



**HAL**  
open science

## **Au-delà de l'œdème : l'interstitium comme chaînon manquant entre macro- et microcirculation au cours du sepsis**

Marine Jacquier, Pierre-Henri Bonnot, Marie Labruyère, Stéphane Brezillon, Sylvie Brassart-Pasco, Mathieu Blot, Pierre-Emmanuel Charles, Isabelle Fournel, Jean-Pierre Quenot, Auguste Dargent

### ► To cite this version:

Marine Jacquier, Pierre-Henri Bonnot, Marie Labruyère, Stéphane Brezillon, Sylvie Brassart-Pasco, et al.. Au-delà de l'œdème : l'interstitium comme chaînon manquant entre macro- et microcirculation au cours du sepsis. *Médecine Intensive Réanimation*, 2022, 31, pp.217-226. 10.37051/mir-00105 . hal-03784030

**HAL Id: hal-03784030**

**<https://hal.univ-reims.fr/hal-03784030>**

Submitted on 13 Oct 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

1 **Au-delà de l'œdème : l'interstitium comme chaînon manquant entre macro- et**  
2 **microcirculation au cours du sepsis**  
3 **Beyond edema: interstitium as missing link between macro and microcirculation during**  
4 **sepsis**

5

6 Marine Jacquier<sup>1,2</sup>, Pierre-Henri Bonnot<sup>3</sup>, Marie Labruyère<sup>1,2</sup>, Stéphane Brezillon<sup>4</sup>, Sylvie  
7 Brassart-Pasco<sup>4</sup>, Mathieu Blot<sup>2,5</sup>, Pierre-Emmanuel Charles<sup>1,2</sup>, Isabelle Fournel<sup>5</sup>, Jean-Pierre  
8 Quenot<sup>1,2,6</sup>, Auguste Dargent<sup>6</sup>

9

10 <sup>1</sup> Médecine Intensive et Réanimation, CHU François Mitterrand, Dijon, France

11 <sup>2</sup> Lipness Team, INSERM LNC-UMR1231 et LabEx LipSTIC, Université de Bourgogne  
12 Dijon, France

13 <sup>3</sup> Néphrologie, François Mitterrand, CHU François Mitterrand, Dijon, France

14 <sup>4</sup> Unité de recherche INSERM, MedYc, Reims

15 <sup>5</sup> Maladies Infectieuses et tropicales, CHU François Mitterrand, Dijon, France

16 <sup>6</sup> Inserm, CHU Dijon, Bourgogne, Université de Bourgogne, CIC1432, module Épidémiologie  
17 Clinique, Dijon, France

18 <sup>7</sup> Hospices Civils de Lyon, Hôpital Édouard Herriot, Service de Médecine Intensive-  
19 Réanimation, F-69437, Lyon, France

20 **Running title:** Rôle de l'interstitium au cours du sepsis.

21

22 **\*Address for correspondence:**

23 Jean-Pierre Quenot

24 Department of Intensive Care

25 François Mitterrand University Hospital

26 14 rue Paul Gaffarel

27 21079 Dijon, France

28 \*Email: [jean-pierre.quenot@chu-dijon.fr](mailto:jean-pierre.quenot@chu-dijon.fr)

29 Page de communication réseaux sociaux

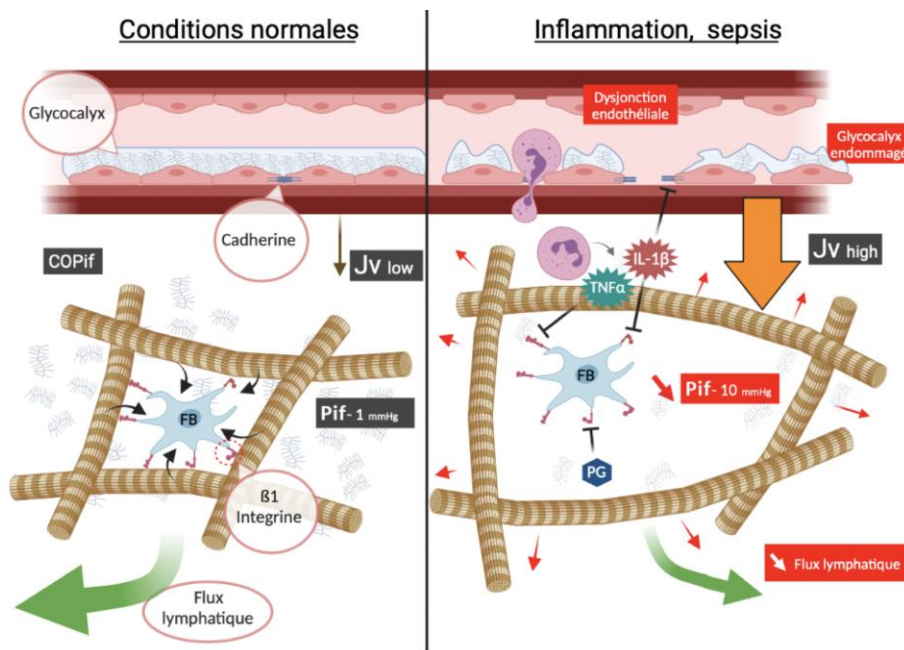
30 L'interstitium, longtemps négligé, semble jouer un rôle central dans les échanges  
31 fluidiques, au cœur de la physiopathologie du choc septique

32 Catégorie de publication : Infectiologie/Inflammation/Sepsis

33

34

35



36

37

38

39

40

41

42 **Résumé**

43 Au cours du choc septique, le remplissage vasculaire corrige l'hypovolémie liée à la fuite  
44 capillaire, responsable de l'état de choc et de l'apparition progressive d'œdèmes généralisés.  
45 La fuite capillaire a longtemps été considérée comme principalement due à des modifications  
46 de l'endothélium vasculaire et du glycocalyx. Or, le rôle central du tissu interstitiel dans la  
47 régulation des échanges de fluides au cours de l'inflammation est décrit dans un nombre  
48 croissant d'études. En effet, la matrice extracellulaire (MEC) interstitielle permet de réguler  
49 finement la pression hydrostatique interstitielle par le biais de l'interaction des fibroblastes avec  
50 les fibres de collagène de la MEC. Sous l'action des médiateurs pro-inflammatoires lors d'une  
51 inflammation localisée, cette tension est relâchée brutalement ce qui entraîne une baisse de la  
52 pression interstitielle, potentialisant de fait la formation d'œdème. Dans les tumeurs, le tissu  
53 interstitiel composé d'un réseau de fibres de collagènes et de fibroblastes, semble contribuer à  
54 la croissance tumorale par des changements de composition de la matrice et de pression dans  
55 l'interstitium. Le rôle de l'interstitium au cours du sepsis est encore très mal connu, mais de  
56 nombreuses données semble indiquer un rôle majeur dans la régulation de la filtration capillaire,  
57 au centre de sa physiopathologie.

58 Résumé (<200mots) = 198 mots

59

60 **Mots clés :** choc septique, microcirculation, fuite capillaire, matrice extra cellulaire

61 **Keywords:** septic shock, microcirculation, capillary leak, extracellular matrix

62

63 **Summary**

64 During septic shock, hypovolemia caused by capillary leak is compensated by fluid therapy.  
65 Despite the beneficial effects of fluid resuscitation, it is responsible for the development of  
66 diffuse edema, associated with poor prognosis. Capillary leak is classically described as the  
67 result of sepsis-associated damages of the microvascular endothelium and glycocalyx.  
68 However, intersitium seems to play a major role in edema formation during inflammation and  
69 its role is described in a growing number of preclinical and clinical studies. Indeed, interstitial  
70 hydrostatic pressure is regulated by interstitial extra cellular matrix (ECM) thanks to  
71 fibroblasts' interaction with collagens of the ECM. This tension applied by fibroblasts can be

72 released by inflammatory mediators, leading to a sudden interstitial pressure decrease,  
73 increasing oedema formation. In tumors, interstitium composed of collagens and  
74 glycosaminoglycan network belongs to tumoral microenvironment and contributes to tumoral  
75 growth by composition and pressure changes. Interstitium role during sepsis has been  
76 overlooked but a growing body of evidence suggests that it has a pivotal role in capillary  
77 filtration regulation. Thus, interstitium analysis could serve as a new diagnostic and therapeutic  
78 approach for the future of septic shock management.

79 Abstract (<200 )= 185 words

80

81

82

83

84

85

86

87

88

89

90

91

92

93

94

95

96 **Introduction**

97 Le choc septique est une affection grave et fréquente en réanimation avec une mortalité pouvant  
98 atteindre 40% (1). La physiopathologie de la défaillance circulatoire associée au sepsis est  
99 complexe et reste relativement méconnue (2). Cliniquement, on observe une hypotension  
100 artérielle associée à des signes d'hypoperfusion tissulaire, puis le développement d'un œdème  
101 généralisé, en rapport avec une fuite capillaire. Cette fuite capillaire est responsable d'une  
102 hypovolémie qui caractérise la phase précoce du choc septique (3). L'œdème ne devient  
103 manifeste que 24-48h après le début du choc septique, car il n'est pas décelable cliniquement  
104 en deçà de 4 litres environ (3). En effet, lors de la prise en charge initiale du patient il est  
105 nécessaire de réaliser un remplissage vasculaire parfois très abondant pour compenser les effets  
106 de la fuite capillaire (2) . L'œdème s'accumule dans l'ensemble des tissus et notamment en  
107 sous-cutané (4)(5) . L'accumulation d'œdèmes reflète l'intensité de cette fuite capillaire et peut  
108 compromettre l'oxygénation tissulaire par augmentation de l'espacement intercellulaire (6),  
109 mais aussi participer à la dysfonction microcirculatoire comme cela est observé dans le  
110 syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA)(7). Sur le plan pronostique, le développement  
111 des œdèmes, également appelé « surcharge hydrosodée », a été identifié ces 20 dernières années  
112 comme un facteur majeur de la morbi-mortalité des patients en choc septique (8).

113 Sur le plan physiopathologique, les déterminants de la filtration capillaire (mouvements de  
114 fluides entre le compartiment vasculaire et interstitiel) et de la formation d'œdème ont été  
115 décrits par Ernest Henry Starling en 1896 (9). L'interprétation de ces déterminants s'est  
116 longtemps focalisée sur les variations de pression hydrostatique et oncotique au niveau du  
117 compartiment vasculaire. Cependant le contrôle de la pression oncotique au cours du SDRA  
118 par exemple à l'aide de perfusions d'albumine s'est révélé décevant, ne permettant pas  
119 d'améliorer la survie, voire même serait responsable d'une surmortalité (7). Différents auteurs  
120 se sont intéressés au rôle de la barrière endothéliale dans la fuite capillaire, en particulier au

121 niveau des jonctions intercellulaires avec des protéines comme la VE cadhérine (3) ou encore  
122 au niveau du glycocalyx (10). Cependant, la restauration de cette fonction barrière semble  
123 complexe puisque de multiples mécanismes convergent vers les altérations endothéliales. De  
124 l'autre côté de cette « barrière » endothéliale, le compartiment interstitiel est de mieux en mieux  
125 compris, et il est même décrit comme « organe » à part entière par certains auteurs grâce à des  
126 observations réalisées par de nouvelles techniques d'imagerie (11). Des travaux réalisés au  
127 cours des dernières décennies montrent que le compartiment interstitiel joue un rôle majeur  
128 dans l'inflammation et surtout dans la régulation du flux de filtration capillaire, ce qui en fait  
129 un acteur majeur de la microcirculation. Son rôle spécifique au cours du sepsis n'a pratiquement  
130 pas été étudié mais son implication pourrait être cruciale pour la prise en charge des patients.

131 Afin de mettre en lumière le rôle que pourrait jouer le compartiment interstitiel dans les  
132 prochaines années, nous avons souhaité dans le cadre d'une revue de la littérature mettre à jour  
133 l'état des connaissances sur la composition et les modifications de l'interstitium au cours de  
134 l'inflammation, localisée et systémique.

135

136

137

138

139

140

141

142



143 **Méthodologie**

144 Les articles originaux en anglais et en français étaient extraits des bases de données  
145 électroniques Medline et Pubmed des premières études de physiologie de 1870 à 2021. Les  
146 mots clés suivants étaient retenus ; « Septic Shock » and « Fluid balance », « Capillary Leak »,  
147 « Microcirculation », « Interstitium», « Interstitial composition », « Interstitial volume/pressure  
148 », « Extracellular matrix », «Glycosaminoglycan and collagen ».

149

150 **Microcirculation et fuite capillaire dans le choc septique**

151 La prise en charge macrocirculatoire, ciblée sur la restauration de la pression artérielle  
152 moyenne, reste essentielle dans le choc septique (2). Cependant, il existe fréquemment une  
153 divergence entre les indices micro- et macro-circulatoires.

154 La dysfonction microcirculatoire est un facteur pronostic au cours du sepsis et regroupe  
155 plusieurs mécanismes associés à un défaut d'extraction en oxygène :

- 156 - une hétérogénéité de densité capillaire et un shunt microcirculatoire avec perte de  
157 l'autorégulation capillaire (12),
- 158 - des microthromboses en lien avec une altération de la coagulation (13),
- 159 - une altération de la fonction barrière endothéliale avec une atteinte des différents «  
160 étages » de la paroi, du glycocalyx aux jonctions intercellulaires ce qui génère une fuite  
161 capillaire massive (14) .

162 En effet, la VE-cadhérine est la composante majeure des jonctions intercellulaires et son  
163 internalisation provoquée par l'afflux de cytokines inflammatoires suffit à entraîner une  
164 dysjonction cellulaire, favorisant le passage de liquide et de protéines durant le choc septique  
165 (3). De plus, le système d'anticoagulation étant principalement régi par l'endothélium, la

166 dysfonction endothéliale participe à la dysfonction de la coagulation. En effet, les  
167 métalloprotéases activées par l'afflux cytokinique clivent le TFPI (tissue factor pathway  
168 inhibitor) exprimé à la surface des cellules endothéliales ce qui entraîne une altération de la  
169 fonction anticoagulante et une destruction du glycocalyx.

170 Le glycocalyx est une couche paucicellulaire recouvrant la face endoluminale de l'endothélium,  
171 constitué d'un réseau de glycosaminoglycanes et de protéoglycanes reliés à l'endothélium  
172 (figure 1), qui sont eux-mêmes liés à un réseau de collagènes.

173 Des modèles animaux de sepsis ont démontré que le LPS était à l'origine d'une diminution de  
174 l'épaisseur du glycocalyx, corrélée à une augmentation des concentrations plasmatiques des  
175 produits de sa dégradation (héparane sulfate, syndecan-1) (15). L'héparane peut également agir  
176 comme un DAMPs (damage associated molecular pattern), molécule reconnue comme un  
177 signal de danger par l'organisme qui déclenche alors la signalisation cellulaire spécifique du  
178 motif et aggraver l'activation immunitaire (15). La dégradation du glycocalyx conduit  
179 également au relargage d'autres glycosaminoglycanes, en particulier le hyaluronane (16) mais  
180 ces derniers pourraient aussi provenir directement des composants de l'interstitium (17).

181 Ces modifications de l'endothélium conduisent à l'augmentation de la filtration capillaire et  
182 donc à l'accumulation de liquide dans l'interstitium au cours du sepsis. Cette fuite capillaire est  
183 attestée par l'apparition rapide d'œdèmes cliniques au cours du sepsis, mais peut aussi être  
184 mesurée au niveau de certains organes, via la thermodilution pulmonaire par exemple (18).  
185 Cependant, le moyen le plus simple pour estimer l'importance de cette fuite capillaire reste la  
186 mesure de la balance hydrique (2). Dans une cohorte de patients en choc septique, Boyd a décrit  
187 une balance hydrique médiane de +11L à J4 et une corrélation entre l'importance de cette  
188 balance hydrique et la mortalité (8). Cette surcharge massive est en grande partie le résultat de  
189 la prise en charge médicale avec l'administration d'un remplissage vasculaire, qui reste

190 indispensable à la phase initiale, mais elle peut être responsable à moyen terme d'un véritable  
191 syndrome polycompartimental (18).

192

193

#### 194 **Volume et pression interstitiels**

195 Les mouvements d'eau entre les compartiments vasculaires et interstitiels, garant de  
196 l'homéostasie cellulaire jouent donc un rôle central dans la physiopathologie du choc septique  
197 et dans la mortalité qui lui est associée (18). Ces mouvements d'eau se produisent au niveau  
198 microvasculaire selon différents facteurs, décrits par Starling et exprimés par la formule  
199 suivante :

$$200 J_v = K_f \cdot ([P_c - P_i] - \sigma [\pi_c - \pi_i]) = K_f \cdot \Delta P_f$$

201 Où  $J_v$  est le débit de filtration trans-endothélial,  $K_f$  est le coefficient de filtration de la  
202 membrane,  $P_c$  est la pression hydrostatique capillaire,  $P_i$  est la pression hydrostatique  
203 interstitielle,  $\pi_c$  est la pression oncotique capillaire,  $\pi_i$  est la pression oncotique interstitielle,  $\sigma$   
204 est le coefficient de réflexion des protéines et  $\Delta P_f$  est la pression nette de filtration.

205 La pression hydrostatique capillaire est décroissante, aux environs de 30 à 40 mmHg à la fin  
206 des artérioles et 10 à 15 mmHg au niveau des veinules. Les pressions oncotiques plasmatiques  
207 et interstitielles sont aux alentours de 28 mmHg et 8 mmHg, respectivement (19). La pression  
208 interstitielle normale est légèrement négative, entre -1 et -3 mmHg.

209 L'interstitium est essentiel dans la régulation de l'homéostasie du compartiment sanguin et  
210 représente un volume d'environ 20% du poids corporel capable de se renouveler totalement en  
211 24h (20).

212 En physiologie, ce sont d'abord les mécanismes de protection de l'œdème qui ont été décrits,  
213 notamment par Guyton. Tout d'abord, une augmentation de filtration capillaire majore le  
214 volume interstitiel en diminuant la pression oncotique interstitielle par dilution, ce qui diminue  
215 de ce fait la filtration (21). Un autre facteur protecteur de l'œdème est la compliance, soit  
216  $\Delta V_i/\Delta P_{if}$  (22), dépendante de chaque tissu. Chez des volontaires sains, l'application d'une  
217 pression négative au niveau du membre inférieur était à l'origine d'une décroissance quasi  
218 instantanée de la pression interstitielle au niveau de la jambe (23). Dans les états d'hydratation  
219 basale et au début des phénomènes d'hyperhydratation, la courbe pression/volume est linéaire  
220 ce qui protège le tissu d'une majoration de l'œdème. Lors d'une hyperhydratation majeure, la  
221 compliance est potentiellement infinie (aplatissement de la courbe pression/volume) (24). Le  
222 tissu interstitiel sous-cutané est particulièrement compliant (contrairement aux organes  
223 encapsulés), ce qui explique sa capacité à accueillir un grand volume d'œdème (20).

224 Au cours de l'inflammation, la formation rapide d'œdème est en réalité favorisée non seulement  
225 par des modifications de la barrière endothéliale, mais aussi par une diminution brutale de la  
226 pression interstitielle (25). En effet, lors d'une brûlure, un œdème visible apparaît très  
227 rapidement (quelques minutes). Le volume interstitiel doit au moins doubler pour qu'un œdème  
228 devienne visible (26). Le débit de filtration doit donc augmenter plusieurs centaines de fois au-  
229 dessus de la normale pour générer un œdème aussi rapidement car le renouvellement du liquide  
230 interstitiel prend habituellement 12 à 24h.

231 Plusieurs études ont mesuré les variations d'œdème et de Kf au cours d'une brûlure  
232 expérimentale et n'ont retrouvé qu'une augmentation que de 2 à 3 fois la normale (13). Avec  
233 cette augmentation modeste de Kf, les auteurs ont calculé que la pression nette de filtration  
234 devait être augmentée jusqu'à 200 mmHg pour expliquer le débit de filtration observé. Pour  
235 expliquer l'augmentation du gradient de pression, *Lund et al.* ont mesuré la pression  
236 interstitielle dans un modèle expérimental de brûlures de pattes de rats. Non seulement la Pi

237 n'augmentait pas lors de la formation d'œdème dans cette situation inflammatoire, mais elle  
238 était même diminuée de -1 (basale) à -150 mmHg (22). L'hypothèse d'une augmentation de la  
239 pression nette de filtration a donc été confirmée, mais elle est expliquée principalement par une  
240 baisse de la Pi, et non par une augmentation de la Pc. Cette diminution est en partie corrigée  
241 par le remplissage c'est-à-dire par la filtration capillaire et l'augmentation du volume interstitiel  
242 (22). Cette étude, dont les résultats ont été confirmés, était la première à démontrer un rôle actif  
243 (par « aspiration ») du tissu interstitiel.

244 Le même phénomène a été retrouvé lors de modèles d'inflammation systémique, par exemple  
245 lors d'une réaction anaphylactique déclenchée chez des rats par l'administration intraveineuse  
246 de Dextran (27) avec une diminution de -10 mmHg de la Pi du tissu interstitiel sous-cutané. De  
247 même, l'inflammation « septique » semble provoquer les mêmes effets : dans une étude  
248 expérimentale chez des rats, le LPS à différentes concentrations diminuait la pression  
249 interstitielle et contribuait à la formation d'œdèmes (28). Une diminution similaire avait déjà  
250 été retrouvée dans un autre modèle d'endotoxémie (29). Dans un modèle de choc endotoxinique  
251 chez des chiens, une diminution rapide de la pression interstitielle jusqu'à 9 mmHg était  
252 observée (29).

### 253 **Régulation de la pression interstitielle**

254 L'œdème est une manifestation clinique classique de l'inflammation, nécessaire à la  
255 constitution de la réponse immunitaire locale, notamment pour faciliter le passage des  
256 médiateurs humoraux et cellulaires. L'œdème n'est donc pas qu'une manifestation «  
257 accidentelle » et bénéficie d'une régulation fine. En effet, le phénomène « d'aspiration  
258 interstitielle » contribue comme on l'a vu à l'œdème inflammatoire localisé, et il a récemment  
259 été montré qu'il participait aussi à la sécrétion salivaire (30). De plus, il semble aussi être  
260 impliqué dans des situations d'inflammation systémique comme le sepsis. La régulation de la

261 pression interstitielle est basée principalement sur l'interaction entre les fibroblastes et la  
262 matrice extra cellulaire.

263 Au sein du tissu interstitiel, le liquide interstitiel circule dans une matrice extracellulaire  
264 composée en particulier d'un réseau de fibres de collagènes et de glycosaminoglycanes (GAGs)  
265 (31). Les GAGs peuvent être reliés entre eux par des liaisons covalentes à un corps protéique  
266 pour former des protéoglycanes, ou peuvent rester libres comme le hyaluronane. Les GAGs  
267 sont des polysaccharides parfois appelés « pièges à eau », à cause de leur capacité à augmenter  
268 de volume avec l'hydratation. Ils sont porteurs de charges négatives et interagissent en  
269 particulier avec le sodium, cation le plus abondant de l'organisme. En fonction de leur état  
270 d'arrangement dans l'espace, ils accumulent une quantité plus ou moins importante de sodium  
271 ce qui participe aux variations du volume interstitiel (32). Les fibres de collagène forment  
272 l'armature du gel formé par les GAGs hydratés.

273 Les fibroblastes jouent un rôle central au sein de ce réseau moléculaire pour réguler la pression  
274 interstitielle. En effet, ils expriment des intégrines spécifiques, notamment des  $\beta 1$ -intégrines  
275 ( $\alpha 2\beta 1$  intégrine en particulier) capables de se lier aux fibres de collagène. Les intégrines sont  
276 des protéines transmembranaires qui permettent de relier de façon bidirectionnelle le  
277 cytosquelette fibroblastique à la matrice extracellulaire. Les  $\beta$ -intégrines permettent donc la  
278 transmission d'une tension mécanique constante à la MEC via les collagènes, s'opposant à la  
279 tendance d'expansion naturelle des GAGs. Une dépression peut alors être provoquée, en  
280 relâchant brutalement cette tension exercée sur les fibres de collagène (figure 2).

281 Le rôle de la  $\beta 1$ -intégrine a été démontré dans la formation d'œdème in vitro par l'utilisation  
282 de cellules sur gels de collagène (33). Les fibroblastes ont ainsi la propriété de contracter de  
283 manière tridimensionnelle un gel de collagène in vitro et de majorer jusqu'à 10-20% son volume  
284 initial en 24h.

285 L'étude de Reed a démontré que des injections sous-cutanées d'anticorps anti  $\beta$ 1-intégrine  
286 étaient à l'origine d'une diminution de pression interstitielle et de la formation d'œdème (34).  
287 Au cours de l'inflammation, les médiateurs pro-inflammatoires comme l'IL-1 $\beta$  et le TNF- $\alpha$   
288 diminuent cette contraction via leur action sur la  $\beta$ 1-intégrine et sont à l'origine d'une  
289 diminution de Pif et donc de l'œdème. Le facteur de croissance plaquettaire, le PDGF (35)  
290 possède une action inverse sur cette cascade liée à la  $\beta$ 1-intégrine (34) en augmentant la Pif.  
291 Les inhibiteurs de PDGF en cancérologie permettent de diminuer cette majoration de pression  
292 interstitielle et améliorent la réponse anti tumorale (24), en favorisant ainsi la filtration capillaire  
293 et donc la diffusion locale des agents anti-tumoraux.

294 Les collagènes semblent aussi jouer un rôle déterminant et leur synthèse semble accélérée au  
295 cours des processus inflammatoires comme le sepsis ou le SDRA avec un lien central dans  
296 l'évolution vers la fibrose (36). Certaines études dans le sepsis ont démontré l'intérêt de mesurer  
297 des concentrations de marqueurs collagéniques de type procollagènes déposés dans un premier  
298 temps au niveau de la MEC puis relargués au niveau sanguin (37). Dans les modèles de brûlures  
299 chez les animaux, en plus d'une dénaturation des collagènes, il existait une augmentation de  
300 concentration des GAGs (les hyaluronanes) 10 fois supérieure à la concentration basale  
301 sanguine (38). La destruction non spécifique ou le réarrangement de la MEC pourraient aussi  
302 jouer un rôle dans la régulation de la pression interstitielle. En effet, des injections de doses  
303 élevées de Vitamine C, de par son rôle antioxydant et dans la synthèse des collagènes,  
304 permettaient de réduire la diminution de pression interstitielle et ainsi de limiter la formation  
305 d'œdème dans un modèle de brûlures chez des rats (39).

306 Au cours du sepsis, il a été démontré que les GAGs de la barrière endothéliale du glycocalyx  
307 étaient détruits par des métalloprotéinases et hyaluronidases, activées par l'IL-1 $\beta$  et le TNF- $\alpha$   
308 (40). Il a aussi été rapporté une concentration 4 fois supérieure de GAGs chez les patients en  
309 choc septique, avec une corrélation au risque de décès (41). La première conclusion qui en a

310 été tirée était que le hyaluronane relargué serait issu du glycocalyx endothélial. Cependant, rien  
311 n'indique qu'il ne provient pas également de la matrice extracellulaire interstitielle. En effet, il  
312 est intéressant de noter la proximité structurale entre le glycocalyx et la MEC interstitielle, qui  
313 favorise la transition entre les compartiments.

#### 314 **Rôle de l'interstitium dans le développement tumoral**

315 La cancérologie est actuellement le domaine où le rôle de l'interstitium est le plus étudié chez  
316 l'homme. Au sein des tumeurs, il existe au contraire de l'inflammation une élévation de la  
317 pression interstitielle, maintenant bien décrite dans de nombreux cancers, conduisant à une  
318 diminution de l'extravasation des macromolécules, ce qui favorise le microenvironnement  
319 tumoral et la prolifération, et diminue l'absorption des agents anti-tumoraux (42).

320 L'augmentation de la pression interstitielle est potentiellement due à l'action de certains  
321 facteurs comme le PDGF qui renforcent la tension sur la MEC par les fibroblastes, mais surtout  
322 par la perte de structure de la MEC et les modifications vasculaires et lymphatiques tumorales.

323 Par ailleurs, un grand nombre d'études s'intéresse au microenvironnement (interstitiel) tumoral.  
324 Les fibroblastes, ensemble cellulaire hétérogène, représentent la majorité des cellules du  
325 microenvironnement tumoral et ont été bien identifiés comme participant à la croissance  
326 tumorale et à la réduction de consommation en oxygène (43). La réduction de consommation  
327 d'oxygène est liée à l'augmentation de densité des collagènes dans le cancer du sein (44). Dans  
328 une étude in vitro sur gel, le réarrangement des collagènes influençait la croissance tumorale  
329 via en particulier la modification de la perméabilité tissulaire mais aussi via la modification du  
330 flux interstitiel péri tumoral (45).

331 Le rôle de l'interstitium dans la progression tumorale est donc bien décrit et il pourrait éclairer  
332 les possibles perturbations induites par l'inflammation septique. En effet cette dernière pourrait



333 provoquer une désorganisation structurelle similaire impactant la perméabilité et le flux  
334 interstitiel, pouvant participer au caractère délétère des œdèmes au cours du sepsis

335

### 336 **Marqueurs inflammatoires au sein du compartiment interstitiel**

337 Le compartiment interstitiel est beaucoup plus difficile d'accès que le sang pour l'analyse de  
338 biomarqueurs. Cependant bon nombre de marqueurs de l'inflammation ont une origine locale.

339 Avant son passage par le ganglion lymphatique, la lymphe dite pré-nodale est constituée de  
340 liquide interstitiel (20). Des auteurs ont réalisé une canulation lymphatique chez des patients  
341 atteints de polyarthrite rhumatoïde et chez des sujets contrôles (46). La canulation consistait en  
342 une incision de 1cm, 5cm au-dessus de la malléole, une canule était insérée sous microscope de  
343 manière rétrograde et permettait de collecter du liquide pendant 72h. Le ratio lymphe/sérum  
344 était supérieur à 1, indiquant une production locale, pour la plupart des cytokines pro-  
345 inflammatoires mesurées (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL- 8), cytokines majoritairement impliquées  
346 dans le sepsis et produites en grand majorité par les macrophages (47). Le ratio lymphe/sérum  
347 pour ces molécules était significativement augmenté par rapport aux sujets sains. Par ailleurs  
348 les variations interindividuelles de concentration de cytokines, ou les variations induites par un  
349 traitement par Méthylprednisolone, étaient bien visibles au niveau lymphatique alors que la  
350 concentration sérique ne variait pas significativement.

351 Les concentrations interstitielles de cytokines peuvent être mesurées en utilisant une technique  
352 avancée de microperfusion. Chez 10 patients septiques, il existait au niveau du tissu adipeux  
353 sous-cutané un gradient de concentration cytokinique avec des concentrations d'IL-1 $\beta$ , d'IL-6  
354 et d'IL-8 supérieures au niveau du tissu adipeux par rapport au sérum (48). De plus les  
355 concentrations d'IL-6 étaient corrélées aux valeurs de pression artérielle diastolique. Une  
356 production interstitielle sous-cutanée d'IL-1 a été démontrée dans un modèle d'endotoxémie de

357 rat en utilisant une technique de centrifugation de la peau des rats (49) , suggérant un rôle  
358 important de l'interstitium sous-cutané même lors d'un stimulus systémique. L'étude  
359 immunohistochimique a montré que les cellules à l'origine de cette production étaient les  
360 fibroblastes interstitiels, mais aussi des cellules épidermiques et des follicules pileux (37). Les  
361 mêmes auteurs ont montré un rôle mécanistique direct de ces concentrations d'IL-1 $\beta$  et TNF- $\alpha$   
362 dans la formation d'œdème inflammatoire en retrouvant une diminution de la pression  
363 interstitielle après exposition du tissu sous-cutané à des concentrations similaires à celle  
364 retrouvée lors de l'endotoxémie (50) ou des modèles d'ischémie-reperfusion (51).

365

#### 366 **Techniques d'investigation : la possibilité d'étude de l'interstitium**

##### 367 1. Mesure de pression

368 *Guyton* a été un pionnier de l'exploration de l'interstitium et a développé la technique de  
369 référence pour la mesure de pression interstitielle : des capsules munies de pores étaient  
370 implantées en sous-cutané au niveau de pattes de chats (52). La mesure de pression pouvait  
371 être obtenue après un temps de cicatrisation et d'équilibration de plusieurs semaines. Dans  
372 les années 1980, les approches se sont multipliées pour mesurer la pression interstitielle.  
373 Des techniques ont été développées sur des modèles animaux comme des cathéters (méchés  
374 ou avec port latéral) introduits en sous-cutané et reliés à un capteur de pression. Depuis, la  
375 plupart des études expérimentales (26)(34) ont ensuite été menées grâce à l'insertion de  
376 micropipettes en verre, sous microscope, reliées à un système de contre pression automatisé.  
377 Enfin, la miniaturisation des capteurs de pression a permis de réaliser des cathéters de  
378 mesure fiables et précis, mais dont la taille reste largement supérieure à celle des  
379 micropipettes (53).

380

381 2. Recueil et/ou analyse du liquide interstitiel

382 Les premières techniques développées dans les années 1900 comme les tubes de Southey ne  
383 sont aujourd'hui plus utilisées car très invasives et visaient à l'introduction d'un tube de large  
384 calibre au niveau sous-cutané, pour drainer les œdèmes en particulier dans l'insuffisance  
385 cardiaque .

386 Une autre technique, celle de la microdialyse développée il y a 30 ans est une technique  
387 permettant de déterminer la composition biochimique du tissu interstitiel (54). Utilisée au  
388 départ chez les animaux avec une technique de canulation invasive, elle est surtout utilisée  
389 depuis pour le monitoring des patients neurolésés en réanimation (55), pour mettre en évidence  
390 une souffrance métabolique. Elles permettent en particulier de mesurer le rapport  
391 lactate/pyruvate et le Glycérol libéré des membranes, témoin de l'ischémie membranaire  
392 cellulaire (35) . La technique de microperfusion n'utilise pas de membrane et permet donc  
393 d'analyser un plus large éventail de molécules comme des cytokines. Elle est très utilisée en  
394 pharmacologie notamment pour les drogues utilisées par voie cutanée.

395 Enfin, l'analyse du sérum permet de retrouver des marqueurs issus de la MEC interstitielle. En  
396 cancérologie, au vu du remodelage de la matrice extracellulaire, certains fragments sont  
397 retrouvés au niveau du sang circulant et témoignent de la progression tumorale, par exemple,  
398 l'élévation du collagène VI (chaînes  $\alpha 1$  et  $\alpha 3$ )(56) ... Le clivage des protéoglycanes au niveau  
399 de la MEC tumorale par des métalloprotéinases et des désintégrines conduit à la libération de  
400 Syndecan et Versican, dans des taux mesurables au niveau sanguin (57).

401

402

403

404 **Conclusion**

405 L'interstitium apparaît comme un acteur clé des échanges entre les compartiments vasculaire  
406 et cellulaire. Son rôle dans l'inflammation et dans la régulation de la filtration capillaire sont de  
407 mieux en mieux documentés même s'il a été longtemps négligé, du fait probablement des  
408 difficultés méthodologiques rencontrées pour l'observer. Ces mécanismes de régulation, bien  
409 décrits dans les modèles d'inflammation localisées, dans les tumeurs, semblent également  
410 s'appliquer dans des situations d'inflammation systémique, même s'il existe actuellement très  
411 peu de données cliniques. Au cours du sepsis, l'interstitium joue donc certainement un rôle  
412 central en potentialisant la fuite capillaire, aggravant et pérennisant de ce fait la surcharge  
413 hydrosodée qui est un marqueur de mauvais pronostic. L'interstitium serait donc à l'interface  
414 entre la micro- et la macrocirculation au cours du choc septique. A l'ère de la médecine  
415 personnalisée, l'étude de ce compartiment méconnu pourrait offrir une perspective unique en  
416 termes de compréhension physiopathologique, d'investigation de nouveaux biomarqueurs et de  
417 thérapeutiques futures.

418

419

420

421

422

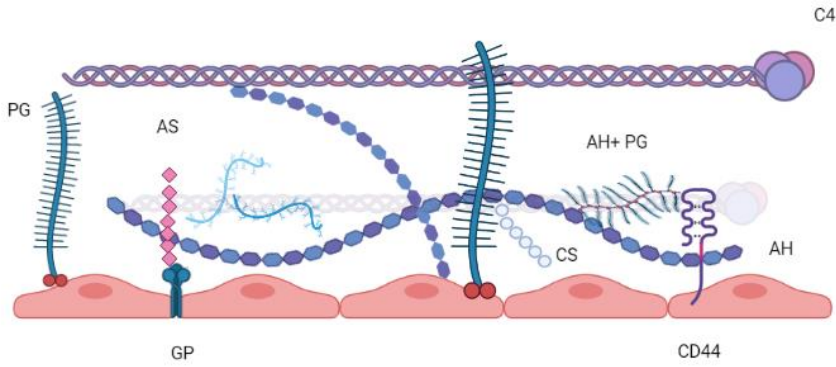
423

424

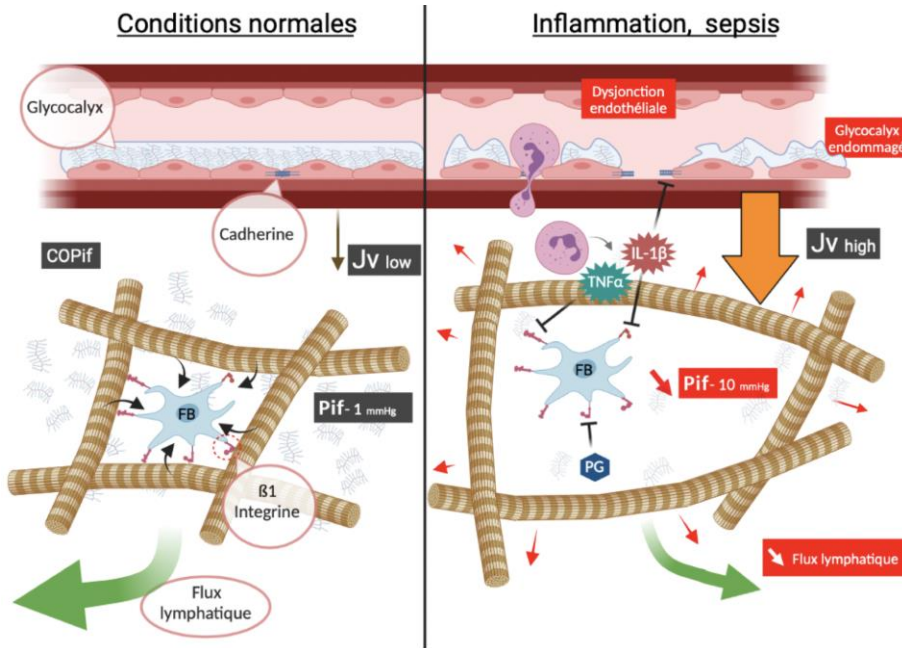
425

426

427 Figures



428



429

430

431 **Légendes**

432

433 **Figure I** : schéma de la composition simplifiée du Glycocalyx (GP : glycoprotéine, PG :  
434 protéoglycane, AS acide sialique, AH : acide hyaluronique, Hyaluronane, CD44 : interagissant  
435 avec l'AH couplé à un protéoglycane, C4 : collagène de type 4 le plus abondant, CS :  
436 chondroïtine sulfate).

437 **Figure II** : schéma de la matrice extracellulaire interstitielle dans le choc septique (fibroblaste  
438 au centre, réseau de collagènes, intégrine reliant les collagènes et le fibroblaste, PG :  
439 protéoglycane, AH : hyaluronane, polynucléaire neutrophile en diapédèse et au sein de la MEC.  
440 D'après Wiig et al (24).

441

442

443

444

445

446

447

448

449

450

451

452

453 **Remerciements :**

454 Nous tenons spécialement à remercier le Pr Helge Wiig pour sa contribution majeure aux  
455 découvertes citées dans cette revue, et pour son aimable autorisation d'adaptation (figure 2).

456

457

458

459

460

461

462

463

464

465

466

467

468

469

470

471

## 472 Bibliographie

- 473 1. Quenot J-P, Binquet C, Kara F, Martinet O, Ganster F, Navellou J-C, et al. The epidemiology  
474 of septic shock in French intensive care units: the prospective multicenter cohort EPISS study. Crit Care.  
475 2013;17(2):R65.
- 476 2. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving  
477 sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. Intensive  
478 Care Med. nov 2021;47(11):1181-247.

Code de champ modifié

Mis en forme : Français (France)

- 479 3. Lee WL. Sepsis and Endothelial Permeability. *N Engl J Med.* 2010;3.
- 480 4. Kolb L, Rimmelink M, Salmon I, Vincent J-L. 217: ORGAN EDEMA IN PATIENTS WITH  
481 SEVERE SEPSIS. *Crit Care Med.* déc 2012;40:1-328.
- 482 5. Stranden E, Myhre HO. Pressure-volume recordings of human subcutaneous tissue: A study in  
483 patients with edema following arterial reconstruction for lower limb atherosclerosis. *Microvasc Res.*  
484 nov 1982;24(3):241-8.
- 485 6. Marshall JC. Sepsis Definitions. *Crit Care Clin.* janv 2018;34(1):1-14.
- 486 7. Roch A, Guervilly C, Papazian L. Fluid management in acute lung injury and ards. *Ann*  
487 *Intensive Care.* déc 2011;1(1):16.
- 488 8. Boyd JH, Forbes J, Nakada T, Walley KR, Russell JA. Fluid resuscitation in septic shock: A  
489 positive fluid balance and elevated central venous pressure are associated with increased mortality\*:  
490 *Crit Care Med.* févr 2011;39(2):259-65.
- 491 9. Starling EH. On the Absorption of Fluids from the Connective Tissue Spaces. *J Physiol.* 5 mai  
492 1896;19(4):312-26.
- 493 10. Guerci P, Ergin B, Uz Z, Ince Y, Westphal M, Heger M, et al. Glycocalyx Degradation Is  
494 Independent of Vascular Barrier Permeability Increase in Nontraumatic Hemorrhagic Shock in Rats:  
495 *Anesth Analg.* août 2019;129(2):598-607.
- 496 11. Benias PC, Wells RG, Sackey-Aboagye B, Klavan H, Reidy J, Buonocore D, et al. Structure  
497 and Distribution of an Unrecognized Interstitium in Human Tissues. *Sci Rep.* déc 2018;8(1):4947.
- 498 12. Sakr Y, Dubois M-J, De Backer D, Creteur J, Vincent J-L. Persistent microcirculatory  
499 alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock\*: *Crit Care Med.*  
500 sept 2004;32(9):1825-31.
- 501 13. De Backer D, Orbegozo Cortes D, Donadello K, Vincent J-L. Pathophysiology of  
502 microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. *Virulence.* janv 2014;5(1):73-9.
- 503 14. Opal SM, van der Poll T. Endothelial barrier dysfunction in septic shock. *J Intern Med.* mars  
504 2015;277(3):277-93.
- 505 15. Henrich M, Gruss M, Weigand MA. Sepsis-Induced Degradation of Endothelial Glycocalix. *Sci*  
506 *World J.* 2010;10:917-23.
- 507 16. Marechal X, Favory R, Joulin O, Montaigne D, Hassoun S, Decoster B, et al. ENDOTHELIAL  
508 GLYCOCALYX DAMAGE DURING ENDOTOXEMIA COINCIDES WITH  
509 MICROCIRCULATORY DYSFUNCTION AND VASCULAR OXIDATIVE STRESS. *Shock.* mai  
510 2008;29(5):572-6.
- 511 17. Berg S, Brodin B, Hesselvik F, Laurent TC, Maller R. Elevated levels of plasma hyaluronan in  
512 septicaemia. *Scand J Clin Lab Invest.* janv 1988;48(8):727-32.
- 513 18. Cordemans C, De laet I, Van Regenmortel N, Schoonheydt K, Dits H, Huber W, et al. Fluid  
514 management in critically ill patients: the role of extravascular lung water, abdominal hypertension,  
515 capillary leak, and fluid balance. *Ann Intensive Care.* 2012;2(Suppl 1):S1.
- 516 19. Kurbel S, Kurbel B, Belovari T, Maric S, Steiner R, Bozic D. Model of interstitial pressure as a  
517 result of cyclical changes in the capillary wall fluid transport. *Med Hypotheses.* août 2001;57(2):161-6.
- 518 20. Reed RK, Rubin K. Transcapillary exchange: role and importance of the interstitial fluid  
519 pressure and the extracellular matrix. *Cardiovasc Res.* 15 juill 2010;87(2):211-7.
- 520 21. Levick JR, Michel CC. Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle.  
521 *Cardiovasc Res.* 15 juill 2010;87(2):198-210.
- 522 22. Wiig H, Lund T. Relationship between interstitial fluid volume and pressure (compliance) in  
523 hypothyroid rats. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol.* 1 sept 2001;281(3):H1085-92.
- 524 23. Aratow M, Fortney SM, Watenpaugh DE, Crenshaw AG, Hargens AR. Transcapillary fluid  
525 responses to lower body negative pressure. *J Appl Physiol.* 1 juin 1993;74(6):2763-70.
- 526 24. Wiig H, Swartz MA. Interstitial Fluid and Lymph Formation and Transport: Physiological  
527 Regulation and Roles in Inflammation and Cancer. *Physiol Rev.* juill 2012;92(3):1005-60.
- 528 25. Lund T, Wiig H, Reed RK. Acute postburn edema: role of strongly negative interstitial fluid  
529 pressure. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol.* 1 nov 1988;255(5):H1069-74.
- 530 26. Aukland K, Nicolaysen G. Interstitial fluid volume: local regulatory mechanisms. *Physiol Rev.*  
531 juill 1981;61(3):556-643.
- 532 27. Reed RK, Rodt SA. Increased negativity of interstitial fluid pressure during the onset stage of  
533 inflammatory edema in rat skin. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol.* 1 juin 1991;260(6):H1985-91.
- 534 28. Nedreb?? T, Reed RK. Different Serotypes Of Endotoxin (Lipopolysaccharide) Cause Different  
535 Increases in Albumin Extravasation in Rats: *Shock.* août 2002;18(2):138-41.



536 29. Border JR. The Microcirculatory Effects of Endotoxin Shock as Evaluated by Effects on  
537 Interstitial Fluid Pressure. *Arch Surg.* 1 août 1970;101(2):284.

538 30. Berggreen E, Wiig H. Lowering of interstitial fluid pressure in rat submandibular gland: a novel  
539 mechanism in saliva secretion. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol.* avr 2006;290(4):H1460-8.

540 31. Wiig H, Rubin K, Reed RK. New and active role of the interstitium in control of interstitial fluid  
541 pressure: potential therapeutic consequences. *Acta Anaesthesiol Scand.* févr 2003;47(2):111-21.

542 32. Nijst P, Verbrugge FH, Grieten L, Dupont M, Steels P, Tang WHW, et al. The  
543 Pathophysiological Role of Interstitial Sodium in Heart Failure. *J Am Coll Cardiol.* févr  
544 2015;65(4):378-88.

545 33. Gullberg D, Tingström A, Thuresson A-C, Olsson L, Terracio L, Borg TK, et al.  $\beta$ 1 Integrin-  
546 mediated collagen gel contraction is stimulated by PDGF. *Exp Cell Res.* févr 1990;186(2):264-72.

547 34. Reed RK, Rubin K, Wiig H, Rodt SA. Blockade of beta 1-integrins in skin causes edema through  
548 lowering of interstitial fluid pressure. *Circ Res.* oct 1992;71(4):978-83.

549 35. Venkatesh B, Morgan TJ, Cohen J. Interstitium: The next diagnostic and therapeutic platform  
550 in critical illness: *Crit Care Med.* oct 2010;38:S630-6.

551 36. Tsukui T, Sun K-H, Wetter JB, Wilson-Kanamori JR, Hazelwood LA, Henderson NC, et al.  
552 Collagen-producing lung cell atlas identifies multiple subsets with distinct localization and relevance to  
553 fibrosis. *Nat Commun.* déc 2020;11(1):1920.

554 37. Gäddnäs F, Koskela M, Koivukangas V, Risteli J, Oikarinen A, Laurila J, et al. Markers of  
555 collagen synthesis and degradation are increased in serum in severe sepsis: a longitudinal study of 44  
556 patients. *Crit Care.* 2009;13(2):R53.

557 38. Lund T, Onarheim H, Reed RK. Pathogenesis of edema formation in burn injuries. *World J*  
558 *Surg.* janv 1992;16(1):2-9.

559 39. Tanaka H, Lund T, Wiig H, Reed RK, Yukioka T, Matsuda H, et al. High dose vitamin C  
560 counteracts the negative interstitial fluid hydrostatic pressure and early edema generation in thermally  
561 injured rats. *Burns.* nov 1999;25(7):569-74.

562 40. Uchimido R, Schmidt EP, Shapiro NI. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target  
563 in sepsis. *Crit Care.* déc 2019;23(1):16.

564 41. Nelson A, Berkestedt I, Bodelsson M. Circulating glycosaminoglycan species in septic shock:  
565 Glycosaminoglycans during septic shock. *Acta Anaesthesiol Scand.* janv 2014;58(1):36-43.

566 42. Wagner M, Wiig H. Tumor Interstitial Fluid Formation, Characterization, and Clinical  
567 Implications. *Front Oncol* [Internet]. 26 mai 2015 [cité 25 juill 2021];5. Disponible sur:  
568 [http://www.frontiersin.org/Molecular\\_and\\_Cellular\\_Oncology/10.3389/fonc.2015.00115/abstract](http://www.frontiersin.org/Molecular_and_Cellular_Oncology/10.3389/fonc.2015.00115/abstract)

569 43. Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer.* mai 2006;6(5):392-401.

570 44. Nazemi M, Rainero E. Cross-Talk Between the Tumor Microenvironment, Extracellular Matrix,  
571 and Cell Metabolism in Cancer. *Front Oncol.* 26 févr 2020;10:239.

572 45. Wijeratne PA, Hipwell JH, Hawkes DJ, Stylianopoulos T, Vavourakis V. Multiscale biphasic  
573 modelling of peritumoural collagen microstructure: The effect of tumour growth on permeability and  
574 fluid flow. Garikipati K, éditeur. *PLOS ONE.* 13 sept 2017;12(9):e0184511.

575 46. Waldemar L, Olszewski,1J. Pazdur,2E. Kubasiewicz,2M. Zaleska,3Conrad J. Cooke,4and  
576 Norman E. Miller4. Lymph Draining From Foot Joints in Rheumatoid ArthritisProvides Insight Into  
577 Local Cytokine andChemokine Production and Transport to Lymph Nodes. *ARTHRITIS &*  
578 *RHEUMATISM.* mars 2001;

579 47. Faix JD. Biomarkers of sepsis. *Crit Rev Clin Lab Sci.* janv 2013;50(1):23-36.

580 48. Ikeoka D, Pachler C, Korsatko S, Mader JK, Weinhandl H, Bodenlenz M, et al. Interleukin-6  
581 produced in subcutaneous adipose tissue is linked to blood pressure control in septic patients. *Cytokine.*  
582 juin 2010;50(3):284-91.

583 49. Nedrebø T, Reed RK, Jonsson R, Berg A, Wiig H. Differential cytokine response in interstitial  
584 fluid in skin and serum during experimental inflammation in rats: Cytokines in interstitial fluid. *J*  
585 *Physiol.* avr 2004;556(1):193-202.

586 50. Nedrebø T, Berg A, Reed RK. Effect of tumor necrosis factor- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 on interstitial  
587 fluid pressure in rat skin. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol.* 1 nov 1999;277(5):H1857-62.

588 51. Nedrebø T, Reed RK, Berg A. Effect of D-Trinositol on Interstitial Fluid Pressure, Edema  
589 Generation, and Albumin Extravasation After Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Hind Limb: Shock.  
590 août 2003;20(2):149-53.

591 52. Guyton AC, Granger HJ, Taylor AE. Interstitial fluid pressure. *Physiol Rev.* 1 juill  
592 1971;51(3):527-63.

- 593 53. Ozerdem U, Hargens A. A simple method for measuring interstitial fluid pressure in cancer  
594 tissues. *Microvasc Res.* juill 2005;70(1-2):116-20.
- 595 54. Ungerstedt U. Microdialysis-principles and applications for studies in animals and man. *J Intern*  
596 *Med.* oct 1991;230(4):365-73.
- 597 55. Ungerstedt U, Rostami E. Microdialysis in Neurointensive Care. *Curr Pharm Des.* 1 juill  
598 2004;10(18):2145-52.
- 599 56. Brassart-Pasco S, Brézillon S, Brassart B, Ramont L, Oudart J-B, Monboisse JC. Tumor  
600 Microenvironment: Extracellular Matrix Alterations Influence Tumor Progression. *Front Oncol.* 15 avr  
601 2020;10:397.
- 602 57. Kulbe, Otto, Darb-Esfahani, Lammert, Abobaker, Welsch, et al. Discovery and Validation of  
603 Novel Biomarkers for Detection of Epithelial Ovarian Cancer. *Cells.* 12 juill 2019;8(7):713.
- 604