

Inflammation et sepsis — expérimental

Inflammation and sepsis — experimental studies

© SRLF et Springer-Verlag France 2012

SO083

Effects of a TREM-Like Transcript-1 derived peptide during septic shock in pigs

M. Derive¹, A. Boufenzler¹, Y. Bouazza¹, C. Alauzet², D. Barraud³, N. Tran⁴, S. Gibot³

¹Inserm U961, Groupe TREM, faculté de médecine, Nancy, France

²Laboratoire de bactériologie, faculté de médecine, Nancy, France

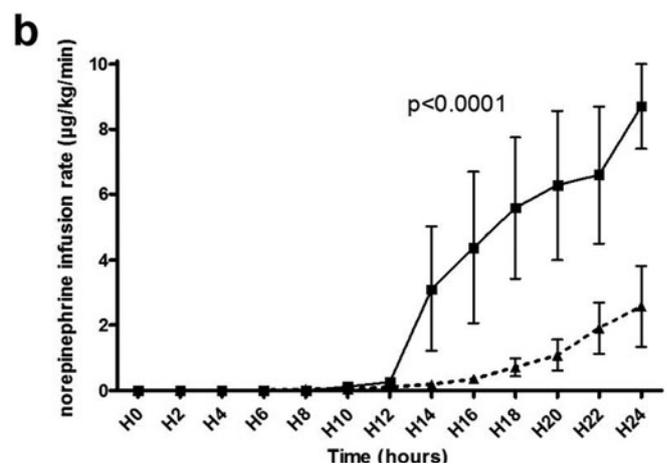
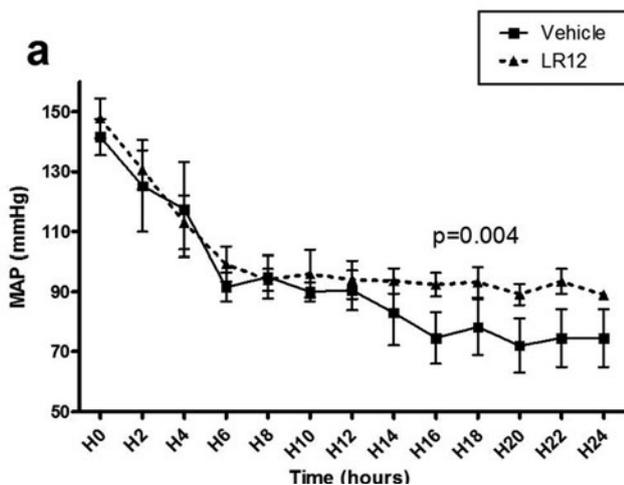
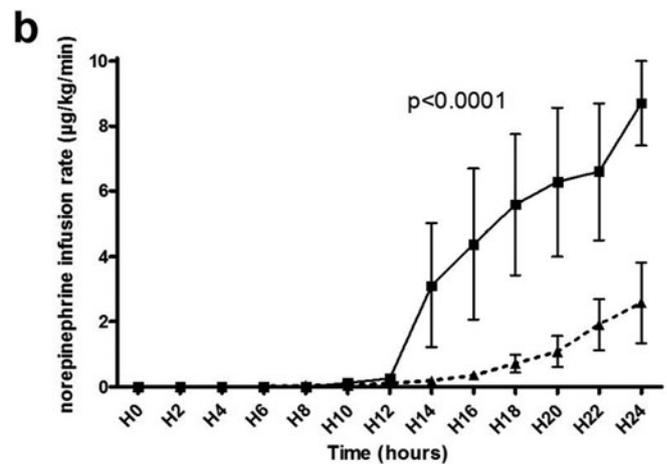
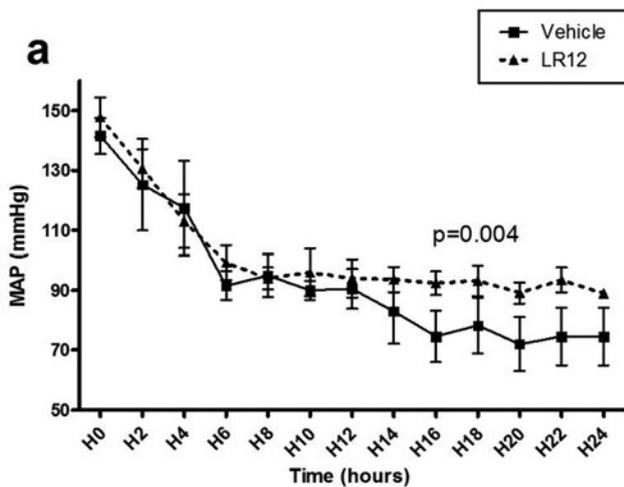
³Service de réanimation médicale, CHU de Nancy, hôpital Central, Nancy, France

⁴École de chirurgie, faculté de médecine, Nancy, France

Introduction: The Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells-1 (TREM-1) is expressed on innate immune cells and plays a crucial role during the onset of sepsis by amplifying the host immune response. TREM-Like Transcript-1 (TLT-1) belongs to the TREM family and is selectively

expressed on activated platelets. We recently showed that TLT-1 and a TLT-1-derived peptide (LR12) exhibit antiinflammatory properties by dampening TREM-1 signalling and thus behave as naturally occurring TREM-1 inhibitors [1]. We also demonstrated that the same peptide modulates in vivo the inflammatory cascade triggered by infection, thus inhibiting hyper-responsiveness, organ damage and death during sepsis in mice. As mouse models of septic shock are far from recapitulating the human physiology, we investigated the effects of LR12 during peritonitis in adult mini-pigs.

Materials and methods: Two hours after induction of a fecal peritonitis, anesthetized and mechanically ventilated adult male mini-pigs were randomized to receive LR12 ($N = 6$) or its vehicle alone (normal saline, $N = 5$). Two animals were operated and instrumented without the induction of peritonitis and served as controls (Sham). Resuscitation was achieved using hydroxyethyl starch (up to 20 ml/kg) and norepinephrine infusion (up to 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$).



Results: Hemodynamic parameters were continuously recorded. Gas exchange, acid-base status, organ function, and cytokines were measured at regular intervals until 24 hours after the onset of peritonitis when animals were sacrificed under anesthesia. Peritonitis induced profound hypotension, myocardial dysfunction, lactic acidosis, coagulation abnormalities, and multiple organ failure. These disorders were largely attenuated by LR12. In particular, cardiovascular failure was prevented as attested by better mean arterial pressure, cardiac index, cardiac power index, and SvO₂, despite lower norepinephrine requirements (Fig. 1). Finally, 24 hours mortality rates were respectively 60% and 0% for control and LR12 groups.

Conclusion: LR12, a TREM-Like Transcript-1 derived peptide, exhibits salutary properties during septic shock in adult mini-pigs.

Reference

1. Derive M, Bouazza Y, Sennoun N, et al (2012) Soluble TREM-like transcript-1 regulates leukocyte activation and controls microbial sepsis. *J Immunol* 188:5585–92

SO084

Effets de la modulation β -1 adrénergique sur la cardiopathie septique.

Approche par microtomographie par émission de positons

N. Dessalles, A. Kimmoun, C. Strub, K. Issa, B. Levy
Inserm U961, Groupe Choc, Contrat Avenir Inserm, Vandœuvre-lès-Nancy, France

Introduction : Le choc septique est compliqué dans 40 à 50 % des cas d'une atteinte myocardique qui est un facteur de mauvais pronostic. L'esmolol, un β -bloquant cardiosélectif de type b-1, pourrait améliorer la performance cardiaque dans le choc septique. Il aurait de plus un effet modulateur du signal inflammatoire. Nous avons étudié les effets de l'esmolol sur la cardiopathie septique et sur la signalisation inflammatoire.

Matériels et méthodes : Trente-trois rats en choc septique ont été inclus dans l'étude. Une péritonite était provoquée par ligature et ponction cœcale suivie d'une perfusion chronique. Les rats étaient randomisés dans cinq groupes. En fonction du groupe, les rats recevaient soit : 1) l'esmolol seul ; 2) la noradrénaline seule ; 3) esmolol et noradrénaline ; 4) aucun traitement. Un groupe sham était prévu. Le traitement par esmolol était débuté quatre heures après la chirurgie, associé à un remplissage vasculaire et l'administration d'un antibiotique. Dix-huit heures après la chirurgie, la fonction cardiaque était évaluée par microtomographie par émission de positons avec le FDG comme marqueur. Pendant l'examen, la pression artérielle était mesurée de façon continue par un cathéter carotidien. À 20 heures de la chirurgie, un panel de cytokines pro- et anti-inflammatoires était dosé par méthode immunoenzymatique.

Résultats : Les rats en état de choc septique présentaient une baisse de la pression artérielle moyenne (88 ± 6 vs 110 ± 6 mmHg chez les sham, $p < 0,05$) et une élévation du taux de lactate sanguin ($2,9$ vs $1,6$ mmol/l chez les sham, $p < 0,05$). Les rats sous esmolol présentaient une baisse significative de la fréquence cardiaque (344 ± 7 vs 404 ± 16 bpm chez les non-traités, $p < 0,05$), sans baisse significative de la pression artérielle moyenne ($71,7 \pm 4$ vs $88,8 \pm 6$ mmHg chez les non-traités). Le groupe recevant esmolol et noradrénaline, comparé au groupe sans traitement, présentait une amélioration de la fonction cardiaque avec une élévation significative de la fraction d'éjection du ventricule gauche ($62,38 \pm 2$ vs $52,17 \pm 3$ %, $p < 0,05$), une élévation du volume d'éjection systolique (286 ± 22 vs 250 ± 26 ml) et une élévation du volume télédiastolique du ventricule gauche ($457,8 \pm 31$ vs 432 ± 29 ml). L'administration d'esmolol améliorerait la balance inflammatoire avec une baisse significative des taux plasmatiques d'IL-6 et d'IL-10. De plus, l'administration d'esmolol

entraînait la baisse significative d'un panel de cytokines pro-inflammatoires (interleukines 1, 2, 3, 6, *tumor necrosis factor* α , interféron γ) et anti-inflammatoires (interleukines 1ra, 4, 10), ainsi qu'une baisse des taux de chémokines médiatrices de l'inflammation.

Conclusion : Dans un modèle expérimental de choc septique, l'adjonction d'un traitement par esmolol au traitement standard s'associe à : 1) une bonne tolérance hémodynamique ; 2) une amélioration de la fonction ventriculaire gauche ; 3) une modulation de la balance pro- et anti-inflammatoire.

SO085

L'EPO améliore le phénotype cardiaque et la survie des rats lors du sepsis

A. Blet¹, M. Sadoune¹, J. Lemarié², N. Bihry¹, R. Merval¹, J.-L. Samuel¹, B. Levy², A. Mebazaa¹

¹Inserm U942, unité Inserm 942, hôpital Lariboisière, université Paris-VII, Paris, France

²Groupe Choc, Contrat Avenir Inserm, Groupe Choc, Équipe Avenir Inserm, université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

Introduction : Le sepsis constitue une des causes majeures de décès en réanimation. La dysfonction myocardique [1] est fréquente au cours du sepsis. Des effets cytoprotecteurs de l'érythropoïétine (EPO) [2] ont été mis en évidence ces dernières années dans des modèles précliniques d'ischémie (cerveau et cœur principalement). Le but du travail était de définir les effets de l'EPO en utilisant un modèle de sepsis chez le rat. La finalité était de valider l'hypothèse d'un effet préventif de l'EPO sur la mortalité du choc septique.

Matériels et méthodes : Le modèle de choc septique avec ligature et perforation cœcale (CLP) chez le rat mâle Wistar ($400g \pm 20$ g) a été choisi pour sa pertinence clinique. L'EPO (10 000 UI/kg) était administrée lors de la chirurgie en IP. Les courbes de survie étaient réalisées. La fonction cardiaque était évaluée de façon non invasive par échocardiographie et invasive par mesures hémodynamiques sanglantes (sonde Millar®) 18 heures après chirurgie. Au plan biochimique, aux 6^e et 18^e heures, les lactates étaient quantifiés, et au plan cardiaque, les ARNm codant le BNP, l'ANP et les cytokines majeures étaient mesurées par Q-RT-PCR, les voies de signalisation de l'EPO par immunoblot.

Résultats : L'EPO améliore la survie à j7 (+ 17 %, $p < 0,0001$) des animaux CLP traités par EPO, tandis que 100 % des animaux CLP non traités décèdent au plus tard à la 24^e heure. L'analyse hémodynamique à la 18^e heure met en évidence une diminution de la pression artérielle moyenne ($p = 0,022$), ainsi qu'une diminution de la $+dp/dt_{max}$ (baisse de 22 %, $p = 0,0021$) chez les rats septiques non traités par rapport aux animaux sham. L'augmentation de la lactatémie est prévenue par l'EPO. Au niveau transcriptionnel, 18 heures après la chirurgie, on observe dans le cœur des animaux septiques une induction des transcrits codants pour TNF- α , IL10, BNP, ANP (respectivement x3, x5, x4 et x2 fois versus les témoins ; $p < 0,05$). L'induction des transcrits des peptides natriurétiques confirme la dysfonction cardiaque. Fait majeur, l'EPO prévient l'expression de ces transcrits. En parallèle, l'augmentation de phosphorylation d'AKT et de GSK3 en réponse à l'EPO (+ 50 %) signe l'activation de cette voie de signalisation de survie.

Conclusion : L'EPO a, lors du sepsis, un effet positif sur l'abondance de transcrits marqueurs d'insuffisance cardiaque et les voies de signalisation impliquées dans la survie cellulaire et la survie des animaux.

Références

1. Rabuel C, Mebazaa A (2006) Septic shock: a heart story since the 1960s. *Intensive Care Med* 32:799–807
2. Walden AP, Young JD, Sharples E (2010) Bench to bedside: a role for erythropoietin in sepsis. *Crit Care* 14:227

SO086

La déficience génétique en protéine tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) limite le processus inflammatoire myocardique et l'atteinte calcique dans un modèle de choc endotoxinique

D. Coquerel¹, X. Marechal², D. Montaigne², S. Renet¹, P. Mulder¹, R. Nevieré², V. Richard¹, T. Fabienne³

¹Inserm U1096, Rouen, France

²Université de médecine, Ea 4484, Lille, France

³Réanimation médicale, Inserm U1096, Rouen, France

Introduction : Le choc septique constitue la principale cause de mortalité au sein des services de réanimation. L'atteinte cardiovasculaire est un facteur déterminant de la sévérité de ce syndrome inflammatoire systémique. La protéine tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) est décrite comme un régulateur négatif de la signalisation insulinaire et de la production de monoxyde d'azote par l'endothélium. Nos travaux expérimentaux suggèrent que l'inhibition de la PTP1B pourrait être une voie thérapeutique potentielle pour le traitement de cette dysfonction cardiovasculaire. Nous avons, dans un modèle de choc endotoxinique, mis en évidence une amélioration significative de la survie et de la fonction cardiaque chez des souris génétiquement déficientes pour la PTP1B (PTP1B^{-/-}) comparées aux souris sauvages (WT). Cependant, les mécanismes cellulaires impliqués dans ces effets bénéfiques restent inconnus.

Patients et méthodes : Ainsi, nous avons étudié dans ce modèle l'inflammation, le stress oxydant, la fonction mitochondriale cardiaque et la voie réticulaire de régulation calcique. L'expression des marqueurs inflammatoires a été évaluée par RT-PCR, le taux de phosphorylation des MAPK, l'expression de l'ATPase Serca2a et la phosphorylation du phospholamban (PLN) par *western blot* et enfin la fonction mitochondriale par mesure de la respiration et du cytochrome C exogène.

Résultats : L'expression myocardique de TNF, IL1, ICAM-1, VCAM-1, CD45 est significativement diminuée chez les souris PTP1B^{-/-} comparées aux souris WT. La déficience en PTP1B limite à h-4 la phosphorylation des MAPK (ERK1/2 WT h-4 1,65 ± 0,43 vs PTP1B^{-/-} 1,26 ± 0,28 ET, $p < 0,05$). Résultats associés à une surexpression de l'hème oxygénase-1 à h-8 (WT 10,57 ± 4,7 vs PTP1B^{-/-} 16,25 ± 9,4 ET, $p < 0,05$). Une altération de la fonction mitochondriale a été observée, mais non modifiée chez les souris PTP1B^{-/-}. Enfin, les souris PTP1B^{-/-} montrent un taux de phosphorylation du PLN significativement supérieur (WT h-8 0,53 ± 0,26 vs PTP1B^{-/-} h-8 1,06 ± 0,5 ET, $p < 0,05$).

Conclusion : Ces résultats suggèrent que la délétion en PTP1B limite l'inflammation myocardique et l'altération des voies calciques, élément clé de la contractilité cardiaque. Ces données pointent vers l'identification d'une nouvelle cible thérapeutique dans le traitement du choc septique, basé sur l'inhibition de la PTP1B.

SO087

Dysfonction myocardique induite par le sepsis : exploration fonctionnelle in vivo du système nerveux sympathique cardiaque

R. Clerc¹, P. Perret², A. Broisat¹, L. Potton³, C. Ghezzi¹, C. Schwebel³

¹Inserm U1039, Radiopharmaceutiques biocliniques U1039 38000 Grenoble, Grenoble, France

²Inserm U1039, Laboratoires des Pharmaceutiques biocliniques, Grenoble, France

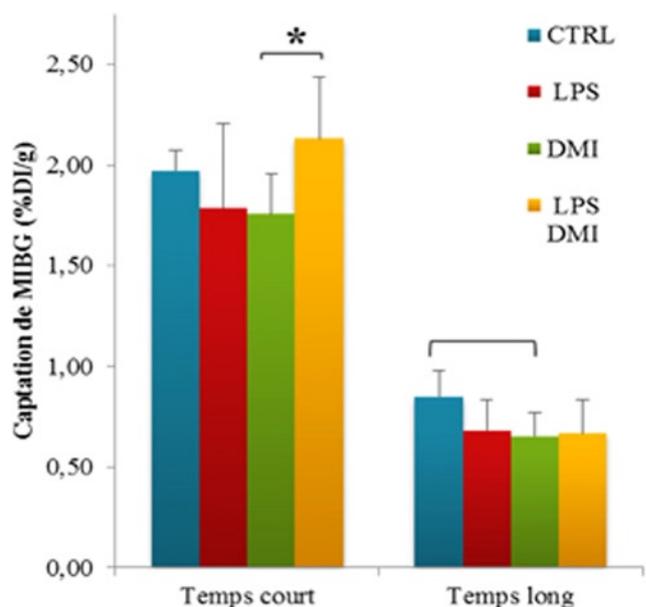
³Service de réanimation médicale, CHU de Grenoble, hôpital A.-Michallon, La Tronche, France

Introduction : La physiopathologie complexe de la dysfonction myocardique induite par le sepsis inclut des anomalies de la balance sympathovagale. Le développement des plates-formes d'imagerie in vivo dédiées au petit animal permet l'exploration des modifications anatomiques et fonctionnelles.

Matériels et méthodes : L'objectif principal de l'étude est de décrire les caractéristiques fonctionnelles in vivo du système sympathique myocardique à partir de la fixation myocardique de méta-iodobenzyl-guanidine marquée à l'iode 123 (¹²³I-MIBG), analogue de la noradrénaline, dans un modèle expérimental de choc endotoxinique. Des rats mâles Wistar (375,38 ± 30,35 g, Charles River, France) septiques (10 mg/kg, *E. coli* O55 : B5 intrapéritonéal ; Sigma-Aldrich) sont étudiés comparativement à des animaux témoins (NaCl 0,9 % intrapéritonéal), $n = 6$ à 8 dans chaque groupe. L'exploration fonctionnelle comprend une étude échocardiographie (Vevo 2100 Imaging System, Visualsonics) dans ses applications standard et *strain* ainsi qu'une imagerie SPECT (Nano SPECT-CT, Bioscan) avant et après challenge endotoxinique, en conditions basales et après utilisation de désipramine (DMI), inhibiteur d'uptake-1. Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type standard. L'analyse statistique est réalisée en utilisant le logiciel Medcalc (Medcalc Software). Les tests non paramétriques de Wilcoxon & Friedman et de Kruskal-Wallis sont utilisés pour évaluer les différences statistiques entre valeurs appariées et non appariées, respectivement. Une différence est considérée comme statistiquement significative lorsque $p < 0,05$.

Résultats : L'ensemble des paramètres de fonction systolique sont diminués dans le groupe LPS : la réduction significative de la fraction d'éjection, de raccourcissement et de débit cardiaque s'accompagne d'une réduction globale du *strain* myocardique dans ses trois composantes sans anomalie segmentaire. Toutefois, seul le *strain* radial présente une différence significative, $p < 0,05$. Concernant la fonction diastolique, une réduction significative du rapport E/A à l'anneau mitral est observée dans le groupe d'animaux traités par LPS. La fixation myocardique de ¹²³I-MIBG est significativement réduite dans le groupe LPS. La cinétique d'évolution sous DMI suggère une altération de l'uptake-1.

Captation de MIBG dans le ventricule gauche quantifiée par imagerie TEMP, $n = 6$ pour le groupe LPS-DMI, $n = 5$ pour les autres groupes, * pour $p < 0,05$. Test statistique de Mann-Whitney.



Discussion : La modulation thérapeutique du système sympathique est une perspective thérapeutique. Les anomalies échocardiographiques décrites au cours du sepsis s'accompagnent d'une altération fonctionnelle du système sympathique myocardique dont les mécanismes précis nécessitent des investigations complémentaires. L'imagerie nucléaire non invasive in vivo avec des outils de quantification adaptés permet une approche fonctionnelle macro- et microcirculatoire prometteuse dans le sepsis.

Conclusion : La captation myocardique de MIBG est altérée au cours du sepsis. La complexité fonctionnelle du système nerveux autonome impose l'évaluation plus précise des uptake-1 et uptake-2 par l'utilisation isolée et combinée d'inhibiteurs respectifs.

SO088

Effet de l'absence et de la restauration de l'activité du glutathion peroxydase au cours du choc septique chez la souris

O. Huet¹, C. Latouche², B. Kingwell², J. de Haan³, J. Chin-Dusting¹

¹*Vascular Pharmacology, Bakeridi Heart and Diabetes Institute, Melbourne, Australie*

²*Metabolic and Vascular Physiology, Bakeridi Heart And Diabetes Institute, Melbourne, Australie*

³*Oxidative Stress Laboratory, Bakeridi Heart and Diabetes Institute, Melbourne, Australie*

Introduction : Au cours d'une infection, les espèces radicalaires de l'oxygène (ERO) jouent un rôle clef lors de la phase initiale de la réponse immune innée. Cependant, au cours du choc septique, il existe un déséquilibre de l'homéostasie redox entraînant un état pro-oxydant. L'intensité de cet état pro-oxydant est corrélée à un mauvais pronostic chez les patients en choc septique. Il semble donc qu'au cours d'une infection létale, le contrôle de la production d'ERO ne devrait pas avoir le même effet sur le pronostic si celui-ci est précoce ou tardif. Le but de cette étude est de décrire l'effet de l'absence et du rétablissement de l'activité du glutathion peroxydase (GPx) dans un modèle murin de choc septique.

Matériels et méthodes : *Expériences in vivo :* En utilisant un modèle de choc septique induit par une injection intratrachéale de *Klebsiella pneumoniae* (5×10^3 CFU), nous avons étudié l'effet de l'administration d'un analogue (Ebselen) de la GPx (24 heures après inoculation). Nous avons ensuite étudié l'effet de l'absence de GPx lors du sepsis en utilisant des souris KO Gpx1^{-/-} en utilisant le modèle de pneumopathie induite par *Klebsiella pneumoniae* et un modèle d'injection intrapéritonéale de LPS (30 mg/kg). *Expériences ex vivo :* Nous avons étudié l'effet de l'administration d'Ebselen sur l'interaction leucocytes/endothélium en utilisant un modèle de vaisseau (aorte de souris) perfusé par du sang total durant 15 minutes après quatre heures d'incubation avec du TNF- α (5 ng/ml) ou du plasma de patient en choc septique (dilution 1/2). La mortalité entre les groupes était comparée par log rank test, et l'adhésion leucocytaire était analysée par Anova pour mesures répétées.

Résultats : *Expériences in vivo :* Administrée 24 heures après l'induction du sepsis, l'Ebselen augmente significativement la survie en comparaison avec animaux traités avec le placebo (50 vs 7 %, log rank test, $p = 0,016$). Les souris GPx1^{-/-} présentaient une susceptibilité accrue à une agression inflammatoire aiguë (LPS) [survie : 50 vs 100 %] comparées à leur contrôle (C57Bl6) mais étaient significativement moins vulnérables lors d'une infection bactérienne (survie 55 vs 16 % ; log rank test, $p = 0,043$). *Expériences ex vivo :* Les vaisseaux incubés durant quatre heures avec du TNF- α + Ebselen ou avec du plasma de patient en choc septique + Ebselen présentaient significativement moins d'adhésion leucocytaire que les vaisseaux non traités par Ebselen (Anova pour mesures répétées, $p < 0,001$).

Discussion : Ces résultats démontrent que la GPx joue un rôle crucial lors de l'évolution du choc septique. Une accumulation de peroxyde d'hydrogène liée à l'absence de GPx aurait un rôle protecteur à la phase initiale d'une infection alors que dans une situation où l'inflammation est déjà activée, une accumulation de peroxyde d'hydrogène est délétère.

Conclusion : La modulation du stress oxydatif au cours du choc septique peut donc avoir des effets diamétralement opposés en fonction du stade de l'évolution de l'infection et de la réponse inflammatoire.