

Endothélium et microcirculation au cours des états critiques. Actes du séminaire de recherche translationnelle de la Société de réanimation de langue française (1^{er} décembre 2015)

Endothelium and Microcirculation in Critically Ill Patients. Translational Research Meeting of Société de réanimation de langue française (December 1, 2015)

H. Ait-Oufella · S. Gibot · A. Guillon · J.-P. Mira · G. Monneret · F. Pène · T. Sharshar · F. Taccone · J. Textoris · F. Tamion · pour la Commission de recherche translationnelle de la SRLF

Reçu le 3 mars 2016 ; accepté le 8 mars 2016
© SRLF et Lavoisier SAS 2016

Résumé Dans les conditions physiologiques, l'endothélium régule le tonus vasomoteur et la pression artérielle, mais également le système de la coagulation, l'agrégation plaquettaire, et enfin la perméabilité vasculaire. Les cellules endothéliales

de l'ensemble de l'organisme ont des propriétés communes, mais elles ont également des caractéristiques propres d'un organe à l'autre, définissant l'hétérogénéité endothéliale. La dysfonction endothéliale a été associée à de nombreux processus physiopathologiques, tels que l'inflammation et le stress oxydatif. L'altération de la fonction endothéliale conduit à des modifications phénotypiques et joue un rôle clé dans la physiopathologie des défaillances d'organes au cours des états critiques. Ainsi, la validation de nouveaux outils performants pour la détection précoce de la dysfonction endothéliale pourrait être d'un grand intérêt dans la prise en charge des patients de réanimation.

H. Ait-Oufella (✉)

Service de réanimation médicale, hôpital Saint-Antoine, AP-HP, F-75012 Paris, France
e-mail : hafid.aitoufella@sat.aphp.fr

S. Gibot

Service de réanimation médicale, hôpital Central, CHU de Nancy, F-54000 Nancy, France

A. Guillon

Service de réanimation polyvalente, CHU de Tours, F-37000 Tours, France

J.-P. Mira · F. Pène

Service de réanimation médicale, hôpital Cochin, AP-HP, F-75014 Paris, France

G. Monneret

Laboratoire d'immunologie, hôpital Édouard-Herriot, CHU de Lyon, F-69003 Lyon, France

T. Sharshar

Service de réanimation médicale, hôpital Raymond-Poincaré, AP-HP, F-92380 Garches, France

F. Taccone

Service de soins intensifs et réanimation, hôpital Erasme, 1070 Bruxelles, Belgique

J. Textoris

Département d'anesthésie-réanimation, unité de recherche bioMérieux, hôpital Édouard-Herriot, CHU de Lyon, F-69003 Lyon, France

F. Tamion

Service de réanimation médicale, hôpital Charles-Nicolas, CHU de Rouen, F-76000 Rouen, France

Mots clés Endothélium · Hétérogénéité · Inflammation · Coagulation · Capillaroscopie

Abstract Under physiological conditions, the endothelium regulates vasomotor tone, the coagulation cascade, platelet aggregation, and vascular permeability. Endothelial cells have common properties, but these vascular cells also have organ-related characteristics, defining the endothelial heterogeneity. Endothelial dysfunction has been associated with many pathophysiological processes such as inflammation and oxidative stress. Impaired endothelial function leads to phenotypic changes and is involved in the pathophysiology of organ failure during critical conditions. The development of accurate tools for the early detection of endothelial dysfunction and microcirculatory hypoperfusion could be of great interest in critically ill patients.

Keywords Endothelium · Heterogeneity · Inflammation · Coagulation · Capillaroscopy

Introduction

La Société de réanimation de langue française est engagée dans la promotion de la recherche fondamentale et translationnelle en réanimation. À ce titre, la commission de recherche translationnelle organise un séminaire annuel qui vise à réunir des cliniciens et des chercheurs autour d'une thématique d'intérêt de la discipline. Le séminaire 2015 s'est focalisé sur l'endothélium et la perfusion microcirculatoire au cours des états critiques. Les différents orateurs ont souligné le rôle central de l'endothélium à la fois en physiologie et également dans un certain nombre de processus pathologiques rencontrés en réanimation. Ils ont évoqué les nouvelles techniques permettant de visualiser la perfusion microcirculatoire et les perspectives thérapeutiques ciblant spécifiquement l'endothélium.

Physiopathologie de l'endothélium et interactions avec les cellules circulantes

(D'après la communication de Vincent Richard, service de pharmacologie, CHU de Rouen, Inserm U1096).

De par sa position anatomique stratégique à l'interface entre le sang et les tissus, l'endothélium joue un rôle fondamental de régulation de l'homéostasie vasculaire. Ses cellules régulent en particulier le tonus vasculaire (équilibre vasoconstriction/vasodilatation), la coagulation et l'agrégation plaquettaire, l'adhésion bactérienne et les réponses inflammatoires [1]. Ces différentes fonctions sont exercées principalement par la synthèse de nombreux facteurs régulateurs, parmi lesquels on compte bien évidemment le monoxyde d'azote (NO), mais aussi des facteurs hyperpolarisants en particulier les acides eicosatriénoïques (EETs) [2]. Cependant, de nombreux facteurs de risque et maladies (cardiovasculaires, métaboliques, états de choc) induisent d'importantes modifications endothéliales. Les conséquences de cette dysfonction endothéliale incluent non seulement des altérations du contrôle de la vasomotricité et des fonctions plaquettaires mais également un déclenchement ou une amplification des réponses inflammatoires, dont la conséquence principale est l'accélération des processus d'athérogenèse. À ce titre, les résultats cliniques convergent pour démontrer que la dysfonction endothéliale est associée à un risque augmenté (par un facteur 2–3) d'événements cardiovasculaires. La dysfonction endothéliale joue également un rôle dans le déclenchement des réponses inflammatoires caractéristiques des états de choc. Ainsi, la protection de l'endothélium constitue une piste thérapeutique potentielle dans des pathologies aiguës (états de choc) et chroniques (maladies cardiovasculaires) [3].

Paradoxalement, à ce jour les outils pharmacologiques disponibles pour prévenir la dysfonction endothéliale chez les patients restent limités. Concernant le NO, les traitements

actuels visent soit à apporter de façon exogène ce facteur (dérivés nitrés), soit à augmenter les niveaux de GMPC, second médiateur du NO (via les activateurs de la guanylate-cyclase soluble ou les inhibiteurs de phosphodiesterase de type 5). Par contre, aucune approche destinée à augmenter la production endothéliale de ce facteur n'est disponible en contexte septique [4]. Plusieurs travaux précliniques encourageants ont validé des stratégies conduisant à une restauration de l'activité de l'enzyme productrice de NO (en particulier via une modulation des voies de phosphorylation par inhibition de la protéine-tyrosine-phosphatase 1B). Cette approche a démontré son efficacité dans des modèles expérimentaux d'insuffisance cardiaque et de choc septique [5]. Pour ce qui concerne les EETs, une approche prometteuse au niveau préclinique consiste à utiliser des inhibiteurs de l'enzyme responsable de leur dégradation (époxyde hydrolase soluble). Ceux-ci ont montré leur efficacité dans l'hypertension artérielle et l'insuffisance cardiaque [6]. En parallèle, d'autres approches ciblent plusieurs des mécanismes responsables de la dysfonction endothéliale, en particulier certains récepteurs de l'inflammation (*toll-like* récepteurs), mais également les altérations du glycocalyx endothélial, le stress du réticulum endoplasmique, ou encore les senseurs de la mécanotransduction endothéliale (ex. : polycystines). Le transfert clinique de ces approches devrait permettre de fournir de nouveaux outils ciblant l'endothélium dans les maladies cardiovasculaires et les états inflammatoires sévères comme le choc septique.

Hétérogénéité endothéliale et implications cliniques

(D'après la communication de Jacques Duranteau, service d'anesthésie-réanimation chirurgicale, hôpital universitaire Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre).

Les cellules endothéliales (CE) constituent une population hétérogène tant au niveau macrocirculatoire (systèmes artériel, veineux et lymphatique) que microcirculatoire au sein des différents organes. Par exemple, les CE de la barrière hématoencéphalique forment un environnement restrictif au passage des éléments sanguins vers le tissu cérébral, alors que les CE des capillaires glomérulaires sont fenêtrées afin de permettre la filtration sanguine. Même si les différences structurales entre ces organes sont bien établies, les signatures moléculaires des CE microvasculaires ainsi que les signaux extravasculaires et intrinsèques qui dictent leurs propriétés uniques « tissu-spécifiques » sont mal compris.

La caractérisation de l'hétérogénéité endothéliale tant physiologique qu'au cours de pathologies est importante pour le développement de stratégies thérapeutiques ciblant spécifiquement certains lits vasculaires. Par exemple, certaines molécules d'adhésion leucocytaires, nécessaires pour

infiltrer les différents organes, pourraient ainsi être instrumentalisées pour diriger des traitements vers un site spécifique. Dans un modèle de glomérulonéphrite, l'expression de la E-sélectine par l'endothélium glomérulaire a été ciblée pour préférentiellement orienter des immunoliposomes enrichis en dexaméthasone vers les glomérules [7]. L'expression de nombreux gènes pro-inflammatoires a ainsi pu être réduite au niveau glomérulaire, sans effets systémiques. Une autre application prometteuse serait de cibler spécifiquement la néovascularisation tumorale. Cela suppose la connaissance de marqueurs spécifiques des CE associées à ces lits vasculaires tumoraux.

Nolan et al. ont pu établir des bibliothèques moléculaires des CE organe-spécifiques et montrer ainsi l'existence sur les CE de *clusters* de facteurs de transcription, de facteurs angiogéniques, de molécules d'adhésion et de chimiokines caractéristiques de chaque organe [8]. Par exemple, la L-sélectine est présente au sein des CE médullaires mais pas glomérulaires ; VCAM se retrouve au niveau hépatique mais pas dans le muscle squelettique ; CD36 est abondant dans le poumon mais pas dans les testicules. Par ailleurs, au sein d'un même tissu, les CE répondent de manière différente en fonction de la nature de l'agression. Enfin, des CE « génériques » (obtenues à partir de cellules souches d'embryon) transplantées vont se greffer au niveau du tissu régénératif et acquièrent les caractéristiques des CE résidentes.

La structure et les fonctions des CE sont conditionnées par l'environnement matriciel sur lequel elles reposent mais sont également modulées par des signaux mécaniques et biochimiques. Les CE sont équipées de capteurs sensibles aux contraintes de cisaillement (appelées *shear stress*) générées par le flux sanguin. Le *shear stress* induit des signaux qui conduisent à l'adaptation et au développement de propriétés fonctionnelles particulières. Les CE des artères et artérioles à haut débit sont fines et allongées dans le sens du flux, alors que les CE des veinules et veines à bas débit ont une morphologie en « pavés ». En réalité, ces différents types de CE ont des profils géniques et moléculaires spécifiques avant même l'apparition d'un flux, ce qui souligne l'importance des facteurs microenvironnementaux dans la détermination de l'identité cellulaire endothéliale [9]. Même si certains régulateurs clés de la spécification artérioveineuse ont été identifiés, les CE sont constamment capables de détecter et de s'adapter à toute modification du *shear stress*. Plusieurs micro-ARN sensibles au flux ont été décrits et pourraient contribuer à l'acquisition d'un phénotype inflammatoire et au développement d'états pathologiques tels que l'athérosclérose [10]. À l'inverse, d'autres micro-ARN possèdent des propriétés protectrices. Par exemple, miR-98 et let-7g protègent la barrière hématoencéphalique au cours de pathologies neuro-inflammatoires [11].

Un rôle important de l'endothélium est de réguler la perméabilité microvasculaire. Cette perméabilité est sous la

dépendance du glycocalyx, des jonctions endothéliales (adhérentes et serrées), du transport transendothélial et des cellules environnantes. Un exemple de ce rôle est particulièrement évident au niveau du cerveau où la barrière hématoencéphalique s'oppose au flux des protéines de l'espace vasculaire vers l'interstitium. Cette barrière est composée de CE reliées par des jonctions serrées (occludin, claudin, JAM), d'astrocytes et de péricytes. Les CE ont un rôle important dans le couplage fonctionnel neurovasculaire : un stimulus métabolique peut induire une vasodilatation qui va se propager par deux mécanismes : l'hyperpolarisation endothéliale (insensible à la voie de la cyclo-oxygénase et aux inhibiteurs de l'oxyde nitrique) et l'influx calcique qui médie la vasodilatation via le NO et la prostacycline. Au cours de processus pathologiques tels que le choc, plus qu'une hétérogénéité endothéliale, c'est une véritable hétérogénéité microvasculaire qui est présente, conséquence de l'activation des CE, de l'augmentation de viscosité, d'altération du glycocalyx, de l'adhésion leucocytaire, d'anomalies de déformation des globules rouges, d'un œdème interstitiel et d'une élévation des résistances microvasculaires.

Contraintes mécaniques et remodelage artériel

(D'après la communication de Laurent Loufrani, Inserm 1083 CNRS 6214, Angers).

Le système artériel, qui naît à la sortie du ventricule gauche, assure la distribution du sang vers la périphérie afin de couvrir les besoins métaboliques tissulaires. Au niveau proximal, les artères de conductance amortissent le flux éjectionnel systolique et, au niveau plus distal, les artères de résistance régulent la perfusion tissulaire en réponse à deux contraintes physiques, la pression et les contraintes de cisaillement. La pression s'exerce perpendiculairement à la paroi et provoque une vasoconstriction rapide et durable appelée tonus myogénique. Le tonus myogénique, modulé par des agents neuro-hormonaux comme le système rénine-angiotensine ou le système sympathique, régule la perfusion tissulaire en aval tout en limitant la surcharge de pression au niveau capillaire [12]. Parallèlement, le flux sanguin génère des forces de frottement appelées contraintes de cisaillement (*shear stress*) sur la face endoluminale des artères. Les contraintes de cisaillement constituent le stimulus majeur pour l'endothélium vasculaire [13]. L'augmentation brutale du cisaillement, comme lors d'un exercice physique, induit une vasodilatation artérielle liée à l'activation de la NO synthase endothéliale (eNOS) et à la libération de NO. Le NO diffuse en profondeur vers les cellules musculaires lisses et provoque leur relaxation par un mécanisme guanylate-cyclase-dépendant [14].

L'augmentation chronique des contraintes de cisaillement (grossesse, tumeur, etc.) induit un remodelage artériel associant augmentation du diamètre artériel et hypertrophie de la

média [15]. Les travaux expérimentaux ont montré l'importance de la réponse inflammatoire dans le remodelage artériel. En effet, en réponse à une augmentation du flux, les CE produisent des chimiokines, principalement MCP-1 (pour *monocyte chemoattractant protein-1*), qui attirent les monocytes/macrophages au niveau de la paroi. Les macrophages libèrent des espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui, en se complexant avec le NO, forment du peroxy-nitrite (ONOO-) qui, à son tour, active localement les métalloprotéases [16]. Ces enzymes « digèrent » la matrice extracellulaire permettant l'augmentation du diamètre artériel. Chez l'animal, un traitement par doxycycline, un inhibiteur des métalloprotéases, empêche ce remodelage expansif. Le peroxy-nitrite induit également la production d'angiotensine II et l'activation des cellules musculaires lisses vasculaires via la stimulation du récepteur de l'angiotensine II. Ainsi, le traitement prolongé de rats par différents inhibiteurs du système rénine-angiotensine (IEC ou ARAII) limite le remodelage artériel [17]. Un certain nombre de processus physiologiques (comme le vieillissement) ou pathologiques (comme le diabète ou l'obésité) altèrent ce phénomène [18]. Dans le cas de l'obésité, bien que l'hypertrophie pariétale et la dilatation chronique soient préservées, la vasodilatation aiguë endothélium-dépendante est altérée en raison d'une augmentation de l'activité de la cyclo-oxygénase de type 2 et de la production importante de thromboxane A2 [19]. Dans le cas du diabète, c'est la production excessive de ROS et la formation de produits de glycation avancée (AGE) qui empêchent l'adaptation des artères de résistance à l'augmentation du flux [20].

Microparticules au cours du sepsis

(D'après la communication de Julie Boisramé-Helms, réanimation médicale, hôpitaux universitaires de Strasbourg, EA 7293).

Les microparticules (MP) correspondent à des vésicules de faible taille (0,1–1 µm), libérées par les cellules activées et/ou agressées par un mécanisme de bourgeonnement membranaire. Au cours des états inflammatoires septiques, les MP peuvent être libérées par différents types cellulaires (leucocytes, plaquettes, CE). En conséquence, les MP portent les caractéristiques des cellules parentales d'origine. Elles transportent différents médiateurs (cytokines, ARNm) et expriment adhésines et molécules procoagulantes (phosphatidylsérine, facteur tissulaire). L'ensemble de ces caractéristiques structurelles suggère que les MPs sont capables d'induire et/ou amplifier les processus de la coagulation, d'inflammation, de participer à la communication intercellulaire et de contribuer in fine aux défaillances d'organes.

Concernant l'intérêt des MP comme biomarqueur, l'origine cellulaire doit être prise en compte. En effet, des travaux récents au cours du sepsis ont rapporté que les proportions

des MP en fonction de leur origine cellulaire varient au cours du temps : initialement d'origine endothéliale, elles s'enrichissent progressivement en MP d'origine plaquettaire puis leucocytaire, alors que leur nombre total restait constant. Chez des patients en choc septique, Delabranche et al. ont exploré la nature des MP, leur cinétique d'apparition et le lien avec le bilan d'hémostase [21]. Ils ont montré que les MP endothéliales (CD105⁺) étaient, après analyse multivariée, un marqueur diagnostique performant de la coagulation intravasculaire disséminée (CIVD). De plus, un score composite incluant MP (CD105⁺), compte plaquettaire et génération de thrombine était prédictif d'une CIVD survenant le lendemain (valeur prédictive négative de 93 %). En tant qu'acteur physiopathologique, les MP pourraient également induire des dysfonctions endothéliales. Des données cliniques et expérimentales supportent un rôle procoagulant des MP (induisant une CIVD) au cours du sepsis. Dans un modèle de rat septique, la modulation pharmacologique de leurs propriétés procoagulantes par la protéine C activée (PCa) améliore la dysfonction hémodynamique. Ces résultats ouvrent des perspectives thérapeutiques dans la modulation de ces propriétés [22]. Néanmoins, de nombreuses questions demeurent sur leur utilisation en pratique clinique en raison des difficultés de dosage des MP. Il s'agit de dosages par cytométrie en flux, ELISA ou tests de coagulation dont les résultats ne sont pas toujours corrélés entre eux et dont les conditions préanalytiques sont contraignantes. Un travail de standardisation s'avère donc crucial (taille, type cellulaire, méthodes de dosage). Cela étant, il existe un consensus sur la nécessité de poursuivre l'exploration des MP dans le sepsis dans des approches physiopathologiques et/ou thérapeutiques.

Régulation endothéliale de la coagulation

(D'après la communication de Delphine Borgel, laboratoire d'hématologie, université Paris-Sud, EA 4531, Châtenay-Malabry).

Les travaux expérimentaux et cliniques ont, depuis une vingtaine d'années, souligné le rôle majeur de l'endothélium dans le contrôle de nombreuses fonctions vitales en réponse à une agression, comme l'infection bactérienne. L'endothélium est, entre autres, impliqué dans le contrôle des phénomènes thrombotiques en agissant à la fois sur la balance coagulation/anticoagulation et le système fibrinolyse-antifibrinolyse. Lors d'une agression, le facteur tissulaire initie la cascade de la coagulation, conduisant à la génération de thrombine qui va stabiliser le caillot fibrinoplaquettaire. Quatre systèmes limitent cette cascade d'activation : le TFPI (*tissue factor pathway inhibitor*), l'antithrombine (AT), la PCa et le système de la protéine Z [23].

Le TFPI est une protéine synthétisée essentiellement par l'endothélium et de façon minoritaire par les mégacaryocytes. Les deux isoformes de cette protéine, TFPIa et TFPIb, ont des ligands différents au niveau de la cellule endothéliale. Schématiquement, l'activité anticoagulante du TFPI (essentiellement TFPIa) est liée à sa capacité de fixation au complexe FXa/FT/FVIIa pour former une structure quaternaire. L'activité anti-Xa du TFPI est fortement potentialisée par la protéine S. L'importance de cette protéine est clairement démontrée dans les modèles animaux où les souris invalidées pour TFPI (*Tfpi*^{-/-}) sont non viables. Chez l'homme, les résultats concernant l'importance des déficits en TFPI dans les phénomènes thrombotiques sont moins convaincants, et le dosage du TFPI ne fait pas partie du bilan standard des thromboses.

L'AT est un très puissant système anticoagulant qui agit sur la thrombine et sur le facteur Xa. Synthétisée par le foie, l'AT est soit libre dans le plasma, soit liée à des héparanes sulfates (HS) au niveau de la partie apicale de l'endothélium (glycocalyx) et au niveau de sa portion basale (sous endothélium). Le rôle anticoagulant des complexes HS-AT reste par ailleurs très controversé.

La protéine C (PC) est activée par le complexe thrombine-antithrombine en présence d'un cofacteur, la protéine S. La présence de TM est essentielle pour l'activation de la PC par la thrombine. Dans les capillaires, la concentration de TM est 1 000 fois plus élevée que dans les gros vaisseaux. La PCa est un puissant agent anticoagulant qui inhibe les facteurs Va et VIIIa et qui possède également des effets cytoprotecteurs via son récepteur EPCR et le récepteur PAR1.

Les systèmes de la protéine Z et de son inhibiteur (ZPI) ont été étudiés plus récemment. Le ZPI, membre de la famille des serpins, est le principal inhibiteur du facteur XIa ; il a également une action inhibitrice sur le facteur Xa. Les souris invalidées pour la protéine Z ou ZPI ont un phénotype prothrombotique et pro-inflammatoire, soulignant ainsi non seulement le rôle important de ce complexe dans le contrôle naturel, multicible de la coagulation, mais également, le lien fort entre coagulation et inflammation [24].

Malgré la redondance des systèmes anticoagulants, il existe au cours du sepsis un phénotype procoagulant qui peut aboutir dans les formes les plus sévères à des thromboses étendues comme dans le purpura fulminans [25]. Cet état s'explique par l'action pathogène des leucocytes qui altèrent les processus anticoagulants en dégradant, entre autres, le glycocalyx ou en libérant une élastase qui clive et inactive la TM, l'EPCR. Ce phénotype procoagulant a motivé l'utilisation de molécules anticoagulantes recombinantes dans le traitement du sepsis sévère (TFPI, ATIII, PCa) [26]. Malheureusement, la plupart de ces approches thérapeutiques ont échoué.

Interactions endothélium–plaquettes : exemple du purpura thrombotique thrombocytopénique

(D'après la communication de Paul Coppo, service d'hématologie clinique, centre de référence des microangiopathies thrombotiques, hôpital Saint-Antoine, Paris, Inserm UMR 790)

Les microangiopathies thrombotiques (MAT) peuvent être considérées comme des atteintes prototypiques de l'endothélium au niveau microcirculatoire. Ce terme générique inclut deux entités cliniques classiques, le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) et le syndrome hémolytique et urémique. Actuellement, cette vision clinique est remise en question par une classification fondée sur les mécanismes physiopathologiques sous-jacents. En effet, des avancées majeures dans la physiopathologie des MAT ont bouleversé notre compréhension de ces phénomènes et ont surtout abouti à des progrès thérapeutiques décisifs.

Le PTT est une pathologie rare (incidence 3–4 cas/million d'habitants/an) qui associe des atteintes hématologiques (thrombopénie périphérique et anémie hémolytique mécanique) à des atteintes tissulaires ischémiques, au premier plan desquels le cerveau. Le PTT est caractérisé par la présence dans le plasma de multimères de très haut poids moléculaire du facteur von Willebrand (vWF). Ces larges multimères de vWF sont dotés de propriétés proagrégantes particulières. Ils induisent la formation de microthrombi occlusifs, riches en plaquettes et provoquent une ischémie tissulaire en aval. Les larges multimères de vWF, normalement contenus à l'intérieur des CE et des plaquettes, sont relargués en réponse à des stimuli variés (ex. : composants microbiens, médiateurs inflammatoires...). Une étape majeure dans la compréhension du PTT a été franchie avec la découverte de la protéase de clivage du vWF appelée ADAMTS13 (*a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type I repeats-13*) au cours des années 1990 [27,28]. Cette protéase permet la dégradation très rapide des multimères de très haut poids moléculaire de vWF circulants et limite leur pouvoir prothrombogène. Le PTT est caractérisé par un déficit profond (< 5 %) de l'activité d'ADAMTS-13, dû à des mutations du gène dans les exceptionnelles formes congénitales, ou bien plus communément à des autoanticorps inhibiteurs dans les formes acquises [29,30].

Au-delà de l'activité diminuée de la protéase, les conditions rhéologiques de la microcirculation permettent d'expliquer la formation préférentielle des thrombi dans les artérioles. Au niveau microcirculatoire, les forces de cisaillement sont très élevées, autour de 20–50 dyn/cm² favorisant le déplissement des larges multimères de vWF et exposant ainsi les sites de liaison pour la protéine plaquettaire GPIIb. Les microthrombi, formés dans les petits vaisseaux, contribuent

en retour à augmenter les forces de cisaillement jusqu'à 180 dyn/cm^2 et entretiennent ainsi le processus d'agrégation plaquettaire. L'âge a été associé à un mauvais pronostic dans cette pathologie, en raison de l'accumulation des facteurs de risque cardiovasculaires et d'éventuelles dysfonctions d'organes préalables, mais également en raison de la sénescence vasculaire et d'une altération qualitative de l'endothélium [31,32].

Le pronostic de la maladie a été radicalement transformé par l'administration de plasma exogène, préférentiellement par échange plasmatique (plasmaphérèse avec substitution par 60 ml/kg de plasma frais congelé). Les avancées physiopathologiques ont permis de comprendre les mécanismes d'action des échanges plasmatiques, au cours desquels la plasmaphérèse permet d'épurer les larges multimères de vWF et les autoanticorps inhibiteurs, alors que le plasma exogène apporte la protéase ADAMTS13 fonctionnelle pour compenser le déficit. En outre, l'identification du PTT comme une maladie auto-immune a fourni un rationnel fort pour l'utilisation de substances immunosuppressives comme les corticoïdes, ou le rituximab (anticorps déplétant anti-CD20) qui est devenu le traitement de référence du PTT réfractaire ou en rechute [33]. Dans un futur proche, les perspectives thérapeutiques incluent l'utilisation de la protéase recombinante ADAMTS13 et d'agents bloquants dirigés contre la protéine plaquettaire GP1b [34,35].

Comment évaluer la perfusion microcirculatoire en réanimation ?

(D'après la communication de Fabio Taccone, service de soins intensifs et réanimation, hôpital Erasme, Bruxelles).

Bien qu'un certain nombre d'outils cliniques comme l'étendue des marbrures, les extrémités froides ou l'allongement du temps de recoloration cutanée suggèrent que la perfusion périphérique est altérée, l'évaluation précise des anomalies microcirculatoires chez les patients « critiques » de réanimation reste difficile [36]. L'évaluation clinique est certes utile, mais elle ne permet pas d'identifier les mécanismes responsables de l'hypoperfusion microcirculatoire. Ainsi, en cas de bas débit comme dans le choc cardiogénique, la diminution de la perfusion cutanée peut être liée à une vasoconstriction, elle-même induite par une hyperactivation sympathique. Au cours du choc septique, malgré un débit cardiaque normal, voire augmenté, la perfusion microcirculatoire peut être compromise en raison d'une diminution de la densité capillaire à laquelle s'ajoute une hétérogénéité spatiale de perfusion. Autrement dit, au sein d'un même territoire, peuvent coexister des capillaires sans flux et des petits vaisseaux bien perfusés [37].

Grâce aux progrès technologiques, la visualisation de la microcirculation est dorénavant possible en utilisant le Laser

Doppler, la microscopie intravitale ou encore la vidéomicroscopie [38]. Le Laser Doppler évaluant le flux microcirculatoire en unités arbitraires, il permet de suivre l'évolution chez un même patient mais n'autorise pas les comparaisons entre les malades [39]. De plus, il ne renseigne pas sur l'hétérogénéité de perfusion, élément physiopathologique central de l'hypoperfusion tissulaire. La vidéomicroscopie intravitale représente la technique de référence pour étudier la microcirculation. Malheureusement, son utilisation reste confinée à la recherche en raison de lourdeurs techniques (injection de traceurs colorés, difficulté de visualiser certains organes...) [40]. Au cours des 15 dernières années, les outils de vidéomicroscopie ont été progressivement améliorés et miniaturisés, l'OPS (Orthogonal Polarization Spectral) développé en 1999 a été successivement remplacé par l'imagerie SDF (Sidestream Dark-Field) puis par l>IDF (Incidental Dark-Field) (Fig. 1) [41]. Chez l'animal, ces techniques peuvent être utilisées dans différents organes (poumons, foie, cerveau, etc.) [42,43]. En revanche, chez l'homme, elles ne sont applicables qu'au niveau des muqueuses peu épaisses comme la région sublinguale ou la muqueuse intestinale au niveau d'une stomie [44].

À côté de ces outils de précision, il est possible d'approcher non pas le flux microcirculatoire mais plutôt les conséquences tissulaires de l'hypoperfusion en mesurant le taux de lactates ou encore la saturation en oxygène du sang veineux mêlé. Cependant, ces biomarqueurs manquent de sensibilité et de spécificité pour identifier les altérations de perfusion capillaire [38]. Les cathéters de microdialyse permettent de mesurer les taux de lactates et de pyruvate dans l'espace extracellulaire, mais ces résultats sont très influencés par les valeurs extrêmes et ne permettent pas de quantifier l'hétérogénéité de perfusion [45]. La mesure de la pression partielle en oxygène est également informative,

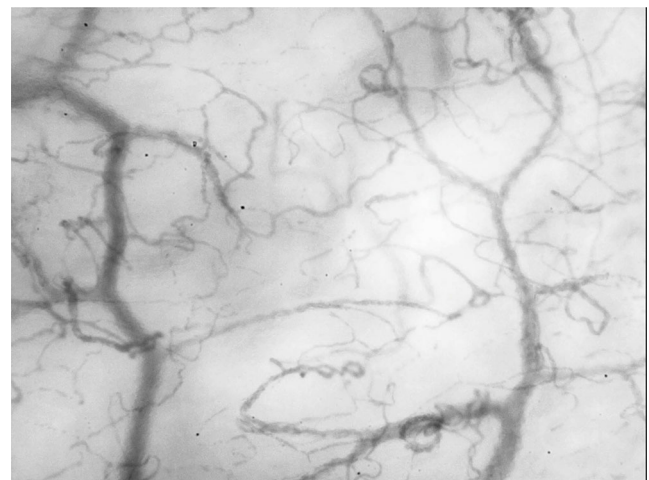


Fig. 1 Visualisation de la microcirculation sublinguale en utilisant la technologie IDF (Incidental Dark-Field)

mais elle est influencée par de nombreux paramètres comme le taux d'hémoglobine, la saturation artérielle en oxygène ou la consommation tissulaire en oxygène [46]. Plus récemment, la mesure de la saturation tissulaire en oxygène couplée à une épreuve d'ischémie transitoire a soulevé des espoirs, reflétant à la fois la réactivité microcirculatoire et la consommation tissulaire en oxygène [47]. Enfin, le gradient artérioveineux en CO₂ est un marqueur prometteur, car il reflète au niveau tissulaire l'adéquation entre les besoins et le transport en oxygène [48]. Au niveau sublingual, un gradient élevé est associé à une diminution de la densité capillaire. Malheureusement, il n'existe pour l'instant aucun dispositif non invasif permettant de mesurer facilement ce gradient en CO₂.

Compte tenu de l'importance de la perfusion microcirculatoire, les efforts futurs devront être consacrés à l'estimer en temps réel, au lit du patient. Les avancées technologiques devraient également nous aider à visualiser l'intégrité des petits vaisseaux, du glycocalyx ainsi que la rhéologie des cellules circulantes [49].

Perspectives thérapeutiques ciblant l'endothélium et la microcirculation

(D'après la communication de Raphaël Favory, centre de réanimation, CHRU de Lille).

Les anomalies microcirculatoires évaluées au lit du malade grâce à des outils cliniques comme le score de marbrures [50], ou quantifiées plus précisément avec la capillaroscopie sublinguale dans le cadre de protocole de recherche [51], ont été identifiées comme un facteur prédictif indépendant de mortalité au cours des infections graves. Plusieurs études se sont intéressées aux effets du traitement symptomatique sur la perfusion microcirculatoire. Ainsi, Pottecher et al. ont montré que le remplissage vasculaire améliore la perfusion microcirculatoire, mais ils ont toutefois rapporté que cet effet est rapidement saturable [52]. L'amélioration du flux induite par l'expansion volémique a été confirmée par un autre groupe mais uniquement dans les 24 premières heures de la prise en charge [53]. Parallèlement, plusieurs molécules ciblant spécifiquement l'endothélium et les capillaires ont été testées au cours du choc septique. Des études expérimentales ont montré que la PCa recombinante possède des propriétés anticoagulantes, anti-inflammatoires et anti-apoptotiques intéressantes. Sur des petits effectifs de patients septiques, l'administration de PCa améliore le flux microcirculatoire [54] et la réactivité vasculaire [55]. Malheureusement, les effets bénéfiques de la PCa en termes de mortalité n'ont pas été confirmés sur un plus large effectif de patients en choc septique [56].

Des thérapeutiques vasodilatatrices ont également été proposées pour corriger les anomalies de perfusion microcircula-

tion responsable de la souffrance tissulaire. La nitroglycérine, qui se comporte comme un donneur de NO, a été testée chez des patients en choc septique. Une première étude dite de « preuve de concept » ayant inclus huit patients a rapporté des résultats encourageants [57]. Malheureusement, ces résultats bénéfiques n'ont pas été confirmés en termes de morbi-mortalité sur un effectif plus important [58]. Plusieurs explications ont été avancées pour expliquer ces discordances, mais la plus notable concerne les caractéristiques des patients inclus. En effet, bien que ceux-ci soient considérés comme ayant un sepsis sévère et/ou un choc septique, la capillaroscopie sublinguale montrait que la perfusion des petits vaisseaux était préservée rendant alors illusoire la démonstration d'un bénéfice du traitement vasodilatateur. Cet exemple illustre clairement la nécessité d'intégrer dans notre stratégie thérapeutique l'évaluation des anomalies microcirculatoires et de la perfusion tissulaire afin à la fois de poser les bonnes indications d'un traitement ciblé et également d'en évaluer les potentiels effets bénéfiques [59].

Conclusion

Longtemps assimilé à une simple « enveloppe », l'endothélium est actuellement reconnu comme un véritable organe impliqué dans de nombreux processus pathologiques rencontrés en réanimation. Les avancées technologiques devraient prochainement nous permettre de visualiser précisément les anomalies de perfusion tissulaire. Un certain nombre d'approches thérapeutiques sont actuellement en développement.

Remerciements Chantal Sevens et son équipe pour leur aide précieuse dans l'organisation du séminaire au sein de la Maison de la Réanimation.

Liens d'intérêts : Le séminaire de recherche translationnelle a été financé grâce à un soutien des laboratoires bioMérieux, ThermoFisher et Alexion. Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt.

Références

1. Pries AR, Kuebler WM (2006) Normal endothelium. *Handb Exp Pharmacol* 176:1–40
2. Harrison DG, Widder J, Grumbach I, et al (2006) Endothelial mechanotransduction, nitric oxide and vascular inflammation. *J Intern Med* 259:351–63
3. Opal SM, van der Poll T (2015) Endothelial barrier dysfunction in septic shock. *J Intern Med* 277:277–93
4. Lopez A, Lorente JA, Steingrub J, et al (2004) Multiple-center, randomized, placebo-controlled, double-blind study of the nitric oxide synthase inhibitor 546C88: effect on survival in patients with septic shock. *Crit Care Med* 32:21–30

5. Gomez E, Vercauteren M, Kurtz B, et al (2012) Reduction of heart failure by pharmacological inhibition or gene deletion of protein-tyrosine-phosphatase 1B. *J Mol Cell Cardiol* 52:1257–64
6. Roche C, Besnier M, Cassel R, et al (2015) Soluble epoxide hydrolase inhibition improves coronary endothelial function and prevents the development of cardiac alterations in obese insulin-resistant mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 308:H1020–H9
7. Asgeirsdottir SA, Kamps JA, Bakker HI, et al (2007) Site-specific inhibition of glomerulonephritis progression by targeted delivery of dexamethasone to glomerular endothelium. *Mol Pharmacol* 72:121–31
8. Nolan DJ, Ginsberg M, Israely E, et al (2013) Molecular signatures of tissue-specific microvascular endothelial cell heterogeneity in organ maintenance and regeneration. *Dev Cell* 26:204–19
9. Kreuger J, Phillipson M (2016) Targeting vascular and leukocyte communication in angiogenesis, inflammation and fibrosis. *Nat Rev Drug Discov* 15:125–42
10. Kumar S, Kim CW, Simmons RD, et al (2014) Role of flow-sensitive microRNAs in endothelial dysfunction and atherosclerosis: mechanosensitive athero-miRs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 34:2206–16
11. Rom S, Dykstra H, Zuluaga-Ramirez V, et al (2015) miR-98 and let-7g* protect the blood-brain barrier under neuroinflammatory conditions. *J Cereb Blood Flow Metab* 35:1957–65
12. Henrion D, Terzi F, Matrougui K, et al (1997) Impaired flow-induced dilation in mesenteric resistance arteries from mice lacking vimentin. *J Clin Invest* 100:2909–14
13. Loutzenhiser R, Bidani A, Chilton L (2002) Renal myogenic response: kinetic attributes and physiological role. *Circ Res* 90:1316–24
14. Ait-Oufella H, Maury E, Lehoux S, et al (2010) The endothelium: physiological functions and role in microcirculatory failure during severe sepsis. *Intensive Care Med* 36:1286–98
15. Loufrani L, Li Z, Levy BI, et al (2002) Excessive microvascular adaptation to changes in blood flow in mice lacking gene encoding for desmin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22:1579–84
16. Belin de Chantemele EJ, Vessieres E, Dumont O, et al (2009) Reactive oxygen species are necessary for high flow (shear stress)-induced diameter enlargement of rat resistance arteries. *Microcirculation* 16:391–402
17. Cousin M, Custaud MA, Baron-Menguy C, et al (2010) Role of angiotensin II in the remodeling induced by a chronic increase in flow in rat mesenteric resistance arteries. *Hypertension* 55:109–15
18. Levy BI, Schiffrin EL, Mourad JJ, et al (2008) Impaired tissue perfusion: a pathology common to hypertension, obesity, and diabetes mellitus. *Circulation* 118:968–76
19. Belin de Chantemele EJ, Vessieres E, Guihot AL, et al (2010) Cyclooxygenase-2 preserves flow-mediated remodelling in old obese Zucker rat mesenteric arteries. *Cardiovasc Res* 86:516–25
20. Freidja ML, Tarhouni K, Toutain B, et al (2012) The AGE-breaker ALT-711 restores high blood flow-dependent remodeling in mesenteric resistance arteries in a rat model of type 2 diabetes. *Diabetes* 61:1562–72
21. Delabranche X, Boisrame-Helms J, Asfar P, et al (2013) Microparticles are new biomarkers of septic shock-induced disseminated intravascular coagulopathy. *Intensive Care Med* 39:1695–703
22. Boisrame-Helms J, Delabranche X, Degirmenci SE, et al (2014) Pharmacological modulation of procoagulant microparticles improves haemodynamic dysfunction during septic shock in rats. *Thromb Haemostasis* 111:154–64
23. Simmons J, Pittet JF (2015) The coagulopathy of acute sepsis. *Curr Opin Anaesthesiol* 28:227–36
24. Diehl JL, Borgel D (2005) Sepsis and coagulation. *Curr Opin Crit Care* 11:454–60
25. Lerolle N, Carlotti A, Melican K, et al (2013) Assessment of the interplay between blood and skin vascular abnormalities in adult purpura fulminans. *Am J Respir Crit Care Med* 188:684–92
26. Iba T, Nagaoka I, Boulat M (2013) The anticoagulant therapy for sepsis-associated disseminated intravascular coagulation. *Thromb Res* 131:383–9
27. Fujikawa K, Suzuki H, McMullen B, et al (2001) Purification of human von Willebrand factor-cleaving protease and its identification as a new member of the metalloproteinase family. *Blood* 98:1662–6
28. Gerritsen HE, Robles R, Lammle B, et al (2001) Partial amino acid sequence of purified von Willebrand factor-cleaving protease. *Blood* 98:1654–61
29. Furlan M, Robles R, Galbusera M, et al (1998) von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 339:1578–84
30. Veyradier A, Obert B, Houllier A, et al (2001) Specific von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic microangiopathies: a study of 111 cases. *Blood* 98:1765–72
31. Benhamou Y, Assie C, Boelle PY, et al (2012) Development and validation of a predictive model for death in acquired severe ADAMTS13 deficiency-associated idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: the French TMA Reference Center experience. *Haematologica* 97:1181–6
32. Mariotte E, Blet A, Galicier L, et al (2013) Unresponsive thrombotic thrombocytopenic purpura in critically ill adults. *Intensive Care Med* 39:1272–81
33. Froissart A, Buffet M, Veyradier A, et al (2012) Efficacy and safety of first-line rituximab in severe, acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with a suboptimal response to plasma exchange. Experience of the French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. *Crit Care Med* 40:104–11
34. Schiviz A, Wuersch K, Piskernik C, et al (2012) A new mouse model mimicking thrombotic thrombocytopenic purpura: correction of symptoms by recombinant human ADAMTS13. *Blood* 119:6128–35
35. Callewaert F, Roodt J, Ulrichs H, et al (2012) Evaluation of efficacy and safety of the anti-VWF Nanobody ALX-0681 in a pre-clinical baboon model of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 120:3603–10
36. Boerma EC, Kuiper MA, Kingma WP, et al (2008) Disparity between skin perfusion and sublingual microcirculatory alterations in severe sepsis and septic shock: a prospective observational study. *Intensive Care Med* 34:1294–8
37. Verdant CL, De Backer D, Bruhn A, et al (2009) Evaluation of sublingual and gut mucosal microcirculation in sepsis: a quantitative analysis. *Crit Care Med* 37:2875–81
38. De Backer D, Ospina-Tascon G, Salgado D, et al (2010) Monitoring the microcirculation in the critically ill patient: current methods and future approaches. *Intensive Care Med* 36:1813–25
39. Boyle NH, Roberts PC, Ng B, et al (1999) Scanning Laser Doppler is a useful technique to assess foot cutaneous perfusion during femoral artery cannulation. *Crit Care* 3:95–100
40. Slaaf DW, Tangelder GJ, Reneman RS, et al (1987) A versatile incident illuminator for intravital microscopy. *Int J Microcirc Clin Exp* 6:391–7
41. van Elteren HA, Ince C, Tibboel D, et al (2015) Cutaneous microcirculation in preterm neonates: comparison between sidestream dark field (SDF) and incident dark field (IDF) imaging. *J Clin Monit Comput* 29:543–8
42. den Uil CA, Bezemer R, Miranda DR, et al (2009) Intraoperative assessment of human pulmonary alveoli in vivo using Sidestream Dark Field imaging: a feasibility study. *Med Sci Monit* 15:MT137–MT41

43. Taccone FS, Su F, De Deyne C, et al (2014) Sepsis is associated with altered cerebral microcirculation and tissue hypoxia in experimental peritonitis. *Crit Care Med* 42:e114–e22
44. Trzeciak S, Dellinger RP, Parrillo JE, et al (2007) Early microcirculatory perfusion derangements in patients with severe sepsis and septic shock: relationship to hemodynamics, oxygen transport, and survival. *Ann Emerg Med* 49:88–98, 98 e81–e2
45. de Boer J, Potthoff H, Mulder PO, et al (1994) Lactate monitoring with subcutaneous microdialysis in patients with shock: a pilot study. *Circ Shock* 43:57–63
46. Mulier KE, Skarda DE, Taylor JH, et al (2008) Near-infrared spectroscopy in patients with severe sepsis: correlation with invasive hemodynamic measurements. *Surg Infect (Larchmt)* 9:515–9
47. Creteur J, Carollo T, Soldati G, et al (2007) The prognostic value of muscle StO₂ in septic patients. *Intensive Care Med* 33:1549–56
48. Weil MH, Nakagawa Y, Tang W, et al (1999) Sublingual capnometry: a new noninvasive measurement for diagnosis and quantitation of severity of circulatory shock. *Crit Care Med* 27:1225–9
49. Marechal X, Favory R, Joulin O, et al (2008) Endothelial glycocalyx damage during endotoxemia coincides with microcirculatory dysfunction and vascular oxidative stress. *Shock* 29:572–6
50. Ait-Oufella H, Lemoine S, Boelle PY, et al (2011) Mottling score predicts survival in septic shock. *Intensive Care Med* 37:801–7
51. De Backer D, Creteur J, Preiser JC, et al (2002) Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 166:98–104
52. Pottecher J, Derudder S, Teboul JL, et al (2010) Both passive leg raising and intravascular volume expansion improve sublingual microcirculatory perfusion in severe sepsis and septic shock patients. *Intensive Care Med* 36:1867–74
53. Ospina-Tascon G, Neves AP, Occhipinti G, et al (2010) Effects of fluids on microvascular perfusion in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med* 36:949–55
54. De Backer D, Verdant C, Chierego M, et al (2006) Effects of drotrecogin alfa activated on microcirculatory alterations in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 34:1918–24
55. Favory R, Poissy J, Alves I, et al (2013) Activated protein C improves macrovascular and microvascular reactivity in human severe sepsis and septic shock. *Shock* 40:512–8
56. Ranieri VM, Thompson BT, Barie PS, et al (2012) Drotrecogin alfa (activated) in adults with septic shock. *N Engl J Med* 366:2055–64
57. Spronk PE, Ince C, Gardien MJ, et al (2002) Nitroglycerin in septic shock after intravascular volume resuscitation. *Lancet* 360:1395–6
58. Boerma EC, Koopmans M, Konijn A, et al (2010) Effects of nitroglycerin on sublingual microcirculatory blood flow in patients with severe sepsis/septic shock after a strict resuscitation protocol: a double-blind randomized placebo controlled trial. *Crit Care Med* 38:93–100
59. Ait-Oufella H, Bakker J (2016) Understanding clinical signs of poor tissue perfusion during septic shock. *Intensive Care Med* (in press)