



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement

dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

Par

François HEIN

Le 5 Octobre 2007

Les lymphocytes T régulateurs au cours des états de choc : Etude observationnelle.

Examinateurs de la thèse :

M. P.E BOLLAERT	Professeur	Président
M. A. GERARD	Professeur	Juge
M. B. LEVY	Professeur	Juge
M. G. AUDIBERT	Maitre de conférences	Juge
M. S. GIBOT	Docteur en médecine	Juge

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1
FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

Président de l'Université : Professeur Jean-Pierre FINANCE

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Patrick NETTER

Vice-Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Henry COUDANE

Assesseurs :

du 1^{er} Cycle :

M. le Professeur François ALLA

du 2^{ème} Cycle :

M. le Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

du 3^{ème} Cycle :

M. le Professeur Marc BRAUN

de la Vie Facultaire :

M. le Professeur Bruno LEHEUP

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX

Professeur Jacques ROLAND

PROFESSEURS HONORAIRES

Jean LOCHARD – René HERBEUVAL – Gabriel FAIVRE – Jean-Marie FOLIGUET

Guy RAUBER – Paul SADOUL – Raoul SENAUT

Jacques LACOSTE – Jean BEUREY – Jean SOMMELET – Pierre HARTEMANN – Emile de LAVERGNE

Augusta TREHEUX – Michel MANCIAUX – Paul GUILLEMIN – Pierre PAYSANT

Jean-Claude BURDIN – Claude CHARDOT – Jean-Bernard DUREUX – Jean DUHEILLE –

Jean-Marie GILGENKRANTZ – Simone GILGENKRANTZ

Pierre ALEXANDRE – Robert FRISCH – Michel PIERNON – Jacques ROBERT

Gérard DEBRY – Michel WAYOFF – François CHERRIER – Oliéro GUERCI

Gilbert PERCEBOIS – Claude PERRIN – Jean PREVOT – Jean FLOQUET

Alain GAUCHER – Michel LAXENAIRE – Michel BOULANGE – Michel DUC – Claude HURIET – Pierre LANDES

Alain LARCAN – Gérard VAILLANT – Daniel ANTHOINE – Pierre GAUCHER – René-Jean ROYER

Hubert UFFHOLTZ – Jacques LECLERE – Francine NABET – Jacques BORRELLY

Michel RENARD – Jean-Pierre DESCHAMPS – Pierre NABET – Marie-Claire LAXENAIRE – Adrien DUPREZ – Paul VERT –

Bernard LEGRAS – Pierre MATHIEU – Jean-Marie POLU – Antoine RASPILLER – Gilbert THIBAUT

Michel WEBER – Gérard FIEVE – Daniel SCHMITT – Colette VIDAILHET – Alain BERTRAND – Hubert GERARD

Jean-Pierre NICOLAS – Francis PENIN – Michel STRICKER – Daniel BURNEL – Michel VIDAILHET – Claude BURLET –

Jean-Pierre DELAGOUTTE – Jean-Pierre MALLIÉ – Danièle SOMMELET – Professeur Luc PICARD

Professeur Guy PETIET

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGÉNÈSE

1^{ère} sous-section : (*Anatomie*)

Professeur Jacques ROLAND – Professeur Gilles GROS DIDIER

Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN

2^{ème} sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Professeur Bernard FOLIGUET

3^{ème} sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Professeur François PLENAT – Professeur Jean-Michel VIGNAUD

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER

2^{ème} sous-section : (*Radiologie et imagerie médicale*)

Professeur Luc PICARD – Professeur Denis REGENT – Professeur Michel CLAUDON

Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM – Professeur Jacques FELBLINGER

Professeur René ANXIONNAT

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER – Professeur Bernard NAMOUR

2^{ème} sous-section : (Physiologie)

Professeur Jean-Pierre CRANCE

Professeur François MARCHAL – Professeur Philippe HAOUZI

3^{ème} sous-section : (Biologie Cellulaire (type mixte : biologique)

Professeur Ali DALLOUL

4^{ème} sous-section : (Nutrition)

Professeur Olivier ZIEGLER

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)

Professeur Alain LOZNIEWSKI

2^{ème} sous-section : (Parasitologie et mycologie)

Professeur Bernard FORTIER

3^{ème} sous-section : (Maladies infectieuses ; maladies tropicales)

Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (Épidémiologie, économie de la santé et prévention)

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON

Professeur Francis GUILLEMIN – Professeur Denis ZMIROU-NAVIER – Professeur François ALLA

2^{ème} sous-section : (Médecine et santé au travail)

Professeur Guy PETIET – Professeur Christophe PARIS

3^{ème} sous-section : (Médecine légale et droit de la santé)

Professeur Henry COUDANE

4^{ème} sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)

Professeur François KOHLER – Professeur Éliane ALBUISSON

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (Hématologie ; transfusion)

Professeur Christian JANOT – Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI

Professeur Pierre LEDERLIN – Professeur Jean-François STOLTZ – Professeur Pierre FEUGIER

2^{ème} sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)

Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY

Professeur Pierre BEY – Professeur Didier PEIFFERT – Professeur Frédéric MARCHAL

3^{ème} sous-section : (Immunologie)

Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE

4^{ème} sous-section : (Génétique)

Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,

PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1^{ère} sous-section : (Anesthésiologie et réanimation chirurgicale)

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Dan LONGROIS – Professeur Hervé BOUAZIZ

Professeur Paul-Michel MERTES

2^{ème} sous-section : (Réanimation médicale)

Professeur Henri LAMBERT – Professeur Alain GERARD

Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT – Professeur Bruno LÉVY

3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET

4^{ème} sous-section : (Thérapeutique)

Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD

**49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE,
HANDICAP et RÉÉDUCATION**

1^{ère} sous-section : (*Neurologie*)

Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI

Professeur Xavier DUCROCQ

2^{ème} sous-section : (*Neurochirurgie*)

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE

Professeur Thierry CIVIT

3^{ème} sous-section : (*Psychiatrie d'adultes*)

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Raymund SCHWAN

4^{ème} sous-section : (*Pédopsychiatrie*)

Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC

5^{ème} sous-section : (*Médecine physique et de réadaptation*)

Professeur Jean-Marie ANDRE – Professeur Jean PAYSANT

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (*Rhumatologie*)

Professeur Jacques POUREL – Professeur Isabelle VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE

2^{ème} sous-section : (*Chirurgie orthopédique et traumatologique*)

Professeur Daniel MOLE

Professeur Didier MAINARD – Professeur François SIRVEAUX – Professeur Laurent GALOIS

3^{ème} sous-section : (*Dermato-vénérérologie*)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD

4^{ème} sous-section : (*Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique*)

Professeur François DAP

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (*Pneumologie*)

Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT – Professeur Ari CHAOUAT

2^{ème} sous-section : (*Cardiologie*)

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE – Professeur Nicolas SADOUL

Professeur Christian de CHILLOU

3^{ème} sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardiovasculaire*)

Professeur Jean-Pierre VILLEMOT

Professeur Jean-Pierre CARTEAUX – Professeur Loïc MACE

4^{ème} sous-section : (*Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire*)

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1^{ère} sous-section : (*Gastroentérologie ; hépatologie*)

Professeur Marc-André BIGARD

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

2^{ème} sous-section : (*Chirurgie digestive*)

3^{ème} sous-section : (*Néphrologie*)

Professeur Michèle KESSLER – Professeur Dominique HESTIN (Mme) – Professeur Luc FRIMAT

4^{ème} sous-section : (*Urologie*)

Professeur Philippe MANGIN – Professeur Jacques HUBERT – Professeur Luc CORMIER

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (*Médecine interne*)

Professeur Denise MONERET-VAUTRIN – Professeur Denis WAHL

Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Gisèle KANNY – Professeur Abdelouahab BELLOU

2^{ème} sous-section : (*Chirurgie générale*)

Professeur Patrick BOISSEL – Professeur Laurent BRESLER

Professeur Laurent BRUNAUD – Professeur Ayav AHMET

**54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

1^{ère} sous-section : (*Pédiatrie*)

Professeur Pierre MONIN

Professeur Jean-Michel HASCOET – Professeur Pascal CHASTAGNER – Professeur François FEILLET –

Professeur Cyril SCHWEITZER

2^{ème} sous-section : (*Chirurgie infantile*)

Professeur Michel SCHMITT – Professeur Gilles DAUTEL – Professeur Pierre JOURNEAU

3^{ème} sous-section : (*Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale*)

Professeur Michel SCHWEITZER – Professeur Jean-Louis BOUTROY

Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO – Professeur Bruno DEVAL

4^{ème} sous-section : (*Endocrinologie et maladies métaboliques*)

Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{ère} sous-section : (*Oto-rhino-laryngologie*)

Professeur Claude SIMON – Professeur Roger JANKOWSKI

2^{ème} sous-section : (*Ophthalmologie*)

Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Karine ANGIOI-DUPREZ

3^{ème} sous-section : (*Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie*)

Professeur Jean-François CHASSAGNE

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeur Sandrine BOSCHI-MULLER

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (*Anatomie*)

Docteur Bruno GRIGNON – Docteur Thierry HAUMONT

2^{ème} sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Docteur Edouard BARRAT

Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER

3^{ème} sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Docteur Béatrice MARIE

Docteur Laurent ANTUNES

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Docteur Marie-Hélène LAURENS – Docteur Jean-Claude MAYER

Docteur Pierre THOUVENOT – Docteur Jean-Marie ESCANYE – Docteur Amar NAOUN

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Docteur Jean STRACZEK – Docteur Sophie FREMONT

Docteur Isabelle GASTIN – Docteur Marc MERTEN – Docteur Catherine MALAPLATE-ARMAND

2^{ème} sous-section : (*Physiologie*)

Docteur Gérard ETHEVENOT – Docteur Nicole LEMAU de TALANCE – Docteur Christian BEYAERT

Docteur Bruno CHENUEL

4^{ème} sous-section : (*Nutrition*)

Docteur Didier QUILLIOT – Docteur Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{re} sous-section : (Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière)

Docteur Francine MORY – Docteur Christine LION

Docteur Michèle DAILLOUX – Docteur Véronique VENARD

2^{de} sous-section : (Parasitologie et mycologie)

Docteur Marie-France BIAVA – Docteur Nelly CONTEM-AUDONNEAU – Docteur Marie MACHOUART

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{re} sous-section : (Epidémiologie, économie de la santé et prévention)

Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE

4^{re} sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)

Docteur Pierre GILLOIS

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{re} sous-section : (Hématologie ; transfusion)

Docteur François SCHOONEMAN

2^{ème} sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie : cancérologie (type mixte : biologique))

Docteur Lina BEZDETNAYA épouse BOLOTINE

3^{ème} sous-section : (Immunologie)

Docteur Anne KENNELL – Docteur Marcelo DE CARVALHO BITTENCOURT

4^{ème} sous-section : (Génétique)

Docteur Christophe PHILIPPE

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

1^{re} sous-section : (Anesthésiologie et réanimation chirurgicale)

Docteur Jacqueline HELMER – Docteur Gérard AUDIBERT

3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)

Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT – Docteur Nicolas GAMBIER

50^{ème} Section : RHUMATOLOGIE

1^{re} sous-section : (Rhumatologie)

Docteur Anne-Christine RAT

**54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

5^{ème} sous-section : (Biologie et médecine du développement et de la reproduction)

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5^{ème} section : SCIENCE ÉCONOMIE GÉNÉRALE

Monsieur Vincent LHUILLIER

40^{ème} section : SCIENCES DU MÉDICAMENT

Monsieur Jean-François COLLIN

60^{ème} section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE

Monsieur Alain DURAND

61^{ème} section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Monsieur Jean REBSTOCK – Monsieur Walter BLONDEL

64^{ème} section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Mademoiselle Marie-Claire LANHERS

65^{ème} section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY

Madame Ketsia HESS – Monsieur Pierre TANKOSIC – Monsieur Hervé MEMBRE – Monsieur Christophe NEMOS
Madame Natalia DE ISLA

66^{ème} section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

67^{ème} section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE

Madame Nadine MUSSE

68^{ème} section : BIOLOGIE DES ORGANISMES

Madame Tao XU-JIANG

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale

Professeur associé Alain AUBREGE

Docteur Francis RAPHAEL

Docteur Jean-Marc BOIVIN

Docteur Jean-Louis ADAM

Docteur Elisabeth STEYER

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Michel BOULANGE – Professeur Alain LARCAN - Professeur Daniel ANTHOINE

Professeur Paul VERT - Professeur Pierre MATHIEU - Professeur Gilbert THIBAUT

Mme le Professeur Colette VIDAILHET – Professeur Alain BERTRAND - Professeur Jean-Pierre NICOLAS

Professeur Michel VIDAILHET – Professeur Marie-Claire LAXENAIRE - Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ

Mme le Professeur Simone GILGENKRANTZ - Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE – Professeur Danièle SOMMELET

Professeur Luc PICARD - Professeur Guy PETIET

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972)

Université de Stanford, Californie (U.S.A)

Professeur Paul MICIELSEN (1979)

Université Catholique, Louvain (Belgique)

Professeur Charles A. BERRY (1982)

Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)

Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)

Brown University, Providence (U.S.A)

Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)

Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)

Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)

Wanderbilt University, Nashville (U.S.A)

Harry J. BUNCKE (1989)

Université de Californie, San Francisco (U.S.A)

Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)

Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)

Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)

Université de Pennsylvanie (U.S.A)

Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)

Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)

Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)

Université d'Helsinki (FINLANDE)

Professeur James STEICHEN (1997)

Université d'Indianapolis (U.S.A)

Professeur Duong Quang TRUNG (1997)

Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des

Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIÉTNAM)

SERMENT

"Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque".

A notre Maître et président de thèse,

Monsieur le Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT
Professeur de réanimation médicale

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de cette thèse.

Nous avons particulièrement apprécié vos enseignements qui ont largement influencé notre orientation professionnelle.

Vos qualités humaines, vos connaissances immenses et votre sens clinique incisif, nous ont toujours impressionnés.

Pour tout cela, veuillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre grande estime.

A notre maître et juge,

Monsieur le Professeur Alain GERARD
Professeur de réanimation médicale

Nous sommes très honorés de votre présence dans le jury de ce travail

Nous avons bénéficié de votre enseignement au cours de notre internat, vous nous avez enrichis de vos compétences en matière d'infectiologie et fait partager votre sens critique.

Veillez trouver ici l'expression de nos sentiments les plus dévoués et respectueux.

A notre maître et juge,

Monsieur le Professeur Bruno LEVY
Professeur de réanimation médicale

Nous vous remercions très sincèrement d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous avons eu la chance de bénéficier de vos connaissances en physiologie durant deux semestres de notre internat. Vous nous avez appris la rigueur et l'esprit de synthèse.

Nous nous rappellerons de vos grandes connaissances, votre rapidité d'analyse et votre chaleur humaine.

Veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude et de nos remerciements.

A notre maître et juge,

Monsieur le Docteur Gérard AUDIBERT
Praticien hospitalier d'anesthésie-réanimation
Maître de conférences des universités.

Vous nous faites l'honneur d'être membre de ce jury et de nous donner votre avis sur ce travail.

Nous vous en remercions sincèrement.

Vous avez toujours été à l'écoute de vos internes malgré l'étendue de vos responsabilités.

Vous nous avez formés à la prise en charge des patients chirurgicaux et neurochirurgicaux de réanimation avec rigueur.

Nous avons particulièrement apprécié vos qualités pédagogiques, votre grande gentillesse et votre disponibilité.

Veuillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance, de notre profond respect et de notre sincère admiration.

A notre maître et juge,

Monsieur le Docteur Sébastien Gibot
Praticien hospitalier en réanimation médicale

*Nous tenions à vous exprimer notre sincère gratitude pour avoir
dirigé ce travail.*

Nous avons été heureux de la confiance que vous nous avez accordée.

*Nous sommes admiratifs devant vos connaissances si vastes, votre
esprit inventif et vos qualités scientifiques.*

*Merci pour votre soutien et vos encouragements en toutes
circonstances, votre rigueur et votre gentillesse.*

*Nous avons apprécié (et apprécierons) de travailler à vos côtés, vous
resterez pour nous un modèle.*

Veuillez trouver ici le témoignage de notre profonde considération.

A Mme le Docteur Aurélie Cravoisy,

Merci pour ton soutien, ton enseignement et ta gentillesse. Tu n'es pas étrangère à mes choix !

A Mme le Docteur Florence Vial,

Pour ta bonne humeur, tes conseils toujours avisés et tes qualités professionnelles, reçois ici l'expression de mon profond attachement.

A Mme le Docteur Sylvie Boileau,

Je resterais émerveillé par vos qualités humaines hors du commun. Votre joie de vivre m'a souvent réconforté, votre expérience enrichi. Recevez ici l'expression de ma plus grande estime.

A Mme le Docteur Sandrine Boussat,

Un semestre formidable. Je te remercie de ton écoute et de tes encouragements indispensables.

A MM. les Docteurs Nace et Barraud,

Merci pour votre soutien, pour ce que vous m'avez appris et pour ce que nous réserve l'avenir.

A tous les médecins, infirmier(e)s anesthésistes, infirmier(e)s et personnels soignants de l'hôpital Bon secours, du centre Alexis Vautrin, des réanimations médicale et chirurgicale de l'hôpital Central, des blocs opératoires de l'hôpital central, de la maternité régionale, de la réanimation médicale de l'hôpital de Brabois et de l'hôpital Sainte Blandine,

Merci pour votre accueil et votre accompagnement tout au long de mon internat.

Au Docteur Frédéric Massin,

Merci pour ton aide et tout le travail que tu as fourni pour ce sujet.

Merci pour ta gentillesse et ton accueil lors de mon bref passage dans le laboratoire d'immunologie.

A ma famille,

A ma mère,

On ne voit bien qu'avec le cœur. L'essentiel est invisible pour les yeux.

(A. de St-Exupéry)

Tu m'as appris la persévérance et la sérénité devant les épreuves.

Ton absence est lourde mais ta présence éternelle.

Tu me manques...

A mon père,

Il est impossible d'être concis au sujet des gens qu'on aime.

Tu m'as ouvert le chemin de la réussite, tu m'as toujours soutenu et encouragé.

Ton exemple m'a appris le calme et la patience.

« *Un tiens vaut mieux que deux tu l'auras* ».

Je te dois beaucoup.

Reçois ici tout mon amour et mon éternelle reconnaissance.

A mon frère Xavier et à Dorothée,

Ta force et ta combativité sont des exemples.

Ta tendresse et ton affection indispensables.

Merci pour tout...

A mon frère Vincent et à Armelle,

Pour le bonheur d'avoir partagé ces années à tes côtés.

Pour ton soutien permanent et ton aide précieuse pour la préparation de ce travail.

Aucun mot ne pourrait exprimer tout mon amour pour toi.

A mon Grand-père,

Pour les valeurs que tu m'a transmises, l'amour que tu m'as donné.

Reçois ici l'expression de mon affection et de ma profonde estime.

A ma tante Marie,

Une source d'inspiration, un modèle à suivre.

Merci pour les moments de bonheur, merci pour ton réconfort permanent.

Tu m'es indispensable.

A ma « p'tite sœur »,

A notre grande proximité, à tes conseils, à ta gaité et à ton amour sans faille.

MERCI.

A ma tante Erna,

Ma deuxième maman, reçois tout mon amour.

A toute ma famille,

A ma tante Marie-Armelle, mes oncles (Dominique, Patrick, Pierre), tous mes cousins (Anne;)*, Audrey et Freddy : la distance n'est pas un obstacle pour ce qui nous unit ; Benoît;)*, Claire;)*, Jean-Baptiste et Lorraine, Pamela ;) et Cédric, Pierre-Yves et Isabelle, Ronan), mes petits cousins (Brieuc, Maëlle et la belle Nora) et à mon parrain Marc.

A mes Amis,

A ceux à qui je dois beaucoup,

Dan, the best ever, for the wonderful things you taught me, for all the fun we had and we're still going to have, I'd never thank you enough. –xxx–

Sophie (ma grande Q.), pour tous nos souvenirs palois et nancéens et bien plus encore, un grand merci.

Carine et Jimmy, pour notre indispensable amitié, merci Carine pour tous ces conseils, pour les encouragements, pour ton affection ; merci d'être là pour tous les moments de ma vie.

A mes amis de promo qui sont devenus bien plus que cela,

Marion, à notre complicité, à tes coups de gueule, à ces 5 ans ensemble et pour tout ce que tu sais. MERCI.

Arnaud, force tranquille, tu es impressionnant par ton savoir hétéroclite qui nous divertit tant. Ne change jamais.

Sophie, Nico et Raphaël (le plus beau), une belle réussite.

Pierre, Nico, Cyrille et Yves.... 5 ans ça passe si vite !

A mes amis d'ici et d'ailleurs,

Marie, la bonne humeur incarnée et l'altruisme fait femme. Mille mercis.

Thomas, pronto, un truc de malade, un ami important dont le soutien a été un grand réconfort.

Pierre-Yves, un cœur aussi beau que ses yeux.

Jessica, spécialiste en choses de la vie et en psychologie féminine, un clin d'œil spécial pour une amie sincère.

Aux experts des bons moments : Fanny (un rayon de soleil), Emilie C. comme un carnet (et pour le 7^{ème} ciel), Emilie chi-chi (d'un naturel formidable), Yaya Dudu (à tout ce que tu caches), Dodo (surprenante), Caro (la Caro de Pierre).

A tous les autres : Domitille-la Famille, Hélène dite mémère, Julie G., Alexandre L., Alexandre J., Claire Comb., Anne L., Karine L, Stéphane, Marie, Cécile et les trois autres loustics Debelleix, Audrey Dub., Marie-Vincente, Caro Polto, Hélène, Lolo et tous les bordelais

A Marie-Jo et Alain Piot,

Merci pour vos encouragements et pour les moments de réconfort.

A Cathy « de la réa » (et son chariot musical),

Figure emblématique et touchante.

Table des matières

Table des matières

INTRODUCTION	20
LE SYSTEME IMMUNITAIRE FACE A L'AGRESSION	24
I Généralités	24
1. L'inflammation	25
2. La réponse immunitaire innée	26
3. La réponse immunitaire adaptative	27
3.1. Les lymphocytes B	27
3.2 Les lymphocytes T	28
4 La coopération cellulaire	28
5 Tissus et organes du système immunitaire	29
II Réponses immunitaires : trois niveaux de défense	30
1. Reconnaissance de l'antigène	31
1.1. Les antigènes	31
1.2. Les épitopes	31
1.3. Exemples	32
2. Inflammation locale et immunité innée	33
2.1. Acteurs cellulaires locaux	35
2.1.1. Epithélium et endothélium	35
2.1.2. La migration leucocytaire : de la circulation sanguine au site de l'infection	36
2.2. Acteurs cellulaires recrutés	37
2.2.1. Les plaquettes	37
2.2.2. Les polymorphonucléaires neutrophiles, phagocytes de vie courte	37
2.2.3. Les monocytes/macrophages, sentinelles de l'immunité innée	41
2.3. Médiateurs solubles de la réponse innée	42
2.3.1. Système du complément	42
2.3.2. Les cytokines	44

2.3.3. Autres médiateurs solubles	46
3. Immunité adaptative	46
3.1. Les immunoglobulines, une famille de protéines	47
3.2. Les récepteurs des cellules T et les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité	49
3.3. La sélection clonale	50
3.4. Activation des lymphocytes	51
III Résolution de l'inflammation et régulation des réponses immunitaires	57
1. Notions générales	57
2. La régulation par l'antigène	58
3. Les cellules présentatrices d'antigène	58
4. Régulation par les anticorps	59
5. Régulation par les lymphocytes et les cytokines anti-inflammatoires	60
6. L'axe neuro-endocrinien et le système nerveux central	64
IV De l'inflammation systémique à la paralysie immunitaire, le concept du <i>Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome</i> ou « l'immunoparalysie ».	66
1. L'ambiguïté de la physiopathologie du sepsis	66
1.1. Naissance d'une théorie	66
1.2. Mise en doute de la théorie	67
1.3. Vers une nouvelle théorie	69
2. Mécanismes supposés de l'immunosuppression lors du sepsis	70
2.1. Une dérive vers la production de cytokines anti-inflammatoires	70
2.2. L'anergie	73
2.3. La mort des cellules de l'immunité	74
2.4. La perte de l'expression de molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (HLA-DR) par les monocytes/macrophages	76
3. Immunoparalysie : corrélation avec le mauvais pronostic	80
4. Les lymphocytes T CD4 ⁺ CD25 ⁺ - lymphocytes T régulateurs « naturels » : leur rôle dans le contrôle du système immunitaire, leur implication dans l'immunoparalysie.	82

4.1. Marqueurs moléculaires des Treg CD4 ⁺ CD25 ⁺	83
4.1.1. CD25	83
4.1.2. CTLA-4 et GITR	84
4.1.3. foxp3 / FOXP3	84
4.2. Rôles des Treg	85
4.3. Mécanismes de suppression des LT CD4 ⁺ CD25 ⁺ FOXP3 ⁺ régulateurs	87
4.4. Lymphocytes T régulateurs CD4 ⁺ CD25 ⁺ et immunoparalysie	88
 LES LYMPHOCYTES T NAUTURELS AU COURS DES ETATS DE CHOC :	
ETUDE OBSERVATIONNELLE	89
 I. Matériels et méthodes	90
1. Recrutement des patients	90
2. Isolement des cellules, caractérisation par cytométrie en flux	91
3. Dosage des cytokines sTREM-1 et TGF-β1 par technique ELISA	93
4. Dosage simultané des cytokines Th1 / Th2 (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, INFγ et TNFα) en cytométrie en flux	94
5. Analyses statistiques	95
 II. Résultats	96
1. Patients : données clinico-biologiques	96
2. Expression monocytaire de HLA-DR	102
3. Évolution des Tregs au cours du choc	108
4. Évolution des cellules NK et leur activation au cours du choc	116
5. Évolution des cytokines au cours du choc	121
6. Étude des corrélations entre les paramètres étudiés	132
7. Synthèse des résultats	141
 DISCUSSION	142
 CONCLUSION	155
 ANNEXES	158
 REFRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	164

Introduction

Introduction

Des réponses immunes innée et acquise (adaptative) intactes sont essentielles pour vaincre les infections microbiennes systémiques. Les molécules de reconnaissance, les cellules de l'inflammation et les cytokines qu'elles produisent sont les moyens principaux pour les tissus d'un hôte de reconnaître les micro-organismes « envahisseurs » et d'initier la communication intercellulaire entre les systèmes innés et acquis de l'immunité.

Cependant, l'activation de l'immunité innée et de la réaction inflammatoire peut aussi survenir en l'absence d'une reconnaissance microbienne, par l'intermédiaire de signaux de danger produits lors des ischémies tissulaires, de la nécrose, des chocs hémorragiques ou cardiogéniques.

Lorsque l'activation de cette inflammation est suffisamment importante, la réponse de l'organisme elle-même, peut entraîner le patient vers un syndrome de réponse inflammatoire systémique (SIRS) voire de défaillance multiviscérale et de choc.

Bien que la plupart des patients survivent au SIRS initial, ils restent néanmoins à risque de développer des infections secondaires ou opportunistes, du fait de l'apparition d'un syndrome « compensateur » anti-inflammatoire (CARS) .

C'est l'activation initiale de la réponse inflammatoire qui conduit souvent à la « réorientation » de la synthèse des cytokines Th1 vers Th2 par les macrophages, à l'anergie des cellules T et à la rapide perte des tissus lymphoïdes par apoptose. Tout ceci contribue au développement de ce syndrome « CARS », à sa morbidité et à sa mortalité.

Les mécanismes régissant cette immunoparalysie ou réorientation des réponses immunes ne sont pas encore élucidés clairement.

Par ailleurs, il existe une sous-population lymphocytaire ayant un rôle crucial dans le maintien de la tolérance périphérique et la régulation des lymphocytes potentiellement autoréactifs les lymphocytes T régulateurs.

Des études cliniques ont mis en évidence la relative persistance de ces lymphocytes régulateurs dans le sang des patients atteints de choc septique, suggérant qu'ils seraient plus résistants au phénomène d'apoptose qui touche les autres cellules de l'immunité.

Nous avons donc voulu étudier l'évolution de cette sous-population lymphocytaire au cours des états de choc, d'appréhender leur possible relation dans la réorientation des réponses immunes en étudiant certaines cytokines souvent impliquées dans les processus inflammatoires et la fonctionnalité d'un autre type de lymphocytes essentiels dans la phase initiale de la réponse immune, les cellules NK (*natural killer*).

Après un rappel sur les mécanismes cellulaires intervenant au cours de la reconnaissance des pathogènes, nous évoquerons le phénomène d'immunoparalysie, ses bases physiopathologiques supposées et ses conséquences cliniques. Nous reviendrons sur la nature et le rôle des lymphocytes T régulateurs avant d'aborder ses éventuelles implications dans cette paralysie immunitaire.

Ensuite, nous présenterons notre étude, ses résultats que nous commenterons aux vues des données de la littérature.

Le système immunitaire face à l'agression

I Généralités

Notre environnement est peuplé d'une myriade de micro-organismes : virus, bactéries, levures, protozoaires et parasites multicellulaires. Ils peuvent provoquer des maladies, et entraîner la mort s'ils se multiplient de façon incontrôlée. Chez les individus normaux, la plupart des infections guérissent rapidement et laissent peu de séquelles, grâce au système immunitaire qui combat les agents en cause.

Comme les micro-organismes existent sous des formes tellement différentes, il faut que les réponses immunitaires soient également diversifiées pour faire face à chaque type d'infection.

La limite extérieure du corps est formée par la peau et les muqueuses. Si peu d'agents infectieux peuvent traverser la peau intacte, beaucoup pénètrent à travers les épithéliums des tractus digestif ou urogénital. D'autres peuvent infecter les voies aériennes supérieures et le poumon. Quelques-uns, par exemple le parasite du paludisme ou le virus de l'hépatite B, ne peuvent infecter l'hôte que s'ils pénètrent directement dans le sang.

Le lieu de l'infection et la nature de l'agent infectieux déterminent le type de réponse immunitaire qui sera mis en jeu : de nombreuses bactéries et des parasites de grande taille se localisent dans les tissus, les liquides biologiques ou d'autres espaces extracellulaires, d'autres se multiplient dans les cellules de l'hôte ; ce qui suscitera des réponses immunitaires très différentes.

D'une manière générale, le système immunitaire devra donc :

- ✓ Reconnaître l'agresseur
- ✓ Le détruire et l'éliminer

Ainsi interviendront des réponses immédiates et aspécifiques – l'inflammation et la réponse immune innée – puis des réponses plus spécifiques permettant la résolution de l'agression.

1. L'inflammation

L'inflammation est une réponse physiologique normale immédiate et transitoire à toute agression compromettant l'intégrité de l'organisme. Les quatre signes cardinaux ont été mentionnés voici plus de 2000 ans par Cornelius CELSUS : *notae vero inflammationis sunt quattro : rubor et tumor cum calor et dolore.*

La réponse inflammatoire est initiée par toute agression affectant l'intégrité tissulaire. Cette agression engendre des signaux de danger. Lorsque ces signaux proviennent d'un processus infectieux, la réponse inflammatoire se confond alors avec l'immunité innée.

Cependant, en 1994, P. MATZINGER (1) donna une nouvelle vision à la définition de l'immunologie et de la réponse immune, en préconisant que le système immunitaire était, non pas en place pour discriminer le soi du non soi, mais pour reconnaître et réagir aux signaux de danger. Elle suggéra que toute agression de tissus normaux est à l'origine de signaux d'alarme, initiateurs de l'activation d'une réponse immunitaire. P. MATZINGER conçoit essentiellement le concept de danger comme un signal interne. Le pathogène est reconnu par les dégâts qu'il engendre ; « *the 4 Ds of the danger model : distress, damage, destruction and death.* »

Un grand nombre de produits microbiens est reconnu spécifiquement par l'hôte infecté. Ces substances microbiennes correspondent à des motifs moléculaires particuliers (*Pathogen Associated Molecular Pattern, PAMP*) reconnus par les récepteurs des surfaces membranaires des cellules spécialisées du système immunitaire (*Pattern Recognition Receptor, PRR*) dont les molécules TLR (*Toll-like receptor*) constituent le prototype (2, 3). La reconnaissance innée des produits microbiens est un système très ancien de défense de l'hôte puisqu'il existe des similitudes frappantes entre les systèmes de reconnaissance innées

chez les mammifères, la drosophile et les plantes. Chez la drosophile et chez les mammifères, les deux familles de protéines trans-membranaires appelées *Toll* et *Toll-like Receptors* sont des éléments clés de la réponse innée et représentent le modèle des PRR comme mentionné précédemment (4).

Toute réponse immunitaire passe d'abord par la *reconnaissance* du pathogène ou d'une substance étrangère, et ensuite par le développement d'une réaction destinée à les éliminer. Schématiquement, les différents types de réponses se répartissent en deux catégories :

- *l'immunité innée* ou naturelle
- *l'immunité adaptative* dite aussi acquise.

Deux caractéristiques importantes les distinguent : la spécificité de l'immunité adaptative, limitée à l'agent pathogène ou à la substance étrangère, et à la mémoire qu'elle garde des contacts antérieurs, évitant ainsi une ré-infection par le même agent, alors que la réponse de l'immunité naturelle n'est pas modifiée par les contacts répétés avec un même pathogène.

Les réponses immunitaires tiennent essentiellement à l'intervention des leucocytes, dont on distingue divers types.

2. La réponse immunitaire innée

La réponse innée utilise les cellules phagocytaires (neutrophiles, monocytes et macrophages), les cellules capables de libérer des médiateurs de l'inflammation (basophiles, mastocytes, éosinophiles) et les cellules NK (natural killer).

Les médiateurs solubles de l'immunité innée comprennent le complément, les protéines de la phase aiguë (acute-phase proteins, par exemple la CRP) et des cytokines (exemple : les interférons, interleukines...).

3. La réponse immunitaire adaptative

Les lymphocytes B et T assument à eux seuls la responsabilité de la reconnaissance spécifique des pathogènes. Ils lancent ainsi le processus de l'immunité adaptative : reconnaissance spécifique des micro-organismes, que ceux-ci soient à l'intérieur des cellules de l'hôte ou à l'extérieur dans les liquides biologiques, prolifération des cellules B et T (sélection clonale) après fixation de l'antigène à leur récepteur de surface. Certaines cellules, nommées « cellules présentatrices d'antigène » (APCs), sont spécialisées dans la présentation des structures antigéniques aux lymphocytes et collaborent avec ces cellules dans l'élaboration de leur réponse.

3.1 Les lymphocytes B

Chaque cellule B est programmée génétiquement pour produire un récepteur de surface spécifique à un antigène particulier. Ayant reconnu son antigène spécifique, la cellule B se divise et se différencie en plasmocyte, qui sécrète en quantité le récepteur spécifique sous une forme soluble, qui exercera l'activité dite d'anticorps ou immunoglobuline (Ig). Ces anticorps sont des glycoprotéines présentes dans le sang et les liquides extracellulaires. Ils se lient à l'antigène qui a déclenché l'activation des cellules B, car leur structure est presque identique à celle des récepteurs des cellules B ainsi activées.

3.2 Les lymphocytes T

Il existe plusieurs types différents de lymphocytes T ; ils exercent diverses fonctions.

- ✓ Un groupe interagit avec les phagocytes mononucléaires et les aide à détruire les pathogènes intracellulaires ; ils sont appelés T auxiliaires de type 1 ou cellules Th1.
- ✓ Un autre groupe interagit avec les cellules B et les aide à se diviser, à se différencier et à produire des anticorps : ce sont les cellules Th2.
- ✓ Un troisième groupe de cellules T est responsable de la destruction des cellules de l'hôte infectées par des virus ou des parasites intracellulaires. Cette activité est appelée cytotoxicité et ces cellules sont appelées cellules T cytotoxiques (Tc).

Ces trois groupes de cellule T reconnaissent les antigènes seulement quand ceux-ci sont présentés à la surface d'autres cellules par les molécules dites du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Pour cela, les lymphocytes T utilisent un récepteur spécifique appelé récepteur d'antigènes des cellules T (TCR). Par sa fonction et sa structure, ce récepteur ressemble aux anticorps de surface que les cellules B utilisent comme molécules réceptrices.

Les Lymphocytes T exercent leurs fonctions soit par la libération de cytokines, protéines solubles qui délivrent des signaux aux autres cellules, soit par contact direct.

4 La coopération cellulaire.

Les interactions entre lymphocytes et phagocytes sont fréquentes. Par exemple, des phagocytes absorbent des antigènes et les présentent aux lymphocytes T. De leur côté, les lymphocytes T sécrètent des cytokines qui activent les phagocytes, ce qui les rend capable de tuer les micro-organismes qu'ils ont captés.

Dans un autre type d'interaction, les phagocytes utilisent les anticorps produits par les lymphocytes B pour reconnaître les agresseurs.

La plupart des réponses immunitaires reposent donc sur la complémentarité des deux types d'immunité, la naturelle et l'adaptative. Au stade initial de l'infection, l'immunité naturelle tient le premier rôle. Plus tard, les lymphocytes prennent le relais et, grâce à leur spécificité et à l'effet mémoire, ils réagissent, lors d'un second contact avec l'agent infectieux, de manière plus rapide et plus efficace.

5 Tissus et organes du système immunitaire.

Toutes les cellules du système immunitaire dérivent de cellules souches totipotentes localisées dans le foie foetal ou la moelle osseuse puis circulent dans le liquide extracellulaire. Les lymphocytes B atteignent leur maturité à l'intérieur de la moelle osseuse alors que les lymphocytes T doivent voyager jusqu'au thymus pour compléter leur développement.

Les réponses immunitaires adaptatives sont générées dans les nodules lymphatiques, la rate et le tissu lymphoïde associé aux muqueuses (mucosa-associated lymphoid tissue, MALT).

Dans la rate et les nodules lymphatiques, l'activation des lymphocytes par l'antigène survient dans des compartiments distincts pour les lymphocytes T et B. Une caractéristique morphologique de la zone des lymphocytes B est l'existence d'un follicule secondaire contenant un centre germinatif où les réponses des cellules B surviennent au sein d'un réseau de cellules dendritiques.

Les tissus de type MALT, incluant les amygdales palatines, adénoïdes et les plaques de Peyer défendent les surfaces muqueuses. Des collections diffuses de cellules lymphoïdes sont présentes au sein des poumons et de la lamina propria de la paroi intestinale.

II Réponses immunitaires : trois niveaux de défense (5-7)

Pour qu'il y ait infection, le pathogène doit d'abord surmonter de nombreuses barrières de surface telles que des enzymes ou le mucus, qui sont soit directement antimicrobiennes soit inhibent l'attachement du pathogène. Puisque ni les surfaces kératinisées de la peau, ni les cavités corporelles tapissées de mucus ne constituent un lieu d'hébergement idéal pour la plupart des micro-organismes, ceux-ci doivent traverser l'ectoderme. S'ils parviennent à rompre cette première ligne de défense, les agents pathogènes rencontrent alors les deux niveaux de défense suivants : les réponses immunitaires innées et adaptatives.

(Figure 1).

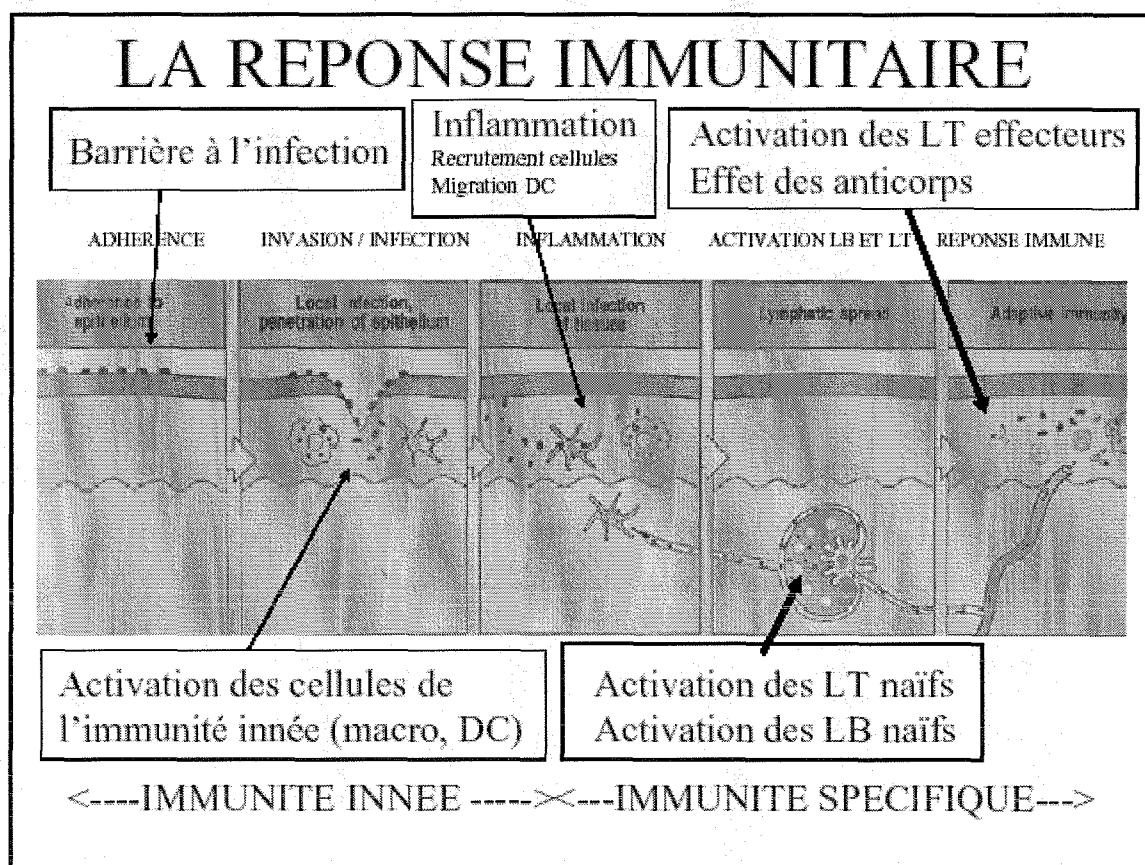


Figure 1. Schématisation de la réponse immunitaire.

1. Reconnaissance de l'antigène.

1.1. Les antigènes

L'organisme est potentiellement capable de répondre à n'importe quel composant qui se lie à un récepteur du système immunitaire inné ou adaptatif. Les molécules reconnues par les récepteurs de la surface lymphocytaire sont nommées antigènes.

A l'origine, le terme antigène désignait toute molécule susceptible d'induire la production d'anticorps spécifiques par les lymphocytes B (*antisomatogène*). Ce terme s'applique aujourd'hui à toute molécule qui peut être reconnue de façon spécifique par le système immunitaire, c'est-à-dire par les cellules T, les cellules B ou les deux.

1.2. Les épitopes

Les molécules d'anticorps ne peuvent se lier à un agent infectieux en entier, mais chacune d'entre elles reconnaît une seule des multiples molécules -antigènes- à la surface du micro-organisme. Il existe donc pour chaque micro-organisme de nombreux anticorps différents, chacun se fixant sur la surface du microbe. Chaque anticorps se fixe sur une zone de la molécule d'antigène appelée déterminant antigénique ou épitope.

L'antigène peut avoir une mosaïque d'épitopes différents ou bien des épitopes répétitifs. Les anticorps sont, dès lors, spécifiques d'un épitope et non pas de l'ensemble de la molécule d'antigène.

1.3. Exemples

Il existe, ainsi, une différence nette dans la réponse face aux bactéries à gram-négatif ou gram-positif. En effet, alors que les bactéries à gram-négatif contiennent toutes du LPS (lipopolysaccharide) comme déterminant majeur de leur pathogénicité, les bactéries à gram-positif possèdent de nombreux composants pathogéniques dans leur paroi à côté de leurs délétères exotoxines (8, 9).

(Figure 2).

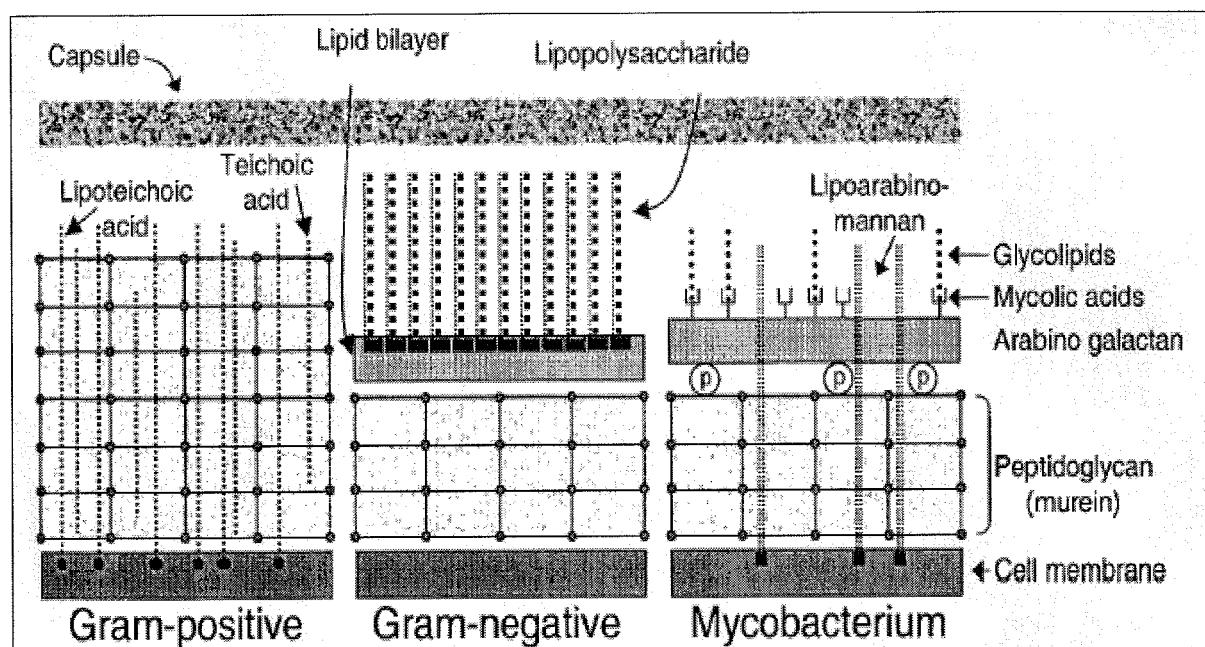


Figure 2. Architecture de la paroi bactérienne Tous les types de bactéries possèdent une membrane cellulaire entourée par une couche de peptidoglycane. LTA et LAM sont insérés dans la paroi membranaire des bactéries à gram-positif. Le LPS forme une couche externe à la membrane externe des bactéries à gram-négatif. [d'après (10)]

2. Inflammation locale et immunité innée.

Bien que le rôle essentiel des phagocytes dans la réponse immunitaire innée ait été découvert il y a plus d'un siècle, il a fallu attendre cette dernière décennie pour identifier les bases moléculaires de la reconnaissance bactérienne par ces cellules.

En 1992, l'immunologue de Yale, CHARLES JANEWAY, proposa le concept de l'existence de récepteurs cellulaires chez l'hôte reconnaissant des déterminants antigéniques bactériens conservés à travers les espèces (2). Le premier de ces récepteurs identifié fut le CD14.

En effet, ce dernier est exprimé à la surface des phagocytes et est capable de reconnaître différents types de molécules bactériennes de surface comme l'endotoxine, les lipopeptides, le lipoarabonomannan mycobactérien, la flagelline et le peptidoglycane. La liaison de ces molécules au CD14 entraîne une activation pro-inflammatoire du phagocyte, mais stimule également l'endocytose du produit bactérien (11).

Toutefois, c'est surtout l'identification d'une famille de récepteurs, les récepteurs *Toll-Like*, qui permit d'asseoir le concept de l'existence de PRR proposé par JANEWAY.

Ces récepteurs, présents au nombre d'une douzaine chez l'homme, ont des ancêtres chez les invertébrés, où ils ont été tout d'abord clonés. En moins de dix ans, des ligands microbiens ont été identifiés pour quasiment chacun de ces récepteurs (12, 13):

- ✓ ainsi, TLR4, aidé par une autre protéine, MD-2, reconnaît l'endotoxine des bactéries à gram-négatif ;
- ✓ TLR-2 lie les lipopeptides membranaires des bactéries à gram positif et négatif en association avec TLR1 ou TLR6 selon leurs structures ;
- ✓ TLR3 : l'ARN double brin viral ;

- ✓ TLR5 : la protéine flagelline, composant des flagelles des bactéries à gram positif et négatif ;
- ✓ TLR9 : l'ADN microbien (3).

Certains de ces TLR sont exprimés préférentiellement à la surface cellulaire (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 et TLR6) alors que les autres ont une expression essentiellement intracellulaire.

Le récepteur à l'endotoxine est un complexe de protéines associant TLR4, MD-2 et CD14.

L'expression des TLR n'est pas restreinte aux cellules phagocytaires, mais plutôt ubiquitaire.

Notamment, les cellules non myéloïdes participant à la réponse immunitaire innée, comme les cellules endothéliales et épithéliales, expriment un certain nombre de ces récepteurs (13).

Les récepteurs TLR ont une structure commune, avec un domaine extracellulaire composé d'éléments répétitifs riches en leucine et d'une portion intracytoplasmique cousine de celle du récepteur à l'IL-1 (3). La reconnaissance et la liaison d'un ligand bactérien à son TLR entraînent invariablement une activation de la cellule (12).

Durant cette dernière décennie, les voies de signalisation intracellulaires d'activation des TLR ont été découvertes. La plus importante est celle aboutissant à l'activation du facteur de transcription NF-κB. Il s'ensuit une activation d'une série de gènes encodant pour des médiateurs de l'inflammation, cytokines et chimiokines :

➤ *les cellules stimulées par les ligands bactériens, reconnus par les TLR, modifient profondément leurs programmes génétiques et deviennent des cellules effectrices de l'immunité innée.*

2.1. Acteurs cellulaires locaux.

2.1.1. Epithélium et endothélium.

Les cellules épithéliales sont souvent en première ligne lors d'une agression microbienne tandis qu'au sein des tissus, les macrophages résidents et les mastocytes sont rapidement activés par les agents pathogènes et les produits microbiens.

Les interactions avec les pathogènes et produits microbiens aboutissent à la libération de facteurs vasoactifs qui agissent sur l'endothélium. De même, l'activation des fibres nerveuses sensorielles aboutit à la libération de substance P dont l'action sur les mastocytes favorise également la libération de médiateurs accroissant la vasodilatation et l'extravasation plasmatische tels que l'histamine.

Les mastocytes sont également la source de cytokines préformées qui, une fois libérées de façon précoce, jouent un rôle essentiel dans l'immunité innée. Cela a été démontré tout particulièrement pour le *Tumor Necrosis Factor* (TNF) dans des modèles d'infections pulmonaires et péritonéales (14, 15). Les mastocytes peuvent être directement activés par des produits microbiens (par exemple, *fimbriae* via CD48, peptidoglycane via TLR2). Leur interaction avec les bactéries et leur pouvoir microbicide peuvent être amplifié par le *Stem Cell Factor* (SCF) produit localement par les cellules épithéliales.

Ces dernières sont tout particulièrement la source de chémokines qui favoriseront le recrutement des leucocytes circulants.

2.1.2. La migration leucocytaire : de la circulation sanguine au site de l'infection

Les cellules endothéliales jouent un rôle essentiel par leur position à l'interface entre les tissus et les vaisseaux sanguins. L'augmentation de la perméabilité vasculaire en réponse aux amines vasoactives favorise la transsudation des protéines plasmatiques.

Ainsi de nombreux acteurs moléculaires plasmatiques peuvent agir au sein même des tissus. L'activation des cellules endothéliales aboutit à l'expression accrue de molécules d'adhérence (P-sélectine, E-sélectine – ELAM-1) et de molécules de la superfamille des immunoglobulines (*Intercellular Adhesion Molecule 1 et 2 ou ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1*) capables d'interagir avec leurs ligands à la surface des leucocytes circulants (Lewis X, LFA-1 [CD11a/CD18], CR3 [CD11b/CD18], VLA4).

À proximité d'un foyer infectieux, ces molécules d'adhérence, dont l'expression est grandement accrue à la surface des cellules endothéliales sous les effets de l'interleukine-1 (IL-1), de l'interféron γ (INF- γ) et du TNF, participent à :

- ✓ La capture et à l'étape de roulement des leucocytes (« rolling ») sur l'endothélium (L-sélectine et P-sélectine) ;

- ✓ L'adhérence des leucocytes sanguins (*Ig superfamily*) avant que ces derniers ne marginent vers le tissu conjonctif en réponse aux signaux délivrés par les chémokines. (Figure 3)

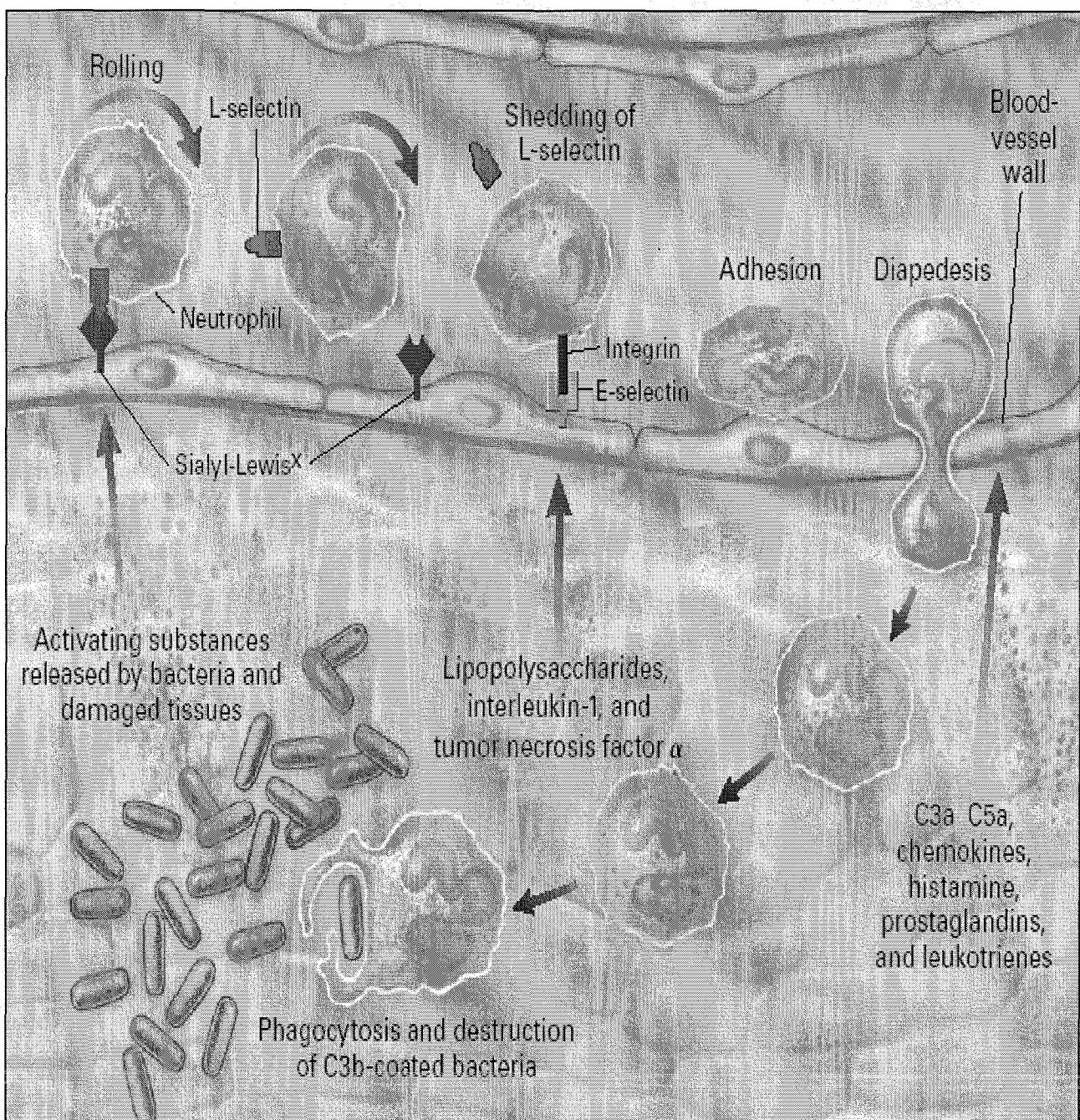


Figure 3. Les neutrophiles sont parmi les premières cellules à parvenir au niveau du foyer infectieux. Alors qu'ils roulent le long de la paroi vasculaire (rolling), la L-sélectine de leur surface se lie à des structures carbohydrate comme le sialyl-LewisX, des molécules d'adhésion de l'endothélium vasculaire. Ceci met un terme au rolling du neutrophile, qui devient activé et remplace la L-sélectine par d'autres molécules d'adhésion, comme les intégrines. Ces molécules se fixent sur la E-sélectine, présente sur la paroi endothéliale en réponse aux médiateurs inflammatoires (LPS, IL-1, INF α). Le neutrophile pénètre alors dans le tissu sous l'influence de chémo-attractants et peut alors phagocytter les micro-organismes enduits de C3b. (d'après (15)).

2.2. Acteurs cellulaires recrutés.

2.2.1. Les plaquettes.

Lors d'une altération ou d'une lésion de l'endothélium, les plaquettes adhèrent à ce dernier. L'adhérence des plaquettes au facteur von Willebrand présent dans le sous-endothélium s'accompagne d'une activation de celles-ci. Elles expriment alors à leur surface la P-sélectine qui favorise l'adhérence des neutrophiles et des monocytes circulants. De plus, l'activation plaquettaire aboutit à la libération et à l'activation de nombreux médiateurs vasoactifs, de vasoconstricteurs comme le thromboxane A2, de substances chimiotactiques comme le facteur plaquettaire 4 (PF4), des protéases et des facteurs de la coagulation.

Plus récemment, plusieurs équipes de recherche ont rapporté la présence de Toll-like receptor 4 (TLR4) sur la surface membranaire des plaquettes (16). D'autres travaux ont montré qu'une fois le ligand de TLR4 fixé sur son récepteur, les plaquettes ainsi activées se fixaient sur les neutrophiles adhérents à l'endothélium (principalement des sinusoides hépatiques et des capillaires pulmonaires), entraînant leur activation et la formation de NET (*Neutrophil Extracellular Trap*). Ces derniers participent à la capture des bactéries, à leur endiguement dans le réseau vasculaire et à leur destruction (17).

2.2.2. Les polymorphonucléaires (PMN) neutrophiles, phagocytes de vie courte.

Les PMN neutrophiles représentent plus de 95% des granulocytes circulants. Ils ont une durée de vie courte (2-3 jours) par comparaison aux monocytes/macrophages, qui peuvent vivre pendant des mois ou des années.

Leur recrutement sur le site de l'inflammation est rapide. Leur margination se fait en réponse aux chémokines produites localement, à d'autres facteurs chimiотactiques comme l'anaphylatoxine C5a libérée lors de l'activation du système du complément et à la présence de molécules chimiотactiques d'origine bactérienne (cf. figure 3).

Parmi les différentes chémokines impliquées dans le recrutement local des neutrophiles, l'IL-8 accroît la capacité de phagocytose et le pouvoir microbicide des neutrophiles, favorise la libération des protéases et du contenu des granules, amplifie l'expression de certains marqueurs de surface.

Par voie de conséquence, l'altération du recrutement des neutrophiles chez des souris déficientes pour le récepteur de l'équivalent murin de l'IL-8 est associée à l'absence de contrôle des infections tissulaires (18).

Au cours des processus infectieux, des facteurs hématopoïétiques, absent de la moelle osseuse à l'état normal (comme le GM-CSF, *granulocyte macrophage-colony stimulating factor*) sont produits et favorisent la production de PMN neutrophiles.

L'apport exogène de G-CSF chez des souris rendues neutropéniques les protège dans différents modèles infectieux, tandis que la fréquence des épisodes infectieux est diminuée par un traitement par le G-CSF chez des patients en aplasie post-chimiothérapie.

Les neutrophiles activés par les cytokines (par exemple, IL-1 ou TNF) libèrent le contenu de leurs granules azurophiles et secondaires, en particulier de nombreuses protéases. Leur activation s'accompagne également d'une explosion oxydative, libérant des radicaux libres de l'oxygène. L'ensemble de cette activation permet une activité microbicide accrue des neutrophiles.

Par exemple, chez des souris invalidées pour l'élastase, une des protéases majeures des neutrophiles, l'infection n'est plus contrôlée avec autant d'efficacité. Le déficit héréditaire de la NADPH oxydase, impliquée dans la génération d'anions superoxydes, observée dans la granulomatose chronique est elle-même associée à une susceptibilité accrue aux infections.

Enfin, notons que les neutrophiles contiennent également des α -défensines qui représentent 30 à 50% du contenu protéique des granules azurophiles. Les α -défensines sont des peptides cationiques microbicides. En outre, elles sont aussi chimiotactiques pour les monocytes et de façon indirecte pour les neutrophiles. Ces peptides favorisent également la phagocytose des macrophages, la libération d'histamine et de prostaglandine D2 (PGD2) par les mastocytes et la production d'IL-8 par les cellules épithéliales.

On peut cependant constater que les neutrophiles, dont l'action contre la réPLICATION bactérienne ou fongique est bénéfique au cours des processus inflammatoires d'origine infectieuse, peuvent jouer un rôle délétère dans de nombreuses pathologies en dégradant les tissus et en provoquant un syndrome inflammatoire persistant, empêchant parfois les processus de cicatrisation.

Outre les produits oxydants, ces processus de dégradation incluent l'élastase et des enzymes protéolytiques. L'activation des neutrophiles par les cytokines, et particulièrement par le TNF- α , entretient tous les effets secondaires provoqués par les médiateurs de l'inflammation produits par ces cellules.

2.2.3. Les monocytes/macrophages, sentinelles de l'immunité innée.

Les monocytes sont ultérieurement recrutés dans les tissus où ils acquièrent le phénotype de macrophages.

L'IL-6 et son récepteur soluble (sIL-6R) jouent un rôle important dans la commutation du recrutement des neutrophiles aux monocytes, en favorisant la production des chémokines spécifiques des monocytes et en réprimant la libération des chémokines spécifiques des neutrophiles (19).

Les monocytes/macrophages sont la source majeure des cytokines pro- et anti-inflammatoires.

Expérimentalement, la neutralisation de chémokines spécifiques à leur recrutement (par exemple, le *Monocyte Chemoattractant Protein-1*, MCP-1) dans un modèle d'infection pulmonaire, a pour conséquence de limiter le processus inflammatoire, estimé par la concentration des cytokines de l'inflammation dans le lavage broncho-alvéolaire, ce qui conduit à un moindre contrôle du processus infectieux (20).

Il est intéressant de noter qu'un recrutement limité de neutrophiles est également observé, laissant supposer que les macrophages recrutés sur le site infectieux contribuent à leur tour, par la synthèse de chémokines spécifiques, au recrutement secondaire des neutrophiles. Les monocytes/macrophages peuvent aussi être activés par le M-CSF et l'INF- γ qui accroissent par ailleurs leur activité microbicide.

In vitro, les monocytes/macrophages phagocytent activement les micro-organismes et même les cellules tumorales. L'adhérence aux bactéries et ensuite leur ingestion passent par des récepteurs spéciaux, qui s'attachent surtout aux sucres et aux lipides présents sur la

surface microbienne. Ils comprennent les récepteurs dits « éboueurs » (scavenger), les récepteur de la famille « Toll » et les récepteur pour le mannose. Les monocytes/macrophages ont aussi des récepteurs pour l'IgG et le complément dont les bactéries peuvent être couvertes.

2.3. Médiateurs solubles de la réponse innée.

Plusieurs familles de protéines prennent une part importante à la reconnaissance des molécules bactériennes. Ces molécules sont la plupart du temps présentes dans les liquides biologiques comme le plasma, les sucs digestifs ou les sécrétions respiratoires. La concentration de certaines de ces protéines augmente lors d'une agression bactérienne. Il s'agit essentiellement de protéines de la phase aiguë (21).

2.3.1. Système du complément.

Le système du complément joue un rôle important dans la reconnaissance d'agents bactériens pathogènes (22). Il s'agit d'une famille de protéines plasmatiques s'activant en cascade, donnant naissance à des molécules effectrices ayant un rôle antibactérien direct (lyse bactérienne) ou opsonisant.

Certains fragments du complément ont également un rôle chimiotactique et activateur des phagocytes, et donc pro-inflammatoire.

Son activation peut être initiée soit par :

- ✓ Des complexes immuns (voie classique).
- ✓ Des oligosaccharides microbiens (voie des lectines).
- ✓ Divers composants de surface des pathogènes (voie alterne).

L'activation du complément aboutit à la formation de composants comme le C3b, C3d et le C3bi qui permettent l'opsonisation via les récepteurs CR1 (CD35), CR2 (CD21) et CR3 (CD11/CD18) à la surface des phagocytes.

Bien entendu, une des finalités de l'activation du complément est la formation du complexe d'attaque membranaire C5b6789 létale pour de nombreuses bactéries.

En conséquence, la majorité des déficits héréditaires pour la plupart des protéines du complément est caractérisée le plus souvent par des infections à répétition.

Par ailleurs, la génération des anaphylatoxines C3a et C5a au cours de l'activation du système du complément entretient ou favorise le processus inflammatoire.

Ainsi, les anaphylatoxines induisent :

- ✓ la libération d'histamine par les mastocytes et les basophiles,
- ✓ accroissent la perméabilité vasculaire,
- ✓ favorisent la contraction des muscles lisses,
- ✓ présentent des propriétés chimiotactiques à l'égard des leucocytes.

De plus, l'anaphylatoxine C5a amplifie la production de cytokines de l'inflammation par les monocytes activés par le LPS (23): ainsi, expérimentalement, des souris déficientes en C5, présentent des taux plus faibles de TNF plasmatique et des index de sévérité bien moindre que des souris normales lors du choc endotoxinique.

Aussi, l'inhibition du complément par un inhibiteur C1 ou un blocage du C5a présente des effets bénéfiques dans des modèles de choc septique. Néanmoins, l'absence de C3 ou de C4 accroît la susceptibilité des souris à l'endotoxine.

2.3.2. Les cytokines.

❖ Rôle et nature

Le terme de cytokine désigne un ensemble de molécules impliquées dans la communication intercellulaire durant la réponse immunitaire. Toutes sont des polypeptides glycosilés ou non.

Les interleukines forment un vaste groupe (IL-1 à IL-22), elles sont produites essentiellement par les cellules T, bien que certaines puissent être produites par des phagocytes mononucléaires ou par d'autres cellules. Elles ont de multiples fonctions et la plupart contrôlent la différenciation et la prolifération des cellules.

❖ L'IL-1 et le TNF

Parmi les différentes cytokines, l'**IL-1** et le **TNF** jouent un rôle majeur dans l'orchestration de l'inflammation.

Sous leur action, de nombreuses cellules produisent des médiateurs lipidiques, des enzymes protéolytiques, des radicaux libres, des chémokines ; autant de facteurs impliqués dans l'entretien du processus inflammatoire.

- ✓ L'IL-1 et le TNF sont responsables de nombreux effets systémiques : hypotension, hypoglycémie, dépression du fer et du zinc plasmatique.

- ✓ L'IL-1 et/ou le TNF possèdent des activités cytotoxiques vis-à-vis de l'endothélium vasculaire, le cartilage, l'os et le muscle.
- ✓ Au niveau des cellules endothéliales, IL-1 et TNF favorisent l'expression du facteur tissulaire (FT) et accroissent les molécules d'adhérence.
- ✓ Agissant au niveau du système nerveux central, elles sont responsables de la fièvre et de l'activation de l'axe neuro-endocrinien et de la production de *Corticotropin releasing factor*, d'hormone adrénocorticotrope (ACTH) et de glucocorticoïdes.

Les bactéries ou les produits qui en dérivent, membranaires ou sécrétés, ont la capacité d'induire la production d'IL-1 et de TNF. Les chocs hémorragiques et les phénomènes d'ischémie/reperfusion entraînent des états d'hypoxie qui activent également la production de cytokines.

L'action combinée de plusieurs produits d'origine microbienne aboutit ainsi à une amplification de la production de cytokines responsables d'une toxicité accrue.

Par exemple, la létalité induite par *Candida albicans* est augmentée par l'injection simultanée de LPS. C'est également le cas des endotoxines et des exotoxines qui, associées, présentent une toxicité bien supérieure à celle observée avec les produits microbiens injectés individuellement.

Des cytokines comme l'IL-3 ou le GM-CSF amplifient la réponse inflammatoire en augmentant les productions d'IL-1 et de TNF par les macrophages.

Il en est de même pour l'INF- γ dont la production est induite et/ou accrue par l'IL-12 et l'IL-18.

Par des boucles amplificatrices autocrines, l'IL-1 et le TNF- α augmentent la transcription de messagers d'IL-1 et de TNF- α . Cette amplification de production est accrue

par l'arrivée massive d'autres macrophages et de lymphocytes qui participeront à la réponse inflammatoire en produisant de l'INF- γ , de l'IL-3 et d'autres facteurs de différenciation tels que les GM-CSF et M-CSF qui agissent en synergie avec des signaux d'activation exogènes.

2.3.3. Autres médiateurs solubles.

- ❖ Les **chémokines**, cytokines possédant un pouvoir chimiotactique.
- ❖ Les **eicosanoïdes** (leucotriène, prostaglandine, thromboxanes) et le *Platelet-Activating Factor*, action sur le tonus vasculaire, la perméabilité et l'agrégation plaquettaire.
- ❖ Les **radicaux libres** (anion superoxyde), produit au cours du stress oxydatif, contribue à l'activité bactéricide.
- ❖ Les **protéases** : élastases, plasmine, kallikréine, *Plasminogen activator*, collagénase, hydrolases acides, cathépsine G.

3. Immunité adaptative.

La reconnaissance spécifique des antigènes est par essence la caractéristique de la réponse immunitaire adaptative.

Deux sortes de molécules sont impliquées dans ce processus :

- ✓ les immunoglobulines (Ig)
- ✓ les récepteurs d'antigène des lymphocytes T (TCR).

Ces deux familles de molécules sont caractérisées par leur diversité et leur extrême variabilité, dues à des recombinaisons génétiques permettant de produire des TCR ou des Ig de surface différentant les uns des autres et capables de reconnaître une grande variété d'antigène (Ag).

3.1. Les immunoglobulines, une famille de protéines.

Chez la plupart des mammifères les plus évolués, on distingue cinq classes d'Ig : IgG, IgA, IgM, IgD, et IgE.

Elles diffèrent par leur poids moléculaire, leur charge, leur composition en acides aminés et leur contenu en hydrates de carbone. A ces différentes classes, il s'ajoute une hétérogénéité à l'intérieur de chaque classe.

(Figure 4)

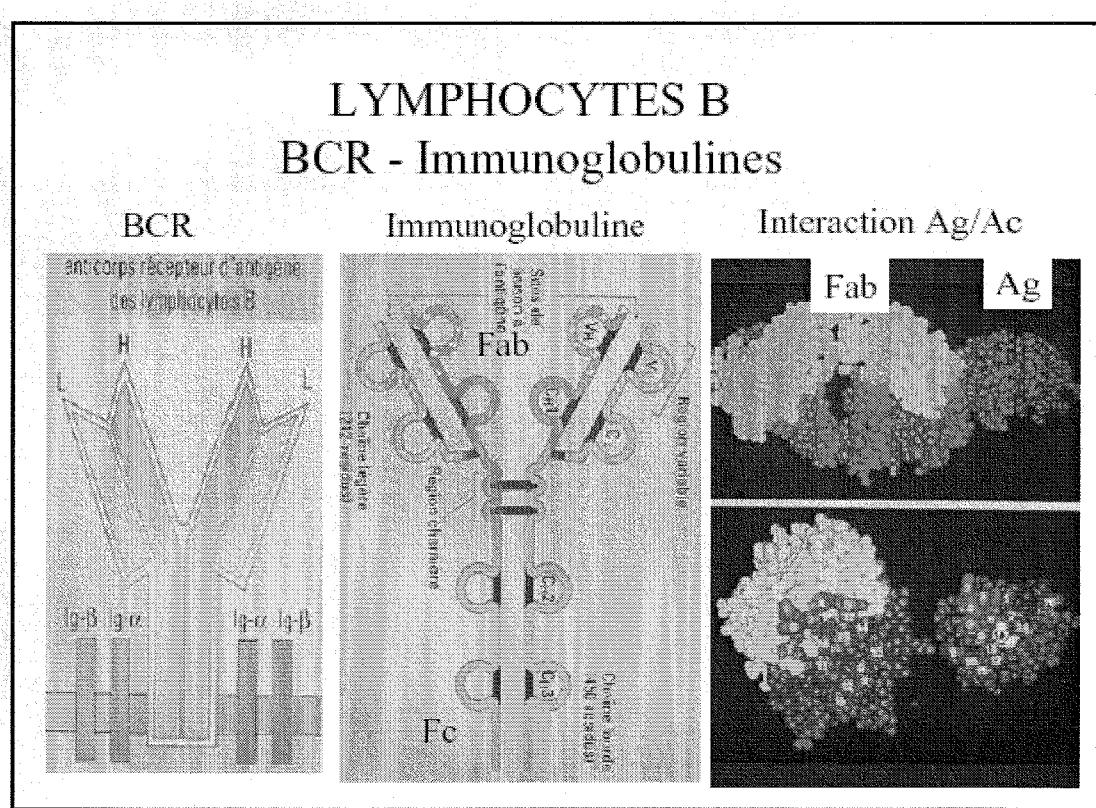


Figure 4. Les récepteurs des lymphocytes B (BCR, à gauche) sont constitués de deux chaînes lourdes (H) identiques entre elles et de deux chaînes légères (L) identiques entre elles. En outre, les constituants secondaires (Ig- α et Ig- β) sont étroitement associés au récepteur primaire et participent à la transmission du signal intracellulaire. Au centre, structure de base d'une Ig circulante. A droite, schématisation de l'interaction Ac-Ag. (Adapté de (5)).

Les immunoglobulines sont formées d'une unité de base comprenant deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères disposées dans l'ordre chaînes légère-lourde-lourde-légère(5, 24).

Les chaînes lourdes diffèrent selon les classes.

Les IgA et les IgM peuvent être des polymères de l'unité de base à quatre chaînes.

Les chaînes sont repliées en régions distinctes appelées domaines. Il y a deux domaines dans la chaîne légère et quatre dans la chaîne lourde selon la classe d'Ig.

Les régions hypervariables forment les sites de liaison à l'Ag. Le domaine V de chacune des chaînes légères et lourdes contient trois régions de ce type. Elles se trouvent réunies, suite aux replis des domaines V, dans la partie distale de la molécule, où elles forment les deux sites de fixation antigénique (Fab) de chaque unité de base à quatre chaînes.

Tous les anticorps sont au moins bifonctionnels : outre leur fixation à l'antigène, ils exercent une ou plusieurs fonctions effectrices.

Ces activités biologiques (par exemple, l'activation du complément et la liaison aux cellules) dépendent de sites distants de ceux qui fixent l'antigène. Ils sont essentiellement dans la région Fc.

Les récepteurs pour les Ig sont exprimés par les cellules mononucléaires, les neutrophiles, les cellules NK (*Naturel Killer*), les éosinophiles et les mastocytes.

Ils interagissent avec les régions Fc des différentes classes d'immunoglobulines et stimulent des activités comme la phagocytose, la destruction de cellules tumorales et la dégranulation des mastocytes.

La plupart des récepteurs Fcy sont membres de la superfamille des immunoglobulines, et leur partie extracellulaire est constituée de deux ou trois domaines d'immunoglobulines.

Les Ac sont hautement spécifiques de la conformation tridimensionnelle de l'épitope. Ils sont caractérisés par leur affinité à l'Ag, c'est-à-dire la force de liaison qui unit un seul épitope à un site de combinaison antigénique de l'Ac. L'affinité fonctionnelle ou avidité de l'interaction dépend du nombre de sites de liaison que possède l'Ac et la possibilité qu'il a de réagir avec de multiples épitopes de l'Ag.

Le système immunitaire est capable de reconnaître et de répondre à beaucoup d'Ag en générant une grande diversité dans les anticorps produits par les lymphocytes B. Cette diversité est assurée par des recombinaisons entre les groupes de segments géniques V, D et J (encodant pour les domaines variables des chaînes légères), chaque groupe comportant un nombre limité et variable de segments.

Les chaînes légères et lourdes subissent, de plus, des modifications structurales à la suite des mutations somatiques qui surviennent après stimulation antigénique. Elles permettent un ajustement précis de l'affinité des anticorps.

3.2. Les récepteurs des cellules T (TCR) et les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

Les TCR sont des hétérodimères de glycoprotéines liées par des ponts disulfure ($\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$) qui permettent aux cellules T de reconnaître une grande variété d'antigènes.

Contrairement aux Ig, les TCR ne sont produits que sous forme transmembranaire. Ils sont associés, sur la surface cellulaire, à un complexe de plusieurs polypeptides appelés CD3.

Le mode de reconnaissance des Ag est assez différent de celui des Ig. La différence la plus nette réside dans le fait que les cellules T ne reconnaissent pas des Ag libres mais bien

des fragments d'Ag liés et présentés par des molécules spécialisées dans ce mode de présentation.

Le groupe le plus important de molécules présentatrices d'Ag sont les molécules de classe I et II du CMH qui présentent les polypeptides aux cellules T.

Récemment, d'autres molécules présentatrices d'Ag ont été identifiées, comme CD1 qui présente des Ag lipidiques et glycolipidiques.

Le TCR est encodé par quatre gènes différents : les gènes α et β sont exprimés dans la majorité des cellules T périphériques ; les gènes γ et δ sont exprimés dans une sous-population de cellules thymiques et dans une fraction mineure des cellules T périphériques.

La diversité du TCR provient de la recombinaison entre les segments géniques V, D et J, avec des variations mineures dans chaque locus.

L'affinité de liaison d'un peptide antigénique à l'intérieur du complexe TCR-CMH-peptide conditionne l'activation de la cellule T. Les interactions de haute affinité favorisent l'activation, celles de faible affinité peuvent avoir une action antagoniste. Les molécules CD4 et CD8 se lient au complexe TCR-CMH-peptide et recrutent les tyrosine-kinases qui phosphorylent CD3, et déclenchent ainsi l'activation de la cellule T.

3.3. La sélection clonale.

L'activation des lymphocytes conduit à deux processus partiellement concurrents : la prolifération et la différenciation en effecteurs.

Il n'existe pas plus de quelques milliers de lymphocytes spécifiques d'un antigène donné.

Puisque chaque lymphocyte B est programmé pour n'exprimer qu'un seul anticorps, chaque récepteur antigénique d'un lymphocyte donné possède la même spécificité.

De tels clones lymphocytaires sont sélectionnés pour participer à la réponse immune s'ils portent à leur surface un récepteur pouvant se lier à l'antigène relevant : c'est le processus de sélection clonale. Ceci conduit à une rapide augmentation du nombre de lymphocytes T et B qui reconnaissent l'antigène. En fait, la plupart des réponses sont polyclonales puisque même les plus simples des antigènes peuvent posséder plusieurs épitopes.

Les cellules au stade final de différenciation, par exemple les plasmocytes, peuvent acquérir un tel degré de spécialisation qu'elles perdent, alors, des molécules de surface comme les classes II, et deviennent incapables de proliférer ou de répondre aux signaux régulateurs.

3.4. Activation des lymphocytes.

Les récepteurs de la surface des cellules T transmettent les signaux à l'intérieur de la cellule par des voies de transduction qui sont communes à beaucoup d'autres types cellulaires, y compris les cellules B.

Un processus essentiel est le regroupement des récepteurs qui est déclenché par l'interaction avec leur ligand. Il conduit à l'activation de kinases qui phosphorylent les résidus tyrosine des extrémités cytoplasmiques des récepteurs regroupés.

Suit alors le recrutement de kinases additionnelles et de molécules de signal qui agissent en cascade. Le résultat final de ces voies complexes est l'activation de facteurs de transcription géniques. (figure 5).

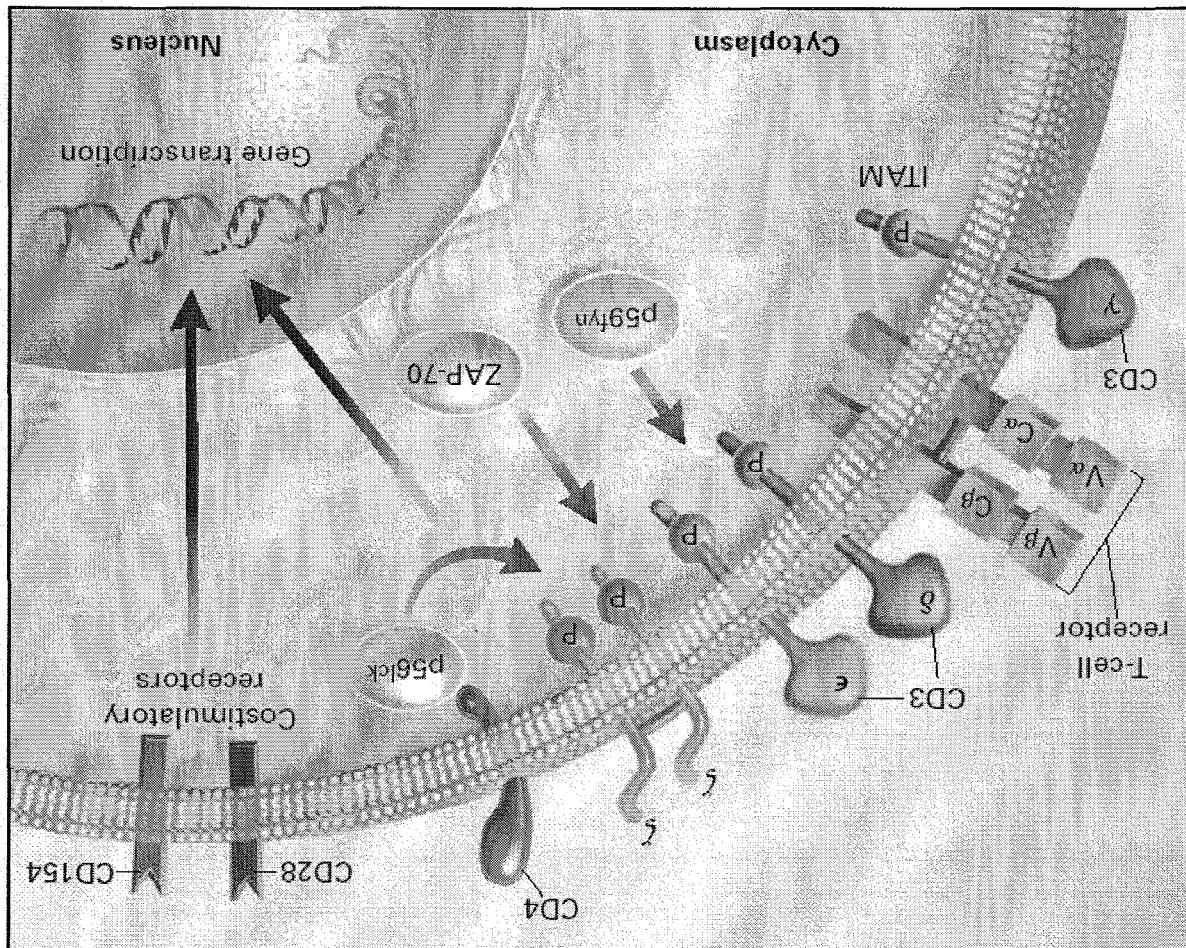
intracellulaires de CD4 ou CD8.

Il ainsi qu'à l'enzyme Lck ou p56_{Itk} (« lymphocyte kinase » de 56 kDa) attaché aux portions

des chaînes α et β du TCR sont associées aux molécules CD3γ, δ et ε, aux chaînes ζ et

❖ Les lymphocytes T.

Figure 5. L'activation des lymphocytes T implique une série complexe d'événements intégrés. Les TCRs sont associées au complexe CD3 dont la portion intracytoplasmique porte des motifs tyrosine (immunorecepteur tyrosine-based activation motifs, ITAMs) soumis à une phosphorylation par des protéine-kinases comme la tyrosine-protein kinase ZAP-70. Les étapes initiales de l'activation impliquent également la liaison de p56_{Itk}, p59_{Fyn} et ZAP-70. Les TCRs sont associées au complexe CD3 qui déclenche la signalisation intracellulaire et à la portion intracytoplasmique de CD4 (pour les Th) ou de CD8 (pour les LT cytotoxiques). Ces événements conduisent à une prolifération et à l'activation transcrituelle de gènes impliqués dans la différenciation cellulaire. (D'après (25)).



La reconnaissance du complexe CMH-antigène par le TCR et les liens établis par les molécules de co-stimulation lancent le processus de signalisation, qui commence par la phosphorylation de résidus tyrosine par les kinases de la famille Src, particulièrement Lck associée à CD4 et CD8 ainsi que Fyn, qui phosphoryle des séquences particulières appelées ITAM pour *Immuno-receptor Tyrosine-based Activator Motif*, présents dans la chaîne ζ , mais également dans Ig α , Ig β et Fc γ R.

La phosphorylation des ITAM est suivie de réactions en cascade, qui conduisent à l'activation de facteurs de transcription et à leur transfert dans le noyau. Ceux-ci agissent sur les gènes nécessaires à l'activation des cellules T, entre autres les gènes de l'IL-2 et de l'IL-2R.

La division cellulaire suit l'interaction de l'IL-2 avec son récepteur, et dès lors s'ensuit la production de cytokines.

❖ Les lymphocytes B.

Les mécanismes d'activation des cellules B et des cellules T se ressemblent. Dans les cellules B, la fonction CD3 est assurée par Ig α et Ig β (cf. figure 4) qui possèdent également des motifs ITAM dans leur portion cytoplasmique. L'interconnexion des Ig de surface conduit à l'activation des kinases de la famille Src, qui dans les cellules B, sont représentées par Fyn, mais aussi par Lyn et Blk.

❖ Les molécules de co-stimulation

La signalisation au moyen des récepteurs antigéniques en l'absence de signaux co-stimulateurs n'active pas les lymphocytes et au contraire conduit à leur anergie et à leur apoptose.

Les signaux additionnels nécessaires à l'activation lymphocytaire sont fournis par des molécules co-stimulatrices à la surface de cellules avoisinantes ou bien par des médiateurs solubles comme les cytokines.

Les molécules de la surface des lymphocytes T qui lient les molécules co-stimulatrices des APCs incluent CD28, dont le ligand est B7 ; CD154 qui se lie à CD40 et CD2, ligand de CD58 (26-28).

Les cellules dendritiques activées sont de puissants stimulateurs des lymphocytes T naïfs puisqu'elles expriment B7 et CD40 en grande quantité (29).

Un autre récepteur co-stimulateur est CD45, une phosphatase, qui joue un rôle important dans l'activation à la fois des lymphocytes T et B. La molécule co-stimulatrice qui se lie à CD45 n'est pas connue ; cela pourrait être CD22, un récepteur d'adhésion de la surface des lymphocytes B.

Les cytokines, dont IL-1, IL-6 et TNF- α fournissent également des signaux co-stimulateurs (30).

Quoi qu'il en soit, tous les signaux provenant des cytokines ne sont pas stimulateurs : l'IL-10 et le TGF- β (*transforming growth factor*) fournissent des signaux négatifs (31, 32).

❖ Classification des lymphocytes T

Les lymphocytes T CD4⁺ sont principalement des cellules dites ‘*helper*’, auxiliaires (LTh) sécrétant des cytokines alors que les lymphocytes T CD8⁺ sont des cellules dites ‘*killer*’, cytotoxiques (LTc).

Les cellules T CD4+ reconnaissent l’antigène spécifique en association avec les molécules de classe II du CMH, tandis que les CD8+ reconnaissent les antigènes en association avec les molécules de classe I.

Dès lors, la présence de CD4 ou de CD8 conduit à restreindre les catégories de cellules avec lesquelles les lymphocytes T peuvent interagir.

Les cellules T CD4⁺ peuvent être réparties en différentes sous-populations sur la base des variétés de cytokines qu’elles sécrètent :

- ✓ *Cellules Th1* : les cellules T CD4⁺ qui produisent l’IL-2 et l’interféron-γ (INFγ), mais pas l’IL-4, sont dites Th1. Elles sont surtout impliquées dans les réponses d’hypersensibilité retardée, mais peuvent aussi stimuler la production d’IgG2a, mais peu d’IgG1 ou d’IgE.
- ✓ *Cellules Th2* : les cellules T CD4⁺ qui produisent les IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 et l’IL-13, mais pas l’IL-2 ou l’INFγ, sont dites Th2. Elles sont des auxiliaires efficaces dans la production des anticorps, spécialement de l’IgG1 et de l’IgE.
- ✓ *Cellules Th0* : beaucoup de cellules T CD4⁺, particulièrement chez l’homme, sécrètent des cytokines dont la variété est intermédiaire entre la production des deux précédentes. Dites Th0, elles sont capables de produire à la fois la cytokine typique des Th1, l’INFγ et l’IL-4, qui caractérise les Th2.

❖ Polarisation de la réponse immunitaire en fonction des cytokines.

Les cytokines ont une influence cruciale sur le type de réponse immunitaire requise pour une protection optimale contre un agent infectieux donné.

Par exemple, le relargage de l'IL-12 par les APCs stimule la production d'interféron- γ par les LTh1. Cette cytokine active les macrophages, leur permettant de détruire les organismes intracellulaires.

En simplifiant, on peut dire que la production de cytokines par les LTh1 facilite l'immunité cellulaire, incluant activation macrophagique et cytotoxicité médiée par les lymphocytes T CD8 $^{+}$; d'un autre côté, les LTh2 aident les lymphocytes B à produire des anticorps.

III Résolution de l'inflammation et régulation des réponses immunitaires.

La réponse immunitaire, comme tous les systèmes biologiques, est soumise à divers mécanismes de contrôle. Ceux-ci ramènent le système immunitaire à un état de repos quand la réponse à un Ag donné n'est plus nécessaire.

Une réponse immunitaire effective est le résultat d'interactions entre l'Ag et un réseau de cellules immunologiquement compétentes. La nature de la réponse immunitaire, tant en quantité qu'en qualité, est déterminée par de nombreux facteurs : la forme et la voie d'administration de l'Ag, la cellule présentatrice d'Ag, le terrain génétique de l'individu ainsi que des expositions antérieures à l'Ag en question ou à un Ag apparenté.

1. Notions générales.

La résolution de l'inflammation, processus hautement régulé, est à l'origine de la réparation tissulaire.

Après un séjour de 24 à 48 heures, les neutrophiles s'engageront massivement vers la voie de l'apoptose, en réponse à divers signaux notamment la diminution des messagers de survie, l'activation des «death receptors» et l'inhibition du facteur de transcription nucléaire- κ B (NF- κ B) par Δ 12PGJ₂ et 15-deoxy^(Δ 12, Δ 14)-PGJ₂ (33).

Notons que la PGD₂ et ses métabolites de la famille « J » pourraient également agir comme anti-inflammatoires via l'activation des récepteurs nucléaires PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor).

Par la suite, les neutrophiles apoptotiques seront rapidement phagocytés par les macrophages signalant à ces derniers de convertir la synthèse de leurs cytokines pro-inflammatoires vers la synthèse de cytokines anti-inflammatoires.

L'ingestion de cellules apoptotiques par les macrophages inhibe la libération de TNF- α , d'interleukine 8, de GM-CSF, d'IL-10, d'IL-1 β et de thromboxane A2 (34).

De plus, l'implantation de cellules apoptotiques dans un site inflammatoire stimule la libération du TGF- β 1 (35). Le TGF- β 1 stimule la résolution de l'inflammation, ainsi que la fibrogénèse.

FADOK et ses collaborateurs (34) ont montré que la PGE₂ jouait un rôle majeur dans la commutation des cytokines pro-inflammatoires vers la synthèse de cytokines anti-inflammatoires chez les macrophages.

2. La régulation par l'antigène.

La nature de l'Ag, sa dose et sa voie d'administration peuvent profondément influencer la réponse immunitaire. Cette dernière est efficace si elle parvient à éliminer « l'agresseur ». L'exposition répétée à l'Ag est nécessaire pour maintenir la prolifération des cellules T et B. Durant une réponse immunitaire efficace, on assiste souvent à une forte expansion des cellules effectrices spécifiques. A la fin de la réponse, l'exposition à une quantité moindre d'Ag aboutit à une expression réduite d'IL-2 et de son récepteur, ce qui conduit à l'apoptose des cellules T spécifiques de l'Ag. La majorité des cellules spécifiques meurent donc et une population mineure de cellules T et B spécifiques de l'Ag survivent pour donner naissance à une population de cellules mémoire.

3. Les cellules présentatrices d'antigène.

La nature des APC qui assurent la présentation initiale de l'Ag peut déterminer l'induction d'une réponse ou d'une tolérance. L'activation efficace des cellules T nécessite l'expression

de molécules de co-stimulation à la surface des APC. Ainsi, la présentation par des cellules dendritiques ou des macrophages activés, qui expriment des taux élevés de molécules de classe II du CMH et de molécules de co-stimulation, provoque une forte stimulation des cellules T.

De plus, l'interaction du CD40L des cellules T activées avec le CD40 des cellules dendritiques est importante pour la production de taux élevés d'IL-12 nécessaire pour générer une réponse Th1 efficace.

Cependant, si l'Ag est présenté aux cellules T par des APC « non professionnelles », incapables de délivrer les signaux de co-stimulation, une absence ou une déviation de réponse en résulte. Par exemple, quand des cellules T naïves sont exposées à l'Ag présenté par des cellules B au repos, elles ne répondent pas et deviennent tolérantes.

4. Régulation par les anticorps

L'Ac lui-même peut exercer un rétrocontrôle négatif sur sa propre production. L'administration passive d'IgM, associé à l'Ag, augmente la réponse anticorps spécifique, tandis que celle d'Ac de classe IgG la supprime.

Cette propriété a trouvé des applications cliniques :

- ✓ Certains vaccins, par exemple contre les oreillons ou la rougeole, ne sont injectés qu'après l'âge d'un an, car jusqu'à 6 mois le nouveau-né possède encore des taux élevés d'IgG maternelles. La présence de ces Ac, introduits passivement par transfert placentaire, pourrait empêcher le nourrisson de répondre correctement au vaccin.

- ✓ Dans l'incompatibilité rhésus (Rh), l'administration d'Ac anti-D aux mère Rh^{neg} empêche la sensibilisation aux érythrocytes fœtaux Rh^{pos}, probablement en éliminant ces érythrocytes de la circulation maternelle.

Les mécanismes par lesquels l'Ac modifie la réponse immunitaire ne sont pas parfaitement élucidés. L'augmentation du nombre de cellules formant des plages de lyse après administration d'IgM peut s'interpréter de deux manières :

- ✓ L'IgM, en se complexant à l'Ag, facilite sa liaison par les récepteurs spécifiques de Fc ou de C3 présents sur les APC. Elle augmente ainsi la capture et la présentation de l'Ag.
- ✓ Les complexes immuns contenant des Ac IgM induisent une réponse anti-idiotypique contre l'IgM, ce qui amplifie la réponse Ac.

5. Régulation par les lymphocytes et les cytokines anti-inflammatoires.

Les lymphocytes T exercent un effet positif sur la réponse immunitaire grâce à la fonction auxiliaire des cellules Th.

Selon le type de cellules stimulées, Th1 ou Th2, la réponse à médiation cellulaire ou la production d'Ac sera favorisée.

Il est bien établi, par ailleurs, que certaines cellules T peuvent diminuer les réponses immunitaires. À part les cellules Th1 et Th2, qui peuvent réguler les réponses immunitaires par réorientation, on a de bonnes raisons de croire qu'il existe plusieurs sous-populations supplémentaires de T CD4⁺ et TCD8⁺ capables également de régulation. Elles diffèrent par les cytokines qu'elles produisent : par exemple, les LT CD4⁺CD25⁺ régulateurs (voir infra,

chapitre sur les Tregs) sécrètent de l'IL-10, tandis que les Th3 sécrètent des taux élevés de TGF β mais peu d'IL-4 ou d'IL-10.

- ✓ Cytokines anti-inflammatoires.

L'IL-4, l'IL-10, l'IL-13, le TGF β et l'INF α constituent le quintette des cytokines anti-inflammatoires. Elles doivent cette dénomination à leur capacité d'inhiber la production d'IL-1, de TNF, d'IL-6, d'IL-8 et des autres cytokines par les monocytes/macrophages activés. De plus, elles favorisent la production de l'antagoniste naturel du récepteur de l'IL-1 (IL-1Ra) qui vient occuper le récepteur spécifique de l'IL-1 et elles favorisent l'apparition de 2 formes solubles du récepteur du TNF (p50 et p75) qui sont libérées de la surface des cellules. Enfin, les cytokines anti-inflammatoires peuvent s'opposer à l'induction de certaines des activités pro-inflammatoires générées par l'IL-1 et le TNF.

Les propriétés anti-inflammatoires de l'IL-10 sont illustrées par les souris rendues déficientes dans l'expression du gène de l'IL-10 qui développent des foyers inflammatoires importants au niveau du tube digestif. De même, le traitement par des anticorps anti-IL-10 dès le plus jeune âge chez la souris « normale » accroît sa sensibilité lors du choc endotoxique. Chez la souris adulte, le traitement par Ac anti-IL-10 augmente les taux circulants de TNF α et d'INF γ après injection de LPS, illustrant bien que l'IL-10 contrôle les productions de ces cytokines au cours de l'endotoxinémie et expliquant que l'injection préalable d'IL-10 protège les souris contre une endotoxinémie expérimentale.

L'IL-10 non seulement bloque la production des cytokines pro-inflammatoires dont le TNF α mais aussi réduit l'expression des récepteurs pour le TNF à la surface des monocytes et accroît le relargage des formes solubles des récepteurs du TNF. L'IL-10 est détectable dans la

circulation des patients septiques en taux et en fréquence d'autant plus élevés que les patients ont développé un choc septique (36).

Outre ses activités sur la production *in vitro* de cytokines, l'IL-4 peut contrecarrer certaines de leurs activités, comme l'induction des molécules ELAM-1 à la surface des cellules endothéliales ou la résorption osseuse.

Cependant, au contraire de l'IL-10, l'injection d'IL-4 chez l'homme ne semble pas modifier les capacités des monocytes à produire de l'IL-1 et du TNF α après activation *in vitro*.

En revanche, l'IL-4 diminuerait la mortalité dans un modèle de péritonites aiguës chez la souris (37).

L'IL-13, qui partage de nombreuses propriétés avec l'IL-4, protège aussi la souris d'une endotoxinémie létale (38).

En plus de leur action sur la production de cytokines de l'inflammation, les cytokines dites anti-inflammatoires et en particulier le TGF β diminuent la production d'anion superoxyde et de NO.

L'activité anti-inflammatoire du TGF β peut également refléter sa capacité à diminuer le nombre de récepteurs pour l'IL-1. L'injection conjointe de TGF β et de LPS aboutit à une réduction des ARNm de la iNOS, empêche l'hypotension et accroît la survie dans un modèle de choc endotoxinémique chez le rat (39). La contribution anti-inflammatoire du TGF β 1 a été démontrée par la souris déficiente en TGF β 1 qui meurent en trois semaines avec une inflammation tissulaire généralisée. De la même façon que pour l'IL-10, certains patients septiques présentent des taux plasmatique accrus de TGF β .

Enfin, les travaux qui ont porté sur l'activité de l' $\text{INF}\alpha$ au cours du processus inflammatoire ont démontré sa capacité à inhiber la production des cytokines de l'inflammation et à accroître *in vivo* les taux de formes solubles du récepteur du TNF.

- ✓ Récepteurs solubles et antagonistes.

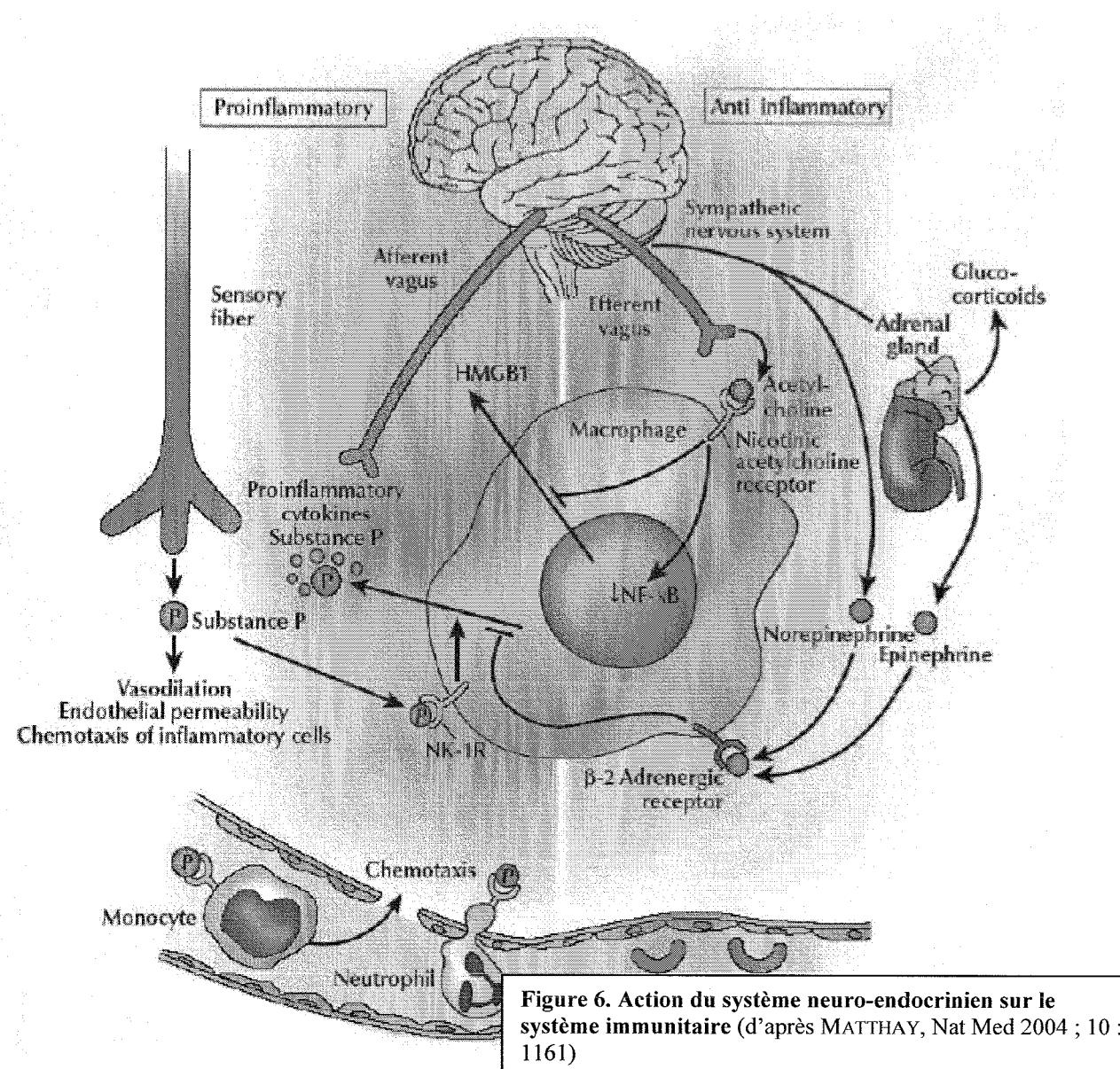
Les deux formes du récepteur TNF (p50 et p75) peuvent être libérées de la surface des cellules (sTNFR I et II). Elles peuvent alors se combiner au TNF circulant et théoriquement inhiber ses activités. Un rôle plus ambigu de transport du TNF et de dissémination de ses effets a aussi été attribué à ces formes solubles du récepteur. Au cours des méningococcémies, des taux plasmatiques plus élevés sont retrouvés chez des patients qui décèdent (40). Il en est de même au cours du sepsis où des taux plus élevés sont également retrouvés chez les patients qui développent un choc (41). Localement, ils sont aussi présents dans les lavages broncho-alvéolaires des pneumopathies. Leur taux augmente tout particulièrement en cas de syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) (42). La demi-vie du complexe TNF-sTNFRII est plus courte que celle du complexe formé avec le sTNFRI. Cela pourrait expliquer l'absence d'effets protecteurs et les effets délétères observés lors du traitement des patients en choc septique avec le sTNFRI.

Les chaînes réceptrices de l'IL-1 existent également sous forme soluble (sIL-1R) pouvant ainsi neutraliser l'IL-1. Leur cinétique d'apparition est tardive par rapport à l'apparition de l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 (*IL-1 receptor antagonist*, IL-1ra) (43). L'IL-1 est la seule cytokine décrite à ce jour pour laquelle il existe un antagoniste naturel qui vient occuper le récepteur spécifique. Produit en excès molaire par rapport à l'IL-1, l'IL-1ra empêche la fixation de l'IL-1 et donc sa signalisation. L'injection d'IL-1ra protège l'animal de laboratoire du choc endotoxique (44).

6. L'axe neuro-endocrinien et le système nerveux central.

Les connexions entre le système immunitaire et le système nerveux central sont impliquées dans la phase de résolution de l'inflammation par l'activation de l'axe hypothalamo-surrénalien et la production de corticoïdes endogènes sous l'effet de l'Interleukine 1, de l'Interleukine 6 et du TNF α (45).

(figure 6).



Les cytokines pro-inflammatoires stimulent l'axe neuro-endocrinien, aboutissant à la production de CRF au niveau de l'hypothalamus et d'ACTH au niveau de l'hypophyse.

Les glucocorticoïdes produits par la glande surrénale en réponse à l'ACTH sont de puissants anti-inflammatoires en s'opposant à la production des cytokines de l'inflammation par une action directe au niveau de la transcription de leurs gènes. Ils inhibent l'expression de la iNOS.

Paradoxalement, les corticoïdes augmentent l'expression des récepteurs de certaines cytokines comme l'IL-6 et l'IL-1 à la surface de divers types cellulaires. Malgré leurs nombreuses activités anti-inflammatoires, les corticoïdes n'étaient guère employés chez les patients septiques à la suite des résultats négatifs menés au cours des années 80 (voir infra), qui utilisaient de fortes doses sur 24 heures. Il a été montré, plus récemment, que de nombreux patients en choc septique présentaient un déficit surrénalien relatif et que des doses supra-physiologiques administrées sur 7 jours permettaient de diminuer la mortalité de ce syndrome (46).

De plus, de récents travaux illustrent la complexité de l'interaction entre cytokines et corticoïdes. CALANDRA *et al.* (47, 48) ont démontré que les corticoïdes induisent la production de *MIF* (*Macrophage Migration Inhibitory Factor*), un produit de l'hypophyse qui fut la première cytokine décrite en 1966. Le *MIF* s'oppose aux effets inhibiteurs des corticoïdes sur la production de cytokines de l'inflammation par des monocytes humains activés par le LPS.

IV De l'inflammation systémique à la paralysie immunitaire, le concept du Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome (CARS) ou « l'immunoparalysie ».

1. L'ambiguïté de la physiopathologie du sepsis (49)

1.1. Naissance d'une théorie

La théorie prévalant la physiopathologie du sepsis, était celle où ce dernier résultait d'une réponse exagérée et incontrôlée de l'inflammation (50-52).

Lewis THOMAS s'est largement fait l'écho de cette notion quand il écrivait que « *les microorganismes qui nous semblent être responsables [du sepsis] ... seraient... à considérer plutôt comme des spectateurs... . C'est notre réponse à leur présence qui est responsable de la maladie. Notre arsenal pour combattre les bactéries est si puissant... que nous sommes plus en danger par sa faute que par celle des intrus* » (53).

Dès lors, la conférence de consensus américaine a défini le sepsis comme « le syndrome de réponse inflammatoire systémique survenant lors d'une infection » (50).

De nombreux essais cliniques ont même été conduits sur l'utilité des agents bloquant la cascade inflammatoire – les corticoïdes (54), les Ac anti-endotoxines (55), les antagonistes du TNF (56, 57), les antagonistes de l'IL-1R (58) et d'autres (59). L'échec de ces molécules anti-inflammatoires a conduit les chercheurs à se demander si la mortalité des « patients septiques » résultait, effectivement, de cette inflammation incontrôlée (51, 60-62).

La théorie, selon laquelle la mortalité au cours du sepsis était attribuée à une stimulation exagérée du système immunitaire, était basée sur des études animales ne reflétant pas exactement le tableau clinique chez l'homme (63-65). Ces études utilisaient, en effet, de grosses doses d'endotoxines ou de bactéries, et par conséquence, les taux de cytokines circulantes, comme le TNF α , étaient, de façon exponentielle, plus élevés chez l'animal que chez les patients atteints de sepsis (64). Dans ces études, les animaux mourraient d'un « orage de cytokines », et les agents ou molécules bloquant ces médiateurs de l'inflammation amélioraient la survie (63-65).

Il a déjà été mentionné plus haut, qu'au cours de certaines formes de tableaux septiques, comme la méningococcémie, les taux de TNF α sont élevés et qu'ils sont corrélés avec la mortalité (40, 66, 67). Sur 55 enfants atteints d'un purpura septique sévère, 91 % avaient des taux élevés de TNF α (66).

Toutefois, des études ont mis en évidence que la fréquence d'une réponse inflammatoire systémique exagérée était moins importante qu'initialement pressentie (68-71). DEBETS *et al.* n'ont rapporté que seuls 11 patients septiques sur 43 avaient des taux détectables de TNF (68). D'autres études arrivent aux mêmes conclusions (69, 70).

1.2. Mise en doute de la théorie

Alors que ces cytokines ont été considérées comme les coupables, elles possèdent aussi des effets bénéfiques lors du sepsis.

Des études chez un modèle animal de péritonite ont démontré que le blocage du TNF α aggravait la mortalité (72, 73). Les thérapeutiques immunes associées contre les TNF α et l'IL-1R étaient fatales dans un modèle de sepsis neutropénique (74). D'autres essais cliniques ont montré un accroissement de la mortalité par l'administration d'antagoniste du

TNF (56). Le rôle du TNF α dans son combat contre l'infection a été plus récemment souligné par le fait que sepsis et autres complications infectieuses survenaient également chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde traités par des antagonistes du TNF (75).

Le débat sur l'intérêt d'inhiber ces cytokines pro-inflammatoires chez les patients septiques a été ravivé par une étude parue en 2001, et qui montrait qu'un sous-groupe de patients traités par anti-TNF α avait une survie améliorée (76). Aussi, une méta-analyse d'essais cliniques portant sur les agents anti-inflammatoires chez des patients atteints de sepsis, a montré que, bien que des doses élevées d'agents anti-inflammatoires se révélaient généralement délétères, un sous-groupe de patients (environ 10%) pouvait en bénéficier (60).

L'avancée de nos connaissances sur les voies de signalisation cellulaire lors des réponses face à un micro-organisme, a permis d'envisager que le concept de blocage des endotoxines pour prévenir les complications septiques, se révélait être simpliste. Comme nous l'avons rappelé auparavant, les cellules du système immunitaire inné reconnaissent les micro-organismes et initient ainsi la réponse par l'intermédiaire de leur *Pattern-Recognition Receptors* (PRR) dont les *TLRs*.

Le rôle de ces derniers lors de l'infection avait été mis en évidence lors d'études chez les souris C3H/HeJ (77), rendues résistantes à l'endotoxine par une mutation du gène de leur TLR-4. En dépit de cette résistance, ces souris avaient une mortalité accrue avec d'authentiques sepsis (78, 79).

Des mutations sur TLR-4 chez l'homme ont été identifiées et pourraient rendre ces personnes plus susceptibles aux infections. Donc, quoique l'endotoxine possède des effets délétères, son blocage complet peut être préjudiciable.

1.3. Vers une nouvelle théorie

Les patients souffrant de sepsis ont des caractéristiques comparables à celles des immunodéprimés :

- ✓ perte de l'hypersensibilité retardée,
- ✓ incapacité à résorber une infection,
- ✓ prédisposition aux infections nosocomiales (80-82).

Une des raisons de l'échec des thérapeutiques anti-inflammatoires serait liée à la modification du syndrome septique dans le temps.

Initialement, le sepsis peut être caractérisé par une ascension des médiateurs de l'inflammation, mais avec la persistance du sepsis, il y a un glissement vers un état anti-inflammatoire immunsupresseur (81, 82) que R. BONE désigna sous l'acronyme CARS, *Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome* (83).

Il est actuellement admis que ces deux événements, souvent présentés schématiquement de façon successive, se produisent concomitamment et coexistent chez le patient.

Les preuves de cette immunsuppression au cours du sepsis viennent d'études qui ont montré qu'un sang total « activé » par du LPS sécrétait une quantité plus faible de cytokines pro-inflammatoires TNF α et IL-1 β qu'un sang de patients contrôles (84). Les effets adverses de cette immunoparalysie liée au sepsis pouvaient être contrecarrés par l'administration d'INF γ , restaurant ainsi la production de TNF α par les macrophages et améliorant la survie (85).

Au total, un grand nombre de données suggéreraient que la réponse inflammatoire serait « compartimentalisée » au cours du sepsis (86). Alors qu'une réaction inflammatoire nette peut être mesurée au niveau du site de l'infection ou de l'organe cible, c'est une réponse anti-inflammatoire prépondérante qui domine le « compartiment systémique ». Cette compartmentalisation aurait pour but de concentrer les défenses de l'hôte au niveau du site infecté tout en préservant le reste de l'organisme d'une inflammation généralisée potentiellement dommageable. Cependant, cette réponse anti-inflammatoire systémique, normalement protectrice, peut, dans certains cas, s'avérer délétère et induire d'un état d'immunosuppression associé à un risque d'infection accru.

2. Mécanismes supposés de l'immunosuppression lors du sepsis.

2.1. Une dérive vers la production de cytokines anti-inflammatoires

Les lymphocytes T CD4 activés sont programmés pour sécréter, nous l'avons vu, l'un des deux profils distincts et, néanmoins, antagonistes de cytokines (87, 88). Ils sécrètent soit des cytokines aux propriétés pro-inflammatoires (Th1), dont le TNF α , l'INF γ et l'IL-2, soit des cytokines aux propriétés anti-inflammatoires (Th2), par exemple l'IL-4 ou l'IL-10 (voir schématisation figure 7).

Les facteurs orientant les cellules T CD4 vers l'une ou l'autre des réponses Th1 ou Th2, restent encore inconnus, mais pourraient être influencés par la nature du pathogène, la taille de l'inoculum bactérien et le site de l'infection (87).

Il a été montré que les leucocytes mononucléés de patients brûlés ou polytraumatisés avaient des niveaux de cytokines Th1 réduits alors que ceux de l'IL-4 et l'IL-10, cytokines Th2, étaient accrus ; par ailleurs, l'inversion des réponses Th2 améliorait la survie parmi les

patients septiques (82, 89). D'autres études ont ainsi démontré que le taux d'IL-10 était élevé chez ces patients septiques et que ces taux étaient corrélés à la mortalité (88, 90).

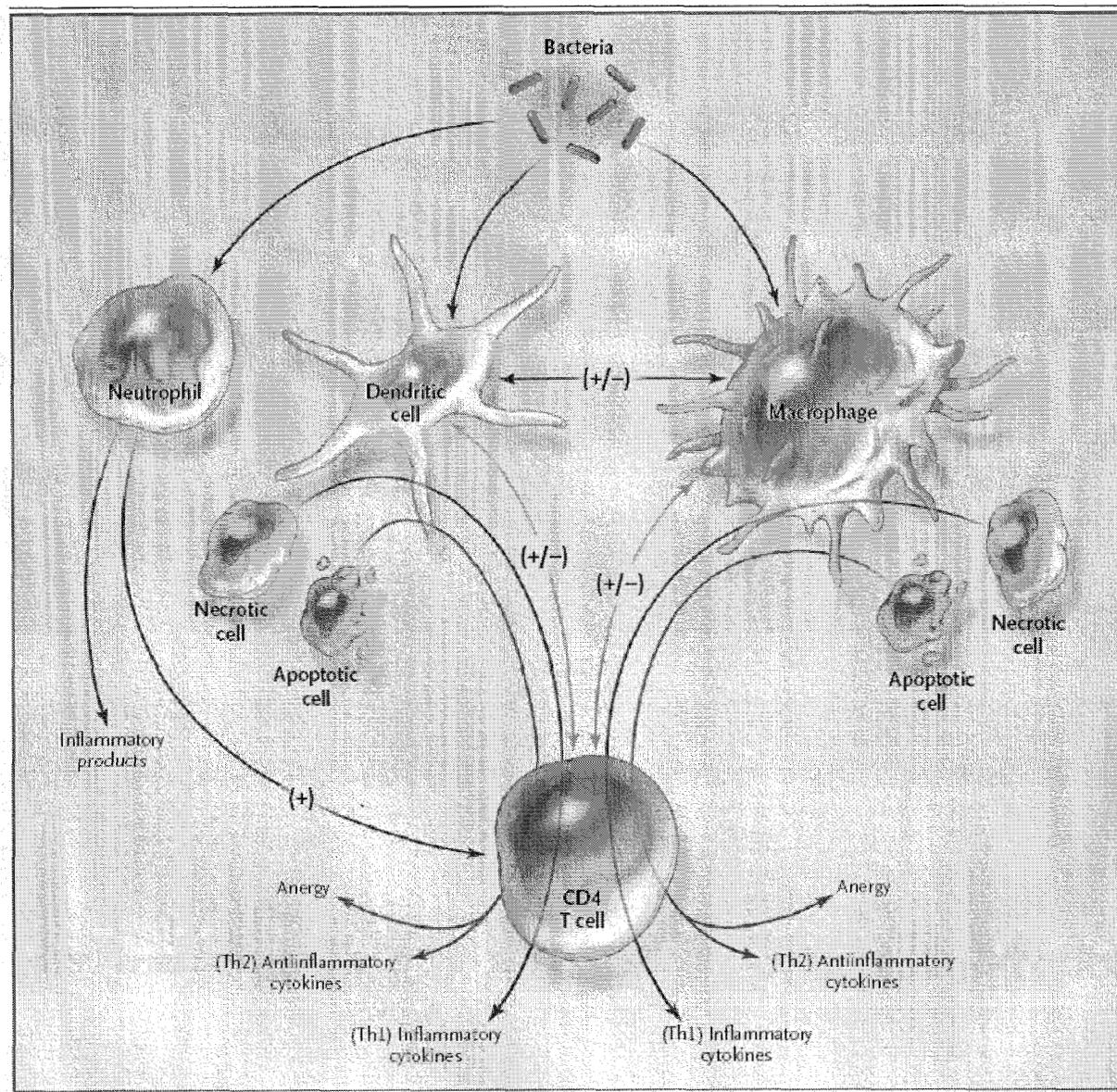


Figure 7. La réponse face aux pathogènes, implication d'une interrelation entre de nombreuses cellules de l'immunité : les macrophages, les cellules dendritiques et les cellules CD4.

Les macrophages et les cellules dendritiques sont activés par l'ingestion de la bactérie et stimulés par l'intermédiaire des cytokines (ex. INF γ) sécrétées par les T CD4. D'autres T CD4 ayant un profil anti-inflammatoire Th2, sécrètent l'IL-10 qui supprime l'activation des macrophages.

Sous l'influence de facteurs variés, les macrophages et les cellules dendritiques répondront soit en induisant une réponse pro- ou anti-inflammatoire soit en réduisant la production globale des cytokines (anergie).

L'ingestion de cellules nécrotiques provoquerait une réponse Th1 pro-inflammatoire, en revanche la phagocytose de cellules apoptotiques induirait une réponse anti-inflammatoire ou une anergie. (d'après (49)).

De nombreux auteurs mettent alors en cause la théorie de Lewis THOMAS (53) où la réponse première de l'organisme face à une infection ou une agression serait une réponse inflammatoire incontrôlée (51, 60, 61, 86).

MUNFORD et PUGIN soutiennent que la réponse « normale » de l'organisme face à un stress est l'activation de mécanismes anti-inflammatoires et que, au-delà du tissu affecté, la réponse systémique est à prédominance anti-inflammatoire (86). Leur postulat est que, aussi bien les cellules immunitaires que leurs cytokines, ont des actions protectrices et délétères et bloquer ces médiateurs pourrait aggraver l'issue.

HEIDECKE *et al.* dans leurs études sur les fonctions des cellules T au cours du sepsis, ont rapporté que cette immunodépression était présente dès le début du sepsis, suggérant que la réponse initiale du système immunitaire était réprimée (91).

WEIGHARDT *et al.* ont étudié la production de cytokines par des monocytes activés par du LPS, chez des patients septiques après chirurgie viscérale (92). Le sepsis postopératoire était associé, dès sa phase initiale, à un défaut de la production par les monocytes des cytokines aussi bien pro- qu'anti-inflammatoires, et la survie chez ces patients septiques était corrélée avec la récupération d'une réponse pro-inflammatoire. Ces derniers auteurs concluent que cet état d'immunosuppression serait plutôt une réponse première à un sepsis qu'un état compensateur.

D'autres s'accordent à dire qu'il s'agirait d'une réponse évolutive, avec une phase initiale où l'inflammation est marquée, suivie d'une immunosuppression (61, 81, 82). (figure 8).

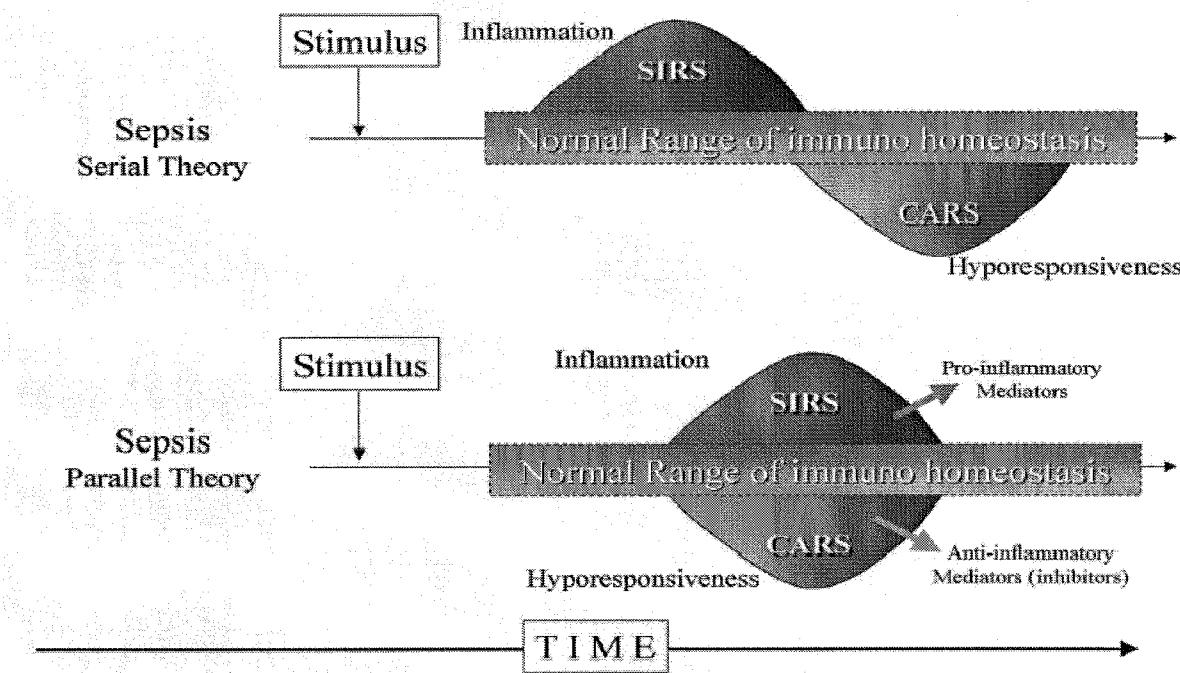


Figure 8. Schématisation des réponses inflammatoire et anti-inflammatoire au cours du sepsis.

2.2. L'anergie.

L'anergie qualifie un état de non réponse face à un antigène. Les cellules T sont dites anergiques lorsqu'elles ne prolifèrent pas ou ne sécrètent pas de cytokines en réponse à la stimulation par leur Ag spécifique.

HEIDECKE *et al.* ont examiné les fonctions des cellules T chez des patients atteints de péritonites, et ont trouvé que celles-ci avaient une décroissance de leur fonction Th1 sans véritable augmentation de la production de cytokines Th2, ce qui correspond à l'anergie (91). Toujours dans ce même article, ces auteurs ont objectivé que cette défaillance à proliférer et à secréter des cytokines était corrélée à la mortalité. Les patients brûlés ou traumatisés ont des taux sanguins réduits en cellules T circulantes et les « survivantes » étaient anergiques.

Cette anergie liée au sepsis pourrait être en rapport avec la mort cellulaire par apoptose. En effet, la croyance selon laquelle les cellules mourraient par nécrose a été

ébranlée par des travaux qui ont montré que les cellules mourraient par apoptose, une mort programmée génétiquement, phénomène relativement conservé au cours de l'évolution des espèces. Lors de l'apoptose, les cellules se « suicident » par l'activation de protéases (caspases) qui conduit à une cascade d'événements protéolytiques intracellulaires finement orchestrés, permettant la mort de la cellule sans laisser de trace, sans libération ni de son contenu intracellulaire, ni de son ADN fragmenté et donc, en principe, sans réaction inflammatoire dans le tissu avoisinant (93-95). Un grand nombre de lymphocytes et de cellules de l'épithélium gastro-intestinal meurent de cette façon lors du sepsis (96-98). Un des mécanismes potentiel de l'apoptose lymphocytaire pourrait être la libération induite par le stress des corticoïdes endogènes (99).

Le type de mort cellulaire déterminerait ainsi l'orientation des cellules immunitaires restantes (100-102). Les cellules apoptotiques induiraient un état d'anergie ou la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires, endommageant la réponse face aux pathogènes, alors que la nécrose cellulaire stimulerait et augmenterait les défenses antimicrobiennes (cf. figure 7).

2.3. La mort des cellules de l'immunité.

Les travaux de HOTCHKISS *et al.* chez l'homme confirment les données expérimentales sur l'apoptose des cellules du système lymphoïde : des études autopsiques chez des personnes décédées de sepsis ont révélé une perte, importante et progressive, des cellules de l'immunité adaptative (96-98). Alors qu'on ne notait pas de perte des populations de cellules T CD8, de cellules NK, ou de macrophages, les populations de lymphocytes B, de T CD4 ou des cellules dendritiques folliculaires voyaient leur nombre diminuer. Cette perte en lymphocytes et en cellules dendritiques est particulièrement importante car elle survient au cours de processus

infectieux menaçant le pronostic vital, là où on escompterait une expansion clonale des lymphocytes.

De nombreux auteurs rapportent dans des modèles murins de choc endotoxique ou de péritonite par ligature et ponction caecale, une apoptose significative dans la rate, le thymus, les ganglions et les plaques de Peyer. Cette apoptose intéresse là encore les lymphocytes.

De manière remarquable, des souris transgéniques exprimant le trans-gène anti-apoptotique Bcl-2 dans leur système lymphoïde ou des souris traitées par des inhibiteurs peptidiques des caspases ont une apoptose lymphoïde moindre et une survie accrue dans ces modèle de sepsis (103, 104).

L'importance de cette perte (apoptotique) lymphocytaire au cours du sepsis peut être mise en évidence par l'examen microscopique et le compte des lymphocytes du sang total de patients (96). Dans cette étude, 15 des 19 patients septiques avaient un taux de lymphocytes circulant inférieur à la valeur limite de référence (en moyenne [+/- SD] 500 +/- 270 par mm³ pour une limite inférieure de 1200 par mm³).

Dans leur étude, LE TULZO *et al.* ont également mis en évidence l'importance de l'apoptose lymphocytaire dans le sang périphérique des patients en choc septique (pourcentage de lymphocytes apoptotiques 5 fois supérieur à celui d'un groupe contrôle, 2 fois supérieur à celui observé chez des patients septiques sans choc) (105).

La perte en lymphocytes B, en T CD4 et en cellules dendritiques provoque une diminution de la production d'anticorps, de l'activation des macrophages et de la présentation des antigènes, respectivement.

2.4. La perte de l'expression de molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (HLA-DR) par les monocytes/macrophages.

Le CMH humain, connu aussi sous le nom d'HLA (*Human Leucocyte Antigen*), représente l'ensemble des protéines de la surface cellulaire dédiées à la présentation des structures antigéniques aux lymphocytes T.

Ces molécules sont réparties en deux classes, les molécules de classe I et celles de classe II. Alors que toutes les cellules de l'organisme expriment les molécules de classe I, seules les cellules présentatrices d'antigènes (monocytes/macrophages, cellules dendritiques, ...) expriment de manière constitutive ou inducible les molécules de classe II.

Ces dernières sont, chez l'homme, codées par trois locus (HLA-DP, -DQ et -DR), qui sont tous polymorphiques. Leur rôle est l'apprêttement et la présentation de l'Ag aux TCR lymphocytaires.

La transcription des gènes des molécules de classe II du CMH est sous le contrôle d'une molécule dénommée *Class II transactivator A* (CIITA) et de facteurs de la famille *Regulatory Factor X* (106). Le transport des molécules de classe II du réticulum endoplasmique à la surface cellulaire est un processus complexe (107). Après un bref transit via l'appareil de Golgi, l'hétérodimère HLA est associé à une chaîne invariante puis transporté vers un compartiment endosomal acide appelé MIIC où se fait l'association avec un fragment antigénique, avant son transfert vers la surface cellulaire. Parallèlement, d'autres molécules HLA-DR non « chargées », immatures, peuvent être directement exprimées à la surface cellulaire. Par une voie de recyclage, les complexes HLA-DR de surface, chargés d'un peptide antigénique ou non, sont ré-endocytés au niveau du MIIC où un nouveau fragment antigénique peut être chargé ou échangé, avant un nouveau transfert membranaire.

Le complexe HLA-DM et la cathépsine S sont des facteurs importants dans le traffic intracellulaire des molécules de classe II. L'HLA-DM catalyse l'échange entre la chaîne invariante et le peptide antigénique. La cathépsine S, exprimée principalement dans les APCs, semble jouer, quant à elle, un rôle crucial dans le chargement du peptide et le routage des molécules HLA-DR chargées vers la surface membranaire.

Ces rappels nous semblent importants pour comprendre ce qui se produirait au cours des états septiques. En effet, de nombreuses études ont mis en évidence une faible expression des complexes HLA-DR à la surface des monocytes circulants lors des chocs septiques (inférieure à 30%) (108-116).

Par exemple, TSCHAIKOWSKY *et al.*, dans leur étude sur la cinétique d'expression des molécules HLA-DR à la surface des monocytes, dans une cohorte de patients septiques postopératoires, ont montré une réduction marquée du pourcentage de monocytes exprimant HLA-DR dans le groupe septique par rapport à un groupe contrôle ($99,3\% \pm 0,2\%$ vs $69,4 \pm 4,9\%$, respectivement), ainsi qu'une diminution en moyenne d'intensité de fluorescence, avec un nadir au début du sepsis (108).

De même l'équipe de MONNERET a montré, qu'au cours des 48 premières heures après le diagnostic de choc septique, il existait une diminution d'expression de HLA-DR sur les monocytes de 16 patients ($24 \pm 4\%$; moyenne \pm SEM) en comparaison à 54 donneurs sains ($90 \% \pm 1 \%$; $p < 0,001$) (109).

L'expression diminuée de HLA-DR à la surface des monocytes a été, de ce fait, proposée comme marqueur de la paralysie immunitaire.

Les mécanismes de cette diminution d'expression restent encore imprécis. Les résultats obtenus sur des monocytes de patients en choc septique, ont montré que la

diminution d'expression de HLA-DR pourrait être le résultat d'une ré-endocytose et d'une séquestration intracellulaire des molécules de classe II (112) (figure 9).

Dans cette étude, FUMEUX et PUGIN ont observé une légère mais non significative diminution dans la production de l'ARNm de HLA-DRA, contrairement à ce qui avait pu être montré par PACHOT, MONNERET *et al.*, pour qui il existerait une corrélation entre l'expression de HLA-DR et l'expression globale de l'ARNm de HLA-DRB des monocytes purifiés de patients en choc septique ou de volontaires sains (111).

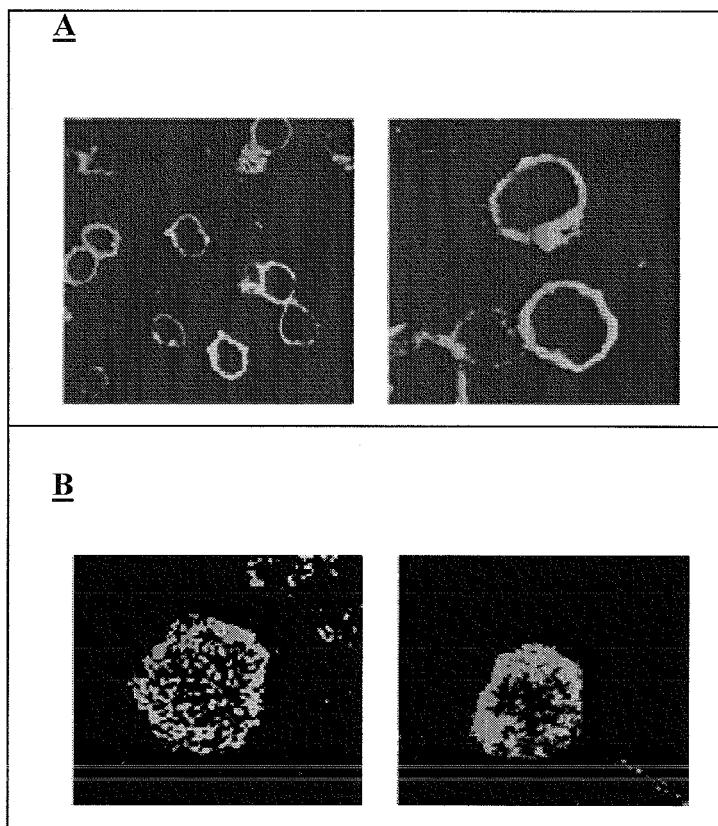


Figure 9. Localisation des molécules HLA-DR de monocytes perméabilisés, en microscopie confocale par immunofluorescence. (A) Images représentatives de monocytes de 2 donneurs sains. (B) Images représentatives de monocytes de patients en choc septiques. (D'après FUMEUX et PUGIN (112)).

La réduction d'expression des molécules de classe II du CMH, observée au cours des chocs septiques est, en partie au moins, due à l'IL-10 (112). Cependant, l'IL-10 semble seulement provoquer la ré-endocytose et la séquestration intracellulaire de l'HLA-DR, sans effet sur la transcription des molécules de classe II (112, 117). Le TGF β 1, les catécholamines et les prostaglandines E2 sont d'autres médiateurs anti-inflammatoires potentiellement impliqués. Le TGF β 1 a montré, *in vitro*, son action sur la « *down regulation* » de l'expression de l'ARNm des molécules de classe II par la suppression de la transcription de l'ARNm de la CIITA (118), alors que la prostaglandine E2 supprime l'expression de l'ARNm des molécules de classe II des macrophages. La totalité des médiateurs anti-inflammatoires impliqués dans la diminution de l'expression de HLA-DR et la régulation des ses gènes restent encore à définir.

Au total, toutes les études des fonctions monocytaire *in vitro* ainsi que les modèles animaux de choc septique, tendent à montrer qu'il existe une dysfonction des monocytes (entre autre) au cours des états septiques. Ainsi, ces derniers sécrètent de façon très faible les cytokines pro-inflammatoires (TNF α par exemple) alors qu'il persiste une sécrétion des médiateurs anti-inflammatoires (IL-10, notamment). Tout ceci concourt à l'état de non réponse des monocytes face aux stimulations par les agents bactériens. De même, la faible expression des molécules HLA-DR à la surface membranaire contribue à la défaillance de la présentation antigénique aux cellules immunocompétentes, au défaut d'initiation de la réponse immunitaire et à l'échec global du système immunitaire à résoudre une infection.

3. Immunoparalysie : corrélation avec le mauvais pronostic

Avec l'avancée des connaissances sur la physiopathologie du sepsis et du choc septique, de nombreux auteurs se sont intéressés aux moyens de monitorer le statut immunitaire des patients. Les monocytes ont largement été étudiés du fait de leur rôle central à la fois dans la réponse immunitaire spécifique et non spécifique face aux infections bactériennes, virales ou fongiques.

Comme nous venons de le voir, le complexe HLA-DR et sa faible expression à la surface membranaire des monocytes a été retenue comme définition de la paralysie immunitaire qui se rencontre au cours des états septiques.

Dès le milieu des années 1980, l'expression du complexe HLA-DR sur les monocytes a été utilisée comme paramètre pronostique de développement d'infection et de sepsis.

De nombreux auteurs ont rapporté que les patients victimes de traumatismes sévères, présentaient une corrélation entre la faible expression de HLA-DR sur leurs monocytes et la survenue ou la présence d'une infection (119, 120). Les patients dont la guérison se faisait sans complication retrouvaient des valeurs normales en une semaine. Cependant, chez les patients décédés, l'expression de HLA-DR ne revenait jamais à des valeurs normales. Les valeurs seuils ont ainsi été établies à la vue de ces résultats.

VOLK *et al.* ont montré qu'une expression de HLA-DR à la surface monocytaire inférieure à 30 % pour une période de plus de 5 jours était fortement corrélée avec une issue fatale du choc septique.

Ces éléments ont par la suite étaient confirmés : MONNERET *et al.* (109, 110), comparant survivants et non-survivants de sepsis, n'ont pas mis en évidence de différence significative de l'expression de HLA-DR 48 heures après le début du choc septique. En revanche, 5 jours après l'admission, des valeurs significativement plus élevées de HLA-DR étaient détectées

chez les survivants, suggérant une probable initiation de la récupération d'un statut d'immunocompétence.

A côté de la perte des fonctions des cellules immunocompétentes, le rôle de l'apoptose lymphocytaire dans la dysfonction immune et son pronostic a été soulevé. De façon intéressante, dans des modèles animaux de choc septique (103, 104), il a été démontré que l'inhibition de l'apoptose lymphocytaire améliorait la survie des animaux. Les études observationnelles chez l'humain ont montré la présence d'une apoptose lymphocytaire exagérée au niveau du sang périphérique des patients en état de choc septique, en comparaison des patients en sepsis ou des patients non septiques hospitalisés en réanimation ; et que cette apoptose était présente rapidement après le début du choc, qu'elle conduisait à une profonde et persistante perte lymphocytaire et qu'elle était associée à un pronostic sombre.

L'étude de LE TULZO *et al.* a montré une corrélation significative entre la persistance de cette lymphopénie et les scores de gravité (tels le SAPS II, *Simplified Acute Physiology Score*, le score LOD, *Logistic Organ Dysfunction*), les durées d'hospitalisation en réanimation et de ventilation mécanique et la survenue d'infections nosocomiales (105). Si aucune étude humaine ne démontre le lien de cause à effet entre l'apoptose des lymphocytes circulants et la mortalité, les études expérimentales sus-citées sont en faveur de cette hypothèse : ainsi, l'inhibition des caspases ou l'hyperexpression du facteur anti-apoptotique Bcl-2 ont montré leur effet bénéfique sur la prévention de l'apoptose lymphocytaire et l'amélioration de la survie.

4. Les lymphocytes T CD4⁺CD25⁺ - lymphocytes T régulateurs « naturels » : leur rôle dans le contrôle du système immunitaire, leur implication dans l'immunoparalysie (121)

Durant la différenciation au sein du thymus, certaines cellules T présentant des TCR « autoréactifs » (i.e. reconnaissant les molécules du soi) s'échappent vers la périphérie, malgré le strict contrôle par la sélection négative intra-thymique.

On pensait que ces cellules T autoréactives étaient réprimées par tout un système intrinsèque de tolérance périphérique comme la délétion périphérique ou l'anergie.

Il semble certain, à ce jour, qu'à côté de ces mécanismes intrinsèques, il existe des sous-populations de lymphocytes T CD4⁺, appelées génériquement lymphocytes T régulateurs (Tregs), capables de limiter la réponse immune face aux auto-antigènes et servant, dès lors, de mécanisme essentiel dans la prévention de l'auto-immunité.

Parmi les différents types de Tregs, les lymphocytes T CD4⁺CD25⁺ ont été les plus étudiés et leur rôle dans la prévention des réponses auto-immunes est bien documenté. Dans divers modèles expérimentaux de maladies auto-immunes, comme le diabète, l'encéphalomyélite allergique expérimentale ou les maladies inflammatoires intestinales, la suppression des LT CD4⁺CD25⁺ entraîne l'accélération de la progression de la maladie, alors que l'administration de telles cellules protège de la maladie (122, 123).

Plus récemment, il a été montré l'implication de ces cellules dans le contrôle de l'inflammation face à certaines infections, suggérant un rôle plus général de ces Treg dans le contrôle des réponses immunitaires.

4.1. Marqueurs moléculaires des Tregs CD4⁺CD25⁺

4.1.1. CD25

Les lymphocytes T régulateurs CD4⁺, initialement caractérisés par l'expression à leur surface de la molécule CD25, ont été identifiés au cours d'études expérimentales portant sur des maladies auto-immunes multiples se développant chez des souris rendues lymphopéniques par thymectomie lors de la période néonatale ou rendues athymiques par manipulations génétiques.

Chez ces animaux, des pancréatites, thyroïdites, gastrites, etc.... se développent spontanément. L'administration de LT CD4⁺CD25⁺ inhibe le développement de l'auto-immunité (124, 125). Ces expériences tendent à montrer que les Tregs CD4⁺CD25⁺ seraient directement impliqués dans la suppression de l'auto-immunité chez ces souris immunodéficientes.

Chez le jeune animal sain, les LT CD25⁺ représentent 2 à 5 % de la population des thymocytes CD4⁺, ils quittent le thymus et peuplent les organes lymphoïdes secondaires. Ils y restent, probablement, jusqu'à l'âge adulte et sont responsables, en partie, de la prévention de l'auto-immunité chez l'adulte immunocompétent.

Cependant, leur identification et leur individualisation en tant que sous-population distincte est rendue difficile par le fait que la molécule CD25 n'est autre que la chaîne α du récepteur de l'IL-2, elle-même exprimée sur tous les LT au cours de leur activation antigénique.

4.1.2. CTLA-4 et GITR

A côté du CD25, le CTLA-4 (*Cytotoxic T Lymphocyte Antigen-4*) est hautement exprimé par les Tregs et semble jouer un rôle important dans leur fonction suppressive.

Nous avons déjà vu que l'activation des lymphocytes était due à l'avidité et à la durée du contact du TCR avec le complexe CMH-Ag, mais aussi à la stimulation de molécules de co-stimulation (par exemple CD80 et CD86). Ainsi, quand les molécules CD80 et CD86 interagissent avec leur ligand, il en résulte une activation des LT ; en revanche, une interaction avec le CTLA-4 entraîne une anergie ou une tolérance immunitaire.

Un autre marqueur des Treg est un membre de la famille des récepteurs du TNF : le GITR (*Glucocorticoid-Induced TNF Receptor*). Son expression augmentée ainsi que celle d'autres marqueurs de la même famille, jouerait un rôle dans la survie des Treg.

4.1.3. foxp3 / FOXP3

Plus récemment, un membre de la famille des facteurs de transcription «*forkhead*» s'est révélé être fortement exprimé par les lymphocytes Tregs CD4⁺CD25⁺ : le foxp3 (chez la souris, dont l'équivalent chez l'homme a été appelé FOXP3) (126-128).

Des mutations du gène de foxp3 sont responsables de manifestations auto-immunes et inflammatoires fatales des téguments chez la souris («*scurfy mice*»), alors que chez l'homme elles sont responsables de dysrégulations immunitaires, de polyendocrinopathies, d'entéropathies et du syndrome lié à l'X («*IPEX syndrome*»).

Aussi bien les *scurfy mice* que les hommes atteints de *l'IPEX syndrome* ont des défauts d'activation de leurs LT et de bas niveaux de LT CD4⁺CD25⁺ (129).

A l'opposé chez des souris surexprimant le foxp3, les sous-populations de LT CD4⁺CD25⁺ et CD4⁻CD8⁺ ont des propriétés suppressives, suggérant fortement le rôle de foxp3 dans cette fonction (128).

4.2. Rôles des Tregs (130-134)

Les Lymphocytes T régulateurs CD4⁺CD25⁺ sont naturellement produits par le thymus comme une sous-population de LT matures et fonctionnellement distincte, ils persistent ensuite tout au long de la vie dans les organes lymphoïdes périphériques.

Cette sous-population semble avoir un rôle primordial dans le maintien de la tolérance immunitaire périphérique : à cause de la diversité des spécificités antigéniques exprimées par les microorganismes et leur capacité à muter sous la pression de sélection de système immunitaire, il n'est pas possible pour ce dernier de savoir, a priori, quels vont être les antigènes qu'il rencontrera lors d'une infection.

Dès lors, le système immunitaire s'est adapté en pouvant générer un grand nombre de possibilités de molécules de reconnaissance (Ig et TCR, cf. supra). En découle le risque inévitable de produire des molécules capables de reconnaître les Ag du soi, de déclencher la mise en route d'une réponse immune et ainsi provoquer une maladie auto-immune de gravité plus ou moins importante.

Par ailleurs, si la réponse immunitaire est préférentiellement dirigée contre l'agent pathogène, elle peut être, en outre, responsable de dommages « collatéraux » envers les structures et cellules non pathologiques du soi par l'intermédiaire de la réaction inflammatoire (cellules et cytokines) nécessaire à l'éradication du pathogène. Il est inquiétant de constater que ces dommages peuvent être parfois plus délétères que l'agent pathogène lui-même !

Il existe, cependant, tout un système de contrôle et de régulation du système immunitaire afin de prévenir ou réduire les dégâts dus aux réponses contre les auto-antigènes et contre les manifestations exagérées face aux pathogènes.

Les principaux mécanismes connus sont la délétion et l'induction de l'apoptose de lymphocytes T et B auto-réactifs au cours de leur développement (tolérance centrale), l'anergie des LT/B périphériques (tolérance périphérique). De même, il a été mis en évidence toute une population de lymphocytes capables de supprimer ces réponses immunitaires, les lymphocytes T régulateurs.

De nombreuses études expérimentales ont mis en évidence les fonctions suppressives des Tregs (133, 134): la stimulation de leur TCR est nécessaire à leur fonction suppressive, mais une fois stimulée, cette fonction est non spécifique d'antigène ; c'est-à-dire que les Tregs suppriment alors la prolifération non seulement des cellules T ayant la même spécificité antigénique mais aussi des cellules T spécifiques d'autres Ag.

Les Treg peuvent ainsi inhiber l'activation et la prolifération de LT CD4⁺ et CD8⁺.

De plus, ils peuvent inhiber la production d'Ac, soit en inhibant l'entre-aide LT CD4⁺ - LB, soit en inhibant directement la production des Ac par les LB.

Enfin, TAAMS *et al.* ont montré que les Tregs pouvaient inhiber les propriétés pro-inflammatoires des monocytes/macrophages, affectant en conséquence les réponses innée et adaptative (134).

On comprend alors le rôle central de ces Tregs dans la prévention de l'auto-immunité, de la tolérance lors de transplantation, de l'immunité face aux tumeurs et face aux infections (123, 135).

4.3. Mécanismes de suppression des LT CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ régulateurs (131, 136, 137).

Même si les antigènes peuvent spécifiquement activer les Tregs, il n'est pas bien établi si leur fonction suppressive est spécifique d'antigène.

La phase effectrice de suppression des Tregs ne semble pas engager leur TCR : la présentation de l'antigène par les molécules du CMH (i.e. restriction par le CMH), étape essentielle à l'activation des fonctions des LT CD4⁺ auxiliaires, ne semblent pas l'être pour l'activation de la fonction suppressive des Tregs.

La suppression dépend, au moins en partie, d'un mécanisme de contact intercellulaire, dont les molécules de surfaces impliquées ne sont pas encore identifiées (CTLA-4, TGF-β transmembranaire, *gap junctions* entre autre) (138).

Par ailleurs, ils agissent probablement par la libération de facteurs solubles : le TGF-β et l'IL-10, participant en outre lors des mécanismes de suppression intrinsèques, sont aussi impliqués dans la suppression par les Tregs.

A savoir si les Tregs CD4⁺CD25⁺ agissent par l'intermédiaire d'une discrimination du soi et du non soi reste incertain.

A côté de ces Tregs naturellement produits par le thymus, de nombreuses études expérimentales *in vitro* suggèrent que le phénotype de ces Tregs peut être induit à des populations de LT CD4⁺CD25⁻ (139). Ainsi, des Tregs, mis en culture en concentration égale avec une population de LT CD4⁺CD25⁻ naïfs, induisent leur anergie prolongée et la production d'IL-10 par ces derniers LT CD4⁺CD25⁻. Ceux-ci peuvent dès lors supprimer la prolifération de LT CD4⁺ naïfs lorsqu'ils sont mis en culture ensemble, et ceci via l'IL-10. Une autre étude met en évidence les mêmes propriétés de transfert de propriété suppressive et le rôle du TGF-β (140).

4.4. Lymphocytes T régulateurs CD4⁺CD25⁺ et immunoparalysie ;

Aux vues des propriétés des Tregs, certains auteurs ont cherché à savoir si les LT CD4⁺CD25⁺ avaient un rôle anti-inflammatoire lors de l'immunoparalysie survenant au cours des états de choc.

Ainsi MONNERET *et al.*, comparant des patients atteints d'un choc septique et des sujets sains, ont montré une augmentation du taux des LT CD4⁺CD25⁺ lors de la paralysie immunitaire du choc (109). De plus, ils retrouvaient que la persistance au-delà du 10^{ème} jour d'un taux élevé de Tregs était plus importante chez les non-survivants.

Cette même équipe a montré que l'accroissement du taux de la sous-population CD25⁺ parmi les LT CD4⁺ n'était pas dû à la prolifération des Tregs mais à l'apoptose de cellules T CD4⁺CD25⁻ (110).

Au total, ces deux études tendent à montrer que les Tregs seraient moins affectés par le phénomène d'apoptose survenant lors du sepsis. Cependant, leur implication dans l'immunoparalysie liée au sepsis n'est pas encore claire.

Il nous a donc semblé intéressant d'étudier l'évolution de ce type de cellules au cours des états de choc (quelque soit leur étiologie) : leur nombre absolu, leur proportion par rapport aux autres lymphocytes et de mesurer les facteurs solubles associés à leur fonction ainsi que les cytokines classiquement retrouvées au cours des états de choc.

**Les lymphocytes T régulateurs
naturels au cours des chocs :
Etude observationnelle prospective**

I. Matériels et méthodes

1. Recrutement des patients

✓ Critères d'inclusion.

Cette étude observationnelle, prospective s'est déroulée de janvier à juin 2007 dans les deux services de réanimation médicale du CHRU de Nancy.

Tous les patients successifs admis en réanimation pour état de choc quelle que soit son étiologie (septique, cardiogénique, hémorragique, autre...) et ne présentant aucun critère d'exclusion, étaient inclus dans l'étude.

Les critères diagnostiques utilisés pour définir le choc septique ont été ceux de la conférence de consensus de l'ACCP/SCCM (50), pour les autres étiologies ce fut le recours à l'utilisation de catécholamines qui définissait le choc.

✓ Critère d'exclusion

Cette étude n'entrant pas dans le cadre d'un essai thérapeutique aux critères d'inclusion restrictifs, seuls les patients présentant un statut immunitaire particulier (déficits congénitaux ou acquis) ou étant en aplasie médullaire ont été exclus de l'étude.

✓ Déroulement de l'étude

Les patients inclus dans l'étude ont été suivis sur une période maximum de 14 jours.

La mortalité a été évaluée à 28 jours.

Les prélèvements sanguins ont été effectués, dans la mesure du possible, quotidiennement de J1 à J7 puis à J10 et J14 (J1 : début du choc défini par la mise sous catécholamines). En

accord avec le Comité Protection des Personnes-Est III et du Comité d'éthique de la Société de Réanimation de Langue Française, les échantillons de sang nécessaires à l'étude étaient prélevés après la réalisation de l'ensemble des analyses de routine.

En parallèle, certaines données clinico-biologiques étaient relevées comme indiqué dans le tableau annexe 1.

Le motif d'admission et le diagnostic final étaient notés ainsi que la gravité initiale évaluée par le SAPS II (*Simplified Acute Physiology Score* ; ou IGS II : Index de Gravité Simplifié). Quelle que soit l'étiologie du choc, la présence suspectée ou prouvée d'une infection ainsi que son site, le ou les germes en cause et le jour de survenue étaient colligés.

2. Isolement des cellules, caractérisation par cytométrie en flux

✓ Principe de la cytométrie

La cytométrie en flux est la mesure des caractéristiques des cellules individuelles en suspension dans un courant d'eau haline. Un faisceau de rayons laser convergents touche la cellule en mouvement. Une partie de la lumière traverse la cellule (critère de taille) et une autre partie est absorbée par la cellule qui émet de la fluorescence (critère taxonomique).

✓ Anticorps

Nous avons choisi de travailler en triple marquage pour chacune des trois sous-populations cellulaires étudiées en utilisant les anticorps monoclonaux suivants :

- Pour les monocytes,

anticorps anti-CD45 humains conjugués à l'ECD, anticorps anti-CD14 humains conjugués à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) et anticorps anti-HLA-DR humains (clone IM 1639) couplés à la phycoérythrine (PE), utilisés selon les recommandations du fabricant (Immunotech, Marseille, France).

- Pour les cellules NK,

Anticorps anti-CD3 humains conjugués au FITC, anticorps anti-CD56 humains conjugués à la phycoérythrine-cyanine-5 (PC5) et anticorps anti-NKG2D humains conjugués à la PC, utilisés selon les recommandations du fabricant (Immunotech, Marseille, France).

- Pour les lymphocytes T régulateurs,

Anticorps anti-CD4 humains couplés à la PC5, anticorps anti-CD25 humains couplés au FITC et anticorps anti-CD127 humains couplés à la PE, utilisés selon les recommandations du fabricant (Immunotech, Marseille, France).

✓ Préparation des cellules

Les échantillons de sang périphérique ont été recueillis sur tube citrate. Les cellules ont été marquées en sang total, à température ambiante, pendant 30 minutes, à l'obscurité. Le marquage devait être réalisé dans l'heure qui suit le prélèvement.

Les globules rouges ont ensuite été lysés par un système automatisé (Q-prep, Beckman-Coulter, Hialeah, FL).

Enfin, les cellules ont été analysées sur un cytofluorimètre Coulter Cytomics FC500 (CXP software, Beckman-Coulter).

✓ Analyse par cytométrie en flux (voir annexe 2)

Les cellules étaient tout d'abord séparées en fonction de leur taille et de leur structure. Une fenêtre était définie sur la population d'intérêt (monocytes ou lymphocytes). Secondairement les sous-populations étaient isolées grâce à leur marquage anti-CD spécifique.

Enfin, l'étude portait sur les monocytes CD45⁺, CD14⁺ et HLA-DR⁺, les cellules NK CD3⁻, CD16⁺, NKG2D⁺ et les lymphocytes Tregs CD4⁺, CD25⁺, CD127⁻.

En parallèle, l'utilisation de billes Flowcount (Beckman-Coulter) dont le nombre est calibré par unité de volume, permettait d'obtenir un nombre de cellules/ μL .

Les résultats sont exprimés pour le compte des populations et sous-populations cellulaires en cellules/ μL ou en pourcentage de la population de référence ; pour l'expression des marqueurs membranaires en pourcentage de cellules positives (seuil défini grâce à des échantillons prélevés sur 7 volontaires sains) ou en moyenne d'intensité de fluorescence (MFI) de l'ensemble de la population étudiée.

3. Dosage des cytokines sTREM-1 et TGF- β 1 par technique ELISA

✓ Recueil des échantillons plasmatiques

Après avoir été analysés en cytométrie en flux, les échantillons de sang recueillis sur tube citrate étaient centrifugés 10 minutes à 3000 tours/minutes. Pour chaque patient, le plasma était ensuite aliquoté puis congelé jusqu'à analyse ultérieure.

✓ Principe

Il s'agissait d'une technique immunologique ELISA de type sandwich. Les échantillons plasmatiques préalablement décongelés, étaient déposés dans les puits d'une

microplaques ; ces derniers étaient « coatés » avec un anticorps monoclonal spécifique de la cytokine à doser.

Après incubation et lavage, un second anticorps monoclonal spécifique et conjugué à une enzyme était ajouté. Après nouvelle incubation et lavage, l'ajout d'une substance chromogène (substrat de l'enzyme) permettait d'obtenir une coloration dont l'intensité était proportionnelle à la concentration de la cytokine présente dans l'échantillon initial. Le signal correspond à une absorbance, il est interprété en comparaison à une gamme étalon réalisée en parallèle des échantillons à doser.

✓ Caractéristiques des kits

Cytokine à doser	Kit	fournisseur
sTREM-1	Human TREM-1 immunoessay Quantikine	R&D systems
TGF-β1	Immunoessay Kit Multispecies TGF-β1	Biosource

4. Dosage simultané des cytokines Th1 / Th2 (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, INFγ et TNFα) en cytométrie en flux

✓ Principe

Cette technique permet le dosage simultané de plusieurs cytokines dans un même échantillon. Le système utilise un mélange de particules (billes) d'intensité de fluorescence différente, chacune spécifique d'une cytokine grâce à un anticorps de capture adsorbé à sa surface.

Une fois les billes incubées avec l'échantillon de plasma, elles sont lavées et les cytokines captées sont révélées par un second anticorps spécifique couplé à un fluorochrome.

Les échantillons ainsi que les gammes d'étalonnage sont analysés par le cytomètre.

L'intensité de fluorescence du fluorochrome des billes est reportée sur une courbe d'étalonnage pour déterminer la concentration de la cytokine.

✓ Caractéristiques du kit

Cytokines à doser	Kit	fournisseur
IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, INF γ , TNF α	Human Th1/Th2 CBA Kit	BD Biosciences

5. Analyses statistiques

Les variables quantitatives sont exprimées en valeur moyenne \pm SD si la répartition des données suit la loi normale, ou en valeur médiane \pm IQR dans le cas contraire. Les variables qualitatives sont exprimées en pourcentage, sauf précision. La distribution normale ou non des données a été évaluée par un test de Kolmogorov-Smirnov. Les différences entre les groupes volontaires sains, choc septique et choc autre, survivants et non-survivants étaient analysées en utilisant un test Mann-Whitney ou une analyse de variance (ANOVA), ad hoc.

La relation entre deux variables continues a été évaluée par un test de corrélation de Spearman.

Une valeur de $p < 0,05$ était considérée comme seuil de significativité.

II. Résultats

1. Patients : données clinico-biologiques.

✓ Données démographiques

L'étude a porté sur un groupe de 36 personnes (25 hommes et 11 femmes). L'âge moyen à l'inclusion était de 63 ans, le SAPS II avait une valeur moyenne de 71.

La mortalité a été évaluée à 28 jours après le diagnostic : parmi les 36 patients inclus, on dénombre 25 survivants et 11 non survivants, soit un taux de mortalité de 42%.

Pour ce qui est de l'étiologie des chocs, on note 21 chocs septiques (58%) et 15 chocs non septiques [(42% ; répartis en 9 chocs cardiogéniques (25%), 2 chocs hémorragiques (6%) et 4 chocs vasoplégiques (11%), essentiellement de causes toxiques)].

Quelle que soit l'étiologie du choc, il n'existe pas de différence significative quant à l'âge, le sexe, les scores de gravité (SAPS II et score Mc Cabe), le nombre de défaillance d'organe (SOFA) ou la mortalité à 28 jours. (Tableau 1)

	<i>Choc septique (n=21)</i>	<i>Choc autre (n=15)</i>	<i>Total (n= 36)</i>	<i>p</i>
<i>Age (ans)</i>	67 ± 6	59 ± 17	63 ± 14	<i>ns</i>
<i>Homme / Femme</i>	<i>15 / 6</i>	<i>10 / 5</i>	<i>25 / 11</i>	<i>ns</i>
<i>SAPS II</i>	70 ± 22	73 ± 24	71 ± 23	<i>ns</i>
<i>Score SOFA</i>	13 ± 5	11 ± 5	12 ± 5	<i>ns</i>
<i>Score Mc Cabe</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>ns</i>
<i>Mortalité (%)</i>	<i>43</i>	<i>40</i>	<i>42</i>	<i>ns</i>

Tableau 1. *Caractéristiques démographiques des patients.*
Valeur moyenne ± SD

✓ Clinique à l'admission.

Parmi les données cliniques recueillies le jour de l'admission, seules la valeur de la température corporelle, l'administration d'une antibiothérapie ou d'une corticothérapie (hémisuccinate d'hydrocortisone) différaient de façon significative entre les patients des deux groupes septique versus non septique (avec respectivement $p= 0,039$; $p< 0,001$ et $p = 0,0145$). (cf. tableau 2)

✓ Biologie à l'admission.

Pour ce qui est des éléments de la biologie, on notait une concentration sanguine plus élevée en leucocytes, en polymorphonucléaires neutrophiles, en lymphocytes totaux et lymphocytes T régulateurs chez les patients non septiques versus patient septiques ($p < 0,01$ pour les 3 premières valeurs et $p < 0,03$ pour les Tregs). (cf. tableau 3-a).

Cependant, il n'existait pas de différence significative quant au taux des sous-populations cellulaires, à savoir les lymphocytes T CD4⁺, les cellules NK et les monocytes. (cf. tableau 3-b).

Nous pouvons déjà noter qu'il n'existait plus de différence significative entre les différents groupes quand on s'intéresse à la proportion des lymphocytes T régulateurs par rapport aux LT CD4⁺.

Enfin, on peut constater une élévation nettement plus importante de la protéine C réactive chez les patients septiques en comparaison des non septiques (l'analyse des valeurs de procalcitonine n'étant pas possible du fait d'un manque trop important de prélèvements dans le groupe non septique).

L'ensemble de ces variations peut être expliqué par la nature différente du choc.

	<i>Choc septique</i> (n=21)	<i>Choc autre</i> (n=15)	<i>Total</i> (n= 36)	<i>p</i>
<i>Fréquence cardiaque (BPM)</i>	108 ± 20	99 ± 25	105 ± 22	<i>ns</i>
<i>Pression artérielle moyenne (mmHg)</i>	72 ± 12	71 ± 12	72 ± 11	<i>ns</i>
<i>Température corporelle (°C)</i>	37,8 ± 1,4	36,6 ± 1,8	37,4 ± 1,7	0,039
<i>Score de Glasgow</i>	6	6	6	<i>ns</i>
<i>Volume diurèse (mL/j)</i>	649 ± 674	802 ± 725	709 ± 686	<i>ns</i>
<i>Ventilation mécanique (%)</i>	100	93	97	<i>ns</i>
<i>Epuration extra-rénale (%)</i>	38	40	39	<i>ns</i>
<i>Catécholamines (%)</i>	100	100	100	<i>ns</i>
<i>Antibiothérapie (%)</i>	100	37	72	p<0,0001
<i>Corticothérapie (%)</i>	62	20	44	0,0145
<i>Protéine C activée (%)</i>	5	0	3	<i>ns</i>

Tableau 2. Données cliniques à l'admission. (moyenne ± SD)

	<i>Choc septique</i> (n=21)	<i>Choc autre</i> (n=15)	p
Leucocytes (cellules/ μ L)	11 539 \pm 8 133	18 707 \pm 6 686	0,009
PN Neutrophiles (cellules/ μ L)	9 806 \pm 6 891	15 077 \pm 4 178	0,0093
Lymphocytes (cellules/ μ L)	684 \pm 647	2305 \pm 2719	0,001
Lymphocytes CD4+ (cellules/ μ L)	343 \pm 230	760 \pm 926	ns
Treg (cellules/ μ L)	25 \pm 16	39 \pm 27	0,035
Cellules NK (cellules/ μ L)	27 \pm 29	45 \pm 72	ns
Monocytes (cellules/ μ L)	894 \pm 862	1000 \pm 772	ns
Plaquettes (cellules/mm3)	179 235 \pm 109 800	222 545 \pm 76 181	ns
TQ (%)	54 \pm 20	64 \pm 19	ns
Créatininémie (mg/L)	22 \pm 9	21 \pm 10	ns
Bilirubinémie (mg/L)	21 \pm 29	17 \pm 28	ns
Lactatémie (mmol/L)	5 \pm 4	6 \pm 4	ns
Protéine C réactive (mg/L)	178 \pm 110	54 \pm 49	0,0013
Procalcitonine (ng/mL)	34 \pm 42	1,4 \pm 1,8	/

Tableau 3-a. Biologie à l'admission. Groupe septique versus non septique

	<i>Choc septique</i> (n=21)	<i>Choc autre</i> (n=15)	<i>Volontaires sains</i> (n=7)	<i>p</i>
HLA-DR+ (% de monocytes)	10 ± 9	17 ± 11	82 ± 11	<0,0001
Lymphocytes CD4+ (cellules/ μ L)	343 ± 230	760 ± 926	890 ± 384	Ns
Tregs (cellules/ μ L) / (% de CD4+)	25 ± 16 / 8,2 ± 0,9	39 ± 27 / 8,1 ± 1	65 ± 19 / 8 ± 2	< 0,03 / ns
Cellules NK (cellules/ μ L)	27 ± 29	45 ± 72	204 ± 84	0,03
% exprimant NKG2D (MFI)	1,26 ± 0,73	0,82 ± 0,23	2,3 ± 0,1	ns

Tableau 3-b. *Sous-populations cellulaires, comparaison des valeurs des patients versus volontaires sains.*

- ✓ Origine de l'infection et nature des micro-organismes responsables des états de choc septique.

Parmi les 21 patients atteints de choc septique, le diagnostic microbiologique est resté sans documentation chez 4 patients (19%).

Les germes les plus fréquemment retrouvés ont été essentiellement des cocci gram + (staphylocoque et pneumocoque) et des entérobactéries avec une répartition similaire de près de 40%.

L'atteinte pulmonaire était la plus fréquente, suivie des péritonites puis des infections urinaires. Chez deux patients, il existait une bactériémie sans que son origine ne soit retrouvée. Enfin, les autres sites d'infection étaient des dermohypodermes pour 2 patients, une endocardite chez un patient et une médiastinite postopératoire chez un patient.

Dans cette cohorte et au cours du suivi des patients, 4 patients ont développé une surinfection nosocomiale. Le site principal de l'infection était le poumon avec l'isolement de bactéries gram + lors des cultures. L'ensemble de ces éléments est retracé dans le tableau 4.

	<i>Choc septique (n = 21)</i>
Age (ans)	67 ± 12
Homme/femme	15/6
Site infections (%)	
Poumon	38
Abdomen	19
Urine	10
Bactériémie	9
Autres	24
Micro-organismes (%)	
Gram positif	38
Gram négatif	38
Associés	5
Sans documentation	19
Surinfections nosocomiales (%)	(n = 4) 19
Sites	
Poumon	83
Abdomen	0
Urine	8
Bactériémie	8
Micro-organismes	
Gram positif	75
Gram négatif	25
Associés	0
Autres	0

Tableau 4. Caractéristiques des infections des patients septiques.

2. Expression monocytaire de HLA-DR.

- ✓ Valeur absolue du nombre de monocytes.

Tout au long du suivi, on ne constate pas de différence significative entre les deux groupes de patients en ce qui concerne le nombre de monocytes présents dans le sang circulant. Par ailleurs, les valeurs obtenues chez les patients correspondent sensiblement à celles rencontrées chez les sujets sains. L'étude des données individuelles ne permet pas de dégager une tendance évolutive particulière. (cf. tableau I et figure 1).

	Septiques (n = 21)	Non septiques (n = 15)	P
J1	894 ± 862	909 ± 755	0,486
J3	1001 ± 1387	1184 ± 1299	0,304
J5	661 ± 382	1729 ± 1385	0,071
J7	937 ± 498	932 ± 703	0,419

Tableau I. Concentration sanguine des monocytes (cellules/ μ L) chez les patients septiques versus non septiques.

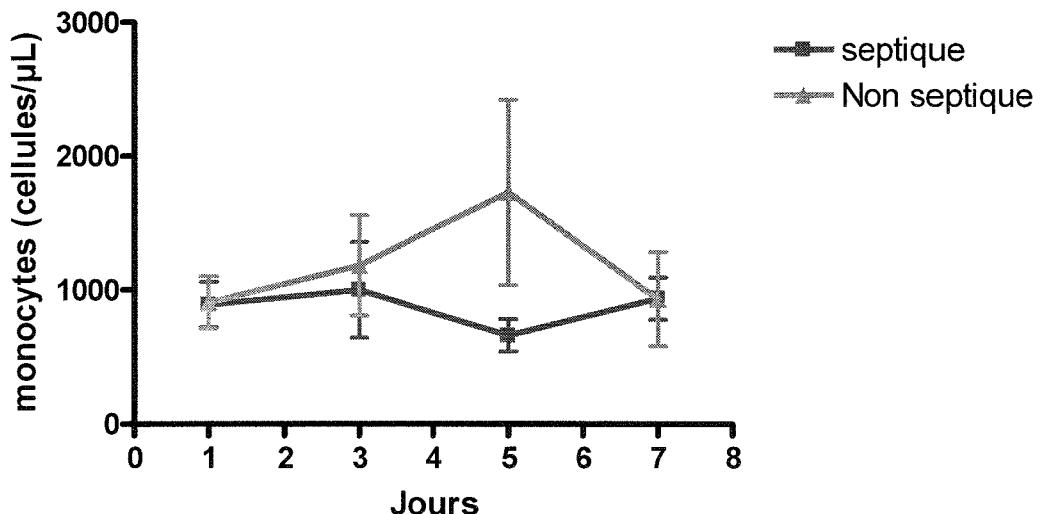


Figure 1. Cinétique des monocytes au cours du choc septique versus non septique.

- ✓ Evolution de l'expression monocytaire de HLA-DR en fonction de la nature du choc.

Dès le premier jour du choc, quelle que soit son étiologie, le niveau d'expression moyen de l'antigène HLA-DR à la surface des monocytes apparaît diminué par rapport à celui de sujets sains ($10 \pm 11\%$ et $17 \pm 11\%$ vs $82 \pm 11\%$, respectivement groupes septique, non septique vs volontaires sains ; $p < 0,0001$).

Tout au long du suivi des patients (J1 à J7), les valeurs du pourcentage d'expression monocytaire restent inférieures aux valeurs normales.

Par ailleurs, il existe une nette différence quant à l'importance de cette diminution entre les deux groupes de patients. Ainsi, les patients du groupe septique auront un pourcentage d'expression monocytaire de l'antigène HLA-DR significativement plus bas que celui des patients du groupe non septique ($p < 0,05$, sauf à J5 où aucune conclusion statistique ne peut

être donnée du fait d'une insuffisance de données biologiques dans les groupes). (cf. Tableau II et figure 2).

	Septique (n = 21)	Non septique (n = 15)	P
J1	10 ± 9	17 ± 11	0,044
J3	11 ± 8	23 ± 12	0,016
J5	9 ± 9	25 ± 27	0,112
J7	13 ± 12	26 ± 13	0,038

Tableau II. Pourcentage d'expression du complexe HLA-DR par les monocytes des patients des groupes septiques vs non septiques.

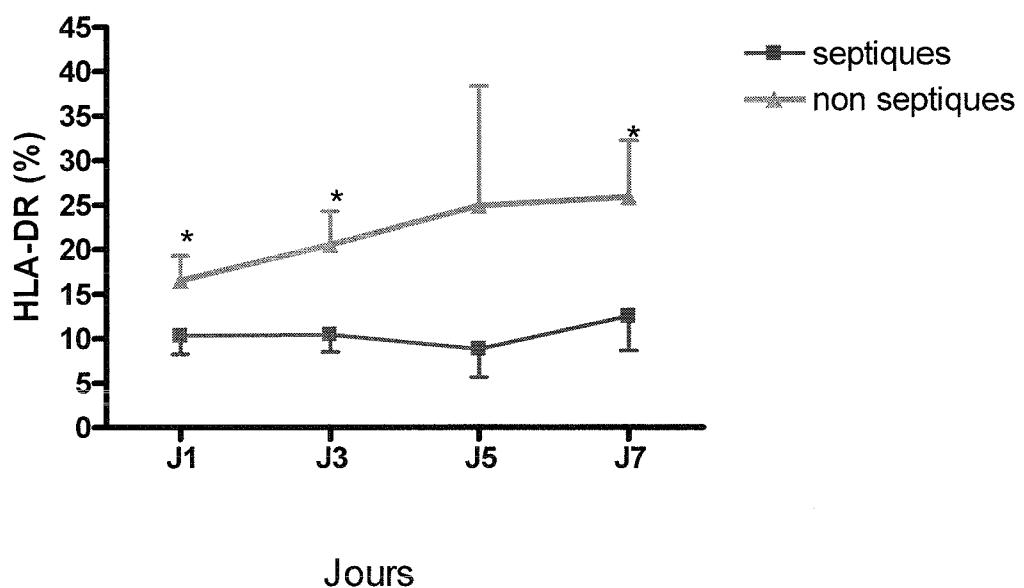


Figure 2. Cinétique de l'expression monocytaire de l'antigène HLA-DR des patients des groupes septiques vs non septiques.

* : p < 0,05

En revanche, lorsque les résultats de la mesure de l'antigène HLA-DR monocytaire sont exprimés en moyenne d'intensité de fluorescence (MFI), données corrélées au nombre de sites HLA-DR par cellule, on ne constate plus de différence au cours du temps entre les deux groupes de patients. (cf. figure 3).

De ces deux informations, on peut conclure que les monocytes HLA-DR+ sont moins nombreux au cours du choc septique versus chocs non septiques, mais que leur niveau d'activation est similaire (MFI).

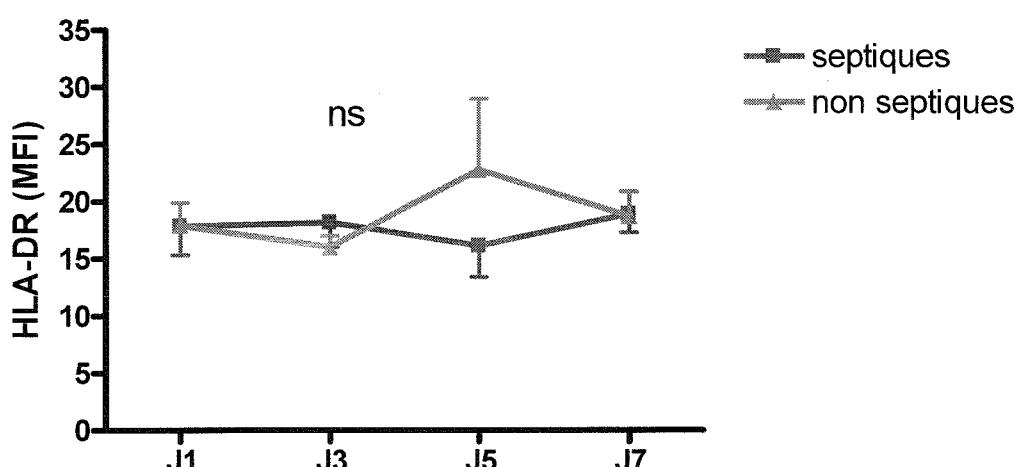


Figure 3. Cinétique de l'expression de HLA-DR à la surface des monocytes des patients des groupes septiques vs non septiques (exprimée en MFI).

- ✓ Evolution en fonction du devenir des patients.

L'analyse de la cinétique de l'expression de l'antigène HLA-DR monocytaire se révèle difficile lorsqu'on étudie les groupes non plus en fonction de l'étiologie du choc mais en terme de devenir du patient.

En effet, en considérant l'ensemble de la population ($n = 36$), il n'existe pas de différence significative entre la cinétique du pourcentage d'expression monocytaire de HLA-DR entre survivants et non survivants ($p = 0,243$; cf. figure 4).

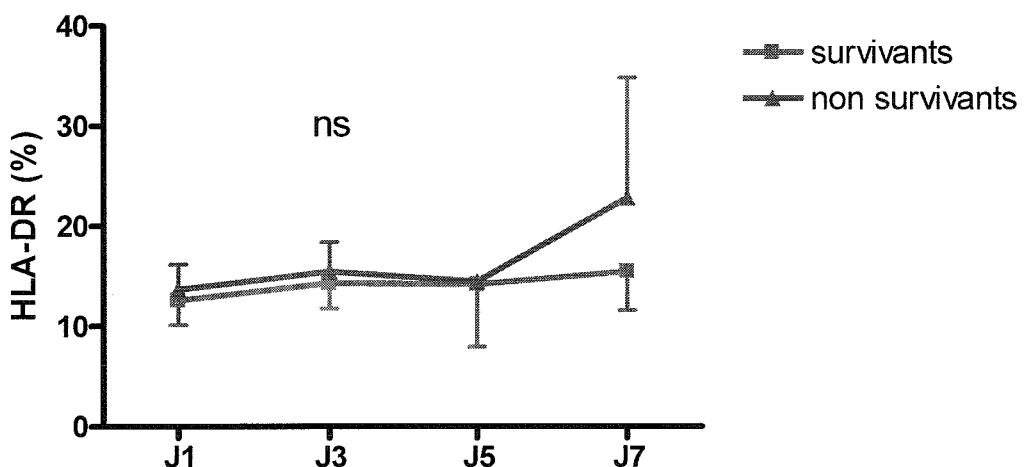


Figure 4. Cinétique du pourcentage d'expression monocytaire de HLA-DR en fonction du devenir chez l'ensemble des patients

Dès lors que l'on sépare les patients septiques des patients non septiques, les effectifs et les prélèvements sanguins ne deviennent pas assez nombreux, surtout au-delà du 5^{ème} jour, pour faire une analyse statistique fiable. Ainsi, dans le groupe de patients septiques, on ne constate pas de différence dans la cinétique d'expression de HLA-DR lors des trois premiers jours.

Cependant, il n'existe pas de donnée biologique à J5 pour les non survivants et un seul prélèvement à J7, ce qui donne une impression d'augmentation de l'expression de HLA-DR chez les non survivants, dont la significativité ne peut être analysée. (cf. figure 5).

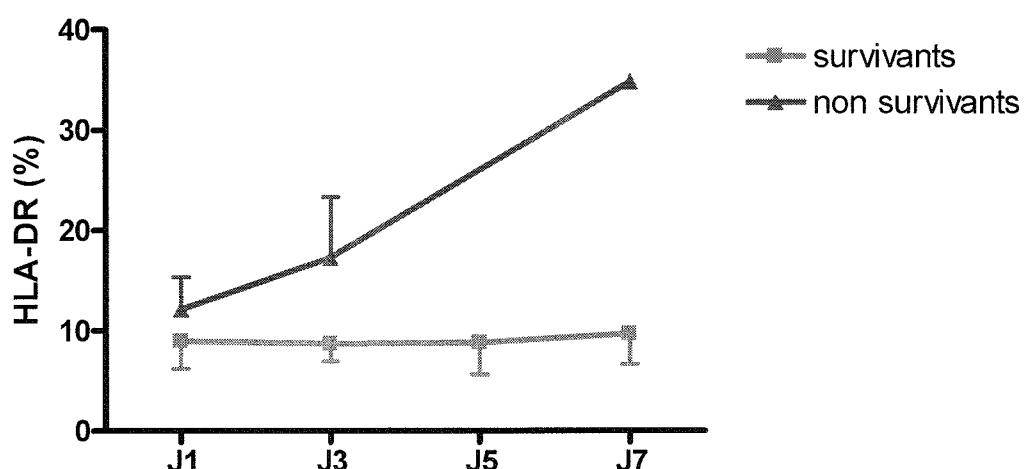


Figure 5. Cinétique du pourcentage d'expression monocytaire de HLA-DR en fonction du devenir chez les patients septiques.

Enfin, pour les patients du groupe non septique, on constate que tout au long du suivi, les valeurs moyennes obtenues chez les survivants apparaissent supérieures à celles mesurées chez les non survivants, sans qu'il n'existe de différence significative lors des 3 premiers jours. Au-delà, alors que la plupart des non survivants conservent des valeurs très abaissées, on note une augmentation progressive du pourcentage de monocytes HLA-DR positifs (cf. figure 6).

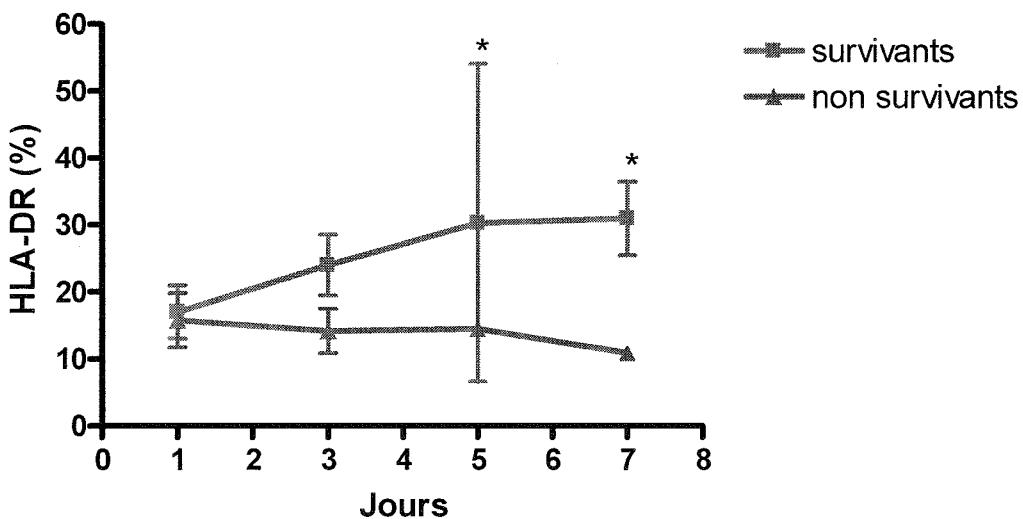


Figure 6. Cinétique du pourcentage d'expression monocytaire de HLA-DR en fonction du devenir chez les patients non septiques.

* $p = 0,014$

3. Évolution des Tregs au cours du choc.

✓ Evolution en fonction de la nature du choc.

Lorsque l'on s'intéresse à la cinétique de la proportion des Tregs par rapport à l'ensemble des LT CD4+, on constate que lors de la phase initiale du choc (de J1 à J3) il n'existe pas de différence entre le groupe septique versus non septique ($8,2 \pm 0,8\%$ vs $8,1 \pm 1\%$; $p = 0,108$), de même qu'avec les valeurs des volontaires sains ($7,7 \pm 0,6\%$).

En revanche, à partir du 5^{ème} jour on constate une ascension de la proportion des Tregs chez les patients des 2 groupes, avec, cependant, une augmentation significativement plus élevée dans le groupe non septique ($9,6 \pm 1,1\%$ vs $12,4 \pm 1,2\%$; $p = 0,04$). Les deux groupes ont un pourcentage de Tregs significativement plus élevé que le groupe témoin ($p = 0,04$).

Au 7^{ème} jour d'évolution du choc, le pourcentage de Tregs reste élevé dans le groupe non septique et chute discrètement dans le groupe septique ($9,5 \pm 1,1\%$ vs $12,5 \pm 2,4\%$; $p = 0,05$). Au-delà, les patients sont trop peu nombreux pour pouvoir analyser la cinétique. (cf. figure 7).

Si l'on regarde la valeur absolue des Tregs, on observe que, lors des 3 premiers jours du choc quelle que soit son étiologie, les Tregs ont une concentration inférieure à la population de volontaires sains, de plus les patients septiques ont la concentration la plus basse des trois groupes étudiés (25 ± 16 cellules/ μL vs 39 ± 37 vs 65 ± 19 , respectivement septique, non septique et témoins, $p < 0,03$). Par la suite, on observe une augmentation des Tregs à partir de J5 pour obtenir à J7 des valeurs égales à celle de la population de volontaires sains. (cf. figure 8).

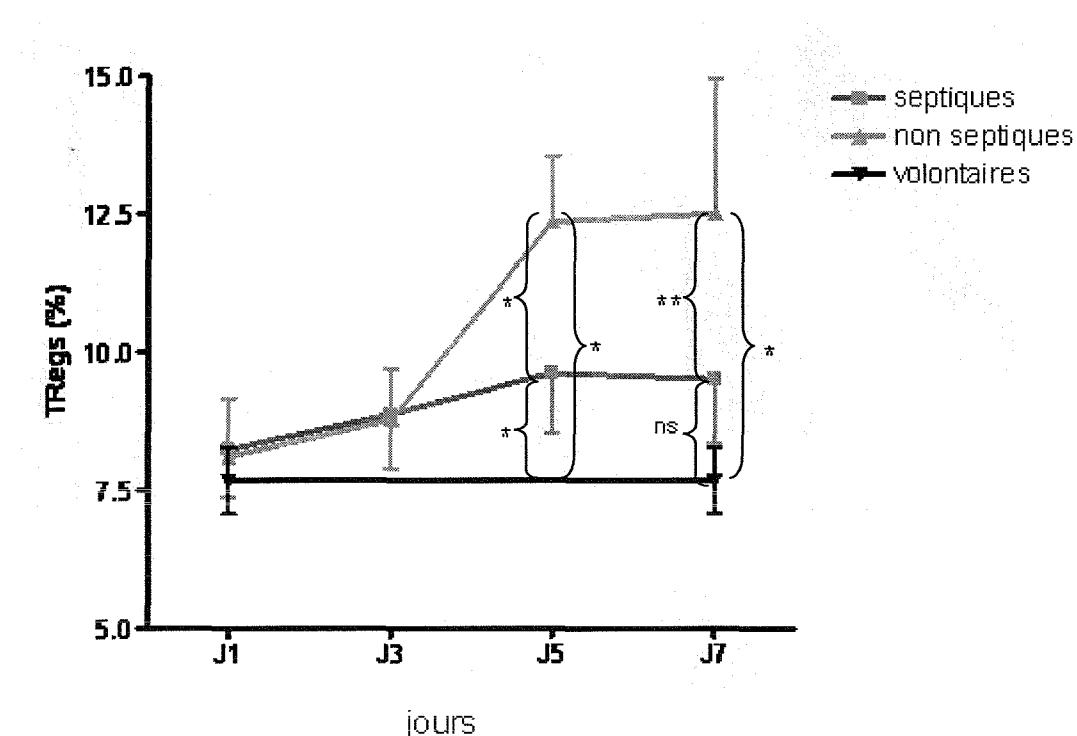


Figure 7. Cinétique du taux (en % de $\text{CD}4^+$) des Tregs des patients des groupes septiques vs non septiques.

* : $p = 0,04$; ** : $p = 0,05$

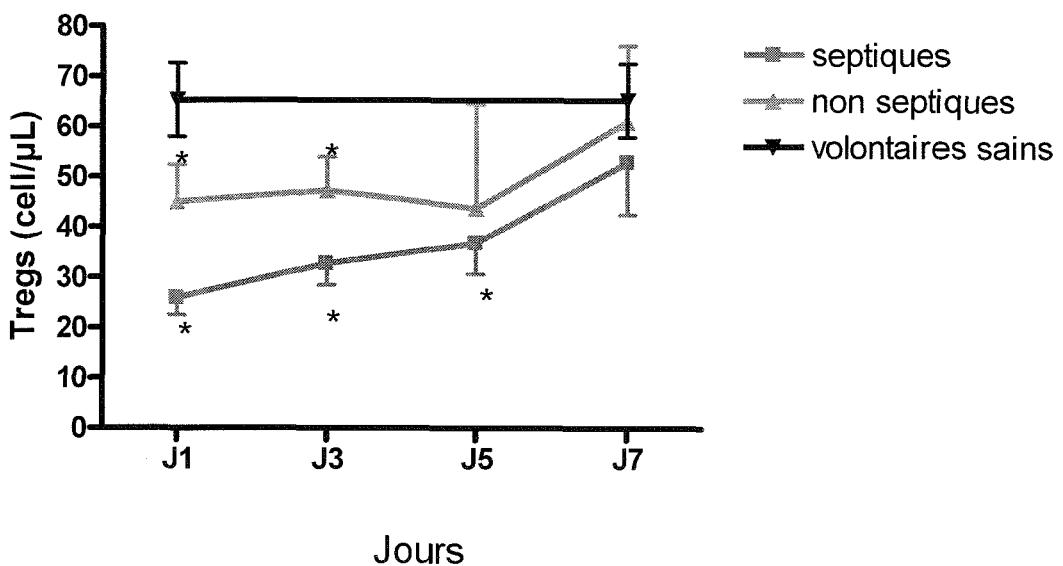


Figure 8. Cinétique de la concentration (cellules/ μ L) de Tregs des patients des groupes septiques vs non septiques.

* : $p < 0,03$

Nous nous sommes aussi intéressés à la cinétique des LT CD4 $^{+}$ totaux des 2 groupes de patients pour essayer de comprendre si l'augmentation du pourcentage des Tregs était liée à une diminution des LT CD4 $^{+}$ CD25 $^{-}$. Or, bien qu'à J1 le taux de CD4 $^{+}$ est inférieur pour les 2 groupes à celui des volontaires sains mais de façon non significative, la cinétique ultérieure est similaire pour les groupes septique versus non septique et tend, à J7, à retrouver des valeurs identiques aux volontaires sains. (cf. figure 9).

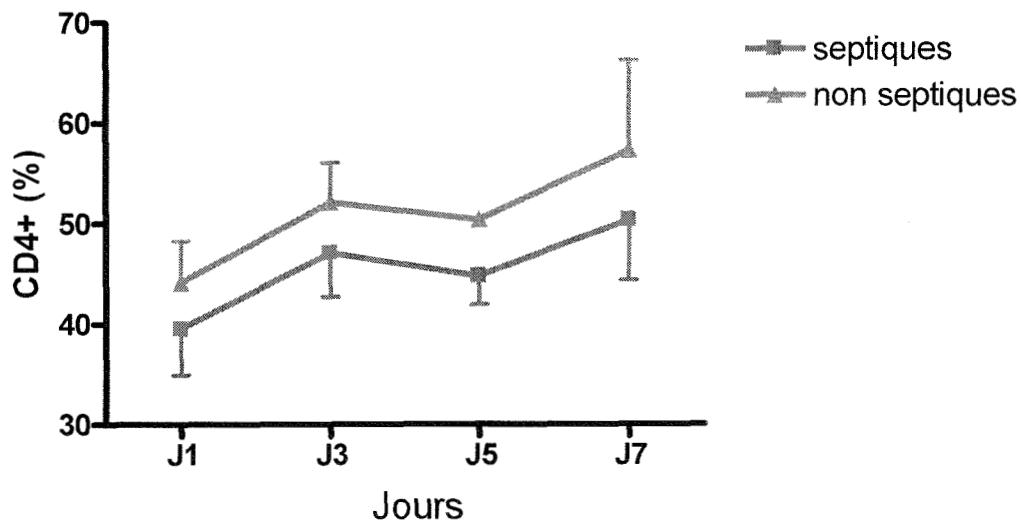


Figure 9. Cinétique du taux (% des lymphocytes totaux) des LT CD4⁺ des patients des groupes septiques vs non septiques ($p = ns$).

✓ Evolution en fonction du devenir du patient.

Nous avons voulu étudier si, en plus de la nature du choc, il existait des différences dans la cinétique des Tregs en fonction du devenir des patients.

Si l'on considère, tout d'abord, l'ensemble de la population des patients ($n = 36$), on ne note pas de différence quant à l'évolution de la proportion ou de la concentration des Tregs chez les survivants versus non survivants. (cf. tableau III et figures 10-a et 10-b).

	Survivants (p = 21)	Non-survivants (n = 15)	p
J1	34 ± 20	34 ± 29	0,307
J3	38 ± 21	45 ± 27	0,364
J5	39 ± 20	52 ± 64	> 0,1
J7	54 ± 31	30 ± 28	> 0,1

Tableau III. Concentration sanguine des Tregs (cellules/ μ L) chez l'ensemble des patients.

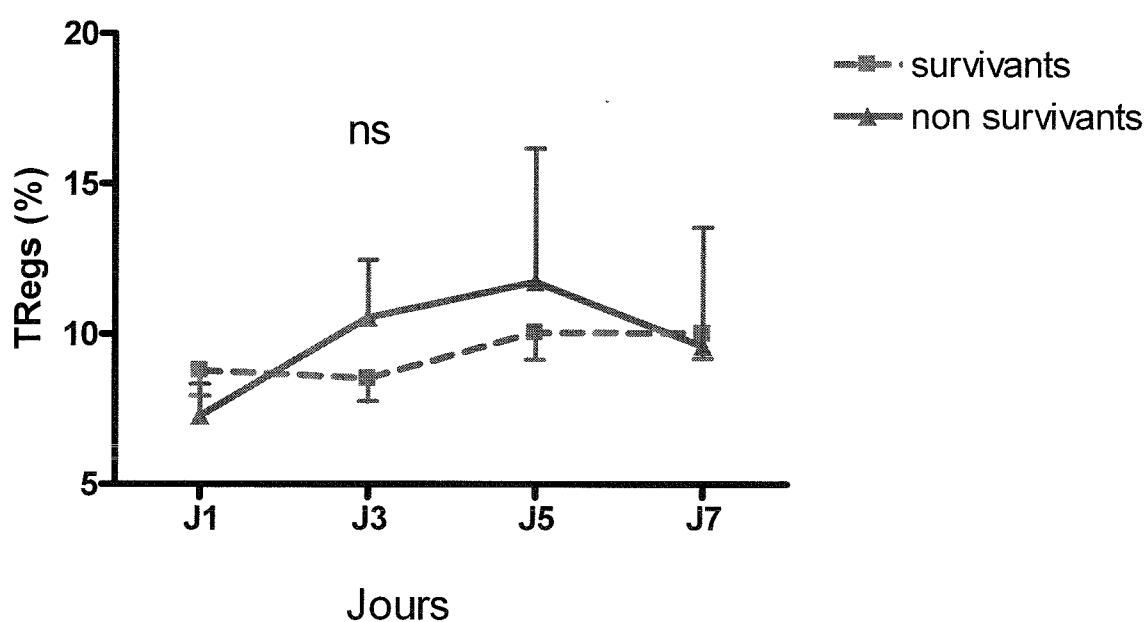


Figure 10-a. Cinétique du taux de Tregs (% de CD4⁺) chez l'ensemble des patients.

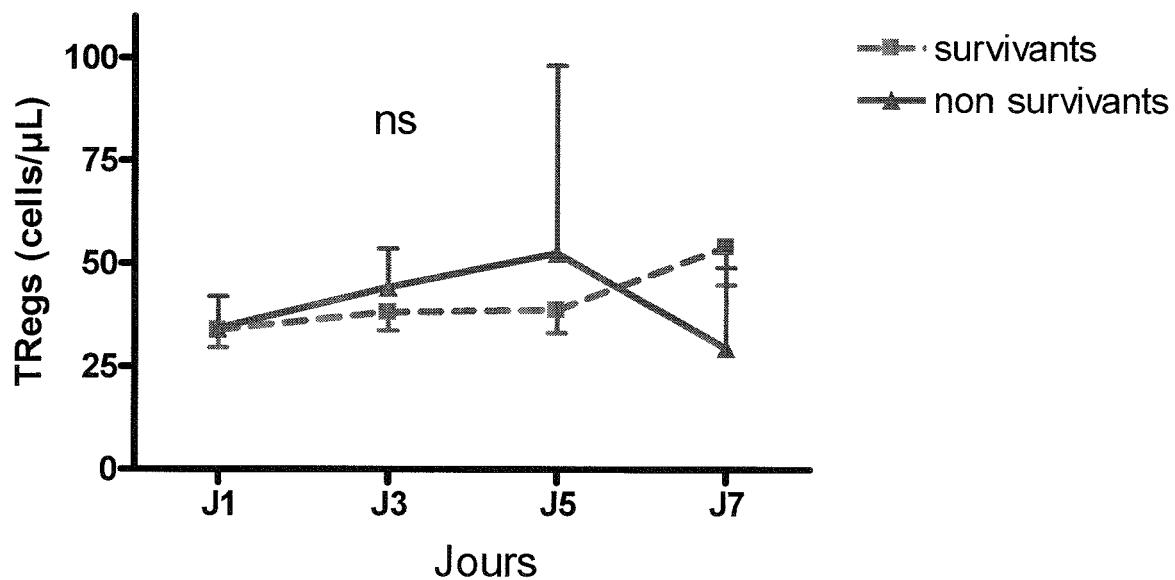


Figure 10-b. Cinétique du nombre de Tregs / μ L chez l'ensemble des patients.

De même, si l'on individualise le groupe des patients non septiques, la cinétique des Tregs est similaire chez les survivants et chez les patients qui décèdent. (cf. tableau IV et figure 11) ;

	Survivants (n = 10)	Non-survivants (n = 5)	p
J1	9 ± 4	8 ± 4	ns
J3	9 ± 2	8 ± 6	ns
J5	12 ± 2	11 ± 1	ns
J7	15 ± 1	10 ± 6	ns

Tableau IV. Taux (% de CD4⁺) de Tregs chez les patients non septiques, en fonction du devenir.

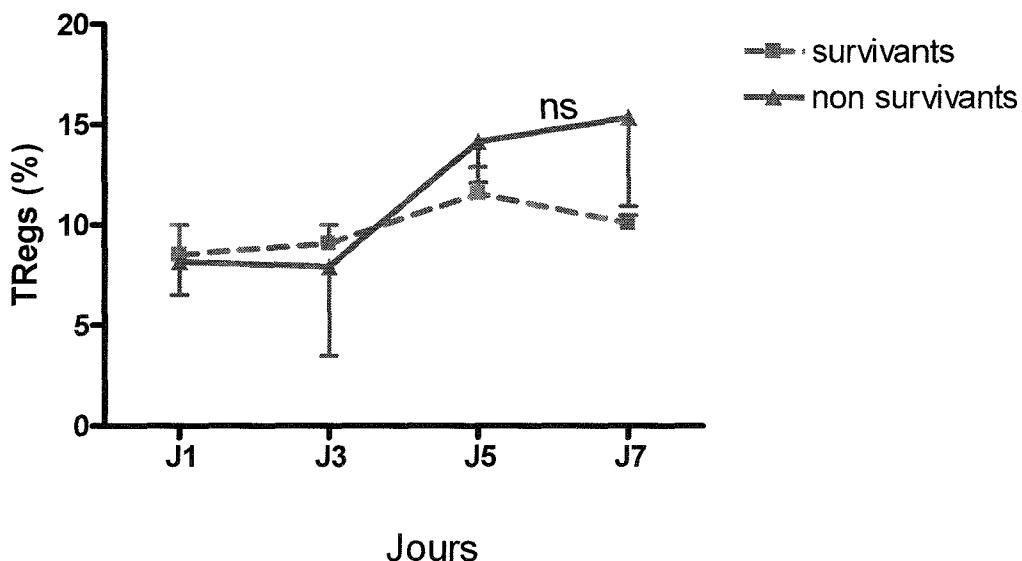


Figure 11. Cinétique du taux de Tregs (% de CD4⁺) chez les patients non septiques, en fonction du devenir.

Enfin, quand on regarde la cinétique des Tregs des patients septiques, il est intéressant de constater que dès le premier jour du choc, il existe une nette infériorité en nombre ou en proportion de cette population cellulaire chez les patients qui décèdent par rapport aux survivants.

Cette différence reste présente tout au long de la période de suivie (ici, J7 car trop peu de données les jours suivants pour le groupe non survivants).

On peut remarquer qu'il existe une augmentation progressive du nombre de Tregs dès J3, avec une ascension plus marquée à partir de J5, chez les patients survivants. (cf. tableau V et figures 12-a et 12-b).

	Survivants (n = 12)	Non-survivants (n = 9)	p
J1	34 ± 15	15 ± 9	0,02
J3	33 ± 17	22 ± 1	0,02
J5	40 ± 20	19 ± 27	0,02
J7	52 ± 34	21 ± 0	0,02

Tableau V. Concentration sanguine des Tregs (cellules/ μ L) chez les patients septiques.

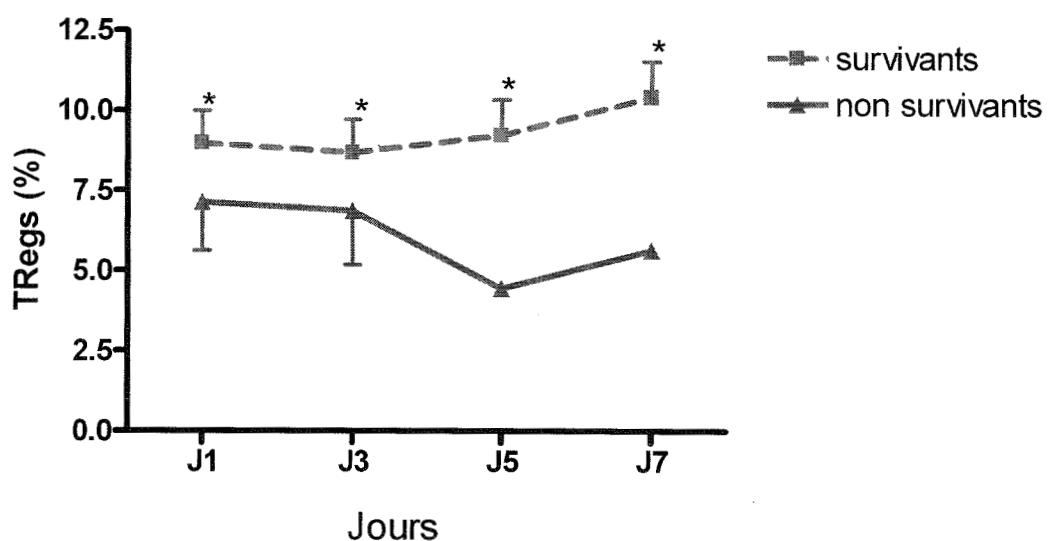


Figure 12-a. Cinétique du taux (% de CD4+) de Tregs chez les patients septiques.

* : p = 0,02.

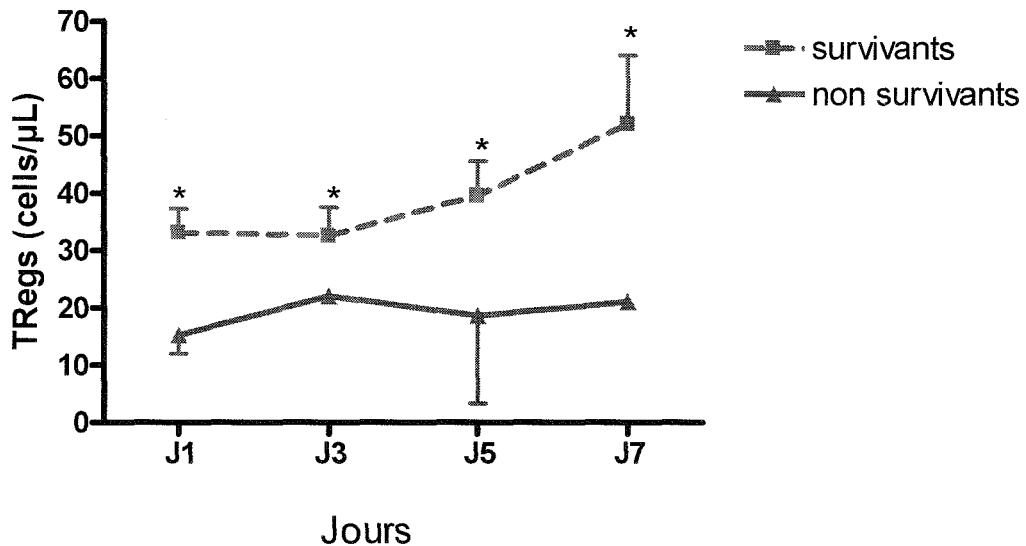


Figure 12-b. Cinétique de la concentration sanguine des Tregs (cellules/ μ L) chez les patients septiques.

* : $p = 0,02$.

4. Évolution des cellules NK et leur activation au cours du choc.

- ✓ Les lymphocytes Natural Killer au cours du choc.

Au cours de l'évolution du choc, sans présumer de son étiologie, on constate que les lymphocytes NK ne présentent pas de variations quant à leur concentration plasmatique ou à leur taux par rapport aux lymphocytes totaux. On constate seulement que la concentration plasmatique (cellules/ μ L) en cellules NK est inférieure à celle des volontaires sains aussi bien pour les patients du groupe septique que du groupe non septique. (cf. tableau 3-b supra et figure 13-a).

Cependant, la proportion des cellules NK par rapport à l'ensemble des lymphocytes reste identique pour les trois groupes, ce qui peut être expliqué par le fait que l'apoptose survenant au cours du choc touche de façon similaire la sous-population de cellules NK et les autres cellules de la population de référence. (cf. figure 13-b).

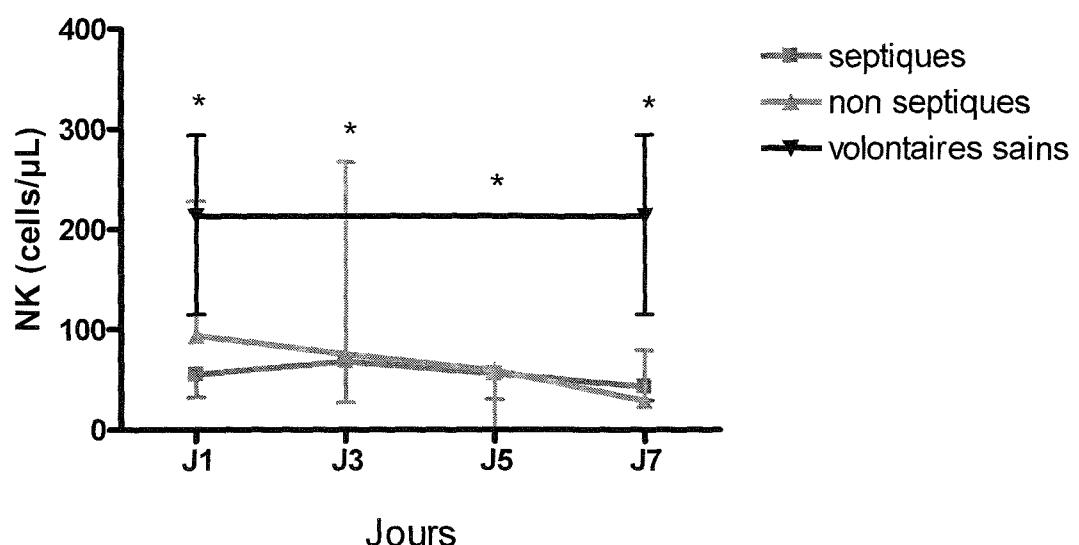


Figure 13-a. Cinétique du nombre de cellules NK / μ L des trois groupes.

*: $p = 0,03$, septique vs témoin et non septique vs témoin ; septique vs non septique = ns.

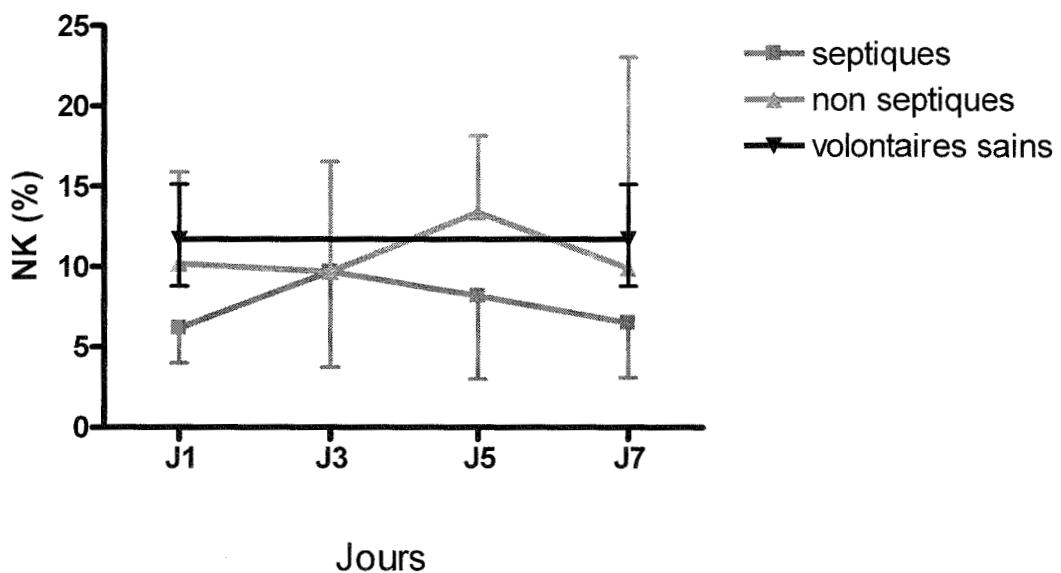


Figure 13-b. Cinétique de la proportion de cellules NK / lymphocytes totaux en fonction de la nature du choc.

Si l'on considère l'ensemble de la population de patients, il n'existe pas de différence significative dans l'évolution de la proportion de cellules NK en fonction du devenir du patient (cf. figure 14).

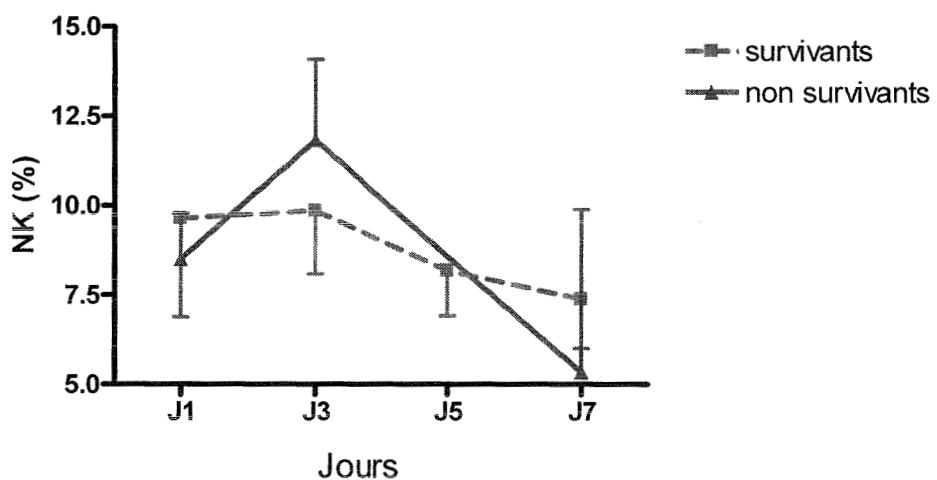


Figure 14. Cinétique de la proportion de cellules NK / lymphocytes totaux en fonction du devenir chez l'ensemble des patients.

- ✓ L'activation des cellules NK au cours du choc.

Pour apprécier le degré d'activation des cellules NK, nous avons étudié l'expression membranaire du récepteur NKG2D.

En considérant la proportion de cellules NK exprimant ce récepteur, on observe que, seulement à J1, le taux est plus élevé chez les patients septiques versus non septiques. La tendance s'annule par la suite au cours du temps (cf. figure 15-a).

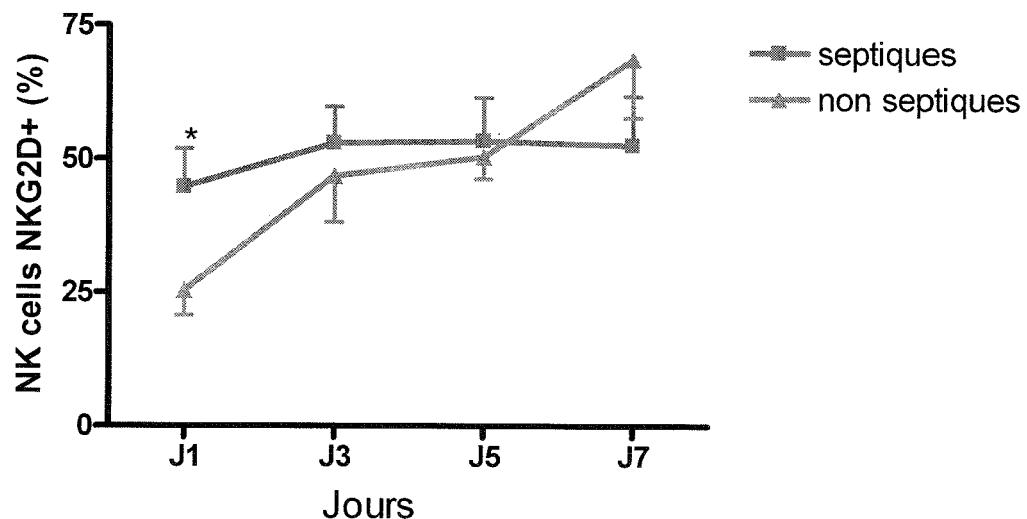


Figure 15-a. Cinétique de la proportion de cellules NK positive pour NKG2D en fonction de la nature du choc.

* : $p = 0,01$

De plus, il existe une différence significative de l'intensité moyenne de fluorescence des cellules NKG2D positives à J1 entre choc septique versus non septique.

De nouveau, au-delà des premières 24 heures, on ne constate plus de différence entre les deux groupes (cf. figure 15-b).

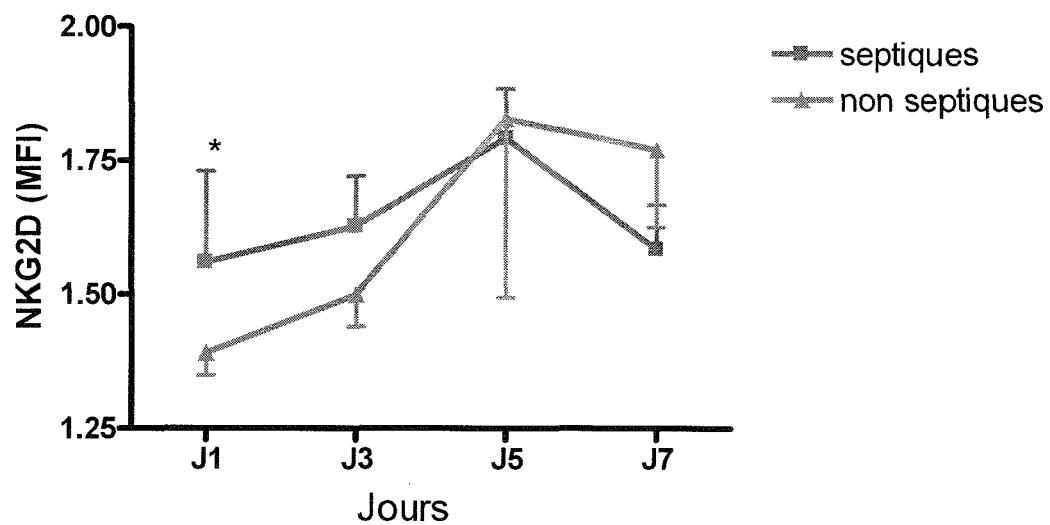


Figure 15-b. Cinétique de l'intensité moyenne de fluorescence des cellules NKG2D^{pos} en fonction de la nature du choc.

* : $p = 0,03$

Au total, concernant les cellules NK, leur concentration sanguine est identique ainsi que leur évolution au cours du choc pour les deux groupes.

A J1 uniquement, on peut constater qu'il existe plus de cellules NK activées (NKG2D^{pos}) et que ces cellules possèdent plus de marqueurs d'activation (MFI) dans le groupe septique versus non septique.

5. Évolution des cytokines au cours du choc.

✓ sTREM-1.

La concentration plasmatique de la forme soluble du récepteur exprimé sur les cellules myéloïdes (sTREM-1) a été décrite comme augmentée dans les réponses inflammatoires d'origine infectieuse (141, 142). Dans notre cohorte, nous constatons que dès l'admission, les patients septiques ont des niveaux très élevés de sTREM-1, supérieurs aux patients non septiques (à J1, 389 ± 293 pg/mL vs 297 ± 311 pg/mL, $p = 0,15$). Tout au long du suivi, cette différence perdure entre les deux groupes, cependant, même si les valeurs moyennes obtenues dans le groupe des patients septiques apparaissent supérieures à celles des patients non septiques, aucune différence significative ne peut être mise en évidence (les écarts types importants reflètent une grande dispersion des valeurs individuelles) (cf. figure 16-a).

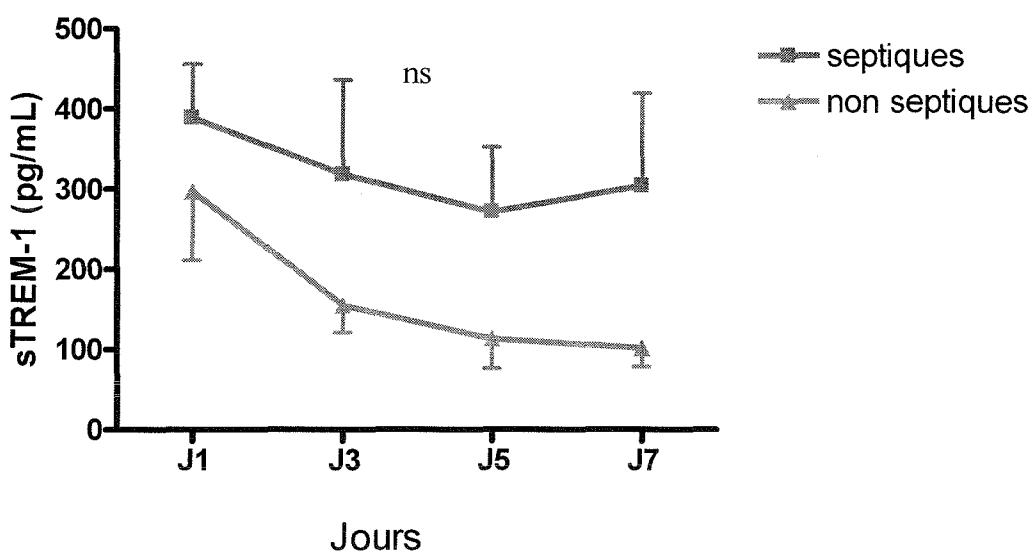


Figure 16-a. Cinétique de la concentration de sTREM-1 (pg/mL) en fonction de la nature du choc.

Si l'on étudie la cinétique de la concentration de sTREM-1 en fonction du devenir chez l'ensemble des patients quelle que soit la nature du choc, on constate que les valeurs des patients qui décèdent sont supérieures à celles des patients survivants.

A J1, il existe une différence significative entre les deux groupes (234 ± 228 pg/mL vs 549 ± 288 pg/mL ; $p = 0,0003$, survivants vs non survivants), par la suite les données des patients non survivants ne sont pas assez nombreuses pour dégager une différence statistique (cf. figure 16-b).

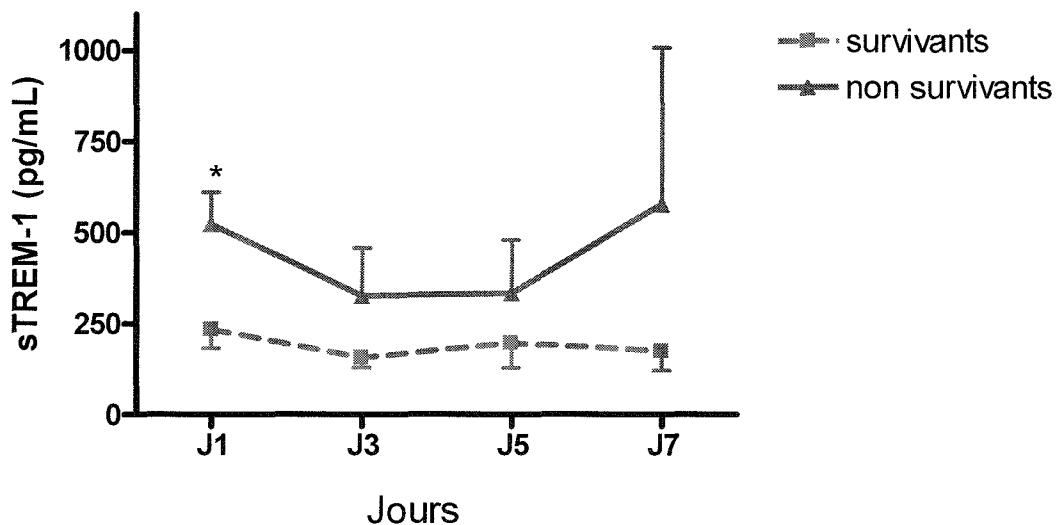


Figure 16-b. Cinétique de la concentration de sTREM-1 (pg/mL) en fonction du devenir chez l'ensemble des patients.

* : $p = 0,0003$

✓ Cytokines pro-inflammatoires.

Quelle que soit la cytokine étudiée, il n'existe pas de différence dans l'évolution de leur taux aux cours des chocs, toutes étiologies confondues (cf. tableau VI et figures 17 a, b et c).

	IL-2			TNF α			INF γ		
	septique	Non septique	P	Septique	Non septique	P	septique	Non septique	p
J1	30,6 ± 34,8	12,7 ± 12,1	0,12	6,5 ± 5,9	4 ± 2,8	0,34	176 ± 426	72 ± 62	0,4
J3	2,2 ± 2,5	18,8 ± 27,2	0,6	2,4 ± 3,2	0,5 ± 1	0,37	5,7 ± 8,8	0	ns
J5	19,4 ± 43,2	3,4 ± 1,4	1	16,3 ± 36,8	2,7 ± 2,4	0,8	74,9 ± 157	9,3 ± 9,7	0,6
J7	15,3 ± 22,9	1,9 ± 3,3	0,37	4,5 ± 6,9	2,7 ± 4,7	0,8	28,4 ± 45,9	3,7 ± 6,7	0,6

Tableau VI. Cinétique des concentration (pg/mL) des certaines cytokines Th1 au cours des chocs chez l'ensemble des patients.

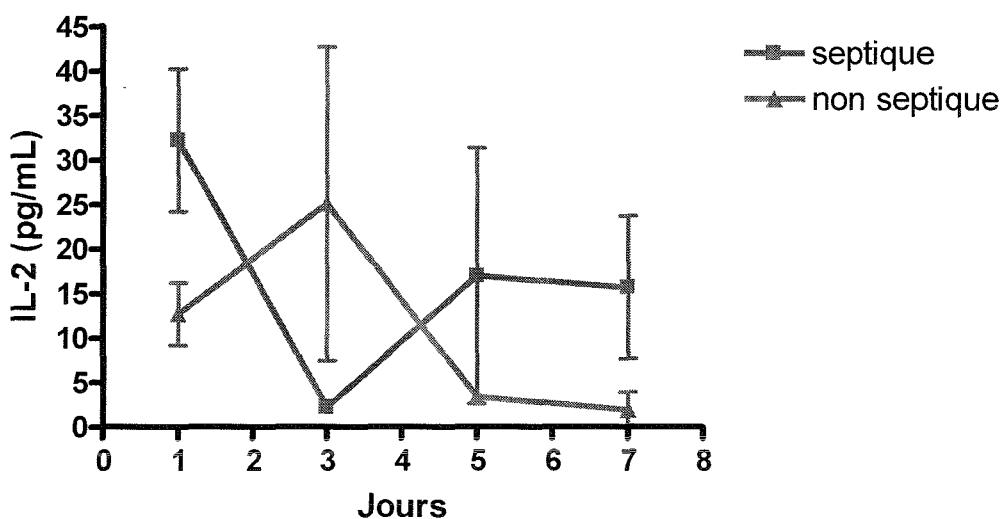


Figure 17-a. Cinétique de la concentration d'IL-2 (pg/mL) au cours des chocs chez tous les patients.

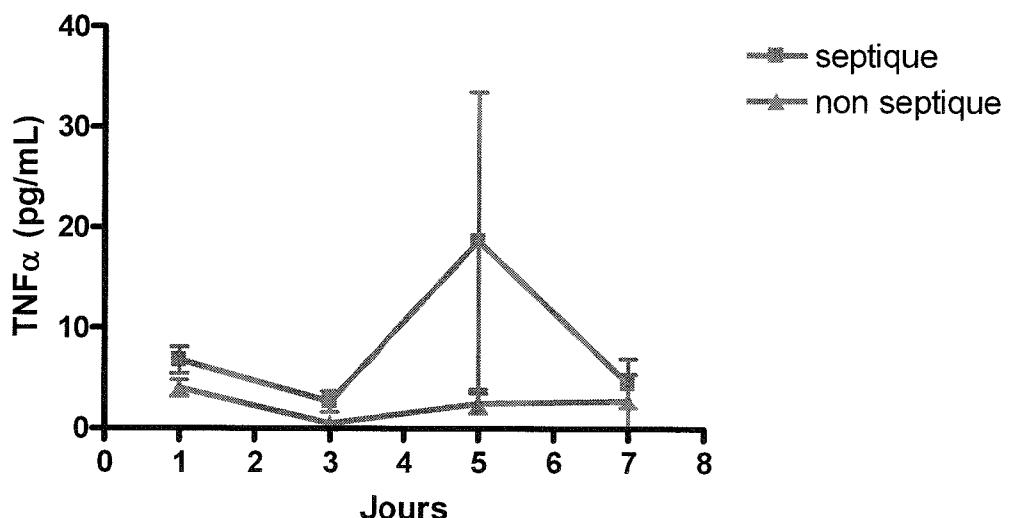


Figure 17-b. Cinétique de la concentration du TNF α (pg/mL) au cours des chocs chez tous les patients.

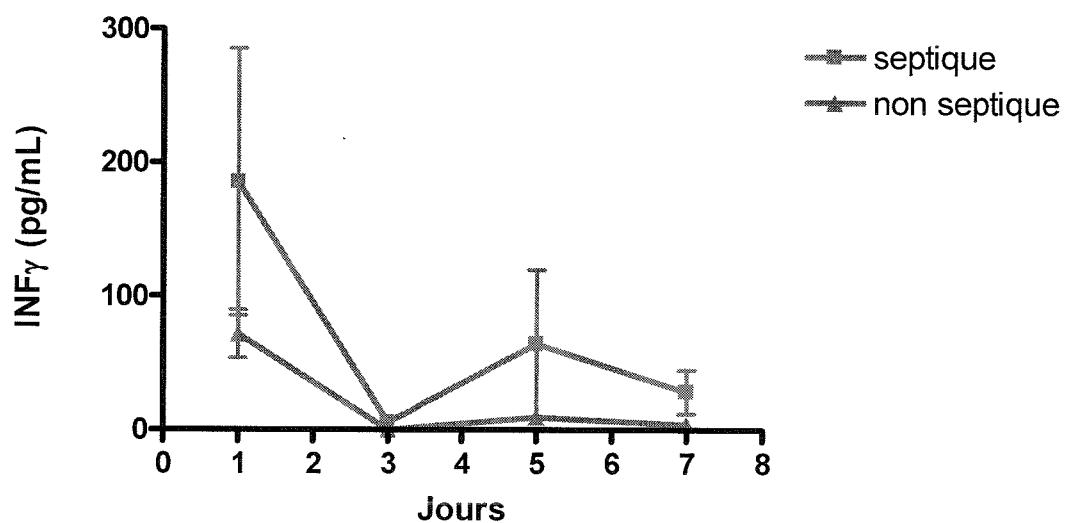


Figure 17-c. Cinétique de la concentration d'INF γ (pg/mL) au cours des chocs chez tous les patients.

Le suivi des concentrations des cytokines (aussi bien pro- qu'anti-inflammatoires) ne peut être analysé chez les groupes survivants-non survivants, car les échantillons de plasma sont trop peu nombreux au-delà de J3 dans le groupe non survivants.

Cependant, à J1 du choc, la concentration des cytokines pro-inflammatoires est similaire chez les personnes survivantes ou les personnes qui décèderont (cf. tableau VII).

	IL-2			TNF α			INF γ					
	J1		p	Survivants		Non survivants	P	survivants		Non survivants	p	
	Septique	Non septique		33,3 ± 31	25,7 ± 43,4	0,6	6,8 ± 5,2	5 ± 7	0,29	101,6 ± 86,6	301,5 ± 673	0,68
				14 ± 14	8,8 ± 5,6	0,9	3,8 ± 3,7	4,2 ± 1,3	0,7	56,3 ± 59,7	82,9 ± 70,1	0,35

Tableau VII. Concentration (pg/mL) des certaines cytokines Th1 au cours des chocs chez l'ensemble des patients, à J1, en fonction du devenir.

- ✓ Cytokines anti-inflammatoires.

Les constations précédentes sont retrouvées pour les cytokines anti-inflammatoires. S'il existe une différence significative pour le taux d'IL-5 à J1 entre les groupes septique et non septique, par la suite l'ensemble des cytokines Th2 étudiées ont des concentrations ainsi qu'une cinétique identiques quelle que soit la nature du choc (cf. Tableau VIII et figures 18 a, b et c).

	<i>IL-4</i>			<i>IL-5</i>			<i>IL-10</i>		
	Septique	Non septique	p	Septique	Non septique	p	Septique	Non septique	p
J1	8,6 ± 8,2	5,3 ± 3,1	0,4	1354 ± 1991	290 ± 504	0,049	79,9 ± 130	29,9 ± 26,6	0,57
J3	4,4 ± 5,4	0,5 ± 1	0,2	45,5 ± 37,9	73,4 ± 63,8	0,41	36,7 ± 90,3	21 ± 31,9	1
J5	14,5 ± 32,5	5,9 ± 2,5	0,16	56,5 ± 68,3	15,7 ± 7,9	0,31	33,4 ± 39,5	13,8 ± 12,5	0,79
J7	6,1 ± 10,9	5,9 ± 5,9	0,37	42,4 ± 29	12,7 ± 7,5	0,13	7,4 ± 6,1	7,2 ± 2,2	1

Tableau VIII. Cinétique des concentration (pg/mL) des certaines cytokines Th2 au cours des chocs chez l'ensemble des patients.

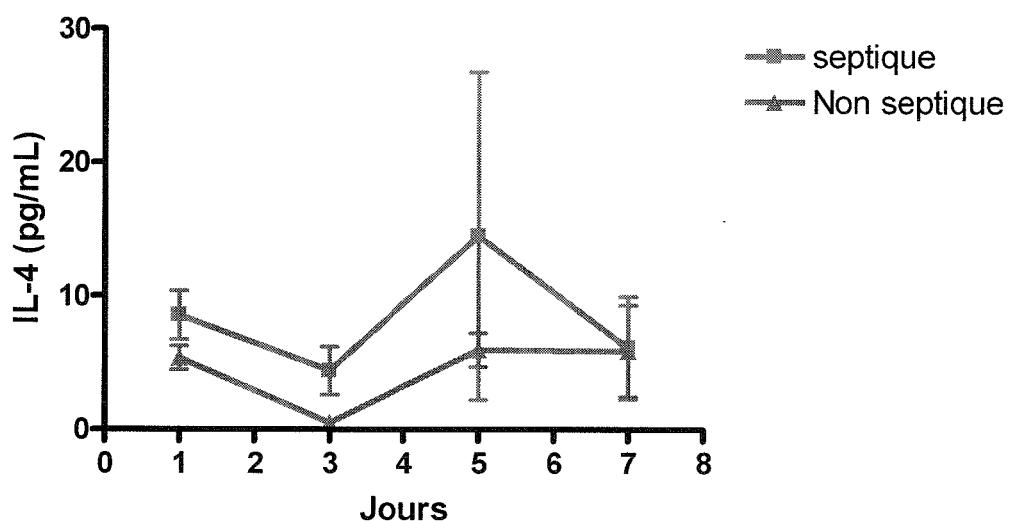


Figure 18-a. Cinétique de la concentration d'IL-4 (pg/mL) au cours des chocs chez tous les patients.

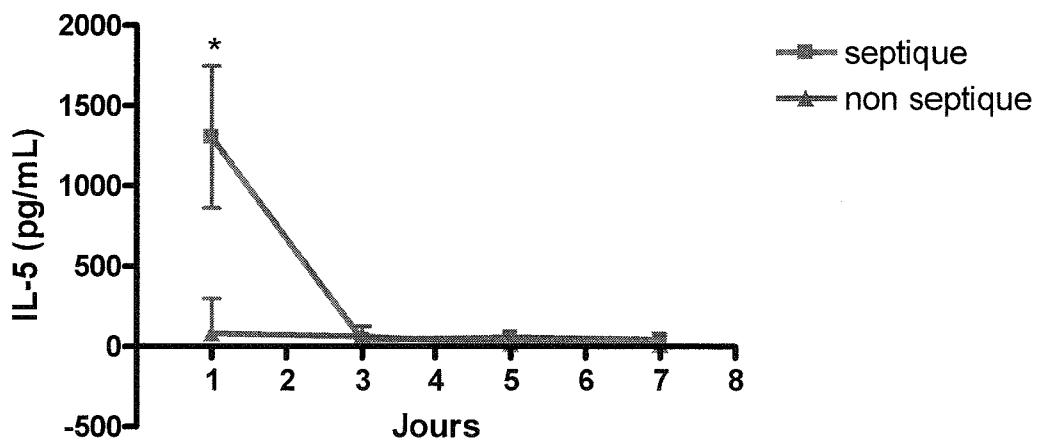


Figure 18-b. Cinétique de la concentration d'IL-5 (pg/mL) au cours des chocs chez tous les patients.

* : $p = 0,049$

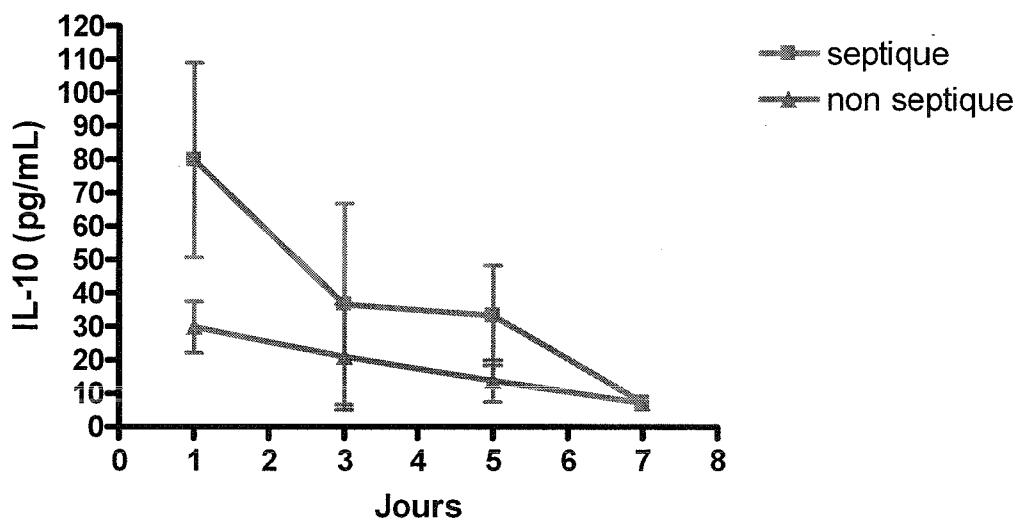


Figure 18-c. Cinétique de la concentration d'IL-10 (pg/mL) au cours des chocs chez tous les patients.

En revanche, on constate des taux nettement plus élevés d'IL-5 et d'IL-10, à J1, chez les patients septiques qui décèderont. Cependant, les patients non septiques ont des taux de cytokines anti-inflammatoires identiques quel que soit leur devenir (cf. tableau IX).

	IL-4			IL-5			IL-10		
	survivants	Non survivants	p	Survivants	Non survivants	P	survivants	Non survivants	p
J1									
Septique	7,7 ± 8,7	10,1 ± 7,6	0,2	264 ± 347	2855 ± 2414	0,03	28,2 ± 46,3	165 ± 171	0,02
Non septique	5,5 ± 3,8	5,4 ± 0,87	0,8	114,6 ± 141	515 ± 748	0,4	23 ± 26	36 ± 27	0,6

Tableau IX. Concentration (pg/mL) des certaines cytokines Th2 au cours des chocs chez l'ensemble des patients, à J1, en fonction du devenir

- TGFβ1

En l'absence de valeurs normales établies, seule l'évolution du TGFβ1 au cours du temps peut être discutée, mais l'étude des données individuelles ne permet de dégager aucune tendance remarquable. Seul à J1, une différence significative existe entre les deux groupes septique versus non septique (4376 ± 7282 pg/mL vs 848 ± 1357 pg/mL ; p = 0,027), il faut cependant remarquer les écarts types importants (cf. figure 19-a).

Il n'existe aucune différence de cinétique en fonction du devenir des patients (cf. figure 19-b).

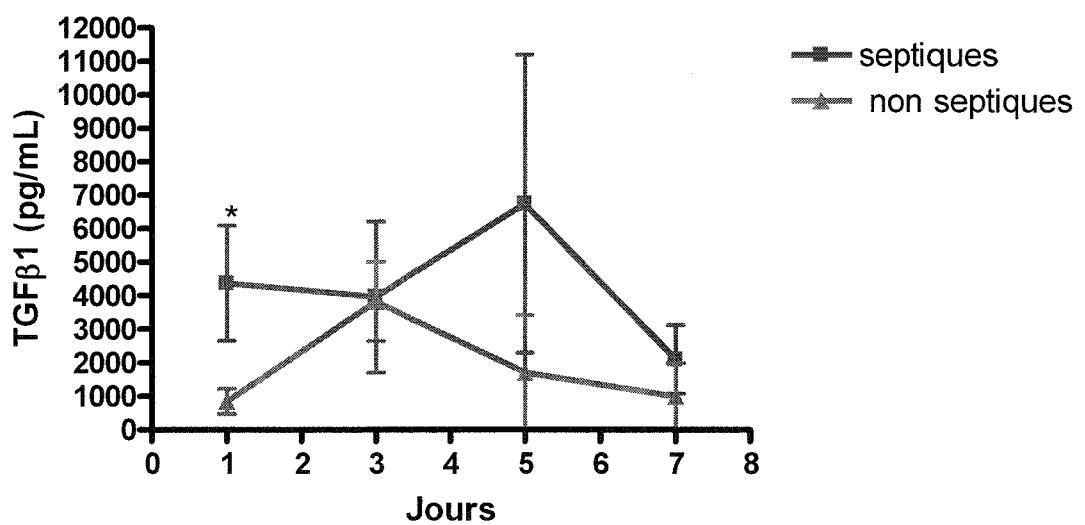


Figure 19-a. Cinétique des concentrations de TGF β 1 en fonction de la nature du choc.

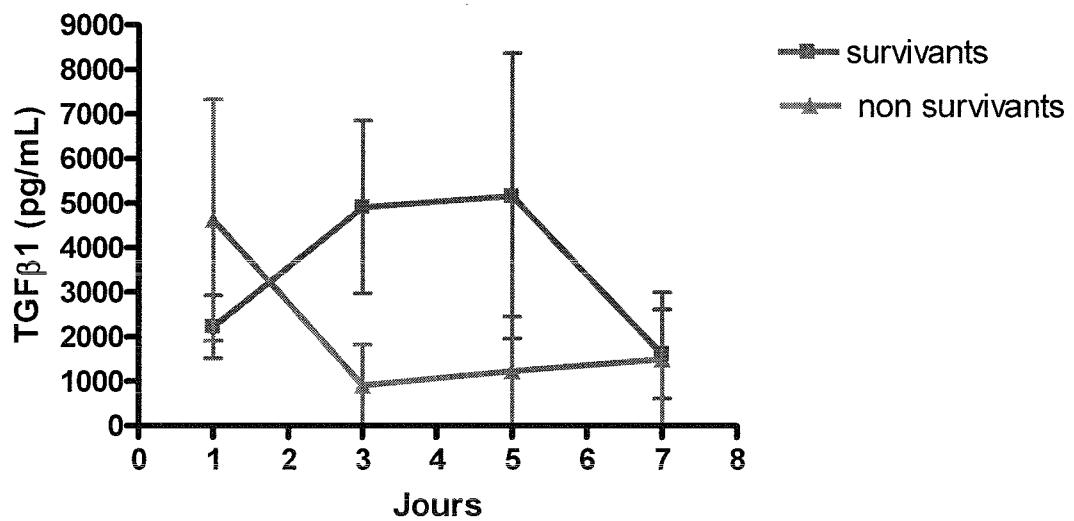


Figure 19-b. Cinétique des concentrations de TGF β 1 en fonction du devenir des patients.

- ✓ Cinétique du ratio Th1 / Th2 (TNF α / IL-10).

Quand on s'intéresse à la répartition des cytokines pro- et anti-inflammatoires au cours du choc, on constate que le ratio Th1 / Th2 est inférieur à l'unité, suggérant que la part des cytokines anti-inflammatoires serait prépondérante par rapport aux cytokines pro-inflammatoires.

Nos résultats montrent que ce ratio n'est pas différent, tout au long du suivi, entre les chocs septiques et non septiques (cf. tableau X). Si l'on considère ce ratio en fonction du devenir du patient, on constate qu'il existe une tendance à la prépondérance des cytokines anti-inflammatoires chez les non survivants, taux significativement différent à J1 chez les non survivants quelle que soit l'étiologie du choc, différence retrouvée chez les patients septiques uniquement (cf. tableaux XI-a et XI-b).

<i>TNFα / IL-10</i>			
	Choc septique	Choc non septique	P
J1	0,246 ± 0,238	0,23 ± 0,23	0,9
J3	0,56 ± 0,5	0,09 ± 0,2	0,4
J5	0,374 ± 0,428	0,263 ± 0,23	0,8
J7	0,4 ± 0,47	0,3 ± 0,5	0,8

Tableau X. Cinétique de ratio TNF α / IL-10 en fonction de l'étiologie du choc.

<i>TNFα / IL-10</i>			
	Survivants	Non survivants	P
J1	0,35 ± 0,24	0,06 ± 0,01	0,01
J3	0,25 ± 0,43	0,37 ± 0	Ns
J5	0,35 ± 0,38	0,25 ± 0,36	Ns
J7	0,47 ± 0,5	0,15 ± 0,21	Ns

Tableau XI-a. Cinétique de ratio $TNF\alpha / IL-10$ en fonction du devenir des patients, chez l'ensemble des patients.

<i>J1</i>	<i>TNFα / IL-10</i>		
	Survivants	Non survivants	P
Choc septique	0,39 ± 0,24	0,01 ± 0,007	0,04
Choc non septique	0,28 ± 0,25	0,09 ± 0,06	0,28

Tableau XI-b. Ratio $TNF\alpha / IL-10$ à *J1* en fonction du devenir des patients.

Ceci est vrai aussi avec d'autres ratios (INF / IL-5 ; IL-2 / IL-4 ; TNF / sTREM).

6. Étude des corrélations entre les paramètres étudiés.

- ✓ Tregs et immunoparalysie.

L'étude de la corrélation entre le taux de Tregs et l'expression de l'Ag HLA-DR monocytaire ne permet pas de trouver une relation statistique remarquable (cf. figure 20).

- Tregs - %HLA-DR : $r_s = 0,086$ (95% IC : -0,1 ; 0,27) ; $p = 0,37$
- Tregs – HLA-DR MFI : $r_s = -0,15$ (-0,33 ; 0,04) ; $p = 0,1$

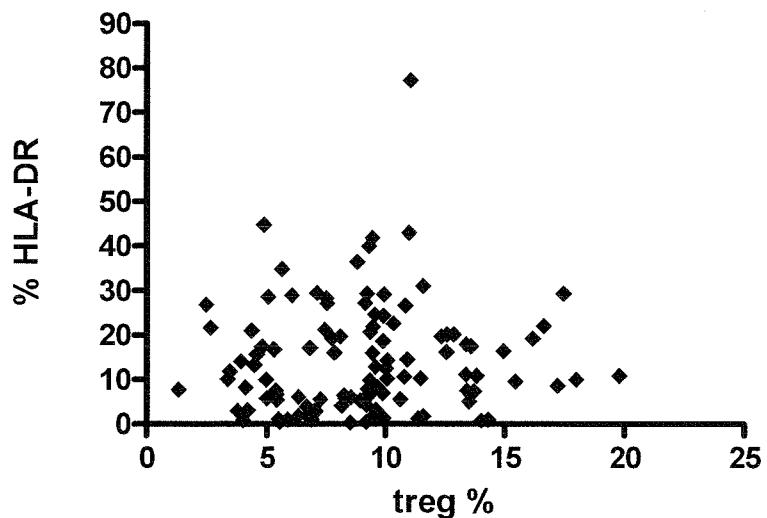


Figure 20. Corrélation entre les Tregs et le % de monocytes exprimant HLA-DR.
Valeurs de l'ensemble de la population, toutes données confondues.

- ✓ Tregs et cytokines.

Nous nous sommes intéressés à l'ensemble des patients ($n = 36$) et avons étudié les corrélations qu'il pouvait exister entre les Tregs et les cytokines d'intérêt.

Si l'on s'intéresse, tout d'abord, au sTREM-1 et que l'on compare l'ensemble des valeurs de sTREM et des taux de Tregs, on constate qu'il existe une corrélation inverse, avec un coefficient de corrélation de Spearman $r_s = -0,23$, avec un intervalle de confiance à 95% compris entre $-0,51$ et $-0,08$, $p = 0,007$ (cf. figure 21).

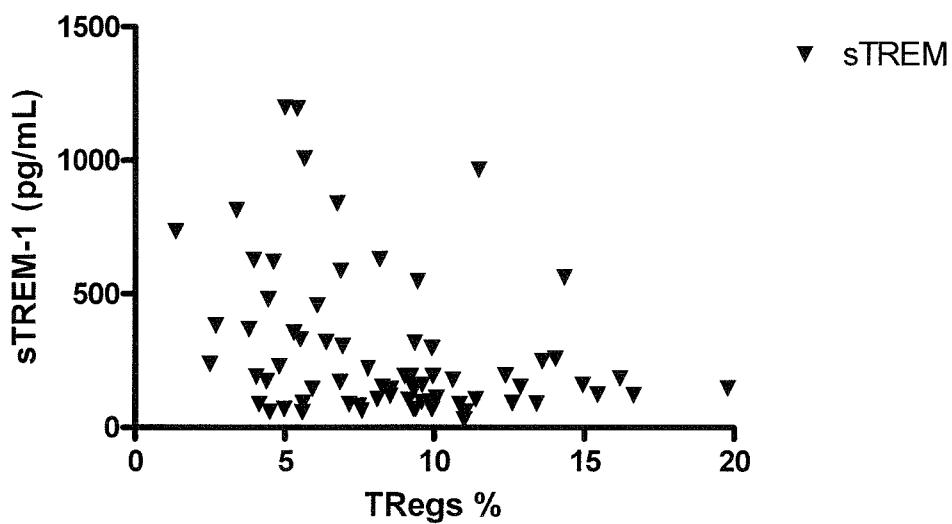


Figure 21. Corrélation entre les Tregs et le sTREM. Valeurs de l'ensemble de la population, toutes données confondues.

Cette corrélation inverse est retrouvée dès J1 du choc, avec $r_s = -0,43$ (95% IC : -0,70 ; -0,05), $p = 0,02$.

Dès lors, on peut conclure que plus la valeur de sTREM-1 est élevée, plus la valeur des Tregs est basse ou inversement.

Si l'on étudie les liens qui peuvent exister entre les valeurs de sTREM-1 et les marqueurs de gravité (lactatémie, SOFA, IGS II), à J1 pour l'ensemble de la population, on constate que plus le sTREM est élevé plus les marqueurs évocateurs de gravité sont mauvais :

- Pour l'acide lactique : $r_s = 0,41$ (0,03 ; 0,69) ; $p = 0,03$
- Pour le SOFA : $r_s = 0,69$ (0,39 ; 0,84) ; $p = 0,0001$
- Pour l'IGS II : $r_s = 0,43$ (0,06 ; 0,69) ; $p = 0,02$

Pour ce qui est des autres cytokines, nos résultats ne permettent pas de mettre en évidence de relation entre les Tregs et les cytokines pro- et anti-inflammatoires étudiées, aussi bien en considérant l'ensemble des données que les valeurs à J1 (cf. figures 22-a et b et 23-a et b, exemples de corrélations, les autres résultats sont similaires et ne sont pas présentés ici).

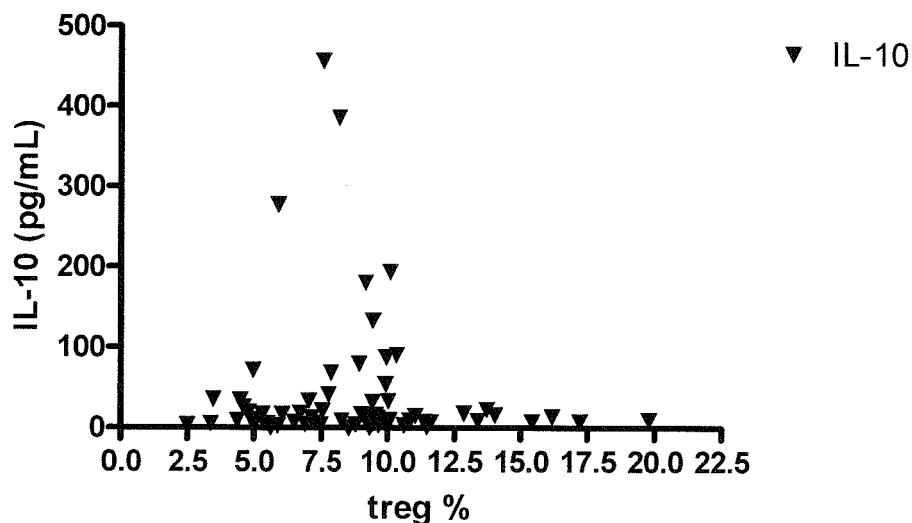


Figure 22-a. Corrélation entre les Tregs et l'IL-10. Valeurs de l'ensemble de la population, toutes données confondues.

$r_s = -0,02$ (95% IC : -0,26 ; 0,22) ; $p = 0,8$

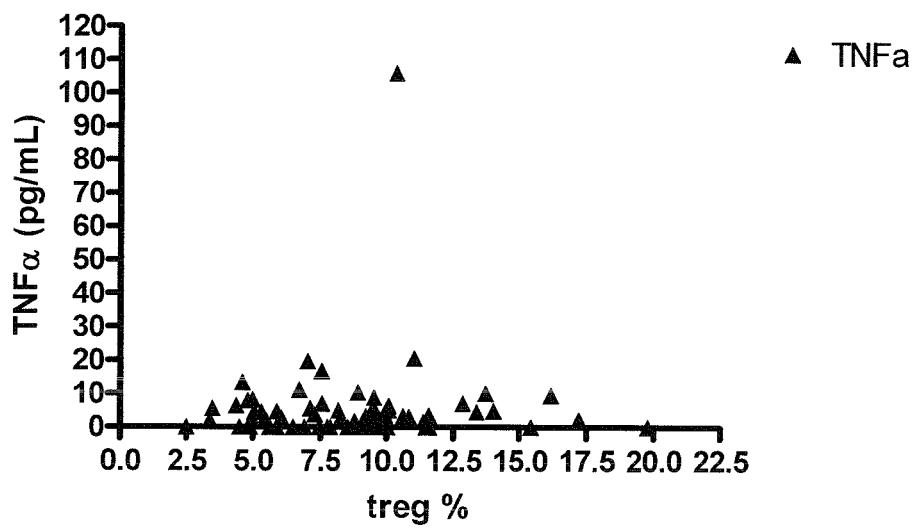


Figure 22-b. Corrélation entre les Tregs et le TNF α . Valeurs de l'ensemble de la population, toutes données confondues.

$r_s = -0,01$ (95% IC : -0,23 ; 0,25) ; $p = 0,9$

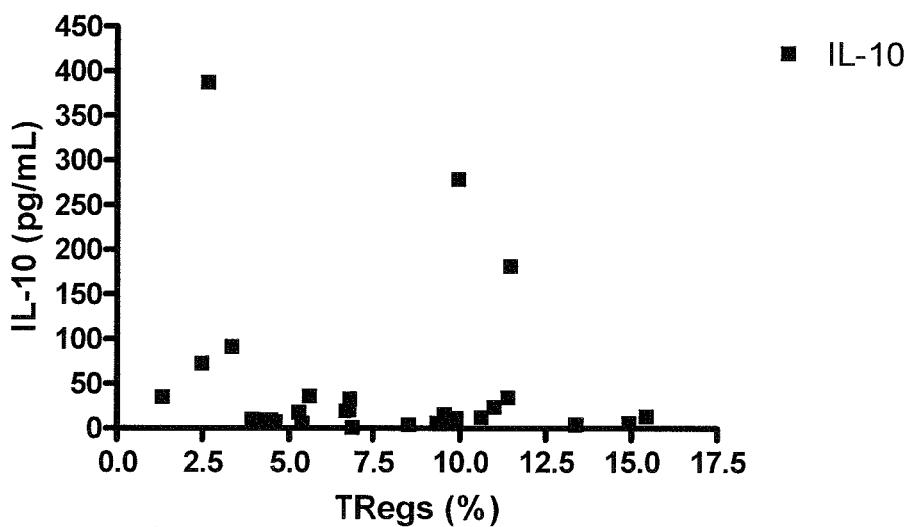


Figure 23-a. Corrélation entre les Tregs et l'IL-10. Valeurs de l'ensemble de la population, à J1.

$r_s = -0,024$ (95% IC : -0,56 ; 0,15) ; $p = 0,21$

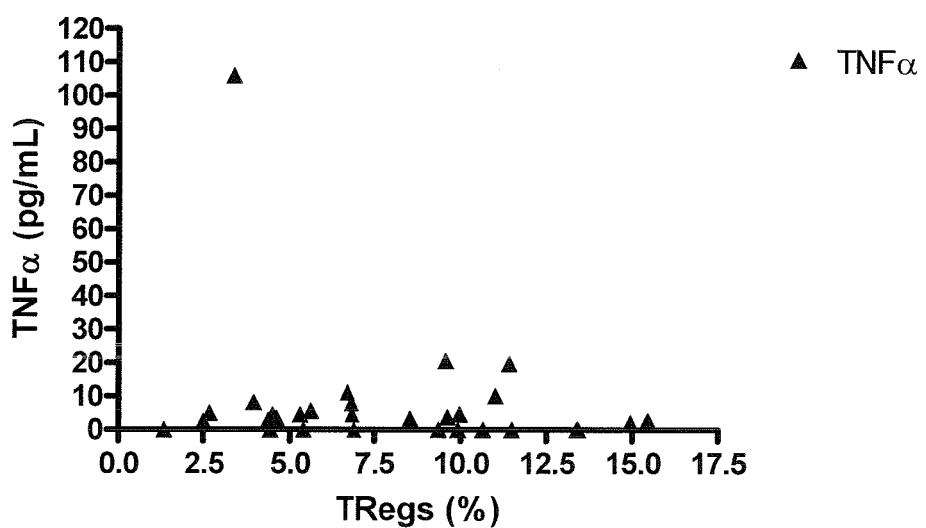


Figure 23-b. Corrélation entre les Tregs et le TNFα. Valeurs de l'ensemble de la population, à J1.

$r_s = -0,2$ (95% IC : -0,53 ; 0,2) ; $p = 0,3$

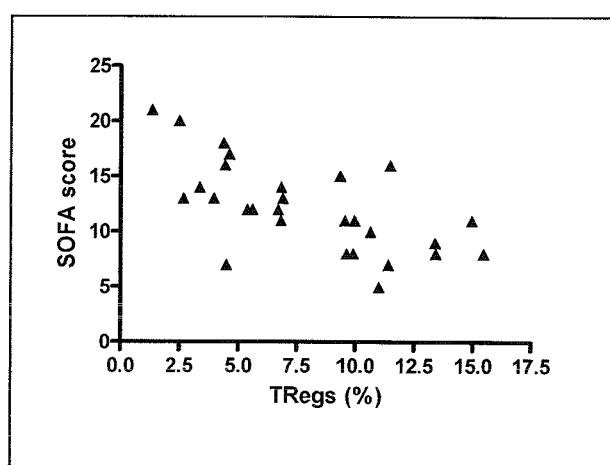
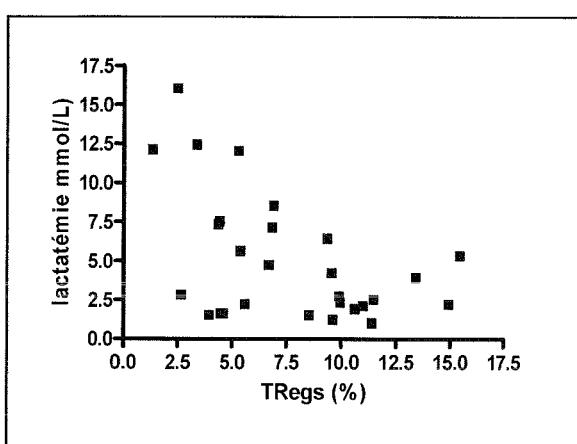
Par ailleurs, on ne note pas non plus de relation remarquable entre les cytokines d'intérêt et les marqueurs de gravité (lactatémie, IGS II et SOFA) à J1.

- ✓ Tregs et gravité.

De même, en comparant les taux des Tregs pour l'ensemble de la population à J1 et les marqueurs de gravité, il existe une corrélation inverse pour les trois valeurs étudiées (cf. figures 24-a et b).

- Pour l'acide lactique : $r_s = -0,42$ (-0,69 ; -0,05) ; $p = 0,02$
- Pour le SOFA : $r_s = -0,65$ (-0,83 ; -0,36) ; $p = 0,0002$
- Pour l'IGS II : $r_s = -0,35$ (-0,63 ; -0,02) ; $p = 0,05$.

En accord avec les données précédentes, plus la gravité du choc évaluée à J1 est élevée, moins les Tregs sont nombreux ou son corollaire, plus les Tregs sont élevés à J1 moins le choc semble grave (sur les données étudiées).



Figures 24-a et b Corrélation des Tregs avec les marqueurs de gravité.

Si l'on détaille les différents éléments du score SOFA ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$; taux de plaquettes ; bilirubinémie ; pression artérielle ; score de Glasgow ; créatininémie) et en les comparant au taux de Tregs, à J1, on ne constate aucune corrélation entre les paramètres pris deux à deux. (cf. figure 25, par exemple).

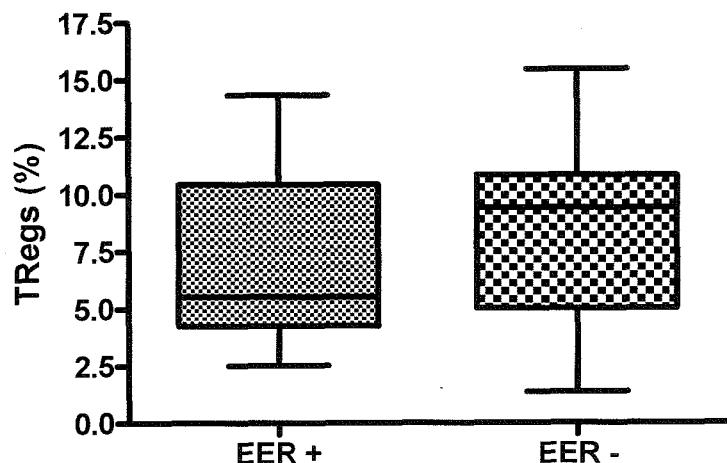


Figure 25. Relation entre épuration extra-rénale (EER ; + : présence ; - : absence) et taux de Tregs, dans l'ensemble de la population de malades, à J1.

$p = ns$

Enfin, lorsque l'on s'intéresse à un lien entre la prescription de corticoïdes et le taux de Tregs, là encore, on ne note pas de relation significative (cf. figure 26).

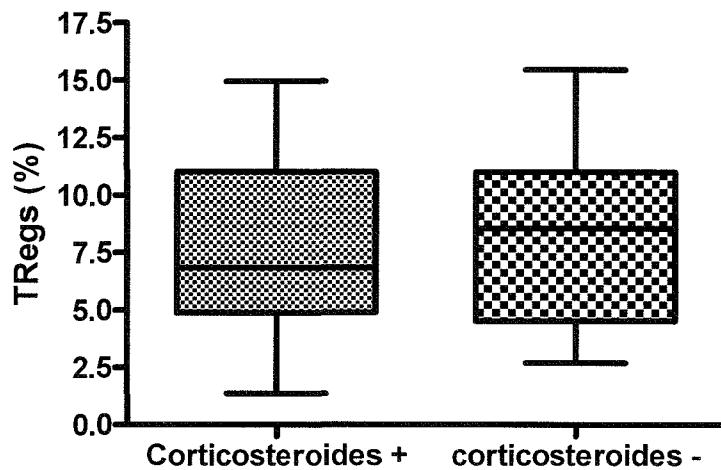


Figure 26. Relation entre Tregs et corticothérapie, dans l'ensemble de la population de malades, à J1. $p = ns$

- ✓ Corrélations avec les cellules NK.

Quel que soit le paramètre étudié concernant les cellules NK (concentration, proportion des lymphocytes ou expression de NKG2D), il n'existe pas de lien remarquable avec les Tregs (cf. figure 27).

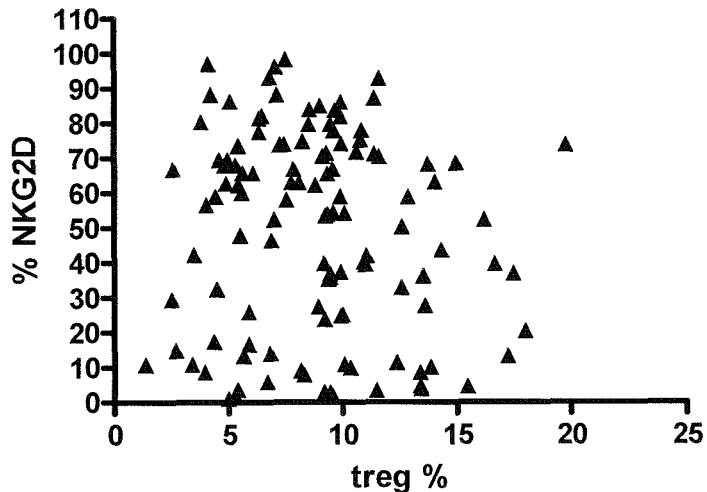


Figure 27. Corrélation Tregs et % de cellules NK exprimant NKG2D.

$$r_s = -0,1 (-0,28 ; 0,089) ; p = 0,3$$

De façon similaire aux Tregs, on peut constater une corrélation inverse entre le pourcentage de cellules NK exprimant NKG2D et sTREM-1 ($r_s = -0,44 (-0,65 ; -0,17)$; $p = 0,0016$; cf. figure 28). Cette même relation est retrouvée pour deux autres cytokines Th2 : l'IL-5 et l'IL-10. Par ailleurs, on peut constater une parfaite corrélation entre les concentrations de sTREM-1 et d'IL-10 ($rs = 0,52 (0,29 ; 0,72)$; $p < 0,0001$).

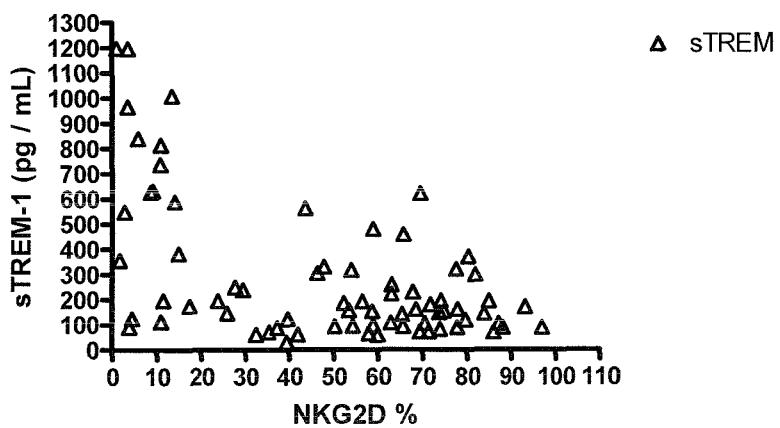


Figure 28. Corrélation entre les cellules NK positives pour NKG2D et les concentration de sTREM-1 (pg / mL).

7. Synthèse des résultats.

En définitive, il faut retenir :

- L'existence d'une « désactivation monocytaire » caractérisée par un taux bas de monocytes exprimant HLA-DR, aussi bien chez les patients septiques que non septiques.
- Un taux plus élevé de Tregs chez les patients en choc par rapport aux volontaires sains.
- Chez les patients septiques, un taux de Tregs plus élevé chez les survivants.
- Fait remarquable, le taux et la cinétique des cytokines Th1 et Th2 sont identiques, quelle que soit la nature du choc.
- Une tendance à une « ambiance » anti-inflammatoire plus prépondérante chez les personnes qui décèdent (surtout à J1 chez les patients septiques).
- Corrélation inverse entre Tregs et gravité, Tregs et sTREM-1, sTREM-1 et gravité.
- Au total, plus le choc est grave, plus la proportion de cytokines Th2 semble importante.

Discussion

Discussion

Il est désormais admis que le choc septique peut s'accompagner d'une défaillance du système immunitaire caractérisée par l'instauration d'un état de paralysie immunitaire responsable de complications infectieuses secondaires. En fait, les termes « désactivation monocytaire » ou de « paralysie immunitaire » ne sont pas corrects : les monocytes des patients septiques « immuno-paralysés » ont une capacité de production de cytokines pro-inflammatoires réduite mais une capacité de synthèse d'IL-1RA et d'IL-10 normale ou élevée. Ainsi, la fonction monocytaire n'est pas abolie mais plutôt convertie d'un mode de réponse pro-inflammatoire à un mode anti-inflammatoire : il s'agit d'une « reprogrammation leucocytaire ».

Les données actuelles concernant les médiateurs impliqués au cours de cette reprogrammation leucocytaire demeurent très parcellaires. Un des mécanismes pouvant être responsable de ce phénotype leucocytaire particulier, impliquerait une population lymphocytaire spécialisée dans le maintien de la tolérance immunitaire et la prévention de l'auto-immunité : les lymphocytes T régulateurs naturels.

Récemment, il a été mis en évidence une augmentation du taux de ces Tregs circulants chez des patients septiques (109, 110) et, d'autre part, la mortalité due au sepsis polymicrobien s'est trouvée améliorée par l'administration de Tregs activés ex-vivo (143).

Cependant, à savoir si les Tregs endogènes ont un rôle dans le devenir des chocs septiques reste incertain.

Ainsi, avons-nous cherché à évaluer la cinétique de ces Tregs au cours de différents états de choc, à mettre en évidence une relation entre ces cellules et différentes cytokines, ainsi que d'apprécier le lien entre Tregs et pronostic.

Nous avons, par ailleurs, pris le parti d'étudier « les chocs » dans leur ensemble, quelles que soient leurs étiologies. En effet, les chocs hémorragiques, les chocs cardiogéniques, les phénomènes d'ischémie-reperfusion entraînent des états d'hypoxie qui activent également la production des cytokines (81).

Nous nous sommes attachés à mettre en évidence un éventuel comportement différent dans la cinétique des Tregs au cours des chocs en fonction de leur étiologie, de leur potentiel rôle dans la reprogrammation leucocytaire par l'étude des concentrations de certaines cytokines Th1 et Th2.

La première constatation que nous pouvons faire est que, dès les premières heures du choc, toutes étiologies confondues, il existe un bas niveau d'expression monocytaire de HLA-DR, pouvant être considéré comme le reflet de la reprogrammation leucocytaire consécutive à la phase inflammatoire.

Concernant le choc septique, nos résultats sont en accord avec ceux de TSCHAIKOWSKY *et al.* qui ne montrent aucune différence entre survivants et non survivants quant à la cinétique d'évolution de l'expression monocytaire avant la première semaine (108). Cependant, notre cohorte étant trop peu nombreuse après J7, on ne peut évaluer une éventuelle récupération des fonctions immunitaires des monocytes chez les personnes survivantes et confirmer les données de la littérature pour les personnes qui décèdent (persistance d'un taux d'expression de HLA-DR < 30% au-delà de J7) (108-110)

Les études concernant l'évolutivité d'expression de HLA-DR dans les états de choc non septique ne sont, à notre connaissance, que très rares (144). Toutefois, il est intéressant de constater qu'à partir de J3 et de façon significative de J5 et au-delà, les valeurs du pourcentage d'expression de HLA-DR sont plus élevées chez les survivants, suggérant que cette augmentation traduise le rétablissement du système immunitaire chez ces patients

évoluant favorablement. En revanche, si l'on considère l'évolution du groupe des non survivants, il apparaît que la persistance d'un très faible pourcentage de monocytes HLA-DR^{pos}, témoin d'une profonde altération des fonctions monocytaires, est un facteur de mauvais pronostic.

Si l'on extrapole les données précédentes au choc septique, elles corroborent les données de la littérature. Pour TSCHAIKOWSKY *et al.*, la restauration progressive de l'expression de HLA-DR chez des patients ayant présenté un sepsis sévère (taux > 70% au bout de 10 jours) est en faveur d'une issue favorable tandis qu'un pourcentage se maintenant en dessous de 50% est associé au décès (108). De même, MONNERET *et al.* ont montré que 5 jours après le diagnostic de choc septique, les patients survivants présentaient des valeurs d'expression de HLA-DR significativement plus élevées par rapport aux non survivants (145).

Cependant, si la diminution de l'expression de HLA-DR chez les sujets septiques est désormais admise, sa valeur pronostique est beaucoup plus discutée et les résultats de divers travaux divergent. MULLER KOBOLD *et al.* ne mettent pas en évidence de différence significative entre survivants et non survivants en ce qui concerne le niveau d'expression de HLA-DR au cours des premières heures du sepsis (146). Une étude menée par OCZENSKI *et al.* chez un groupe de 85 patients ayant subi une intervention cardiaque, montre qu'une faible expression monocytaire de HLA-DR au cours de 24 premières heures n'est pas un facteur prédictif de complications infectieuses (147). Enfin, d'après PERRY *et al.*, un faible niveau d'expression ne préjugerait pas du pronostic du sepsis et serait uniquement le reflet de la phase anti-inflammatoire de compensation (CARS) (148).

Toujours est-il que pour pouvoir établir des valeurs fiables et définir des seuils pronostiques, une standardisation des mesures s'avèrerait indispensable, en particulier pour la mesure de HLA-DR par cytométrie en flux (145). Les données contradictoires concernant cette valeur pronostique de HLA-DR pourraient être, en partie, dues aux différences méthodologiques

entre les études. Plusieurs paramètres sont à considérer parmi lesquels la méthode de compensation spectrale, la nature des clones d'anticorps anti-HLA-DR, le choix des fluorochromes, le temps écoulé entre le moment du prélèvement et l'étape de marquage (augmentation non spécifique de l'expression de HLA-DR au cours du temps).

La deuxième constatation concerne l'évolution des Tregs. En considérant l'ensemble de la population de patients, on constate un pourcentage de Tregs plus élevé dès les premiers jours de l'état de choc par rapport aux valeurs des sujets sains. Cette élévation atteint la significativité à partir du 5^{ème} jour et est plus marquée pour le groupe de patients non septiques.

Si aucune équipe n'a étudié jusqu'à présent les Tregs au cours des états de choc non septique, nos résultats concernant les patients septiques sont en accord avec les données de la littérature. MONNERET *et al.* ont été les premiers à mettre en évidence une augmentation des lymphocytes T CD4⁺CD25⁺ dans le sang total de patients septiques (109). Cette constatation a été secondairement explicitée : l'augmentation des Tregs serait relative du fait d'une diminution de la sous-population de cellules T CD4⁺CD25⁻ (110).

C'est ce que nous pouvons aussi observer. En effet, si le taux de Tregs de nos malades est plus élevé que celui des volontaires sains, la concentration sanguine de ces Tregs reste inférieure à celle des témoins tout au long du suivi de notre étude.

Une remarque complémentaire peut être ici faite. La plupart des études concernant les Tregs individualisent la sous-population de T CD4⁺ exprimant CD25 et/ou un autre marqueur attribué à ces cellules suppressives. Le plus fréquent est le Foxp3^{pos}, mais aussi CTLA-4^{pos}, GITR^{pos}, CD69^{neg}, CD45RO^{pos}, CD62L^{pos} et d'autres, dont aucun n'est totalement spécifique et ne permet d'isoler la seule population de Tregs naturels. Une récente étude de LIU *et al.* a montré que le récepteur de l'IL-7 (CD127) était « down-régulé » dans une sous-population de

LT CD4⁺ (149). Ces auteurs ont montré que cette sous-population de CD4⁺CD127⁻ était majoritairement Foxp3^{pos} mais pouvait exprimer de bas niveau voire pas de CD25. Ainsi, comme nous l'avons fait pour notre étude, le triple marquage anti-CD4, anti-CD25 et anti-CD127 permet d'isoler de façon plus spécifique la sous-population de Tregs naturellement produite par le thymus. De ce fait, l'interprétation des différentes études et leur comparaison doivent être prudentes.

Plusieurs auteurs s'accordent à dire que l'augmentation relative du pourcentage des Tregs au cours du sepsis est probablement due à la persistance de ces cellules, possiblement parce qu'elles seraient plus résistantes aux phénomènes apoptotiques, plutôt qu'à leur prolifération, alors qu'il a été montré la perte de nombreuses sous-populations cellulaires (cellules T, B, cellules dendritiques) au cours du sepsis (104, 150).

Nous n'avons pas étudié de façon précise les différentes sous-populations lymphocytaires au cours de notre étude. En revanche, si la cinétique du taux de CD4⁺ est identique entre les groupes septique et non septique tout au long du suivi et s'approche des valeurs des sujets sains, on constate que dès J1 il existe une nette diminution des populations de référence chez les patients septiques : en effet, on note une lymphopénie ainsi qu'une diminution des polymorphonucléaires dans le sang périphérique ; phénomènes décrits par plusieurs (97, 105). Dès lors, de ces différentes constatations, on peut conclure que, pour le groupe de patients septiques, l'apoptose survenant lors du sepsis touche de façon homogène l'ensemble des sous-populations lymphocytaires à l'exception des Tregs qui seraient plus résistants, expliquant ainsi que le taux de CD4⁺ soit similaire à une population témoin mais que les valeurs absolues de lymphocytes totaux et de CD4+ soient abaissées dans les mêmes proportions.

Concernant le pronostic des patients et l'évolution des Tregs, nos résultats sont contradictoires voire opposés à ceux jusque là publiés. En effet, une seule étude, réalisée chez l'homme, a été publiée concernant le devenir des patients septiques et le taux de Tregs (109).

Ainsi, MONNERET *et al.* ont mis en évidence une élévation des Tregs chez les patients septiques ; la persistance prolongée (au-delà du 10^{ème} jour) d'un pourcentage élevé de ces cellules était plus fréquemment retrouvée chez les non survivants.

Dans notre étude, lorsque l'on étudie aussi bien l'évolution au cours de temps des Tregs (exprimés en concentration ou en pourcentage) de l'ensemble de la population des patients ou du groupe de patients non septiques, il n'existe pas de différence significative entre survivants et non survivants. En revanche, dans le groupe de patients septiques, les survivants ont des valeurs de Tregs (exprimées en concentration ou en pourcentage) plus élevées que les non survivants ($p = 0,02$).

Une étude récente réalisée chez l'animal va dans ce sens (151) : la réalisation d'un choc septique polymicrobien par ligature-ponction caecale chez la souris provoquait l'ascension du nombre de LT CD4⁺CD25⁺, par ailleurs, la caractérisation *in vitro* de ces lymphocytes affirmait leurs fonctions suppressives. La même expérience réalisée chez des souris à qui il était administré des anticorps anti-CD4 ou anti-CD25, ne montrait pas de différence en terme de survie par rapport aux souris précédentes. De même, la mortalité était similaire entre les souris « sauvages » et les souris génétiquement déficitaires en cellules T CD4⁺CD25⁺.

Ces données ne sont pas en accord avec ce qui avait été publié auparavant. Hotchkiss *et al.* ont montré que la perte des cellules T auxiliaires par apoptose liée au sepsis était corrélée au mauvais pronostic (104, 152).

Plus récemment, HEUER *et al.* ont démontré que l'administration de Tregs activés à des modèles septiques animaux, améliorait le devenir (143).

Plusieurs raisons pourraient expliquer pourquoi les Tregs endogènes ne modifient pas le devenir des sujets septiques alors que le transfert de ces mêmes cellules activées lors de modèles septiques améliorerait la survie. Tout d'abord, le transfert de Tregs activés entraîne une augmentation de cette population de cellules régulatrices dans l'ensemble des organes.

D'autre part, des données récentes suggéreraient que l'IL-6 et le TNF α , cytokines couramment retrouvées localement et de façon systémique lors du sepsis, pourraient inhiber les fonctions des Tregs endogènes (153, 154). Dès lors, parce que ces cytokines sont augmentées lors des chocs septiques, les fonctions des Tregs endogènes seraient effectivement inhibées.

Cette donnée met le doigt sur une des limites de notre étude. En effet, par son objectif essentiellement descriptif, aucune étude *in vitro* de fonctionnalité des cellules n'a été réalisée. Il serait intéressant de compléter notre travail par des expérimentations de laboratoire : après isolement des Tregs de patients septiques, on pourrait étudier le niveau de production et la nature des cytokines produites par des monocytes stimulés par du LPS (par exemple) mis en co-culture avec ces Tregs.

En examinant la relation entre la gravité du choc évaluée à J1 et le taux de Tregs, de nouveau, nos données sont en opposition avec celles de Monneret (110). Alors que dans leur étude et dans la notre, il n'existe pas de corrélation entre la reprogrammation leucocytaire (évaluée par le nombre de monocytes exprimant HLA-DR) et le pourcentage de Tregs, ces auteurs ne constatent pas non plus de lien entre la gravité (évaluée par l'IGS II) et le taux de Tregs. Nos résultats, quant à eux, tendraient à montrer qu'il existe une corrélation inverse entre gravité à J1 et pourcentage de Tregs. Si cette relation est évidente et significative pour le score SOFA et la lactatémie, le « p » de la relation Tregs-IGS II est proche de 0,05.

Cette constatation est aussi vraie pour les valeurs de sTREM-1. Cette protéine, membre de la superfamille des immunoglobulines, a été observée à des taux plasmatiques élevés au cours des processus inflammatoires d'origine infectieuse (142). Dans notre étude, nous constatons des taux très élevés dans les deux groupes de patients, avec une élévation plus marquée pour

le groupe septique. Par ailleurs, un taux élevé de sTREM-1 est corrélé de façon significative avec la gravité du choc (IGS II, lactatémie et SOFA) et inversement corrélé aux Tregs. Ces résultats pourraient s'interpréter de deux façons. Soit les Tregs, par leur action régulatrice, permettraient de réduire et de limiter la réponse inflammatoire : de ce fait un taux élevé de Tregs diminuerait la gravité du choc et en améliorerait l'évolution. Soit la gravité du choc est telle que même les Tregs, décrits comme plus résistants aux phénomènes apoptotiques, verraienr leur nombre diminué par ces phénomènes aux mêmes égards que les autres populations cellulaires ; sans que leur fonctionnalité n'ait un rôle à jouer dans l'évolution et la gravité du choc.

L'étude de la cinétique des cytokines peut nous apporter quelques explications. Il n'existe pas, en effet, de différence dans la présence de cytokines Th1 ou Th2 en fonction de la nature du choc : ainsi, fait remarquable, choc septique et choc non septique se comportent de la même façon. De nombreuses études avaient montré que les phénomènes ischémiques présents dans les chocs autres que septiques pouvaient activer le système immunitaire inné et déclencher la synthèse de cytokines (81, 155). En revanche, nous avons constater une tendance à l'excès de cytokines anti-inflammatoires à la phase initiale du choc chez les personnes qui décédaient : ratio TNF α / IL-10 plus bas chez les non survivants.

Cette dernière constatation est surtout vraie chez les patients septiques : à J1, les non survivants ont des taux plus élevés d'IL-4, d'IL-10, de TREM-1 et le ratio Th1 / Th2 est significativement inférieure à celui des survivants.

La conclusion qui découle de cette observation est que l'excès de cytokines anti-inflammatoires serait en rapport avec un plus mauvais pronostic.

Là encore, le rôle des Tregs ne peut être clairement évaluée : alors qu'il existe une corrélation inverse entre ces cellules et la concentration de sTREM-1, que les concentrations de sTREM-

1 sont corrélées aux concentrations des autres cytokines, nous n'avons pas mis en évidence de lien direct entre Tregs et les autres cytokines ni avec leurs ratios pro/anti-inflammatoires.

Par ailleurs, nous n'avons pas retrouvé de liens remarquables entre les concentrations des cytokines à J1 (autres que sTREM), les marqueurs de gravité et le pourcentage de monocytes exprimant HLA-DR.

Certains auteurs ont pourtant montré que des taux élevés de cytokines anti-inflammatoires au cours des chocs septiques étaient en relation avec la survenue d'infections nosocomiales et le décès (86). D'autres que des taux élevés d'IL-10 étaient corrélés avec le bas niveau d'expression de HLA-DR, le score SOFA et le pronostic sombre (116).

Au total, le rôle des Tregs n'est pas évident à mettre en lumière dans les chocs. Si les études expérimentales ont expliqué que les fonctions régulatrices des Tregs étaient en partie dues à leur synthèse en IL-10 et en TGF β (139, 140, 156), les résultats de notre étude montrent un taux de Tregs plus élevé chez les survivants et des taux plus élevés d'IL-10 et autre cytokines anti-inflammatoires plus élevées chez les non survivants.

Par leur production de cytokines et de chémokines, les cellules NK contribuent de manière importante à l'immunité naturelle contre les infections et les tumeurs. Leur production de cytokines et de chimiokines immunorégulatrices, peu après le contact avec l'agresseur, exerce une influence sur les réponses ultérieures du système immunitaire adaptatif, et ainsi indirectement sur le succès final. Ces cellules jouent un rôle clé dans la réponse immunitaire précoce vis-à-vis de pathogènes intracellulaires, surtout par la sécrétion d'INF γ qui active les macrophages et facilite la différenciation des cellules Th1. L'activité des cellules NK est induite par une variété de cytokines comprenant les INF α / β , l'IL-15, l'IL-18 et l'IL-12, alors qu'elle est inhibée par des cytokines comme l'IL-10 et le TGF β .

L'équipe de GHIRINGHELLI a mis en évidence la diminution des fonctions effectrices des cellules NK ainsi que la diminution d'expression du récepteur membranaire NKG2D par l'intermédiaire du TGF β fixé à la surface membranaire des Tregs (156). Plus récemment, il a été montré une augmentation du nombre et du taux de cellules NK au cours du choc ; de plus ces auteurs concluent qu'un taux de cellules NK supérieur à 20% serait associé à une meilleure survie de patients septiques (157).

Nos résultats sont différents. Nous constatons, en effet, un taux de cellules NK similaire entre les deux groupes de patients et comparativement à celui des volontaires sains. De plus, la concentration sanguine des cellules NK de nos patients est abaissée par rapport à celle des témoins. Mis à part à J1, il n'existe pas de différence entre l'activation des cellules NK et leur niveau d'expression en NKG2D chez les malades des deux groupes.

Cependant, une explication peut être apportée : nous observons, chez nos patients, une corrélation inverse entre le pourcentage de cellules NK activées (i.e. exprimant NKG2D) et les concentrations des cytokines anti-inflammatoires (IL-10 et sTREM-1 en l'occurrence). Or, le rôle essentiel de ces cellules dans l'orchestration de la réponse immune et l'induction de réponses Th1 vient d'être évoqué et a été largement étudié par de nombreux auteurs. A savoir dès lors, si la diminution de ces cellules observée dans notre étude est liée à l'apoptose ou à l'inhibition de leur prolifération par l'IL-10, est difficilement appréciable ici.

Nous n'avons, toutefois, pas mis en évidence de relation entre le pourcentage de cellules NKG2D^{pos} et les marqueurs de gravité à J1.

Il convient de souligner certaines des limites de notre étude : nos groupes de patients ont un effectif réduit, même s'il a été possible d'établir des valeurs moyennes ou des médianes, nous avons souvent été confrontés à des écarts-types importants reflétant une grande disparité des valeurs individuelles, ne permettant pas à certaines tendances d'atteindre une significativité

statistique. De plus, la mortalité précoce rencontrée dans le groupe non survivants au cours des sept premiers jours constitue une autre limite : 13 patients sur 15 (87 %) décédaient au cours de la première semaine du suivi ce qui pose un problème dans l'interprétation statistique des données ultérieures. Par ailleurs, nous l'avons souligné plus haut, notre étude n'avait pour prétention qu'une analyse descriptive des évènements. Les conclusions ne sont donc que des suppositions. En effet, nous n'avons pas par exemple étudié la fonctionnalité des Tregs et ne pouvons donc conclure sur le fait que leur taux élevé chez les patients ayant un meilleur pronostic, est réellement dû à leurs fonctions régulatrices.

Enfin, ce travail confirme la difficulté d'appréhender la physiopathologie du choc. Le choc septique en particulier ne doit plus être considéré comme une entité homogène mais comme un spectre d'altérations immunologiques, allant de la réaction inflammatoire exacerbée à l'immunodéficience profonde. En 2001, un groupe d'experts américains et européens s'est réuni dans le cadre d'une conférence de consensus afin d'adapter les définitions relatives au sepsis à l'évolution des connaissances actuelles (158). Les définitions établies en 1992 ont été largement utilisées en pratique et ont servi de base pour la détermination des critères d'inclusion de nombreux essais cliniques. Cependant, ces définitions, en particulier celle du SIRS, reposent sur des signes non spécifiques qui ne permettent ni de caractériser la réponse de l'hôte à l'infection, ni de se prononcer en terme de pronostic. Prenant en compte les données plus récentes de la physiopathologie du sepsis, les experts de 2001 ont proposé une liste de critères à la fois cliniques, biochimiques et immunologiques permettant d'identifier la réponse inflammatoire face aux stimuli infectieux. Parmi ces critères, il est intéressant de constater la prise en compte de paramètres tels que la CRP, la procalcitonine. Lors de cette conférence internationale, une nouvelle classification a été proposée afin de stratifier les patients septiques sur la base des facteurs de prédisposition, de la nature de l'infection, de la

réponse de l'hôte et du retentissement sur les organes. Ainsi, cette classification appelée PIRO (*Predisposition, Insult, Response, Organ dysfunction*) prend notamment en considération le rôle des facteurs génétiques, la détermination de l'IL-6, du TNF α , la mesure de l'expression de HLA-DR, la valeur des scores de défaillance d'organes. Ce système PIRO permet une stratification des patients quant au risque d'évoluer défavorablement et quant à leur aptitude à répondre à une thérapeutique donnée. La conférence de 2001 ne remet pas en cause les définitions de 1992 qui demeurent utiles aux cliniciens et aux chercheurs mais elle souligne l'intérêt grandissant des marqueurs biologiques concernant le diagnostic des états septiques.

Conclusion

Conclusion

Pour faire face à une agression tissulaire de toute nature que ce soit, l'organisme a besoin d'un système immunitaire inné efficace et à tout moment mobilisable pour répondre immédiatement à l'agression.

Les monocytes-macrophages ont un rôle primordial dans la spécificité et l'intensité de cette réponse.

Cependant, les patients souffrant d'états infectieux graves, de traumatismes ou de brûlures vont connaître une modification de leur statut immunitaire : ainsi, les monocytes de ces patients auront non seulement des capacités réduites à présenter l'antigène aux lymphocytes et, dès lors, d'induire leur stimulation et l'initiation de la réponse immune spécifique, mais aussi une réorientation de leur production de cytokines, d'un profil pro-inflammatoire vers un profil anti-inflammatoire.

Les dysfonctions survenant dans le système immunitaire des patients de réanimation peuvent être caractérisé par cette « dissonance immunologique ». A côté de la réaction inflammatoire exacerbée, il peut exister un état d'immunodéficience profonde : une réponse pro-inflammatoire peut être cyto-destructive et résulter en une agression d'organe directe ; de la même façon, une réponse anti-inflammatoire peut être responsable d'une immunosuppression et d'infections récurrentes.

Un des mécanismes responsable de cette modification du phénotype monocytaire impliquerait une sous-population de lymphocytes T spécialisés dans le maintien de la tolérance immunitaire et la prévention de l'auto-immunité : les lymphocytes T régulateurs.

Notre étude a permis de montrer que, quelle que soit la nature du choc, les modifications cellulaires et moléculaires étaient similaires : ainsi, la dysfonction immunitaire caractérisée par le bas niveau d'expression membranaire des monocytes en antigène HLA-DR, existe aussi

bien dans le choc septique que les chocs d'autres étiologies. Cette constatation est aussi vraie pour les cytokines produites par les leucocytes : la balance Th1 / Th2 est en faveur d'une prédominance pour les cytokines anti-inflammatoires aussi bien pour le choc septique que les chocs d'autres étiologies.

Nous avons également constaté une augmentation du pourcentage des lymphocytes T régulateurs au cours de tous les états de choc, avec une augmentation plus importante chez les patients septiques survivants. Cependant, leur implication dans la physiopathologie de la reprogrammation leucocytaire et leur éventuel rôle protecteur n'ont pas été évalués.

De plus, il semble évident que l'excès de production de cytokines anti-inflammatoires soit corrélé au mauvais pronostic.

Enfin, d'autres cellules impliquées dans l'orchestration de la phase initiale de la réponse immune innée, les cellules NK, pourraient être impliquées dans ces phénomènes. Leur nombre est diminué au cours des états de chocs, leur état d'activation est d'autant plus faible que les concentrations de cytokines anti-inflammatoires sont élevées.

Le degré d'implication de ces cellules dans les phénomènes observés reste encore à déterminer. Ce travail sera poursuivi par une étude en laboratoire de la fonctionnalité de lymphocytes T régulateurs de patients en choc suivie de la réalisation de modèles animaux.

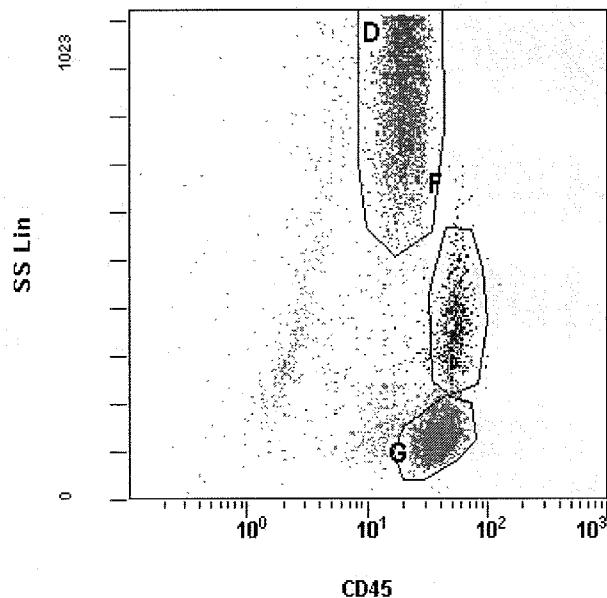
Annexes

Annexe 1 : tableau de recueil des données clinico-biologiques.

DATE ADMISSION	ETIQUETTE									
MOTIF D'ADMISSION :	1) Insuf Respi Aigue	2) Coma	3) Sepsis							
4) Choc septique	5) Choc Cardio	6) Choc hémorragique								
7) Choc indéterminé	8) Autre : EN CLAIR									
Immunodépression	Score de Mac Cabe							SAPSII		
DIAGNOSTIC FINAL	OUTCOME									
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J10	J14	
Fe										
PAM										
Temp										
Glasgow										
Diurèse										
Ventilation										
Catécho										
Antibio										
corticoïdes										
Xigris										
EER										
Neutro										
Lympho										
GB total										
Plaquettes										
TQ										
Créat										
Bili										
PaO₂/FiO₂										
Lactate										
CRP										
PCT										
SOFA										
INFECTION										
prouvée										
Suspect										
site										
germe										

Annexe 2 : histogrammes de cytométrie en flux ; exemples

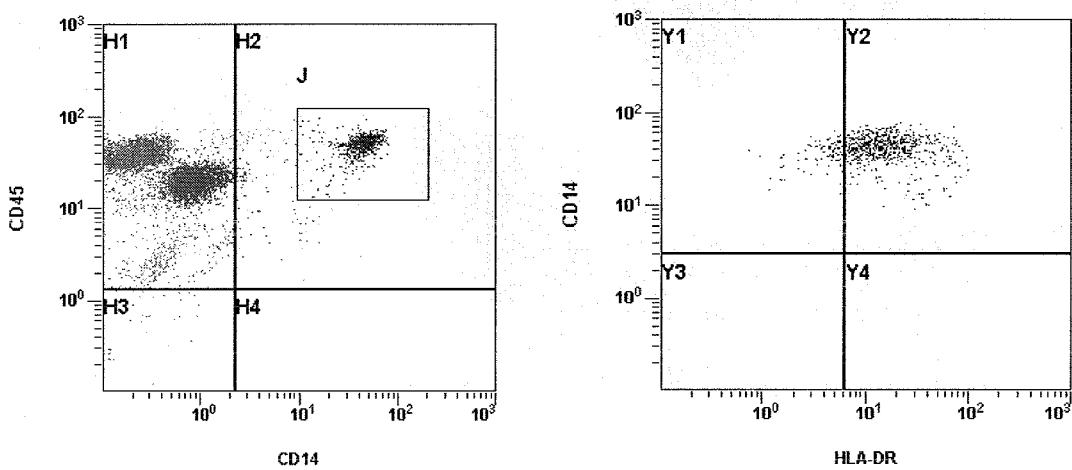
[X] CD14-45-DR 444 00018157 761_modified001.lmd : FL3 Log/SS Lin - /



Séparation des populations cellulaires en fonction de leur taille et de leur structure.

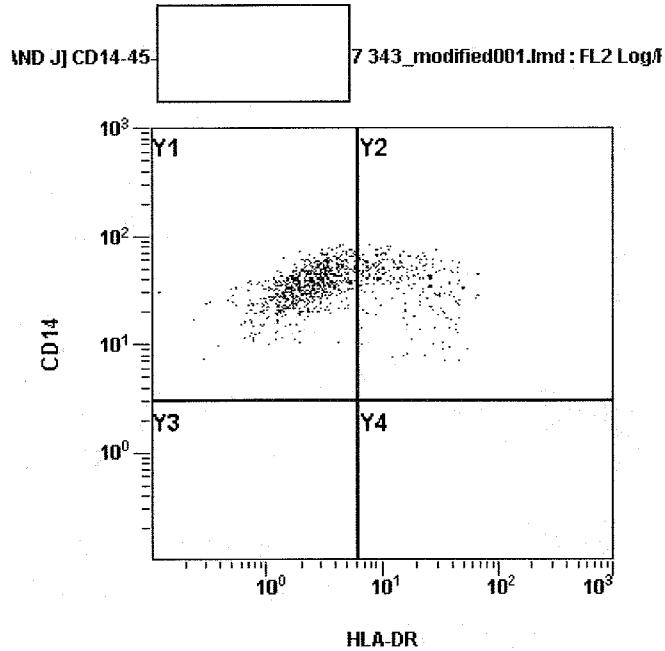
- *Violet* : lymphocytes
- *Bleu* : monocytes
- *Rouge* : polynucléaires

XJ CD14-45-DR 444 00018157 761_modified001.lmd : FL1 Log/FL3 Log - ND J] CD14-45-DR 444 00018157 761_modified001.lmd : FL2 Log/FL1 Lu



Isolement des monocytes CD45⁺CD14⁺ à gauche, encart J.

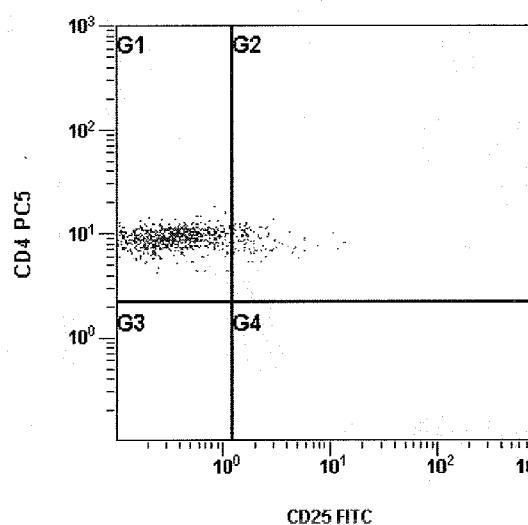
Isolement des monocytes exprimant HLA-DR, à droite, sujet sain, noter que la plupart des monocytes sont HLA-DR⁺



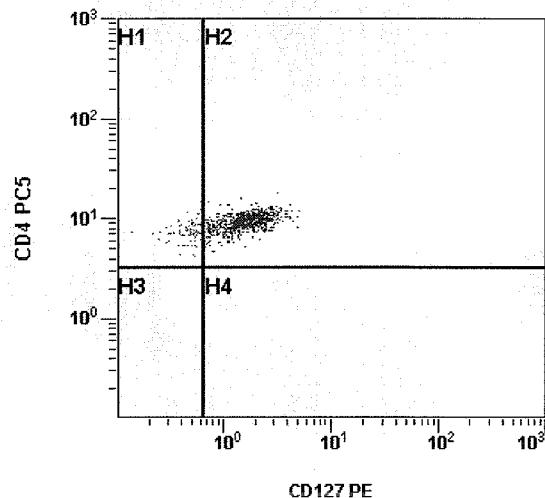
Isolement des monocytes HLA-DR chez un patient en choc.

Noter la déviation vers la gauche du nuage cellulaire, traduisant la diminution du nombre de cellules exprimant ce récepteur.

(F1)[A] Treg CD127 777 00018167 771.LMD : FL1 Log/FL4 Log - ADC



(F1)[A] Treg CD127 777 00018167 771.LMD : FL2 Log/FL4 Log - ADC



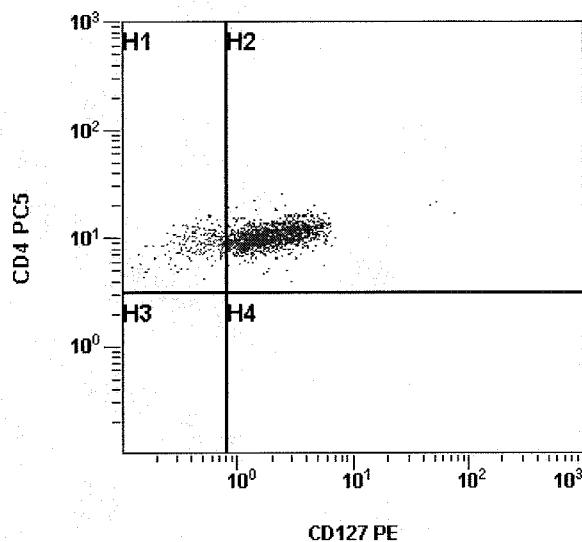
Isolement des Lymphocytes T CD4⁺CD25⁺, histogramme de gauche, encart G2, sujet sain.

Isolement des Tregs CD127^{neg}, histogramme de droite, encart H1, sujet sain.

F1)[A] Treg CD127 Ki



1 369.LMD : FL2 Log/FL4 Log - ADC

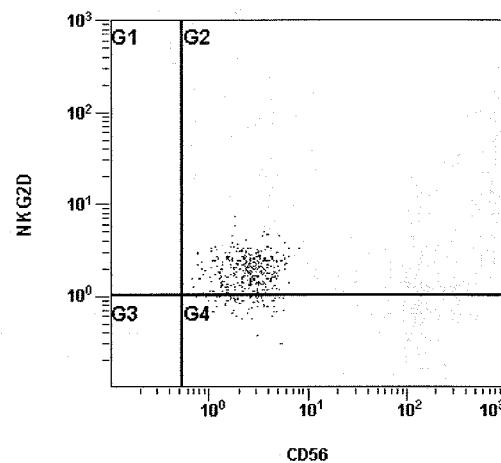
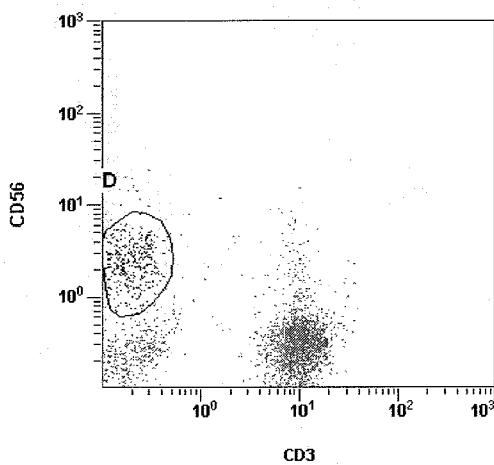


Isolement des Tregs CD4⁺CD25⁺CD127⁻.

Encart H1, patient en état de choc.

Noter une fluorescence plus importante de cette partie du nuage traduisant une augmentation de la proportion de ces cellules dans ce cas.

(F1)[A] CD3-CD56-N 444 00018150 754.LMD : FL1 Log/FL4 Log - ADC (F1)[A AND D] CD3-CD56-N 444 00018150 754.LMD : FL4 Log/FL2 Log - AD

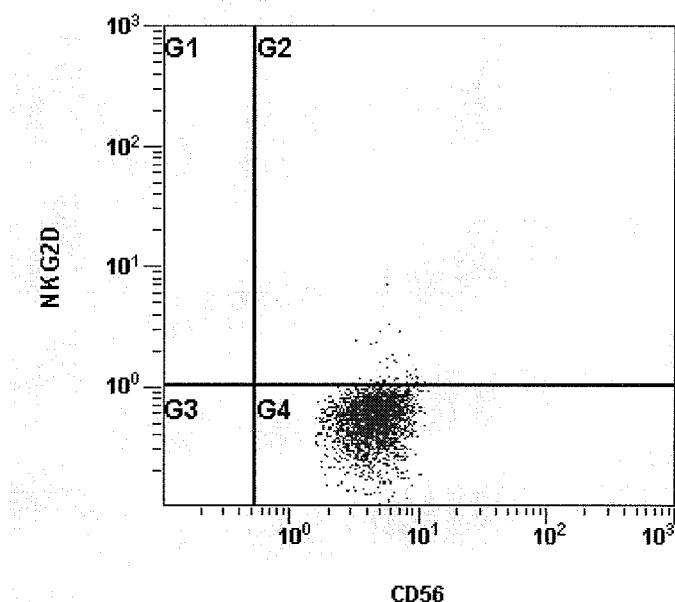


Isolement des cellules NK de la population des lymphocytes, histogramme de gauche, cercle D, sujet sain.

Isolement des cellules NK exprimant NKG2D, histogramme de droite, encart G2, sujet sain.

1) [A AND D] CD3-CD56-N T

MD : FL4 Log/FL2 Log - AD



Cellules NK chez un patient en état de choc.

Noter le faible nombre de cellules exprimant NKG2D, encart G2.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annu Rev Immunol* 1994;12:991-1045.
2. Janeway CA, Jr. The immune system evolved to discriminate infectious nonself from noninfectious self. *Immunol Today* 1992;13(1):11-6.
3. Beutler B. Innate immune responses to microbial poisons: discovery and function of the Toll-like receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2003;43:609-28.
4. Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 2000;406(6797):782-7.
5. Roitt IM, Brostoff, male. immunologie-3ème édition. Editions De Boeck université 2002.
6. mira JP, vallet B. sepsis. Editions MASSON 2004.
7. SRLF. Actualités en réanimation et urgences 2007. Editions Elsevier Masson SAS 2007.
8. Opal SM, Cohen J. Clinical gram-positive sepsis: does it fundamentally differ from gram-negative bacterial sepsis? *Crit Care Med* 1999;27(8):1608-16.
9. Sriskandan S, Cohen J. Gram-positive sepsis. Mechanisms and differences from gram-negative sepsis. *Infect Dis Clin North Am* 1999;13(2):397-412.
10. Van Amersfoort ES, Van Berkel TJ, Kuiper J. Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clin Microbiol Rev* 2003;16(3):379-414.
11. Poussin C, Foti M, Carpentier JL, Pugin J. CD14-dependent endotoxin internalization via a macropinocytic pathway. *J Biol Chem* 1998;273(32):20285-91.
12. Beutler B, Hoebe K, Du X, Ulevitch RJ. How we detect microbes and respond to them: the Toll-like receptors and their transducers. *J Leukoc Biol* 2003;74(4):479-85.
13. Elson G, Dunn-Siegrist I, Daubeuf B, Pugin J. Contribution of Toll-like receptors to the innate immune response to Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Blood* 2007;109(4):1574-83.
14. Malaviya R, Ikeda T, Ross E, Abraham SN. Mast cell modulation of neutrophil influx and bacterial clearance at sites of infection through TNF-alpha. *Nature* 1996;381(6577):77-80.
15. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000;343(1):37-49.

16. Andonegui G, Kerfoot SM, McNagny K, Ebbert KV, Patel KD, Kubes P. Platelets express functional Toll-like receptor-4. *Blood* 2005;106(7):2417-23.
17. Clark SR, Ma AC, Tavener SA, McDonald B, Goodarzi Z, Kelly MM, et al. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med* 2007;13(4):463-9.
18. Frendeus B, Godaly G, Hang L, Karpman D, Lundstedt AC, Svanborg C. Interleukin 8 receptor deficiency confers susceptibility to acute experimental pyelonephritis and may have a human counterpart. *J Exp Med* 2000;192(6):881-90.
19. Hurst SM, Wilkinson TS, McLoughlin RM, Jones S, Horiuchi S, Yamamoto N, et al. IL-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity* 2001;14(6):705-14.
20. Huffnagle GB, Strieter RM, Standiford TJ, McDonald RA, Burdick MD, Kunkel SL, et al. The role of monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) in the recruitment of monocytes and CD4+ T cells during a pulmonary Cryptococcus neoformans infection. *J Immunol* 1995;155(10):4790-7.
21. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999;340(6):448-54.
22. Schifferli JA. Complement: a member of the innate immune system. *Springer Semin Immunopathol* 2005;27(3):273-5.
23. Cavaillon JM, Fitting C, Haeffner-Cavaillon N. Recombinant C5a enhances interleukin 1 and tumor necrosis factor release by lipopolysaccharide-stimulated monocytes and macrophages. *Eur J Immunol* 1990;20(2):253-7.
24. Edelman GM. Antibody structure and molecular immunology. *Science* 1973;180(88):830-40.
25. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Second of two parts. *N Engl J Med* 2000;343(2):108-17.
26. Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA. CD28/B7 system of T cell costimulation. *Annu Rev Immunol* 1996;14:233-58.
27. Grewal IS, Flavell RA. CD40 and CD154 in cell-mediated immunity. *Annu Rev Immunol* 1998;16:111-35.
28. Holter W, Schwarz M, Cerwenka A, Knapp W. The role of CD2 as a regulator of human T-cell cytokine production. *Immunol Rev* 1996;153:107-22.
29. van Kooten C, Banchereau J. Functions of CD40 on B cells, dendritic cells and other cells. *Curr Opin Immunol* 1997;9(3):330-7.
30. Joseph SB, Miner KT, Croft M. Augmentation of naive, Th1 and Th2 effector CD4 responses by IL-6, IL-1 and TNF. *Eur J Immunol* 1998;28(1):277-89.

31. Mosmann TR. Properties and functions of interleukin-10. *Adv Immunol* 1994;56:1-26.
32. Letterio JJ, Roberts AB. Regulation of immune responses by TGF-beta. *Annu Rev Immunol* 1998;16:137-61.
33. Ward C, Dransfield I, Murray J, Farrow SN, Haslett C, Rossi AG. Prostaglandin D2 and its metabolites induce caspase-dependent granulocyte apoptosis that is mediated via inhibition of I kappa B alpha degradation using a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-independent mechanism. *J Immunol* 2002;168(12):6232-43.
34. Fadok VA, Bratton DL, Konowal A, Freed PW, Westcott JY, Henson PM. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J Clin Invest* 1998;101(4):890-8.
35. Huynh ML, Fadok VA, Henson PM. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF-beta1 secretion and the resolution of inflammation. *J Clin Invest* 2002;109(1):41-50.
36. Marchant A, Deviere J, Byl B, De Groote D, Vincent JL, Goldman M. Interleukin-10 production during septicemia. *Lancet* 1994;343(8899):707-8.
37. Sawyer RG, Rosenlof LK, Pruett TL. Interleukin-4 prevents mortality from acute but not chronic murine peritonitis and induces an accelerated tumor necrosis factor-alpha response. *Eur Surg Res* 1996;28(2):119-23.
38. Muchamuel T, Menon S, Pisacane P, Howard MC, Cockayne DA. IL-13 protects mice from lipopolysaccharide-induced lethal endotoxemia: correlation with down-modulation of TNF-alpha, IFN-gamma, and IL-12 production. *J Immunol* 1997;158(6):2898-903.
39. Perrella MA, Hsieh CM, Lee WS, Shieh S, Tsai JC, Patterson C, et al. Arrest of endotoxin-induced hypotension by transforming growth factor beta1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93(5):2054-9.
40. Girardin E, Roux-Lombard P, Grau GE, Suter P, Gallati H, Dayer JM. Imbalance between tumour necrosis factor-alpha and soluble TNF receptor concentrations in severe meningococcaemia. The J5 Study Group. *Immunology* 1992;76(1):20-3.
41. Goldie AS, Fearon KC, Ross JA, Barclay GR, Jackson RE, Grant IS, et al. Natural cytokine antagonists and endogenous antiendotoxin core antibodies in sepsis syndrome. The Sepsis Intervention Group. *Jama* 1995;274(2):172-7.
42. Suter PM, Suter S, Girardin E, Roux-Lombard P, Grau GE, Dayer JM. High bronchoalveolar levels of tumor necrosis factor and its inhibitors, interleukin-1, interferon, and elastase, in patients with adult respiratory distress syndrome after trauma, shock, or sepsis. *Am Rev Respir Dis* 1992;145(5):1016-22.

43. van Deuren M, van der Ven-Jongekrijg J, Vannier E, van Dalen R, Pesman G, Bartelink AK, et al. The pattern of interleukin-1beta (IL-1beta) and its modulating agents IL-1 receptor antagonist and IL-1 soluble receptor type II in acute meningococcal infections. *Blood* 1997;90(3):1101-8.
44. Ohlsson K, Bjork P, Bergenfeldt M, Hageman R, Thompson RC. Interleukin-1 receptor antagonist reduces mortality from endotoxin shock. *Nature* 1990;348(6301):550-2.
45. Matthay MA, Ware LB. Can nicotine treat sepsis? *Nat Med* 2004;10(11):1161-2.
46. Annane D, Sebille V, Charpentier C, Bollaert PE, Francois B, Korach JM, et al. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *Jama* 2002;288(7):862-71.
47. Calandra T, Bernhagen J, Metz CN, Spiegel LA, Bacher M, Donnelly T, et al. MIF as a glucocorticoid-induced modulator of cytokine production. *Nature* 1995;377(6544):68-71.
48. Flaster H, Bernhagen J, Calandra T, Bucala R. The macrophage migration inhibitory factor-glucocorticoid dyad: regulation of inflammation and immunity. *Mol Endocrinol* 2007;21(6):1267-80.
49. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003;348(2):138-50.
50. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992;101(6):1644-55.
51. Warren HS. Strategies for the treatment of sepsis. *N Engl J Med* 1997;336(13):952-3.
52. Stone R. Search for sepsis drugs goes on despite past failures. *Science* 1994;264(5157):365-7.
53. Thomas L. Germs. *N Engl J Med* 1972;287(11):553-5.
54. Bone RC, Fisher CJ, Jr., Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA. A controlled clinical trial of high-dose methylprednisolone in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 1987;317(11):653-8.
55. Ziegler EJ, Fisher CJ, Jr., Sprung CL, Straube RC, Sadoff JC, Foulke GE, et al. Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The HA-1A Sepsis Study Group. *N Engl J Med* 1991;324(7):429-36.
56. Fisher CJ, Jr., Agosti JM, Opal SM, Lowry SF, Balk RA, Sadoff JC, et al. Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein. The Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group. *N Engl J Med* 1996;334(26):1697-702.

57. Abraham E, Wunderink R, Silverman H, Perl TM, Nasraway S, Levy H, et al. Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis syndrome. A randomized, controlled, double-blind, multicenter clinical trial. TNF-alpha MAb Sepsis Study Group. *Jama* 1995;273(12):934-41.
58. Fisher CJ, Jr., Slotman GJ, Opal SM, Pribble JP, Bone RC, Emmanuel G, et al. Initial evaluation of human recombinant interleukin-1 receptor antagonist in the treatment of sepsis syndrome: a randomized, open-label, placebo-controlled multicenter trial. *Crit Care Med* 1994;22(1):12-21.
59. Bernard GR, Wheeler AP, Russell JA, Schein R, Summer WR, Steinberg KP, et al. The effects of ibuprofen on the physiology and survival of patients with sepsis. The Ibuprofen in Sepsis Study Group. *N Engl J Med* 1997;336(13):912-8.
60. Zeni F, Freeman B, Natanson C. Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: a reassessment. *Crit Care Med* 1997;25(7):1095-100.
61. Natanson C, Hoffman WD, Suffredini AF, Eichacker PQ, Danner RL. Selected treatment strategies for septic shock based on proposed mechanisms of pathogenesis. *Ann Intern Med* 1994;120(9):771-83.
62. Nelson S. A question of balance. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159(5 Pt 1):1365-7.
63. Fink MP, Heard SO. Laboratory models of sepsis and septic shock. *J Surg Res* 1990;49(2):186-96.
64. Deitch EA. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. *Shock* 1998;9(1):1-11.
65. O'Reilly M, Newcomb DE, Remick D. Endotoxin, sepsis, and the primrose path. *Shock* 1999;12(6):411-20.
66. Girardin E, Grau GE, Dayer JM, Roux-Lombard P, Lambert PH. Tumor necrosis factor and interleukin-1 in the serum of children with severe infectious purpura. *N Engl J Med* 1988;319(7):397-400.
67. Hatherill M, Tibby SM, Turner C, Ratnavel N, Murdoch IA. Procalcitonin and cytokine levels: relationship to organ failure and mortality in pediatric septic shock. *Crit Care Med* 2000;28(7):2591-4.
68. Debets JM, Kampmeijer R, van der Linden MP, Buurman WA, van der Linden CJ. Plasma tumor necrosis factor and mortality in critically ill septic patients. *Crit Care Med* 1989;17(6):489-94.
69. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Cytokine signaling--regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med* 2000;28(4 Suppl):N3-12.
70. Pruitt JH, Welborn MB, Edwards PD, Harward TR, Seeger JW, Martin TD, et al. Increased soluble interleukin-1 type II receptor concentrations in postoperative patients and in patients with sepsis syndrome. *Blood* 1996;87(8):3282-8.

71. Rogy MA, Coyle SM, Oldenburg HS, Rock CS, Barie PS, Van Zee KJ, et al. Persistently elevated soluble tumor necrosis factor receptor and interleukin-1 receptor antagonist levels in critically ill patients. *J Am Coll Surg* 1994;178(2):132-8.
72. Eskandari MK, Bolgos G, Miller C, Nguyen DT, DeForge LE, Remick DG. Anti-tumor necrosis factor antibody therapy fails to prevent lethality after cecal ligation and puncture or endotoxemia. *J Immunol* 1992;148(9):2724-30.
73. Echtenacher B, Weigl K, Lehn N, Mannel DN. Tumor necrosis factor-dependent adhesions as a major protective mechanism early in septic peritonitis in mice. *Infect Immun* 2001;69(6):3550-5.
74. Opal SM, Cross AS, Jhung JW, Young LD, Palardy JE, Parejo NA, et al. Potential hazards of combination immunotherapy in the treatment of experimental septic shock. *J Infect Dis* 1996;173(6):1415-21.
75. Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, et al. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med* 2001;345(15):1098-104.
76. Reinhart K, Karzai W. Anti-tumor necrosis factor therapy in sepsis: update on clinical trials and lessons learned. *Crit Care Med* 2001;29(7 Suppl):S121-5.
77. Modlin RL, Brightbill HD, Godowski PJ. The toll of innate immunity on microbial pathogens. *N Engl J Med* 1999;340(23):1834-5.
78. Hagberg L, Briles DE, Eden CS. Evidence for separate genetic defects in C3H/HeJ and C3HeB/FeJ mice, that affect susceptibility to gram-negative infections. *J Immunol* 1985;134(6):4118-22.
79. Hotchkiss RS, Swanson PE, Knudson CM, Chang KC, Cobb JP, Osborne DF, et al. Overexpression of Bcl-2 in transgenic mice decreases apoptosis and improves survival in sepsis. *J Immunol* 1999;162(7):4148-56.
80. Meakins JL, Pietsch JB, Bubenick O, Kelly R, Rode H, Gordon J, et al. Delayed hypersensitivity: indicator of acquired failure of host defenses in sepsis and trauma. *Ann Surg* 1977;186(3):241-50.
81. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Sepsis syndromes: understanding the role of innate and acquired immunity. *Shock* 2001;16(2):83-96.
82. Lederer JA, Rodrick ML, Mannick JA. The effects of injury on the adaptive immune response. *Shock* 1999;11(3):153-9.
83. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest* 1997;112(1):235-43.
84. Ertel W, Kremer JP, Kenney J, Steckholzer U, Jarrar D, Trentz O, et al. Downregulation of proinflammatory cytokine release in whole blood from septic patients. *Blood* 1995;85(5):1341-7.

85. Docke WD, Rando F, Syrbe U, Krausch D, Asadullah K, Reinke P, et al. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. *Nat Med* 1997;3(6):678-81.
86. Munford RS, Pugin J. Normal responses to injury prevent systemic inflammation and can be immunosuppressive. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163(2):316-21.
87. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 1996;383(6603):787-93.
88. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 2000;117(4):1162-72.
89. O'Sullivan ST, Lederer JA, Horgan AF, Chin DH, Mannick JA, Rodrick ML. Major injury leads to predominance of the T helper-2 lymphocyte phenotype and diminished interleukin-12 production associated with decreased resistance to infection. *Ann Surg* 1995;222(4):482-90; discussion 490-2.
90. Gogos CA, Drosou E, Bassaris HP, Skoutelis A. Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. *J Infect Dis* 2000;181(1):176-80.
91. Heidecke CD, Hensler T, Weighardt H, Zantl N, Wagner H, Siewert JR, et al. Selective defects of T lymphocyte function in patients with lethal intraabdominal infection. *Am J Surg* 1999;178(4):288-92.
92. Weighardt H, Heidecke CD, Emmanuilidis K, Maier S, Bartels H, Siewert JR, et al. Sepsis after major visceral surgery is associated with sustained and interferon-gamma-resistant defects of monocyte cytokine production. *Surgery* 2000;127(3):309-15.
93. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000;407(6805):770-6.
94. Raff M. Cell suicide for beginners. *Nature* 1998;396(6707):119-22.
95. Haslett C, Savill J. Why is apoptosis important to clinicians? *Bmj* 2001;322(7301):1499-500.
96. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, et al. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med* 1999;27(7):1230-51.
97. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Schmieg RE, Jr., Hui JJ, Chang KC, et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4+ T lymphocytes in humans. *J Immunol* 2001;166(11):6952-63.
98. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Grayson MH, Osborne DF, Wagner TH, et al. Depletion of dendritic cells, but not macrophages, in patients with sepsis. *J Immunol* 2002;168(5):2493-500.

99. Fukuzuka K, Edwards CK, 3rd, Clare-Salzler M, Copeland EM, 3rd, Moldawer LL, Mozingo DW. Glucocorticoid-induced, caspase-dependent organ apoptosis early after burn injury. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000;278(4):R1005-18.
100. Green DR, Beere HM. Apoptosis. Gone but not forgotten. *Nature* 2000;405(6782):28-9.
101. Voll RE, Herrmann M, Roth EA, Stach C, Kalden JR, Girkontaite I. Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature* 1997;390(6658):350-1.
102. Fadok VA, Bratton DL, Rose DM, Pearson A, Ezekowitz RA, Henson PM. A receptor for phosphatidylserine-specific clearance of apoptotic cells. *Nature* 2000;405(6782):85-90.
103. Hiramatsu M, Hotchkiss RS, Karl IE, Buchman TG. Cecal ligation and puncture (CLP) induces apoptosis in thymus, spleen, lung, and gut by an endotoxin and TNF-independent pathway. *Shock* 1997;7(4):247-53.
104. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Chang KC, Cobb JP, Buchman TG, et al. Prevention of lymphocyte cell death in sepsis improves survival in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(25):14541-6.
105. Le Tulzo Y, Pangault C, Gacouin A, Guilloux V, Tribut O, Amiot L, et al. Early circulating lymphocyte apoptosis in human septic shock is associated with poor outcome. *Shock* 2002;18(6):487-94.
106. Reith W, Mach B. The bare lymphocyte syndrome and the regulation of MHC expression. *Annu Rev Immunol* 2001;19:331-73.
107. Wubbolts R, Neefjes J. Intracellular transport and peptide loading of MHC class II molecules: regulation by chaperones and motors. *Immunol Rev* 1999;172:189-208.
108. Tschaikowsky K, Hedwig-Geissling M, Schiele A, Bremer F, Schywalsky M, Schuttler J. Coincidence of pro- and anti-inflammatory responses in the early phase of severe sepsis: Longitudinal study of mononuclear histocompatibility leukocyte antigen-DR expression, procalcitonin, C-reactive protein, and changes in T-cell subsets in septic and postoperative patients. *Crit Care Med* 2002;30(5):1015-23.
109. Monneret G, Debard AL, Venet F, Bohe J, Hequet O, Bienvenu J, et al. Marked elevation of human circulating CD4+CD25+ regulatory T cells in sepsis-induced immunoparalysis. *Crit Care Med* 2003;31(7):2068-71.
110. Venet F, Pachot A, Debard AL, Bohe J, Bienvenu J, Lepape A, et al. Increased percentage of CD4+CD25+ regulatory T cells during septic shock is due to the decrease of CD4+CD25- lymphocytes. *Crit Care Med* 2004;32(11):2329-31.
111. Pachot A, Monneret G, Brion A, Venet F, Bohe J, Bienvenu J, et al. Messenger RNA expression of major histocompatibility complex class II genes in whole blood from septic shock patients. *Crit Care Med* 2005;33(1):31-8; discussion 236-7.

112. Fumeaux T, Pugin J. Role of interleukin-10 in the intracellular sequestration of human leukocyte antigen-DR in monocytes during septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166(11):1475-82.
113. Le Tulzo Y, Pangault C, Amiot L, Guilloux V, Tribut O, Arvieux C, et al. Monocyte human leukocyte antigen-DR transcriptional downregulation by cortisol during septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169(10):1144-51.
114. Kox WJ, Volk T, Kox SN, Volk HD. Immunomodulatory therapies in sepsis. *Intensive Care Med* 2000;26 Suppl 1:S124-8.
115. Spittler A, Roth E. Is monocyte HLA-DR expression predictive for clinical outcome in sepsis? *Intensive Care Med* 2003;29(8):1211-2.
116. Hynninen M, Pettila V, Takkunen O, Orko R, Jansson SE, Kuusela P, et al. Predictive value of monocyte histocompatibility leukocyte antigen-DR expression and plasma interleukin-4 and -10 levels in critically ill patients with sepsis. *Shock* 2003;20(1):1-4.
117. Koppelman B, Neefjes JJ, de Vries JE, de Waal Malefyt R. Interleukin-10 down-regulates MHC class II alphabeta peptide complexes at the plasma membrane of monocytes by affecting arrival and recycling. *Immunity* 1997;7(6):861-71.
118. Czarniecki CW, Chiu HH, Wong GH, McCabe SM, Palladino MA. Transforming growth factor-beta 1 modulates the expression of class II histocompatibility antigens on human cells. *J Immunol* 1988;140(12):4217-23.
119. Livingston DH, Appel SH, Wellhausen SR, Sonnenfeld G, Polk HC, Jr. Depressed interferon gamma production and monocyte HLA-DR expression after severe injury. *Arch Surg* 1988;123(11):1309-12.
120. Hershman MJ, Cheadle WG, Wellhausen SR, Davidson PF, Polk HC, Jr. Monocyte HLA-DR antigen expression characterizes clinical outcome in the trauma patient. *Br J Surg* 1990;77(2):204-7.
121. Fehervari Z, Sakaguchi S. CD4+ Tregs and immune control. *J Clin Invest* 2004;114(9):1209-17.
122. Shevach EM. CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol* 2002;2(6):389-400.
123. Wood KJ, Sakaguchi S. Regulatory T cells in transplantation tolerance. *Nat Rev Immunol* 2003;3(3):199-210.
124. Itoh M, Takahashi T, Sakaguchi N, Kuniyasu Y, Shimizu J, Otsuka F, et al. Thymus and autoimmunity: production of CD25+CD4+ naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance. *J Immunol* 1999;162(9):5317-26.

125. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995;155(3):1151-64.
126. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003;299(5609):1057-61.
127. Khattri R, Cox T, Yasayko SA, Ramsdell F. An essential role for Scurfin in CD4+CD25+ T regulatory cells. *Nat Immunol* 2003;4(4):337-42.
128. Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003;4(4):330-6.
129. Bennett CL, Christie J, Ramsdell F, Brunkow ME, Ferguson PJ, Whitesell L, et al. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet* 2001;27(1):20-1.
130. Gavin M, Rudensky A. Control of immune homeostasis by naturally arising regulatory CD4+ T cells. *Curr Opin Immunol* 2003;15(6):690-6.
131. Jiang H, Chess L. Regulation of immune responses by T cells. *N Engl J Med* 2006;354(11):1166-76.
132. Shevach EM. Certified professionals: CD4(+)CD25(+) suppressor T cells. *J Exp Med* 2001;193(11):F41-6.
133. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, Yamazaki S, Sakihama T, Itoh M, et al. Immunologic tolerance maintained by CD25+ CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev* 2001;182:18-32.
134. Taams LS, van Amelsfort JM, Tiemessen MM, Jacobs KM, de Jong EC, Akbar AN, et al. Modulation of monocyte/macrophage function by human CD4+CD25+ regulatory T cells. *Hum Immunol* 2005;66(3):222-30.
135. Belkaid Y, Piccirillo CA, Mendez S, Shevach EM, Sacks DL. CD4+CD25+ regulatory T cells control *Leishmania* major persistence and immunity. *Nature* 2002;420(6915):502-7.
136. Dieckmann D, Bruett CH, Ploettner H, Lutz MB, Schuler G. Human CD4(+)CD25(+) regulatory, contact-dependent T cells induce interleukin 10-producing, contact-independent type 1-like regulatory T cells [corrected]. *J Exp Med* 2002;196(2):247-53.
137. Jonuleit H, Schmitt E, Kakirman H, Stassen M, Knop J, Enk AH. Infectious tolerance: human CD25(+) regulatory T cells convey suppressor activity to conventional CD4(+) T helper cells. *J Exp Med* 2002;196(2):255-60.
138. Bopp T, Becker C, Klein M, Klein-Hessling S, Palmetshofer A, Serfling E, et al. Cyclic adenosine monophosphate is a key component of regulatory T cell-mediated suppression. *J Exp Med* 2007;204(6):1303-10.

139. O'Garra A, Vieira PL, Vieira P, Goldfeld AE. IL-10-producing and naturally occurring CD4+ Tregs: limiting collateral damage. *J Clin Invest* 2004;114(10):1372-8.
140. Park HB, Paik DJ, Jang E, Hong S, Youn J. Acquisition of anergic and suppressive activities in transforming growth factor-beta-costimulated CD4+CD25- T cells. *Int Immunopharmacol* 2004;16(8):1203-13.
141. Gibot S, Cravoisy A. Soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 as a marker of microbial infection. *Clin Med Res* 2004;2(3):181-7.
142. Gibot S, Cravoisy A, Levy B, Bene MC, Faure G, Bollaert PE. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia. *N Engl J Med* 2004;350(5):451-8.
143. Heuer JG, Zhang T, Zhao J, Ding C, Cramer M, Justen KL, et al. Adoptive transfer of in vitro-stimulated CD4+CD25+ regulatory T cells increases bacterial clearance and improves survival in polymicrobial sepsis. *J Immunol* 2005;174(11):7141-6.
144. Caille V, Chiche JD, Nciri N, Berton C, Gibot S, Boval B, et al. Histocompatibility leukocyte antigen-D related expression is specifically altered and predicts mortality in septic shock but not in other causes of shock. *Shock* 2004;22(6):521-6.
145. Monneret G, Elmenkouri N, Bohe J, Debard AL, Gutowski MC, Bienvenu J, et al. Analytical requirements for measuring monocytic human lymphocyte antigen DR by flow cytometry: application to the monitoring of patients with septic shock. *Clin Chem* 2002;48(9):1589-92.
146. Muller Kobold AC, Tulleken JE, Zijlstra JG, Sluiter W, Hermans J, Kallenberg CG, et al. Leukocyte activation in sepsis; correlations with disease state and mortality. *Intensive Care Med* 2000;26(7):883-92.
147. Oczenki W, Krenn H, Jilch R, Watzka H, Waldenberger F, Koller U, et al. HLA-DR as a marker for increased risk for systemic inflammation and septic complications after cardiac surgery. *Intensive Care Med* 2003;29(8):1253-7.
148. Perry SE, Mostafa SM, Wenstone R, Shenkin A, McLaughlin PJ. Is low monocyte HLA-DR expression helpful to predict outcome in severe sepsis? *Intensive Care Med* 2003;29(8):1245-52.
149. Liu W, Putnam AL, Xu-Yu Z, Szot GL, Lee MR, Zhu S, et al. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells. *J Exp Med* 2006;203(7):1701-11.
150. Efron PA, Martins A, Minnich D, Tinsley K, Ungaro R, Bahjat FR, et al. Characterization of the systemic loss of dendritic cells in murine lymph nodes during polymicrobial sepsis. *J Immunol* 2004;173(5):3035-43.
151. Scumpia PO, Delano MJ, Kelly KM, O'Malley KA, Efron PA, McAuliffe PF, et al. Increased natural CD4+CD25+ regulatory T cells and their suppressor activity do not contribute to mortality in murine polymicrobial sepsis. *J Immunol* 2006;177(11):7943-9.

152. Hotchkiss RS, Chang KC, Swanson PE, Tinsley KW, Hui JJ, Klender P, et al. Caspase inhibitors improve survival in sepsis: a critical role of the lymphocyte. *Nat Immunol* 2000;1(6):496-501.
153. Pasare C, Medzhitov R. Toll pathway-dependent blockade of CD4+CD25+ T cell-mediated suppression by dendritic cells. *Science* 2003;299(5609):1033-6.
154. Valencia X, Stephens G, Goldbach-Mansky R, Wilson M, Shevach EM, Lipsky PE. TNF downmodulates the function of human CD4+CD25hi T-regulatory cells. *Blood* 2006;108(1):253-61.
155. Dinarello CA. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest* 1997;112(6 Suppl):321S-329S.
156. Ghiringhelli F, Menard C, Terme M, Flament C, Taieb J, Chaput N, et al. CD4+CD25+ regulatory T cells inhibit natural killer cell functions in a transforming growth factor-beta-dependent manner. *J Exp Med* 2005;202(8):1075-85.
157. Giamarellos-Bourboulis EJ, Tsaganos T, Spyridaki E, Mouktaroudi M, Plachouras D, Vaki I, et al. Early changes of CD4-positive lymphocytes and NK cells in patients with severe Gram-negative sepsis. *Crit Care* 2006;10(6):R166.
158. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003;31(4):1250-6.

VU

NANCY, le 4 septembre 2007
Le Président de Thèse

NANCY, le 10 septembre 2007
Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur P.E. BOLLAERT

Professeur P. NETTER

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE

NANCY, le 21 septembre 2007
LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1

Professeur J.P. FINANCE

Les lymphocytes T régulateurs au cours des états de choc : étude observationnelle

Il est désormais admis que le choc septique peut s'accompagner d'une défaillance du système immunitaire caractérisée par une modification du phénotype des monocytes : diminution de leurs capacités à présenter les antigènes (HLA-DR), réorientation de la synthèse de cytokines (Th1 vers Th2). Un des mécanismes responsable de cette modification du phénotype monocytaire impliquerait une sous-population de lymphocytes T spécialisés dans le maintien de la tolérance immunitaire et la prévention de l'auto-immunité : les lymphocytes T régulateurs.

Dans notre étude 36 patients en choc étaient inclus (21 septiques, 15 non septiques). Tous présentaient une défaillance monocytaire caractérisée par un bas niveau d'expression de HLA-DR.

Nous avons mis en évidence une augmentation du pourcentage des Tregs chez l'ensemble des patients, notamment chez les survivants du groupe septique. Par ailleurs, le taux des Tregs était inversement corrélé avec la gravité du choc.

De plus, quelle que soit la nature du choc, la concentration et la cinétique des cytokines Th1 et Th2 étaient similaires, avec une prédominance des cytokines anti-inflammatoires dans les chocs graves.

Enfin, un autre groupe de cellules de l'immunité, les cellules NK, avaient un taux abaissé au cours du choc et leur activation était d'autant plus faible que le taux de cytokines anti-inflammatoires était élevé.

CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells during shock : an observational study

Thèse de médecine spécialisée – année 2007

Mots clés : immunoparalysie ; reprogrammation leucocytaire ; HLA-DR ; lymphocytes T régulateurs CD4⁺CD25⁺ ; Foxp3 ; cellules NK ; choc

Faculté de Médecine de Nancy
9 avenue de la Forêt de Haye
54505 VANDOEUVRE LES NANCY cedex