

Modulation de la réponse cellulaire dans le sepsis

Cell response modulation in sepsis

© SRLF et Springer-Verlag France 2011

SO019

Le microenvironnement pulmonaire est responsable de la résistance des macrophages alvéolaires à la tolérance aux endotoxines

F. Philippart¹, C. Fitting², B. Misset¹, J.-M. Cavaillon²

¹Service de réanimation polyvalente,

groupe hospitalier Paris Saint-Joseph, Paris, France

²Unité cytokines & inflammation, Institut Pasteur de Paris, Paris, France

Introduction : La tolérance aux endotoxines (TE) est un phénomène connu de longue date qui consiste en une modification de la réponse immunitaire au cours d'une seconde stimulation par le lipopolysaccharide (LPS). La TE se traduit essentiellement par une altération de la production de cytokines proinflammatoires. Elle est considérée comme étant au moins partiellement responsable de l'altération de la résistance aux processus infectieux chez les patients hospitalisés [1]. Notre objectif était de confirmer la résistance des macrophages alvéolaires (MA) à la TE [2] et mettre en évidence et préciser le rôle du microenvironnement pulmonaire dans cette spécificité. Nous avons utilisés un modèle de TE *ex vivo* consistant en une injection IV de LPS suivie 24 h après d'une stimulation par le même LPS *in vitro* des macrophages péritonéaux, MA et monocytes. Une inhibition *in vivo* des cytokines d'intérêt, l'usage de souris déficientes pour différentes lignées leucocytaires et le transfert adoptif de lymphocytes B ont été réalisés dans ce modèle de TE pour préciser l'origine de l'interféron-gamma (INF-gamma).

Matériels et méthodes : Nous avons utilisés un modèle de TE *ex vivo* consistant en une injection IV de LPS suivie 24 h après d'une stimulation par le même LPS *in vitro* des macrophages péritonéaux, MA et monocytes. Une inhibition *in vivo* des cytokines d'intérêt, l'usage de souris déficientes pour différentes lignées leucocytaires et le transfert adoptif de lymphocytes B ont été réalisés dans ce modèle de TE pour préciser l'origine de l'interféron-gamma (INF-gamma).

Résultats : Le granulocyte-macrophage *colony-stimulating factor* (GM-CSF) et INF-gamma sont connus pour prévenir la TE. Leur inhibition *in vivo* à l'homéostasie est associée à l'apparition d'une possibilité de TE des MA. Dans le modèle *ex vivo*, l'usage de souris déficientes (*rag2*^{-/-}, *rag2/γc*^{-/-}, *cd3ε*^{-/-}, *μ*^{-/-}, *il-15*^{-/-}, *Ja18*^{-/-}) a permis de mettre en évidence l'implication des lymphocytes B (LB) dans la prévention de la TE des MA. Le transfert adoptif de LB dans les souris déficientes en LB est associé à une disparition de la TE des MA et à une augmentation de l'expression d'INF-gamma dans le parenchyme pulmonaire.

Conclusion : Les MA sont résistants à la TE dans ce modèle *ex vivo*. Cette particularité est secondaire à la présence de GM-CSF et d'INFg. La présence de LB est indispensable à la prévention de la TE et est sous tendue par l'expression d'INF-gamma qui leur est associée.

Références

1. Cavaillon JM, Adib-Conquy M (2006) Bench-to bedside review: endotoxin tolerance as a model of leukocyte reprogramming in sepsis. Crit Care 10:233
2. Fitting C, Dhawan S, Cavaillon JM (2004) Compartmentalization of tolerance to endotoxin. J Infect Dis 189:1295–303

SO020

Évaluation *in vitro* du rôle des microparticules monocytaires sur la réponse lymphocytaire au lipopolysaccharide (LPS)

X. Delabranché¹, J. Boisramé-Helms¹, A. Berger¹, O. Martinet¹, M. Hasselmann¹, F. Toti², F. Meziani¹

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

²Laboratoire de biologie vasculaire, institut d'hématologie et d'immunologie, université de Strasbourg, faculté de médecine, Strasbourg, France

Introduction : Les microparticules (MPs) sont émises par les cellules activées et/ou apoptotiques et constituent des messagers intercellulaires systémiques pro-inflammatoires, prothrombotiques et proapoptotiques. Nous avons développé un modèle de communication intercellulaire *in vitro* médié par les MPs pour analyser leur rôle fonctionnel dans différentes conditions expérimentales mimant le sepsis.

Matériels et méthodes : Des cellules monocytaires humaines immortalisées (THP-1) sont cultivées à la concentration de $7,5 \times 10^5$ cellules/ml en milieu RPMI supplémenté en sérum de veau fœtal [10 % v/v] pendant 18 heures, avec ou sans activation par de l'endotoxine (LPS d'*E. coli* O127 : B7). L'apoptose induite est mesurée par le taux d'ADN hypodiploïde (cytométrie en flux) et les MPs sont quantifiées dans le surnageant après double centrifugation de 45 min à 13 000 g et remise en suspension en solution saline par capture sur annexine V et mesure de l'activité prothrombinase exprimée en équivalent nM de phosphatidylsérine (nM PS) par rapport à une courbe de calibration interne à l'aide de vésicules synthétiques. Les MPs ainsi générées sont isolées stérilement et remises en contact (4 heures) avec différentes lignées cellulaires : THP-1, mais aussi CEM (lymphocytes T CD4+) et HEK-hTLR4TM et HEK-Null2TM (transfectées avec un gène rapporteur (SEAP, phosphatase alcaline) dépendant de NF-κB (InvivoGen). Les résultats représentent les moyennes de six expériences et l'analyse statistique repose sur un test non paramétrique de Kruskal-Wallis.

Résultats : Les MPs ainsi générées ne sont pas capables d'induire une apoptose sur les cellules cibles en l'absence de LPS, excluant une action directe de type LPS. Sur les THP-1, les MPs (5 nM PS) induisent une amplification de la réponse au LPS en terme d'apoptose ($4,33 \pm 0,87$ vs $0,98 \pm 0,09$ % ADN, $p < 0,05$) ; cet effet est partiellement indépendant de l'IL-1b. Les cellules CEM, dépourvues de CD14, ne répondent pas

au LPS. Après cross-talk (MPs 20 nM PS), on visualise un marquage CD14⁺ sur les CEM (cytométrie en flux et microscopie à fluorescence). L'ajout de LPS permet d'induire une apoptose lymphocytaire ($0,86 \pm 0,11$ vs $0,34 \pm 0,02$ % ADN, $p < 0,05$). Pour vérifier la spécificité de la voie de signalisation, nous avons utilisé des cellules transfectées de type HEK-Blue™. Les cellules HEK-hTLR4™ répondent au LPS de manière dose dépendante alors que les HEK-Null2™ sont insensibles au LPS. Après cross-talk (100 nM PS) et stimulation par le LPS, nous observons une activité NF- κ B ($0,16 \pm 0,04$ vs $0,09 \pm 0,02$ AU, $p < 0,05$).

Discussion : Si la présence de MPs est établie au cours du sepsis, leurs rôles biologiques restent à déterminer. Il a ainsi été caractérisé la dissémination d'un potentiel procoagulant impliqué dans la CIVD (méningococcémie), et des expériences chez le rat retrouvent un effet vasodilatateur et hypotenseur. Nous mettons ici en évidence un rôle pro-apoptotique ayant des effets « balancés » à la fois pro- et anti-inflammatoires selon la cible cellulaire.

Conclusion : Les monocytes (THP-1) stimulés par du LPS émettent des MPs porteuses de CD14 (mpCD14) capables de transférer le complexe CD14/MD-2/TLR4 à des cellules cibles. Les MP-CD14 amplifient la réponse au LPS au niveau des monocytes et permettent l'acquisition d'un phénotype répondeur au niveau de cellules cibles dépourvues de CD14 (CEM et HEK-Null2™). Ainsi, les MPs issues de monocytes sont capables de recruter des cellules cibles au cours du sepsis, participant à la fois au SIRS (réponse pro-inflammatoire des monocytes) mais aussi au CARS (réponse anti-inflammatoire par apoptose lymphocytaire T CD4⁺ et immunodépression secondaire).

SO021

TLT-1 inhibe TREM-1 par compétition avec son ligand endogène et possède un rôle majeur au cours du sepsis expérimental chez la souris

M. Derive¹, N. Sennoun¹, Y. Bouazza¹, F. Massin², C. Alauzet³, P.E. Bollaert⁴, S. Gibot⁴

¹Groupe choc, avenir Inserm, faculté de médecine de Nancy, Nancy, France

²Laboratoire d'immunologie, hôpital Brabois, Nancy, France

³Laboratoire de bactériologie, faculté de médecine de Nancy, Nancy, France

⁴Service de réanimation médicale, CHU de Nancy, hôpital Central, Nancy, France

Introduction : TLT-1 appartient à la famille des *Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells*, tout comme TREM-1. TLT-1 est exprimé exclusivement sur les mégacaryocytes et plaquettes activées et joue un rôle important au cours de l'hémostase en favorisant l'agrégation plaquettaire. Nous avons rapporté lors du congrès précédent qu'un peptide dérivé de sa portion extracellulaire (LR17) possédait un effet anti-inflammatoire au cours du sepsis expérimental chez la souris et protégeait les animaux du décès. Le présent travail décrit le mécanisme d'action de LR17 et confirme le rôle important de TLT-1 au cours du sepsis grâce à un modèle de souris TLT-1^{-/-}.

Matériels et méthodes : Nous avons stimulé des neutrophiles humains avec du LPS et un agoniste spécifique de TREM-1 (α TREM-1), avec ou sans LR17 vs un peptide contrôle LR17-scrambled. Afin de valider l'hypothèse d'une interaction entre TLT-1/LR17 et le ligand naturel de TREM-1 (TREM-1L), une technique de résonance plasmonique de surface était utilisée. L'effet de LR17 sur la translocation de NF- κ B induite par LPS était étudié de manière dynamique par la technologie AMNIS. Afin de valider le rôle important de TLT-1 au cours du sepsis, une péritonite (CLP) a été induite chez des souris TLT-1^{-/-}, traitées

ou non par LR17. La réponse inflammatoire locale, systémique et organique était analysée (Elisa, qPCR), la clairance microbienne, les dommages tissulaires et finalement la survie étaient également étudiés.

Résultats : Les souris TLT-1 ko étaient extrêmement sensibles au sepsis induit par péritonite : elles présentaient un état hyper-inflammatoire, des dommages histologiques notamment pulmonaires importants, et finalement décédaient rapidement en comparaison aux souris WT. L'effet salutaire de l'administration de LR17 était retrouvé chez ces souris TLT-1^{-/-} confirmant le rôle important de TLT-1 au cours du sepsis. Nous avons montré par technique de SPR sur les suraiguës de neutrophiles activés que LR17 se liait spécifiquement et de manière compétitive avec une forme chimérique de la forme soluble de TREM-1 au TREM-1L. Par technique AMNIS, la translocation de NF- κ B en présence de LPS était suivie de manière dynamique : la co-incubation de LR17 réduisait cette activation d'environ 50 % tant au niveau des neutrophiles que des monocytes.

Conclusion : Le rôle de TLT-1 au cours du sepsis chez la souris est définitivement établi ici. L'effet de TLT-1 passe au moins en partie par une compétition avec TREM-1 pour TREM-1L. L'utilisation de peptides mimant TLT-1 constitue une voie thérapeutique prometteuse.

SO022

Implication des lymphocytes T innés de type MAIT (*Mucosal associated invariant T-cells*) au cours du sepsis bactérien

D. Grimaldi¹, L. Le Bourhis², B. Sauneuf¹, F. Ouazz³, C. Rousseau³, N. Chapuis⁴, D. Louis², J.-D. Chiche¹, J.P. Mira¹, O. Lantz², F. Pene¹

¹Service de réanimation médicale, CHU Cochin,

Saint-Vincent-de-Paul, site Cochin, Paris, France

²Biologie des tumeurs, institut Curie, Paris, France

³Biologie cellulaire des interactions hôte-pathogène, institut Cochin Inserm U1016, Paris, France

⁴Service d'hématobiologie, CHU Cochin, Saint-Vincent-de-Paul, site Cochin, Paris, France

Introduction : Certaines sous-populations lymphocytaires T dites invariées ou innées (MAIT, NKT, $\gamma\delta$) expriment des récepteurs d'antigènes de diversité limitée. Ces cellules représentent 1 à 10 % des lymphocytes T et sont douées de fonctions effectrices immédiates comparables aux cellules de l'immunité innée. Parmi elles, les lymphocytes MAIT présentent une réactivité bactérienne particulière, à l'exclusion notable des streptocoques, et sont nécessaires pour la clairance bactérienne de souris infectées. Cependant, leur rôle dans la physiopathologie du sepsis chez l'homme est inconnu. Le but de cette étude était d'étudier la cinétique de ces sous-populations lymphocytaires innées chez des patients septiques, et de rechercher une relation avec la sévérité et des événements cliniques (décès, infection nosocomiale).

Patients et méthodes : Tous les adultes hospitalisés en réanimation pour une infection grave d'origine bactérienne présumée étaient éligibles (sepsis sévère ou choc septique). Les critères d'exclusion étaient la présence d'une immunodépression, une infection récente (< 30 j) et la grossesse. D'autre part, les patients présentant un choc d'origine non infectieuse ou une infection virale grave ont été inclus en tant que contrôles. Les patients étaient prélevés à j1, j3 et j7. La numération des sous-populations lymphocytaires reposait sur une technique de cytométrie en flux. Les MAIT étaient définis comme des cellules CD3⁺/TCR $\gamma\delta$ /CD4⁺/CD161^{hi} exprimant la chaîne invariante V α 7.2 du TCR, les NKT comme des cellules CD3⁺/TCR $\gamma\delta$ /CD161^{hi} exprimant la chaîne invariante V α 24 du TCR et les lymphocytes $\gamma\delta$ comme des cellules CD3⁺/TCR $\gamma\delta$ ⁺. Les résultats étaient exprimés soit en valeur absolue, soit en pourcentage des lymphocytes T totaux CD3⁺.

Résultats : Quatre-vingt-treize patients ont été inclus (48 chocs septiques, 20 sepsis sévères, 20 chocs non infectieux dont 14 cardiogéniques et cinq infections virales). L'âge médian était de 62 ans et le SAPS 2 médian de 53. La mortalité globale en réanimation était de 20 % (21 % pour les patients avec choc septiques, 35 % avec un choc non-infectieux). Les infections bactériennes étaient en majorité des pneumonies (37/68). Par rapport aux patients septiques, les patients présentant un choc non infectieux étaient significativement plus âgés, avaient un SAPS 2 et une numération lymphocytaire plus élevés. Alors que les NKT et les lymphocytes $\gamma\delta$ étaient en quantité normale chez les patients septiques et comparable aux patients contrôles, la concentration des MAIT ($N\ 10\text{--}50/\text{mm}^3$) était significativement diminuée par rapport à la normale et par rapport aux contrôles (0,9 et $1/\text{mm}^3$ pour les patients avec choc septiques et sepsis sévère vs. 4,4 et $8/\text{mm}^3$ pour les patients avec choc non infectieux ou infection virale). La déplétion en MAIT n'était pas corrélée à la sévérité évaluée par les scores SOFA et SAPS 2 ni à la mortalité. De manière intéressante, la déplétion des MAIT était moins marquée chez les patients infectés par un streptocoque en comparaison avec les autres infections ($p = 0,05$). Enfin, la cinétique des MAIT était différente selon la survenue d'une infection nosocomiale lors du séjour en réanimation. La proportion de MAIT des patients en choc septique s'élevait à j7 en l'absence d'infection nosocomiale alors qu'elle diminuait chez les patients qui en développaient une.

Discussion : La diminution des MAIT dans les infections bactériennes sévères suggère une implication de ces cellules dans la réponse septique. Leur diminution peut correspondre soit à une migration dans les tissus infectés soit à une apoptose cellulaire. Ces hypothèses sont en cours d'étude.

Conclusion : Il existe une diminution profonde de lymphocytes MAIT circulants au cours du sepsis bactérien grave. Cette baisse est d'autant plus marquée lorsque la bactérie causale exerce une activité stimulante sur les MAIT *in vitro*. La cinétique d'évolution des cellules MAIT entre j1 et j7 pourrait être associée au risque d'infection nosocomiale.

Bibliographie

1. Le Bourhis L, Martin E, Péguillet I, et al (2010) Antimicrobial activity of mucosal-associated invariant T cells. *Nat Immunol* 11:701–8
2. Gold MC, Cerri S, Smyk-Pearson S, et al (2010) Human mucosal associated invariant T cells detect bacterially infected cells. *PLoS Biol* 8:e1000407

SO023

Effets de différentes émulsions lipidiques sur l'apoptose de monocytes humains soumis à un stimulus pro-inflammatoire

X. Delabranche¹, J. Boisramé-Helms², A. Berger², C. Kummerlen², F. Toti³, M. Hasselmann², F. Meziani²

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

²Service de réanimation médicale, CHU de Strasbourg, hôpital Civil, Strasbourg, France

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

Introduction : Les mécanismes par lesquels les émulsions lipidiques de nutrition parentérale (EL) agissent sur la réaction inflammatoire et l'immunité sont partiellement connus. En revanche leur impact sur la production de microparticules (MPs) est peu étudié. Pourtant, les MPs participent à la réponse inflammatoire, la thrombose et favorisent le

syndrome de défaillance multiviscérale au cours du choc septique [1]. Les MPs sont émises par les cellules en réponse à divers stimuli et leur composition lipidique dépend de celle des membranes dont elles dérivent, elles même influencée par la nature des lipides nutritionnels. Nous formulons l'hypothèse que l'un des modes d'action des EL sur l'inflammation et l'immunité pourrait passer par une modification qualitative et/ou quantitative des MPs émises.

Matériels et méthodes : Des cellules monocytaires humaines immortalisées (THP-1) sont cultivées à la concentration de $7,5 \times 10^5$ cellules/ml en milieu RPMI supplémenté en sérum de veau fœtal [10 % v/v] pendant 18 heures, avec ou sans activation par de l'endotoxine (LPS d'*E. coli* O127 : B7), en présence de différentes EL : TCL de soja, mélange 50/50 TCL/TCM, ou mélange soja/olive 80/20 à la concentration lipidique finale de 0,5 g/l. L'apoptose induite est mesurée par le taux d'ADN hypodiploïde (cytométrie en flux) et les MPs sont quantifiées dans le surnageant après double centrifugation de 45 min à 13 000 g et remise en suspension en solution saline par capture sur annexine V et mesure de l'activité prothrombinase exprimée en équivalent nM de phosphatidylsérine (nM PS) par rapport à une courbe de calibration interne à l'aide de vésicules synthétiques. Les résultats représentent les moyennes de trois expériences et l'analyse statistique repose sur un test non paramétrique de Kruskal-Wallis.

Résultats : En présence de LPS, l'apoptose des monocytes et la production de MPs sont augmentées respectivement $1,79 \pm 0,47$ vs $0,46 \pm 0,17$ % ADN hypodiploïde ($p < 0,05$) et $1,0 \pm 0,1$ vs $0,7 \pm 0,1$ nM PS ($p < 0,05$). Comparativement au contrôle, les TCM potentialisent significativement l'apoptose et la production de MPs basales ($1,80 \pm 0,72$ % ADN et $1,4 \pm 0,1$ nM PS, $p < 0,05$) et induites par le LPS ($10,47 \pm 2,59$ % ADN et $7,9 \pm 0,8$ nM PS, $p < 0,01$ et $p < 0,05$) respectivement. À l'opposé, l'EL soja/olive diminue de manière significative la vésiculation tant basale ($0,27 \pm 0,12$ nM PS, $p < 0,05$) qu'induite par le LPS ($0,07 \pm 0,06$ nM PS, $p < 0,05$) alors qu'elle est sans effet sur l'apoptose.

Conclusion : La composition lipidique des émulsions de nutrition parentérale influence l'apoptose monocyttaire et la production de MPs dans un modèle pro-inflammatoire bactérien *in vitro*. Ce phénomène pourrait intervenir dans la modulation de l'immunité et de l'inflammation par les EL. Les mécanismes sous-jacents et l'implication clinique restent à déterminer.

Référence

1. Mortaza S, Martinez MC, Baron-Menguy C, et al (2009) Detrimental hemodynamic and inflammatory effects of microparticles originating from septic rats. *Crit Care Med* 37:2045–50

SO024

Évaluation des effets cellulaires de l'albumine humaine à différentes concentrations sur la dysfonction endothéliale secondaire à une stimulation pro-inflammatoire

J. Boisramé-Helms¹, X. Delabranche¹, H. Kremer², H. Rahmani¹, M. Hasselmann¹, P. Asfar³, F. Toti⁴, F. Meziani¹

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

²Service de cardiologie, CHU de Strasbourg, hôpital Civil, Strasbourg, France

³Service de réanimation médicale et de médecine hyperbare, CHU d'Angers, Angers, France

⁴Laboratoire de biologie vasculaire, institut d'hématologie et d'immunologie, université de Strasbourg, faculté de médecine, Strasbourg, France

Introduction : La dysfonction endothéliale joue un rôle majeur dans la pathogénèse du choc septique, participant notamment à l'amplification de la réponse inflammatoire et procoagulante. La majoration du stress oxydant et la génération de microparticules procoagulantes sont des acteurs importants dans ces anomalies. Longtemps considérée pour ses propriétés d'expansion volémique, l'albumine humaine possède aussi un pouvoir antioxydant et modulateur de l'inflammation, qui pourrait améliorer le pronostic des patients en choc septique. Faisant suite à une étude préliminaire dans laquelle notre équipe a montré un effet protecteur de l'albumine sur la fonction endothéliale dans un modèle de choc endotoxinique chez la souris, nous avons évalué ses effets, à deux concentrations, sur des cellules endothéliales stimulées par une association de LPS et TNF- α .

Matériels et méthodes : Des cellules endothéliales humaines (HUVEC, *human umbilical vein endothelial cells*) en culture ont été étudiées après stimulation par LPS et TNF- α et traitement ou non par albumine [4 mg/ml] ou [20 mg/ml] pendant 24 heures. La viabilité cellulaire a été évaluée grâce à un test au rouge neutre et un test d'exclusion au bleu Trypan et l'apoptose, en cytométrie en flux. L'activité antioxydante de l'albumine a été appréciée par son effet sur la production d'anion superoxyde, de monoxyde d'azote et de peroxy-nitrite, évalué en histochimie et résonance paramagnétique électronique ; la production de glutathion cellulaire a également été mesurée grâce à un kit de dosage immunologique. Enfin, la génération de microparticules procoagulantes a été quantifiée par capture sur plaque et dosage prothrombinase. La comparaison des résultats a été réalisée par des tests non paramétriques. Les résultats sont présentés

sous forme de médiane, avec les interquartiles. Une valeur de $p < 0,05$ est considérée comme statistiquement significative.

Résultats : L'albumine (4 mg/ml) augmente le nombre de cellules vivantes après stimulation (HUVEC stimulées par LPS/TNF- α : 9 [9 ; 10] versus HUVEC stimulées par LPS/TNF- α et traitées par albumine [4 mg/ml] : 15 [14 ; 16], $p < 0,05$), tandis que l'albumine [20 mg/ml] n'a pas d'effet (11 [9 ; 12]). L'albumine [4 mg/ml] a également un effet antiprolifératif, diminue significativement l'apoptose et augmente significativement les concentrations de glutathion cellulaire (HUVEC-LPS/TNF- α : 5,1 nM/ μ g protéine [1,6 ; 11,2] versus HUVEC-LPS/TNF- α -albumine [4 mg/ml] : 12,2 [3,2 ; 23,0], $p < 0,05$) et diminue significativement la nitrotyrosination et la production cellulaire d' $O_2^{\cdot-}$ (HUVEC-LPS/TNF- α : 95,3 [12,6 ; 101,0] versus HUVEC-LPS/TNF- α -albumine [4 mg/ml] : 35,3 [29,0 ; 39,0], $p < 0,05$). Enfin, l'albumine [4 mg/ml] inhibe la génération de microparticules procoagulantes. Ces résultats ne sont pas retrouvés avec l'albumine à forte concentration [20 mg/ml].

Conclusion : L'albumine humaine, à dose usuelle, améliore la viabilité cellulaire endothéliale, a un effet antiprolifératif, diminue l'apoptose, a des effets protecteurs antioxydants et inhibe la génération de microparticules procoagulantes.

Bibliographie

1. Kremer H, Baron-Menguy C, Tesse A, et al (2011) Human serum albumin improves endothelial dysfunction and survival during experimental endotoxemia: concentration-dependent properties. *Crit Care Med* 39:1414–22