouth were wiped with swabs, as well as the optic's cap of the microscope. The recording procedures followed Trzeciak and colleagues [13] recommendations, in accordance with the consensus of experts [2]: the videomicroscope was applied on contact with the sublingual mucosa until the microcirculation was observed. The camera was advanced into the sublingual area until the flow was partially or completely occluded. Then, it was retracted from the sublingual mucosal surface until contact with the tissue was lost. Just before contact was lost, the flow looked like with no pressure. Then, the probe was advanced again gently until a contact was regained and the microvessels came into view. Stability, focus and illumination were assessed by the AVA software and 3 to 10 videos were recorded, for at least three different sites. The procedure was in accordance with the consensus recommendations of experts [2].

All the videos were recorded at the floor of the mouth, near the lingual frenulum: during the introduction of the probe in the oral cavity, the tongue was slightly raised, allowing the visualization of the floor of the mouth and the lingual frenulum. The probe was placed gently in contact with the mucosa of the floor of the mouth, in the region around the lingual frenulum, at an angle of about 60°.

Video clip analysis

The video clips of the original study were analyzed blindly by two authors (MM and EF), trained to read microcirculation videos and to perform the "microcirculation image quality score (MIQS)" described by Massey et al [10]. The evaluators were blinded from one another and could not communicate regarding the videos and their scoring. For each video clip, they were not aware of the hemodynamic status of the animals at the time of its recording. Afterward, in case of disagreement, the two raters met to find a consensus. The overall acceptable quality videos were retained for further analysis.

For each video, a pressure score of 0, 1, or 10 was assigned for the category "pressure exerted by the videomicroscope" of the MIQS.

A pressure score of 0 was considered as "good" ("constant flow throughout the entire movie. No obvious signs of artificially sluggish or stopped flow. Good flow in the largest vessels"). A pressure score of 1 was considered as "acceptable" ("Signs of pressure, localized sluggish flow in a specific large vessel, but flow appears to be unimpeded based on good flow in most large vessels"). A pressure score of 10 was considered as "unacceptable" ("Obvious pressure artifacts associated with probe movement, and/or flow that starts and stops, reversal of flow. Poor or changing flow in larger venules"). Videos illustrating the level of pressure artifacts are available in additional files (additional file). The videos with a pressure score of 0 and 1 were grouped in the category of quality video "passing videos". The videos with a score of 10 were considered as "failing videos".

Microvascular flow index (MFI) and heterogeneity index (HI) were calculated by an author (MM). The MFI was evaluated as followed: the image was divided into 4 quadrants, a score of 0 to 3 is assigned to each (flow was characterized as absent (0), intermittent (1), sluggish (2), or normal (3)). The MFI corresponded to the average of these 4 scores. The HI was calculated from the quadrant scores according to the following equation: (highest score) - (lowest score) / mean score [2].

A validated automatic algorithm-software (AVA, Version 4.3C) performed others analysis. Small vessels were defined as vessels with diameter < $20 \mu m$. Density and perfusion related parameters were calculated as followed:

Density parameters:

0

 De Backer score (DBs) = number of crossings / total length of the 3X3 De Backer grid (in n/mm). This parameter was calculated for all vessels (DBs all) and for small vessels (DBs small).

Perfusion parameters:

 Perfused De Backer score (PDBs) = perfused number of crossings / total length of the 3X3 De Backer grid (in n/mm). This parameter was calculated for all vessels (PDBs all) and for small vessels (PDBs small).

Proportion of Perfused Vessels (microPPV) = (Perfused De Backer score/De Backer score)*100 (in %). This parameter was calculated for all vessels (microPPV all) and for small vessels (microPPV small).

Statistical analysis

A Cohen's kappa coefficient (κ) was calculated to determine the interrater reliability for passing or failing a video. To test the influence of hemodynamic parameters on the quality of the video (passing or failing), a multivariate logistic regression model was built with individual random effects. The complete model included as fixed effects CI, MAP, PPV and interaction terms of second and third order (formula 1). With the dredge function of the "MuMin" package, the corrected Akaiké criterion (AICc) was calculated for all possible sub-models. The best of these sub-models was then selected as the model with the weakest AICc. Based on the selected model, the "emmeans" package was used to predict the probability of obtaining a "failing video" according to the hemodynamic status.

In order to test the impact of pressure artifacts on microcirculatory variables, a univariate analysis (formula 2) and a multivariate analysis (formula 3) were performed. For the univariate analysis, a linear mixed model was constructed for each microcirculatory parameter including the pressure score as a fixed effect and the individuals as random effects. For the multivariate analysis, the hemodynamic parameters (MAP, PPV and CI) were added as adjustment variables to verify whether the effect of the pressure artifacts was independent of the hemodynamic status. For MFI, logistic regressions were also performed including the same variables as described above. The MFI was previously transformed into a dichotomous variable: a MFI below 2.6 was considered as abnormal whereas a MFI greater than 2.6 was considered as normal [2].

For the logistic models, the odds ratio (OR) of the fixed effects were calculated by performing the exponential of the estimate.

For each linear mixed model, homoscedasticity and random distribution of residuals were checked by plotting residuals against fitted value, and random distribution of individual random effect was checked by visualizing the distribution of individual random intercepts for each model. The correct fit of the logistic regressions was checked by performing a Pearson's residue analysis and a Hosmer-le-Cessie-Test if necessary.

Statistical analysis was performed using R 3.5.2 software (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). The packages "ggplot2"[14], "Lme4"[15], Lmertest"[16], "MuMIn"[17], "sjPlot"[18], "rms"[19] and "emmeans"[20] were used. A *P*-value lower than 0.05 was considered as significant.

Formula 1: video quality (passing or failing) ~ CI * MAP * PPV + (1|individual) Formula 2: Microcirculatory parameter ~ pressure score + (1|individual) Formula 3: Microcirculatory parameter ~ pressure score + CI + MAP + PPV + (1|individual)

Results

Microcirculation image quality score

An agreement between raters was observed in 89.3% of the cases (611/684) and a disagreement in 10.7% (74/684). Regarding the disagreements, 46% (34/74) represented strong disagreements (a video "0" or "1" was classified "10") and 54% (40/74) were regarded as minor disagreement (a video "0" was ranked "1"). Using the Cohen κ score to assess inter operator agreement for passing or failing a video with the blinded pressure score, a substantial agreement was observed (κ = 0.71).

After consensus between operators, 456 (66.7%) video clips were considered as "good" (score of 0), 139 (20.3%) video clips were considered as "acceptable" (score of 1) and 89 (13%) video clips were considered as unacceptable (score of 10). Thus, 595 (87%) videos were regarded as appropriate and 89 (13%) were considered as poor quality.

Influence of hemodynamic status on the quality of videos

Figure 1 illustrates the distribution of videos according to the pressure score (on x-axis) and the hemodynamic parameters (on the y-axis).

The best model for the quality of video was the model that included MAP only as an explanatory variable (model 1: video quality (passing or failing) ~ MAP + (1|individual)).

The results of the analysis are given in table 1: blood pressure significantly influenced the risk of obtaining a "failing video" (P = 0.0008). Odd ratio was about 0.98; indicating that when blood pressure increases by 1mmHg, the probability of getting a video with unacceptable pressure artifacts is multiplied by 0.98. As blood pressure decreased, the probability of obtaining a "failing video" increased. The probability of obtaining a "failing video" as a function of MAP is presented in table 2 and illustrated in figure 2.

Table 1. Influence of hemodynamic status on the quality of videos

Fixed effect					Random effe	ct
Variable	Estimate (SE)	OR [IC95]	Z value	Pr(> z)	Variable	Variance (SD)
MAP	-0.024 (0.007)	0.98 [0.96 - 0.99]	-3.358	0.0008	individual	0.852 (0.923)

MAP: mean arterial pressure, SE: standard error, IC95: 95% confidence interval, SD: standard deviation, NA: not applicable.

MAP (mmHg)	Probability of obtaining a failing video (SE) (%)	95% confidence interval
30	20 (7)	10 - 37
50	14 (4)	7 - 25
70	9 (3)	4 - 17
90	6 (2)	2 - 12
110	4 (2)	1-9

Table 2. Probability of obtaining a failing video according to mean arterial pressure

MAP: mean arterial pressure, SE: standard error



Figure 1. Distribution of videoclips according to hemodynamic status (y axis) and pressure score (x axis)

CI: cardiac index (L/min/m²), PPV: pulse pressure variation (%), MAP: mean arterial pressure (mmHg).



The black line corresponds to the probability of obtaining a "failing video" predicted by the model, the gray area around this line allows the representation of the 95% confidence interval. MAP: mean arterial pressure (mmHg), P: probability of obtaining a failing video according to the model (%)

Influence of pressure score on microcirculatory parameters

The results of univariate and multivariate analysis are described in table 3. Density (DBs, DBs small) was not influenced by the pressure score. PDBs for all vessels was significantly lower in videos with a pressure score of "10" compared with videos with a pressure score of "0". PDBs small, microPPV, microPPV small and MFI were significantly lower in videos with a pressure score of "1" and in videos with a pressure score of "10". HI was significantly higher in videos with a pressure score of "1" and

"10". The effect size was more important for videos with a pressure score of 10. Graphical presentations of microcirculatory parameters are illustrated in figure 3.

Dependent	Fixed	Univariate ana	lysis	Multivariate anal	ysis
variable	effect	Estimate	P-value	Estimate	P-value
DBs all	Pressure	-0.05 (-0.49 - 0.39)	0.83	-0.10 (-0.54 - 0.34)	0.65
	score "1"				
	Pressure	-0.34 (-0.89 – 0.22)	0.24	-0.28 (-0.84 – 0.29)	0.34
	score "10"				
	MAP			-0.001 (-0.014 - 0.011)	0.82
	CI			0.09 (-0.02 - 0.19)	0.13
	PPV			-0.03 (-0.06 - 0.01)	0.08
DBs small	Pressure	-0.38 (-0.84 - 0.10)	0.11	-0.42 (-0.89 – 0.05)	0.08
	Prossure	-0.37(-0.94-0.23)	0.22	-0.37(-0.96 - 0.24)	0.23
	score "10"	-0.37 (-0.54 - 0.23)	0.22	-0.37 (-0.50 - 0.24)	0.25
	MAP			9.7 10 ⁻⁴ (-0.01 - 0.01)	0.89
	CI			-4.8 10 ⁻² (-0.16 – 0.07)	0.43
	PPV			-5.54 10 ⁻² (-0.09	0.002
				0.02)	
PDBs all	Pressure score "1"	-0.26 (-0.76 – 0.25)	0.33	-0.29 (-0.81 – 0.22)	0.27
	Pressure	-1.01 (-1.650.38)	0.002	-1.05 (-1.720.39)	0.002
	score "10"				
	MAP			-0.01 (-0.02 - 0.01)	0.26
	CI			0.06 (-0.07 - 0.19)	0.39
	PPV			-0.02 (-0.06 - 0.02)	0.26
PDBs small	Pressure score "1"	-0.55 (-0.980.12)	0.01	-0.59 (-1.020.16)	0.008
	Pressure score "10"	-1.0 (-1.530.47)	0.0002	-1.05 (-1.600.51)	0.0002
	MAP			-0.01 (-0.02 - 0.01)	0.29
	CI			-0.07 (-0.18 - 0.03)	0.16
	PPV			-0.05 (-0.080.02)	0.002
microPPV all	Pressure score "1"	-3.47 (-7.000.03)	0.05	-3.67 (-7.270.18)	0.04
	Pressure	-10.56 (-15.01	< 0.0001	-11.57 (-16.247.11)	< 0.0001
	score "10"	6.27)			
	MAP			-0.10 (-0.20 - 0.00)	0.05
	CI			-0.02 (-0.91 - 0.85)	0.96
	PPV			-0.07 (-0.33 - 0.19	0.57
microPPV	Pressure	-3.57 (-7.33 – 0.08)	0.06	-3.75 (-7.580.04)	0.05
small	score "1"				
	Pressure	-12.08 (-16.81	<0.0001	-13.19 (-18.158.47)	<0.0001
	score "10"	7.52)			
	MAP			-0.10 (-0.20 - 0.01)	0.07
	CI			-0.28 (-1.20 - 0.63)	0.55
	PPV			-0.11 (-0.38 - 0.17)	0.45

Table 3. Impact of pressure artifacts on microcirculatory parameters

MFI	Pressure score "1"	-0.57 (-0.660.49)	<0.0001	-0.58 (-0.660.49)	<0.0001
	Pressure score "10"	-1.23 (-1.331.13)	<0.0001	-1.23 (-1.331.12)	<0.0001
	MAP			2.10 10 ⁻⁵ (-0.002 - 0.002)	0.98
	CI			-4.58 10 ⁻⁴ (-0.02 - 0.02)	0.97
	PPV			-3.38 10-4 (-0.01 - 0.01)	0.91
Binary MFI (normal or	Pressure score "1"	OR=11.9 (7.3 - 19.8)	<0.0001	OR=11.8 (7.3 – 19.9)	<0.0001
abnormal)	Pressure score "10"	OR=114.4 (34.7 - 706)	<0.0001	OR=111 (33.8 - 692.3)	<0.0001
	MAP			OR=1 (0.9-1.1)	0.62
	CI			OR=1.1 (0.9 - 1.2)	0.46
	PPV			OR=1 (0.9-1.1)	0.26
н	Pressure score "1"	0.47 (0.38 – 0.56)	<0.0001	0.48 (0.38 – 0.57)	<0.0001
	Pressure score "10"	0.85 (0.74 – 0.97)	<0.0001	0.84 (0.72 – 0.96)	<0.0001
	МАР			5.54 10 ⁻⁴ (-0.002 - 0.003)	0.67
	CI			-0.02 (-0.04 - 0.01)	0.17
	PPV			$1.7110^{-3}(-0.01-0.01)$	0.62

Values in parentheses correspond to 95% confidence intervals of model estimates or odd ratio. DBs: De Backer score, PDBs: Perfused De Backer score, microPPV: Proportion of Perfused Vessels, MFI: Microvascular Flow Index, HI: Heterogeneity Index, MAP: mean arterial pressure, CI: cardiac index, PPV: pulse pressure variation, OR: odd ratio

Figure 3. Microcirculatory parameters



DBs: De Backer score, PDBs: Perfused De Backer score, microPPV: Proportion of Perfused Vessels, MFI: Microvascular Flow Index, HI: Heterogeneity Index, n: number of crossing vessels, AU: Arbitrary Unit.

Discussion

The current pilot study aimed to evaluate the influence of the hemodynamic status on the occurrence of pressure artifact during acquisition of SDF video clips and the impact of pressure artifacts on video analysis. The main results were an association between a low MAP and the occurrence of pressure artifact. In particular, the probability of obtaining a poor-quality video due to the presence of pressure artifacts increased when MAP decreased. Pressure artefacts significantly influenced the majority of microcirculatory parameters, even when these artefacts were considered acceptable. These results suggest that analyzing videos with moderate pressure artifacts could be a source of bias.

Microcirculation has been largely described, but its interest has gathered since the 1990s and the development of HVM [1,21]. Hence, this technology has contributed significantly to the understanding of the mechanisms underlying the evolution and prognosis of critical conditions. In particular, it has brought to light the occurrence of microcirculation disorders in the time-course of

shock and sepsis [15,16]. Sidestream Dark Field imaging, the technology used in the present study, is the second generation of HVM. In comparison with the first generation, it has been associated with videos of better quality: capillary contrast and sharpness were shown to be significantly improved and venular granularity was more clearly observable compared with first generation [5]. As the other HVMs devices, it has the advantage over laser-based technologies of better characterizing the microcirculation by providing density and perfusion information. In addition, HVMs provide directly viewable anatomical information. However, its use is associated with some limitations, one of them being the acquisition of good quality videos. Indeed, SDF technology requires a certain skill to obtain clips of good quality, which can be analyzed and interpreted with limited risks of bias. Other limitations of SDF videomicroscopy are the restricted body area that can be investigated and the clinical condition of the patients. Indeed, in critical care medicine, HVM is mainly used to evaluate microcirculation of the sublingual area for research purpose, and some severe conditions such as respiratory distress, prevent the placement of a microscope in the mouth [9]. When the recording is possible, the proportion of poor-quality videos obtained is not negligible and varies from 18 to 70% [6-8]. In a study performed on dialyzed patients with chronic kidney disease, good quality videos could not be obtained in 18% of the cases. In another cohort of 240 videos obtained in ICU, only 30% of the clips were considered as excellent quality. [6]. In another study carried out on critical patients, only 56% of the 2455 recorded videos were of sufficient quality to be analyzed. In this last study, the most striking result was that, for 20% of the patients, no video of appropriate quality could be recorded during their hospitalization [7]. Interestingly, the occurrence of large proportions of videos of poor quality appears mainly reported in ICU patients [6,7]. One possible explanation is that videos recorded on unstable patients must be obtained more quickly and in less favorable conditions (intubation, presence of many medical devices). However, other causes can explain the poor quality of a video, in particular the lack of experience of the manipulator or the absence of a standardized monitoring area. These results highlight the necessity to better understand the link between the physical status of the patient and the quality of videos obtained. In particular, it would be interesting to obtain videos in a more reliable manner in critical patients, who are the ones that could benefit the most from the analysis of microcirculation, as this may improve their outcome.

Based on the report of Sallisalmi et al.[6], Massey et al. [10] developed a scoring system to assess the quality of microcirculation video clips. This score includes 6 parameters that can be graded: illumination, duration, focus, content, stability and pressure artifacts. The current study focused on the "pressure artifact" described in the quality score. Pressure artifacts are regarded as either absent, acceptable or unacceptable. This pressure artifact grading scale, which was hereby considered, is recommended by a task force consensus on the assessment of sublingual microcirculation in critically ill patients [2]. Within the quality score, the "pressure artifact" was associated a good repeatability, with a Cohen's Kappa of 0.82 [10]. In our study, a similar agreement between the two observers was found ($\kappa = 0.71$). However, in the study performed by Sallisalmi et al [6], the definitions were less formalized and the repeatability of the pressure artifacts was significantly lower ($\kappa = 0.50$).

As previously mentioned, pressure artifacts are, with lack of stability, the main reasons for obtaining poor quality videos [6,7]. The consensus on the analysis of sublingual microcirculation videos defined pressure artefacts as "the main technical challenge in performing HVM measurement"[2]. In the study by Sallisalmi et al, pressure artifacts were present in 36% of patients (26% of ventilated patients and 56% of non-ventilated patients). Regarding the learning curve of the operators performing the videos, the proportion of pressure artifacts remained elevated at the end of the training (28%) [6]. In the present study, 67% of the videos had no pressure artifacts, 20% presented acceptable artifacts and 13% unacceptable artifacts. These results are close to those observed in critical patients in the study by Damiani et al. [7].

The occurrence of pressure artifacts can be explained by technical difficulties. The videomicroscope is held manually by the operator who places it in contact with the sublingual mucosa, but without any control of the pressure exerted. As a weak force, equivalent to $1/6^{th}$ of the weight of the microscope, is sufficient to generate compression of the microvessels, being unaware of the pressure exerted represents a limitation of the technology [24]. Thus, an appropriate training and

experience are of major importance and can certainly help to reduce these artifacts. It is therefore why the expert consensus recommends the implementation of such training [2].

Other factors, such as the patient physical condition and the hemodynamic status, may also promote pressure artifacts. In the current study, the hemodynamic characteristics, in particular MAP, were associated with the occurrence of pressure artefacts. Hence, these results tend to show that the more hypotensive the patient, the more difficult it is to avoid pressure artifacts. It is probably partly for this reason that the proportion of poor-quality videos is greater in studies performed on critical patients [6,7] than in other patients [8]. Other patient-related parameters have been identified. In the study of Damiani et al. [7], the cooperation of the patients seemed to be an important parameter for the acquisition of good videos: sedated patients, patients receiving mechanical ventilation or patients with a diminished state of consciousness were those for whom better videos were obtained. In other patients, even small movements of the tongue can cause artifacts. This issue was not encountered in our study, as the animals were anesthetized.

Thus, the operators need to be particularly cautious when obtaining videos from hypotensive patients, as pressure artefacts may occur. The relationship between blood pressure and pressure artefacts seems logical: if the pressure inside a vessel is high, it will offer more resistance to external compressive forces. Similarly, an association between hypovolemia and the presence of pressure artifacts could probably be found. However, compensatory mechanisms such as increasing vascular resistance may limit the compressibility of the vessels. Our study could not demonstrate an association between pulse pressure variation and the presence of pressure artifacts. Pulse pressure variation is sometimes considered as a surrogate of volemic status, however, it is in reality an indicator of the position on the Frank–Starling curve and fluid responsiveness. Thus, although dependent on the blood volume, PPV is not strictly proportional to it, which can explain the absence of association between those parameters in our experimental setting. Furthermore, the pigs were not in severe hypovolemia during the experiment.

Performing an analysis on poor-quality videos can be a source of bias and incorrect conclusions. In the present study, all the microcirculatory parameters except the density ones (DBs, DBS small), were influenced by the pressure score. Interestingly, the density parameters were not affected by the pressure score, conversely to the perfusion and flow parameters. A possible explanation could be the pressure exerted by the microscope: it can limit the perfusion of the vessels by compressing them and thus slows down the flow, while increasing its heterogeneity since the compression is not homogeneously distributed. These results confirmed data from the literature: in the study by Damiani et al., poor-quality videos were associated with lower percentage of perfused vessels and a lower microvascular flow index [7]. However, the videos analyzed in the aforementioned study would have been considered as not acceptable according to the score of Massey et al. In addition, in the same study, the poor-quality score (measured by the MIQS) was associated with a reduction in the density parameters. This reduction was not observed in our study, but could be the consequences of other causes, such as illumination or focus artifacts that could limit the detection of vessels. As hypothesized, our study confirms that the presence of pressure artifacts, even if considered acceptable, can be a source of bias during the analysis. These results are interesting from a practical aspect, since only acceptable videos were considered, according to the score of Massey et al [10]. As these videos are usually retained for analysis, this highlights the possible occurrence of bias when assessing patients' microcirculation. These observations also emphasize the difficulty of distinguishing pressure artifacts and low MFI when analyzing videos. This confirms the importance of scoring the quality of videos before analyzing them. Moreover, it seems advisable to record the possible presence of artifacts if they are suspected during the acquisition of videos, because it can be difficult to distinguish a low MFI from pressure artefacts afterwards.

We acknowledge some limitations for the present study. It was carried out in an experimental setting on pigs. Even if pigs and humans have physiological similarities, in particular regarding their cardiovascular system [12], these results must be confirmed in human patients.

An important limitation was related to the handling of the videomicroscope, which was not fixed to a support and without any pressure sensor. The pressure exerted by the investigator was

therefore unknown and certainly different for each video. If the microscope was fixed to a support, this would have limited the impact of the manipulator and potentially allowed to better assess the impact of blood pressure on the pressure artifacts. Nevertheless, our registration conditions were similar to those performed in practice and followed the recommendations of Trzeciak et al. [13].

Hypotension was secondary to an overdose of sevoflurane and therefore was mainly due to vasoplegia [25]. Other causes of hypotension, such as hypovolemia, have not been investigated here, whereas it could have provided further insights in the influence of different hemodynamic determinants on SDF videomicroscopy.

Finally, the camera used in this study was a SDF microscope of second generation, whereas the pressure artefacts seem less frequent whith the devices of latest generation [26,27]. The latest generation of HVM, using the incident dark field imaging technology (IDF), has been developed to reduce certain limitations of SDF imaging. These devices are much lighter, allow better tissue illumination and focus, with an enhanced resolution. One study compared the videos obtained with both technologies (IDF and SDF): the latest generation was associated with better quality scores. In this study, no pressure artifact was observed with the IDF, which is most likely related to the light weight of the microscope (320g for SDF, 120g for IDF) [27]. However, the use of these devices does not prevent the creation of artefacts if the conditions of use are not correctly met. Stabilization devices have been described and may reduce pressure artefact if used cautiously [24], but, to our knowledge, they are not commercially available.

In conclusion, this experimental pilot study performed on a piglet model, highlights the higher probability of obtaining pressure artefacts during recordings of microcirculation SDF videos when the mean arterial pressure was low. These results demonstrate the relationship between hemodynamic status and quality of the videos. Even videos with acceptable pressure artifacts may be associated with decreased PDBs small, microPPV (small and all), MFI and an increased HI. As a consequence, special attention should be paid to avoid pressure artefacts during acquisition of microcirculation videos, especially in hypotensive patients. Microcirculatory parameters arising from videos with moderate pressure artefacts should be interpreted with caution. These results need to be confirmed in human patients.

References

[1] Granger HJ, Schelling ME, Lewis RE, Zawieja DC, Meininger CJ. Physiology and pathobiology of the microcirculation. Am J Otolaryngol. 1988;9(6):264–77. 10.1016/S0196-0709(88)80035-8.

[2] Ince C, Boerma EC, Cecconi M, De Backer D, Shapiro NI, Duranteau J, et al. Second consensus on the assessment of sublingual microcirculation in critically ill patients: results from a task force of the European Society of Intensive Care Medicine. Intensive Care Med. 2018;44(3):281–99. 10.1007/s00134-018-5070-7.

[3] Kara A, Akin S, Ince C. Monitoring microcirculation in critical illness. Curr Opin Crit Care. 2016;22(5):444. 10.1097/MCC.00000000000335.

[4] Donati A, Tibboel D, Ince C. Towards integrative physiological monitoring of the critically ill: from cardiovascular to microcirculatory and cellular function monitoring at the bedside. Crit Care. 2013;17(Suppl 1):S5. 10.1186/cc11503.

[5] Goedhart PT, Khalilzada M, Bezemer R, Merza J, Ince C. Sidestream Dark Field (SDF) imaging: a novel stroboscopic LED ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation. Opt Express. 2007;15(23):15101–14. 10.1364/OE.15.015101.

[6] Sallisalmi M, Oksala N, Pettilä V, Tenhunen J. Evaluation of sublingual microcirculatory blood flow in the critically ill. Acta Anaesthesiol Scand. 2012;56(3):298–306. 10.1111/j.1399-6576.2011.02569.x.
[7] Damiani E, Ince C, Scorcella C, Domizi R, Carsetti A, Mininno N, et al. Impact of microcirculatory video quality on the evaluation of sublingual microcirculation in critically ill patients. J Clin Monit Comput. 2017;31(5):981–8. 10.1007/s10877-016-9924-7.

[8] Bemelmans RHH, Boerma EC, Barendregt J, Ince C, Rommes JH, Spronk PE. Changes in the volume status of haemodialysis patients are reflected in sublingual microvascular perfusion. Nephrol Dial Transplant. 2009;24(11):3487–92. 10.1093/ndt/gfp267. [9] González R, López J, Urbano J, Solana MJ, Fernández SN, Santiago MJ, et al. Evaluation of sublingual microcirculation in a paediatric intensive care unit: prospective observational study about its feasibility and utility. BMC Pediatr. 2017;17. 10.1186/s12887-017-0837-5.

[10] Massey MJ, LaRochelle E, Najarro G, Karmacharla A, Arnold R, Trzeciak S, et al. The microcirculation image quality score: Development and preliminary evaluation of a proposed approach to grading quality of image acquisition for bedside videomicroscopy. J Crit Care. 2013;28(6):913–7. 10.1016/j.jcrc.2013.06.015.

[11] Massey MJ, Shapiro NI. A guide to human in vivo microcirculatory flow image analysis. Crit Care. 2016;20(1):35. 10.1186/s13054-016-1213-9.

[12] Swindle MM, Makin A, Herron AJ, Clubb FJ, Frazier KS. Swine as Models in Biomedical Research and Toxicology Testing. Vet Pathol. 2012;49(2):344–56. 10.1177/0300985811402846.

[13] Trzeciak S, Dellinger RP, Parrillo JE, Guglielmi M, Bajaj J, Abate NL, et al. Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: Relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival. Ann Emerg Med. 2007;49(1):88-98.e2.

10.1016/j.annemergmed.2006.08.021.

[14] Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis [homepage on the Internet]. New York: Springer-Verlag; 2009 [cited 2020 Jan 21]. 10.1007/978-0-387-98141-3. (Use R!).

[15] Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using Ime4. J Stat Softw. 2015;67(1):1–48. 10.18637/jss.v067.i01.

[16] Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB. ImerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. J Stat Softw. 2017;82(1):1–26. 10.18637/jss.v082.i13.

[17] Burnham KP, Anderson DR. Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach [homepage on the Internet]. 2nd ed. New York: Springer-Verlag; 2002 [cited 2020 Jan 21]. 10.1007/b97636.

[18] Daniel Lüdecke. sjPlot - Data Visualization for Statistics in Social Science. [homepage on the Internet]. Zenodo; 2018 [cited 2020 Jan 21]. 10.5281/zenodo.2400856.

[19] Jr FEH. rms: Regression Modeling Strategies [homepage on the Internet]. 2019 [cited 2020 Jan 21].

[20] Lenth R, Singmann H, Love J, Buerkner P, Herve M. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means [homepage on the Internet]. 2019 [cited 2020 Jan 21].

[21] Ocak I, Kara A, Ince C. Monitoring microcirculation. Best Pract Res Clin Anaesthesiol. 2016;30(4):407–18. 10.1016/j.bpa.2016.10.008.

[22] De Backer D, Orbegozo Cortes D, Donadello K, Vincent J-L. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. Virulence. 2014;5(1):73–9. 10.4161/viru.26482.
[23] De Backer D, Creteur J, Preiser J-C, Dubois M-J, Vincent J-L. Microvascular Blood Flow Is Altered in Patients with Sepsis. Am J Respir Crit Care Med. 2002;166(1):98–104. 10.1164/rccm.200109-016OC.

[24] Balestra GM, Bezemer R, Boerma EC, Yong Z-Y, Sjauw KD, Engstrom AE, et al. Improvement of Sidestream Dark Field Imaging with an Image Acquisition Stabilizer. BMC Med Imaging. 2010;10:15. 10.1186/1471-2342-10-15.

[25] De Hert S, Moerman A. Sevoflurane. F1000Research. 2015;4(F1000 Faculty Rev):626. 10.12688/f1000research.6288.1.

[26] van Elteren HA, Ince C, Tibboel D, Reiss IKM, de Jonge RCJ. Cutaneous microcirculation in preterm neonates: comparison between sidestream dark field (SDF) and incident dark field (IDF) imaging. J Clin Monit Comput. 2015;29(5):543–8. 10.1007/s10877-015-9708-5.

[27] Gilbert-Kawai E, Coppel J, Bountziouka V, Ince C, Martin D. A comparison of the quality of image acquisition between the incident dark field and sidestream dark field video-microscopes. BMC Med Imaging. 2016;16. 10.1186/s12880-015-0078-8.

ÉTUDE DE L'INFLUENCE DE L'HÉMODYNAMIQUE SYSTÉMIQUE SUR L'ÉVALUATION DE LA MICROCIRCULATION CHEZ LE PORC ANESTHÉSIÉ

Auteur

FOULON Elisa

Résumé

Ce travail de thèse s'intéresse à l'influence de l'hémodynamique systémique sur l'évaluation par vidéomicroscopie de la microcirculation chez le porc anesthésié.

Après avoir exposé l'importance de la microcirculation et la complexité de sa régulation, cette thèse détaille l'évaluation de la microcirculation par vidéomicroscopie. Les imageries OPS et SDF sont définies et les protocoles d'acquisition des images et de l'analyse de la qualité et du contenu des vidéos sont détaillés.

Deux études expérimentales sur des truies anesthésiées ont été menées. Les truies étaient équipées pour une surveillance hémodynamique précise et leur pression artérielle était contrôlée pharmacologiquement.

La première étude permet de mettre en évidence l'impact du statut hémodynamique sur la présence d'artefacts de compression. Le premier résultat est une probabilité plus élevée d'obtenir des artefacts de compression lorsque la PAM est faible. Le deuxième résultat de cette étude est que la présence d'artefacts de compression acceptables

est associée à une modification significative de nombreux paramètres microcirculatoires.

Une seconde étude expérimentale met en évidence une grande variabilité dans l'estimation des paramètres de microcirculation enregistrés par SDF. Des modélisations linéaire et bilinéaire entre PAM et MFI sont proposés, mais de part cette variabilité aucune d'entre elles n'est assez satisfaisante.

Microcirculation, Hémo	odynami	que, SDF, Porc, Réanimation
Jury		
Président du jury :	Pr	COLLARDEAU-FRACHON Sophie
Directeur de thèse :	Dr	MAGNIN Mathieu
1er assesseur :	Dr	MAGNIN Mathieu
0	Pr	IUNOT Sténhane