



HAL
open science

Réparation inadaptée après un sepsis, rôle des macrophages résidents et des monocytes recrutés

Charles De Roquetaillade

► **To cite this version:**

Charles De Roquetaillade. Réparation inadaptée après un sepsis, rôle des macrophages résidents et des monocytes recrutés. Hématologie. Université Paris Cité, 2023. Français. NNT : 2023UNIP5264 . tel-04893502

HAL Id: tel-04893502

<https://theses.hal.science/tel-04893502v1>

Submitted on 17 Jan 2025

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.



Université Paris Cité

ECOLE DOCTORALE HEMATOLOGIE, ONCOGENESE ET BIOTHERAPIES (ED 561)

Marqueurs cardiovasculaires en situation de stress (UMR-S 942)

Équipe ATIP-AVENIR : Immuno-Inflammation du patient critique

Réparation inadaptée après un sepsis : rôle des macrophages résidents et des monocytes recrutés

Par **Charles de ROQUETAILLADE**

Thèse de doctorat d'Hématologie

Dirigée par **Benjamin CHOUSTERMAN**

Présentée et soutenue publiquement le 18 décembre 2023

Devant le jury composé de :

Benjamin CHOUSTERMAN, PU-PH, Université Paris Cité, Directeur de thèse
Anne-Claire LUKASZEWICZ, PU-PH, Université Claude Bernard Lyon 1, Rapportrice
Sophie BROUARD, DR, Université de Nantes, Rapportrice
Benoît TAVERNIER, PU-PH, Université de Lille, Examineur

Remerciements

A nos juges,

Madame le Professeur Anne-Claire Lukaszewicz,

Professeur d'Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire à la

Faculté de Médecine de Lyon Est,

A Madame le Docteur Sophie Brouard,

Directrice de recherche à

L'Institut National de la Santé et Recherche Médicale (INSERM) de Nantes,

A Monsieur le Professeur Benoit Tavernier

Professeur d'Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire à la

Faculté de Médecine de Lille,

Nous vous sommes extrêmement reconnaissants

Pour l'intérêt que vous portez au présent travail.

Vous nous faites le grand honneur de participer au jury de cette thèse,

Soyez assurés de notre immense gratitude.

A notre Directeur de Thèse,

Monsieur le Professeur Benjamin Chousterman

Professeur d'Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire à la

Faculté de Médecine de l'Université Paris Cité

Depuis notre rencontre tu m'as toujours apporté

Ton soutien et les plus précieux conseils,

Merci d'être à la fois un ami et un mentor,

Merci pour ton implication et ta bonne humeur,

Soit assuré de ma plus profonde admiration et de mon indéfectible soutien.

A toute ma famille, mes parents, mon frère, mes grands-parents, oncles et tantes,

A la femme de ma vie, Athénaïs

A mes frères d'autres mères,

A tous ceux qui me sont chers,

Et tous ceux que j'oublie ici mais à qui je pense...

Résumé (français) : Réparation inadaptée après un sepsis : rôle des macrophages résidents et des monocytes recrutés

Le sepsis est la forme la plus grave des infections. C'est une maladie fréquente et grave qui touche 49 millions de personnes chaque année dans le monde et qui est responsable de près de 11 millions de décès annuels. Son pronostic à la phase aiguë s'est nettement amélioré depuis plusieurs années et les conséquences à long terme du sepsis, survenant dans les semaines ou les mois après la sortie de l'unité de soins intensifs, sont de plus en plus répandues. Les survivants d'un sepsis présentent un risque accru de développer des défaillances chroniques d'organes telles qu'une maladie rénale chronique ou une insuffisance cardiaque. Si de nombreuses études ont porté sur la physiopathologie des mécanismes immunitaires précoces impliqués dans le sepsis, la physiopathologie des conséquences à long terme est encore peu étudiée. Dans le présent travail, nous avons démontré que le sepsis provoque une insuffisance d'organe transitoire cardiaque et rénale, mais induit des modifications durables des macrophages tissulaires. L'étude de leur ontogénie a montré que l'augmentation du nombre de macrophages est principalement due à une augmentation du nombre de macrophages dérivés des monocytes, alors que les macrophages résidents restaient stables en nombre dans le temps. Les analyses scRNAseq de cœur et de rein démontrent que les macrophages dérivés de monocytes ont un profil transcriptomique distinct avec des caractéristiques pro-inflammatoires et pro-fibrotiques. Ce changement en nombre et en phénotype des macrophages tissulaires était associé à une augmentation de la mortalité et de la fibrose rénale et cardiaque lorsque les souris survivant au sepsis étaient exposées à l'angiotensine-2. Nos résultats suggèrent que les macrophages pourraient jouer un rôle dans la réparation inadaptée observée après le sepsis, ce qui en ferait une cible thérapeutique potentielle chez les patients survivants.

Mots clefs : Sepsis ; immunité ; macrophages ; monocytes ; immunodépression ; soins intensifs ; post-réanimation

Résumé (Anglais) / Summary : Maladaptive repair after sepsis, role of resident macrophages and recruited monocytes

Sepsis is a life-threatening condition affecting each year an estimated 49 million people and causing 11 million deaths. Short term mortality of sepsis has substantially improved during the past decades and is still improving. Awareness regarding long-term consequences of sepsis, after ICU discharge, is rising. Sepsis survivors face an increased risk of developing organ failure such as chronic kidney disease or heart failure. While numerous studies investigated the early immune mechanisms involved during sepsis, the pathophysiology of those long-term phenomenon has been poorly investigated. Here we showed that sepsis causes transient organ failure but induces an increase of tissue macrophages. Fate mapping study show that the rise in macrophages numbers is mainly due to recruited monocyte-derived macrophages. scRNAseq analyses of heart and kidney show that monocyte-derived macrophages have a distinct transcriptomic signature with proinflammatory and pro-fibrotic features. This change in tissue macrophages landscape is associated with an increase in mortality and tissue fibrosis when septic mice are undergoing an angiotensin-2 challenge. Our findings suggest that macrophages stem sepsis-induced altered organ repair and could represent a therapeutic target in order to ameliorate septic patient long-term outcomes.

Key words: immunity; macrophages; monocytes; immune suppression; intensive care; post-ICU complication

Table des matières

REMERCIEMENTS.....	2
ABREVIATIONS.....	9
LE SEPSIS.....	11
INTRODUCTION.....	11
DEFINITION	11
ÉPIDEMIOLOGIE	13
PRONOSTIC.....	14
PHYSIOPATHOLOGIE DU SEPSIS – PHASE AIGUE	15
L’INSUFFISANCE RENALE AIGUË SEPTIQUE.....	17
DEFINITION.....	17
PHYSIOPATHOLOGIE	18
LA CARDIOMYOPATHIE SEPTIQUE	20
DEFINITION	20
PHYSIOPATHOLOGIE.....	20
CONSEQUENCES A LONG TERME DU SEPSIS	23
SEPSIS ET RISQUE CARDIOVASCULAIRE	25
SEPSIS ET RISQUE D’INSUFFISANCE RENALE CHRONIQUE	26
LE SEPSIS COMME FACTEUR DE RISQUE DE CANCER	28
LIEN ENTRE COMPLICATIONS AU LONG COURT ET IMMUNITÉ.....	29
LES MONOCYTES ET MACROPHAGES.....	30
INTRODUCTION.....	30
MONOCYTES.....	32
DEVELOPPEMENT MONOCYTAIRE.....	32
SOUS-POPULATIONS MONOCYTAIRES	33
HÉMATOPOÏÈSE EXTRA-MEDULLAIRE	35
DEVENIR DES MONOCYTES DANS LES TISSUS PÉRIPHÉRIQUES.....	36
MACROPHAGES	37
ORIGINE ET ABONDANCE.....	37
SOUS-POPULATIONS DE MACROPHAGES	42
ROLES ET DESTINS DES MACROPHAGES INTRATISSULAIRES DANS LE SEPSIS	44
MO/MAC EN PHASE AIGUË	44

SORT DES MACROPHAGES RESIDENTS ACTIVES ET DES MONOCYTES RECRUTES - PHASE TARDIVE.....	47
ROLE DES MONOCYTES ET MACROPHAGES DANS LE <i>MALADAPTIVE REPAIR</i>	48
PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES	50
EFFET DES AGRESSIONS CUMULEES.....	50
CIBLES THERAPEUTIQUES POTENTIELLES	50
<u>OBJECTIFS DU TRAVAIL.....</u>	<u>53</u>
<u>ARTICLE</u>	<u>55</u>
<u>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....</u>	<u>101</u>
<u>ANNEXES</u>	<u>104</u>
LISTE DES PUBLICATIONS DURANT LA THESE (NOVEMBRE 2019 - NOVEMBRE 2023)	106
<u>RÉFÉRENCES</u>	<u>109</u>

Abréviations

Ligature Ponction Caecale	CLP
Cellules souches hématopoïétiques	CSH
Cellule dendritique	DC
<i>Damage Associated Molecular Pattern</i>	DAMP
Épuration Extra-Rénale	EER
Progéniteurs Erythro-Myéloïdes	EMP
Fraction d'éjection ventriculaire gauche	FeVG
<i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>	GM-CSF
Cellules souches hématopoïétiques	HSC
Interleukine	IL
Insuffisance Rénale Aigue	IRA
Insuffisance rénale chronique	IRC
<i>Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>	KDIGO
Lipopolysaccharide	LPS
<i>Myeloid derived Precursor</i>	MDP
Complexe majeur d'histocompatibilité de type II	MHCII
Macrophages dérivés des monocytes	MoDMac
Organisation Mondiale de la Santé	OMS
Progéniteur monocyttaire commun	cMoP
<i>Pathogen Associated Molecular Pattern</i>	PAMP
<i>Programmed Death-1</i>	PD-1
<i>Pattern recognition receptors</i>	PRR
Macrophages résidents	RMac
<i>Single cell RNA sequencing</i>	scRNAseq
Insuffisance rénale aigue associée au sepsis	S-IRA
<i>Sequential Organ Failure Assessment</i>	SOFA
Système rénine angiotensine aldostérone	SRAA
Unité de soins intensifs	USI

Le sepsis

Introduction

Hippocrate de Kos mentionnait déjà le terme sepsis (σηψιζ) comme une affection synonyme de putréfaction, associée à l'émission d'une odeur désagréable (1). Ce n'est que des milliers d'années plus tard, avec la confirmation de la théorie microbienne, que Semmelweis, Pasteur et d'autres ont définitivement relié la putréfaction à une cause bactérienne. Le sepsis était donc le résultat d'une infection systémique, souvent référée à un empoisonnement, conséquence d'une invasion pathogène. Malgré l'avènement de l'ère antibiotique, la théorie microbienne n'a jamais permis à elle seule d'expliquer la physiopathologie du sepsis. Ainsi, de nombreux patients décèdent chaque jour malgré l'éradication complète du pathogène. De telles observations ont finalement conduit les chercheurs à la conclusion que la réaction de l'hôte, et non seulement le germe, est responsable de l'essentiel de la pathogénie imputable au sepsis (2). Comme l'écrivait déjà William Osler en 1904 dans *Evolution of Modern Medicine*, "Except on few occasions, the patient appears to die from the body's response to infection rather than from it"(3).

Définition

En mai 2017, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a reconnu le sepsis comme une priorité mondiale de santé publique en adoptant une résolution visant à améliorer la prévention, le diagnostic et le traitement de cette maladie mortelle (4). Malgré les avancées de la médecine moderne, le sepsis demeure l'une des principales causes de mortalité en réanimation et chez les patients hospitalisés. Il constitue en 2018, une des dix premières causes de mortalité dans le monde (5). Le sepsis est maintenant défini comme une dysfonction d'organe secondaire à une réponse inappropriée de l'hôte à une infection. Depuis une vingtaine d'années, la définition du sepsis a été plusieurs fois modifiée (6). De telles modifications dans sa définition illustrent la rapide avancée dans la compréhension de la pathologie mais aussi les difficultés à appréhender dans sa globalité sa physiopathologie complexe (5). Malgré les avancées considérables dans la compréhension de la maladie, ses origines, son évolution et sa résolution, notre capacité à intervenir et modifier son histoire naturelle n'a été que partiellement fructueuse (7).

	Traditional definition	Sepsis-3 definition
Sepsis	Suspicious/known infection+ ≥ 2 SIRS	Suspicious/known infection+increase of ≥ 2 SOFA
Severe sepsis	Sepsis+organ failure	Not a category
Septic shock	Sepsis +refractory hypotension after adequate fluid or need of vasopressors	Sepsis+vasopressors and lactate >2 mmol/L

Figure 1 - Critères de sepsis, selon la définition classique et la plus récente définition SEPSIS-3

En 2016, le sepsis a été redéfini comme une dysfonction d'organe secondaire à une réponse inappropriée de l'hôte à une infection (8) (**Figure 1**). Dans cette plus récente définition, le terme "sepsis sévère" a été retiré. La sévérité de la défaillance d'organe s'évalue au moyen du score SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*). Un score SOFA ≥ 2 est associé à un surrisque de mortalité de 10% et justifie une prise en charge rapide et adaptée. Le score SOFA est calculé sur la base des défaillances d'organes avec des critères basés sur la fonction respiratoire (rapport PaO₂/FiO₂), le système cardiovasculaire (pression artérielle et recours aux vasopresseurs), la coagulation (numération plaquettaire), la fonction hépatique (bilirubinémie) et l'état de conscience (score de Glasgow) (**Figure 2**). Dans cette nouvelle définition du sepsis, même si l'infection présumée reste l'élément déclencheur de la pathologie, la réponse inadaptée de l'hôte a été placée au centre de la physiopathologie.

Dans cette nouvelle définition, le choc septique, la forme la plus grave et la plus mortelle de sepsis, est défini par une hypotension artérielle (pression artérielle moyenne (PAm) inférieure à 65mmHg) persistante malgré un remplissage vasculaire adapté associé à la présence de marqueurs de dysfonction cellulaire (hyperlactatémie supérieure à 2mmol/L).

Table 1. Sequential Organ Failure Assessment Score

Variables	SOFA Score				
	0	1	2	3	4
Respiratory	PaO ₂ /FiO ₂ : > 400 SpO ₂ /FiO ₂ : > 302	PaO ₂ /FiO ₂ : < 400 SpO ₂ /FiO ₂ : < 302	PaO ₂ /FiO ₂ : < 300 SpO ₂ /FiO ₂ : < 221	PaO ₂ /FiO ₂ : < 200 SpO ₂ /FiO ₂ : < 142	PaO ₂ /FiO ₂ : < 100 SpO ₂ /FiO ₂ : < 67
Cardiovascular (doses in mcg/kg/min)	MAP ≥ 70 mm Hg	MAP ≥ 70 mm Hg	Dopamine ≤ 5 or ANY dobutamine	Dopamine > 5 Norepinephrine ≤ 0.1 Phenylephrine ≤ 0.8	Dopamine >15 or Norepinephrine > 0.1 Phenylephrine > 0.8
Liver (bilirubin, mg/dL)	< 1.2	1.2-1.9	2.0-5.9	6.0-11.9	> 12
Renal (creatinine, mg/dL)	< 1.2	1.2-1.9	2.0-3.4	3.5-4.9	> 5.0
Coagulation (platelets x 10 ³ /mm ³)	≥ 150	< 150	< 100	< 50	< 20
Neurologic (GCS score)	15	13-14	10-12	6-9	< 6

According to Sepsis-3, a new (or presumed new) increase in SOFA score above baseline in the presence of infection makes the diagnosis of sepsis. Increasing SOFA scores are associated with incremental increases in mortality.

Abbreviations: GCS, Glasgow coma scale; FiO₂, fraction of inspired oxygen; MAP, mean arterial pressure; PaO₂, arterial oxygen pressure; SOFA, sequential organ failure assessment (score); SpO₂, oxygen saturation.

Figure 2 - Sequential Organ Failure Assessment Score

Épidémiologie

Du fait de la difficulté à définir précisément la maladie, l'analyse de son incidence peut être source de biais. Cette difficulté est moindre s'agissant des formes les plus graves de sepsis (sepsis sévère et choc septique). A partir de données issues des services de réanimation aux USA, Angus et coll. ont décrit une incidence annuelle du sepsis aux alentours de 300 cas pour 100 000 habitants, ce qui représenterait 750 000 cas par an (9). Martin et coll. ont évalué à partir d'un registre de 750 millions d'hospitalisations une incidence de près de 300 cas pour 100 000 habitants, en augmentation (près du double) entre 1980 et 2000 (10). Les estimations les plus récentes confirment ces observations, en effet, Fleischmann et coll. ont estimé l'incidence du sepsis à 450 pour 100 000 habitants (11), ce qui est plus que l'infarctus du myocarde (12) et que l'incidence cumulée des cancers de prostate, sein, et poumon (13). Dans le monde, on estime, que son incidence se situe entre 20 et 30 millions de cas par an, et qu'il représente plus de 10 millions de décès annuels. La mortalité liée au sepsis serait donc la deuxième cause de mortalité dans le monde après la mortalité cardiovasculaire (17 millions/an) et devant la mortalité globale par cancer (9,6 millions de décès par cancer en 2018)(14). Cette augmentation peut s'expliquer par : un vieillissement de la population, une

augmentation des situations à risque (immunodépression, iatrogénie médicamenteuse, cancer, diabète, immunosénescence), l'identification plus facile de la maladie, mais aussi des conditions de remboursement qui favoriseraient son codage administratif. Le sepsis est un des principaux motifs d'admission en réanimation. Son incidence exacte est inconnue, mais les estimations les plus prudentes font état d'une incidence d'environ 25% des patients admis en réanimation (15).

Pronostic

Le sepsis demeure aujourd'hui encore, et même dans les pays les plus développés, une maladie au pronostic extrêmement sévère puisqu'il est grevé d'une mortalité d'environ 40% dans sa forme la plus grave, le choc septique (8). Au-delà de sa gravité et de son pronostic extrêmement sombre, le sepsis représente également un enjeu majeur de santé publique. La durée de séjour des patients atteints de sepsis est de 75% supérieure à celle des patients admis pour un autre motif aux USA (16). Le coût d'hospitalisation d'un patient pour sepsis est parmi les plus élevés entre les différents motifs d'admission. Aux USA toujours, en 2016, la prise en charge du sepsis représentait 13% du total des dépenses hospitalières alors que les hospitalisations pour sepsis ne représentaient que 3,6% des hospitalisations globales (17).

Physiopathologie du sepsis – Phase aigüe

A la différence d'une infection non compliquée et localisée, le sepsis correspond à une situation de déséquilibre entre la réaction immunitaire et la réaction anti-inflammatoire (18). L'activation des voies pro- et anti-inflammatoires conduit à une libération de cytokines, de médiateurs inflammatoires et de débris cellulaires et pathogènes à l'origine d'une cascade d'amplification de la réaction inflammatoire (19). L'activation des cellules de l'immunité innée se fait via les *pattern recognition receptors* (PRR). L'activation des PRR peut se faire via la fixation de multiples ligands, soit originaires des micro-organismes infectants, les *Pathogen Associated Molecular Patterns* (PAMPs), soit des cellules nécrotiques et débris cellulaires, les *Damage Associated Molecular Patterns* (DAMPs). Ces molécules activent les cellules présentatrices d'antigènes et les monocytes, ce qui a pour effet d'enclencher le syndrome clinique du sepsis avec la transcription des gènes pro-inflammatoires, impliqués dans l'inflammation, le métabolisme cellulaire et l'activation de l'immunité adaptative (20). La libération de cytokines pro-inflammatoires par les cellules de l'immunité innée a pour principales conséquences :

- Une augmentation du nombre, de la durée de vie et de l'état d'activation des cellules de l'immunité innée
- Une augmentation du nombre de molécules d'adhésion et de la synthèse de chimiokines par les cellules endothéliales
- Une induction de la synthèse, notamment hépatique, des protéines de la phase aiguë de l'inflammation comme le complément, la CRP et le fibrinogène
- L'induction de la synthèse médullaire de cellules effectrices : principalement des monocytes et neutrophiles

Au cours du sepsis, les voies pro-inflammatoires et anti-inflammatoires sont régulées à la hausse. D'un côté, l'hyperinflammation qui en résulte est responsable de lésions tissulaires et de dysfonctions d'organes (21). De l'autre, l'immunosuppression concomitante, causée par la régulation à la baisse des cellules immunitaires, l'augmentation de l'apoptose des cellules lymphocytaires et l'épuisement des lymphocytes T conduit à une *immunoparalysie* elle-même responsable d'infections nosocomiales et de réactivations virales (22) (**Figure 3**).

Outre les mécanismes immunologiques et inflammatoires, d'autres mécanismes sont impliqués dans la physiopathologie du sepsis comme l'activation de la coagulation, la dysfonction endothéliale, les atteintes microvasculaires et une défaillance métabolique (23,24).

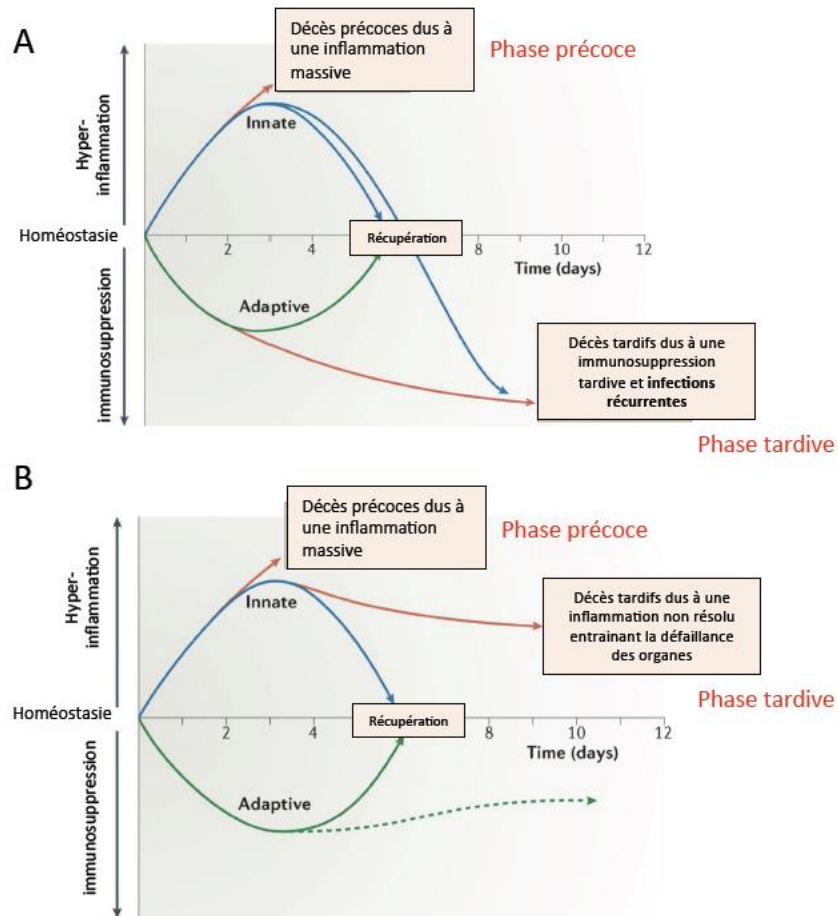


Figure 3 – Réponse inflammatoire au cours du sepsis d'après Hotchkiss et coll. 2013

L'insuffisance rénale aiguë septique

Définition

Le sepsis est, par nature, défini par les défaillances d'organes qui l'accompagnent. Parmi elles, l'insuffisance rénale aiguë (IRA) est l'une des complications les plus courantes. Le sepsis est responsable de 40 à 70% des cas d'IRA chez les patients de réanimation (25,26). L'IRA associée au sepsis (S-IRA) est de pronostic plus défavorable que l'un ou l'autre des syndromes pris isolément : elle est associée à une augmentation de la durée de séjour en unité de soins intensifs (USI) et à l'hôpital, une mortalité plus élevée, un taux accru d'invalidité à long terme et une moindre qualité de vie chez les populations adultes qui survivent à l'épisode (27). La définition de l'IRA repose sur l'augmentation de la créatinine sérique ou la diminution du débit urinaire, l'ensemble étant inclus dans les critères KDIGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*) (28). L'augmentation de la créatinine sérique peut être insuffisante pour diagnostiquer l'IRA et la réduction du débit urinaire n'est pas spécifique de l'IRA (29). Il est désormais admis que l'IRA peut survenir en l'absence d'augmentation de la créatinine sérique. Cette entité, appelée IRA subclinique (augmentation du biomarqueur de lésion tubulaire sans augmentation de la créatinine sérique) peut concerner jusqu'à 17% des patients admis pour sepsis qui n'ont pas développé d'IRA selon la définition classique (30).

Le sepsis est la principale cause d'IRA chez les patients en état critique (27), 50% des IRA sont d'origine septique et 50% des patients septiques développent une IRA. Il est intéressant de noter que dans leur étude observationnelle, Mehta et coll. ont constaté que l'IRA pouvait également précéder la septicémie, ce qui suggère que l'IRA pourrait être un facteur de risque de sepsis (31). L'IRA est un facteur de risque pour le développement d'insuffisance rénale chronique (IRC) et la nécessité de recours à l'épuration extra-rénale (EER). Environ 30% des patients souffrant d'IRA ne récupèrent pas. De plus, malgré une guérison apparente, les patients qui récupèrent d'une IRA présentent un risque accru d'IRC et de fibrose rénale (32,33). Ces observations ont remis en question le concept de récupération *ad integrum* et ont donné naissance au concept de réparation inadaptée (*maladaptive repair*) (34,35). Ce nouveau concept remet en question la linéarité de l'histoire naturelle de l'IRA et est corroboré par des observations qui ont suggéré une fibrose accélérée en cas d'agression rénale ultérieure (*cf infra*) (36).

La réponse inflammatoire contribue de façon très importante à la physiopathologie de l'IRA mais aussi dans la récupération au décours de l'épisode (37). Le rôle des cellules immunitaires (innées et acquises) fait l'objet de nombreuses études principalement dans des modèles d'IRA ischémique (38,39). De manière surprenante, bien que l'incidence de l'IRA septique soit très importante, sa physiopathologie reste encore mal élucidée. Plusieurs études ont souligné que le rôle des cellules immunitaires peut être très différent selon le type d'IRA (40) et selon le signal de danger (41).

Physiopathologie

L'insuffisance rénale aiguë liée au sepsis (S-IRA) est un syndrome hétérogène qui fait suite à des mécanismes directs, en lien avec l'infection ou la réponse de l'hôte à l'infection, et des mécanismes indirects, induits par les conséquences du sepsis ou des thérapies mises en œuvre (42). Pendant de nombreuses années, le paradigme physiopathologique dominant a attribué la S-IRA à une diminution du flux sanguin rénal, conduisant à la mort des cellules épithéliales tubulaires ou à la nécrose tubulaire (43). Ce paradigme, qui découle principalement d'observations sur des modèles animaux (44,45), a été remis en question par les quelques études disponibles menées chez l'Homme, qui ont systématiquement observé que l'IRA pouvait survenir malgré un débit sanguin rénal normal ou accru (46,47). Les analyses histopathologiques obtenues sur biopsies humaines *post-mortem* ont également confirmé l'absence de corrélation entre la gravité des lésions histologiques et les altérations fonctionnelles, en particulier l'absence de nécrose tubulaire aiguë dans la majorité de cas, la lésion histologique classiquement associée à l'ischémie tubulaire (47–51).

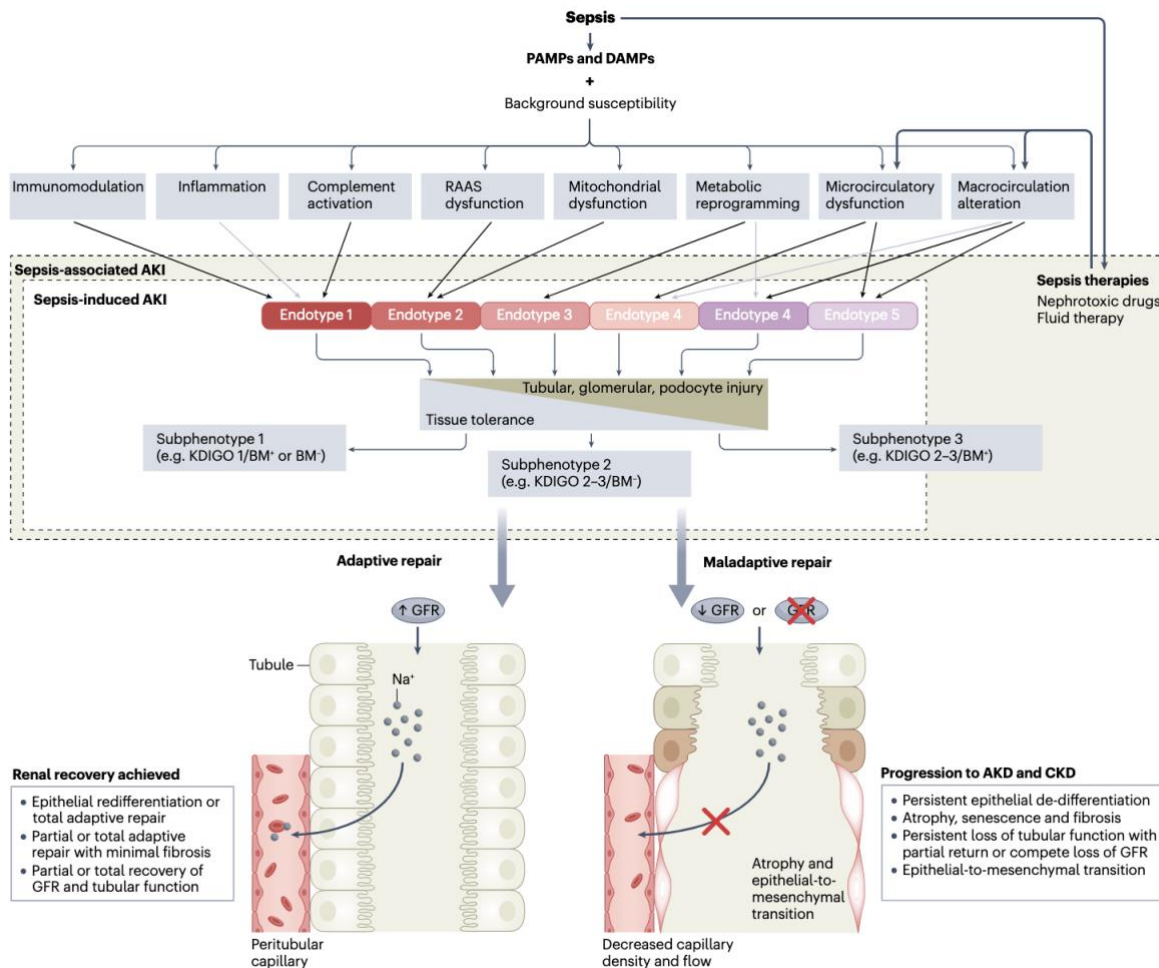


Figure 4 Physiopathologie de l'insuffisance rénale aigue septique, d'après Zarbock et coll. Nature Review Nephrology

Il est de plus en plus évident que l'ischémie-reperfusion n'est pas le principal mécanisme en jeu dans la S-IRA. Parmi les multiples mécanismes qui contribuent à la S-IRA, les plus fréquemment rapportés sont : l'inflammation systémique et rénale, l'activation du complément, la dysrégulation du système rénine angiotensine aldostérone (SRAA), le dysfonctionnement mitochondrial et la reprogrammation métabolique (27,42) (Figure 3).

La cardiomyopathie septique

La description historique de la cardiomyopathie septique revient à Parker et coll. qui l'avaient initialement identifiée via l'utilisation de radionucléotides marqués chez 20 patients atteints de choc septique (52). Les auteurs rapportaient 65% de défaillance ventriculaire gauche (définie comme une diminution de la fraction d'éjection du ventricule gauche (FeVG) < 45%) chez les patients atteints de choc septique. Depuis, l'existence de différents degrés d'atteinte cardiaque au cours du sepsis a été identifiée (dysfonction systolique, dysfonction diastolique, dysfonction cardiaque droite).

Définition

Il n'existe pas de définition formalisée de la cardiomyopathie septique, mais la plupart des auteurs s'accordent sur des critères de réversibilité (retour à la normale sous 7 à 14 jours) et l'exclusion des causes coronariennes (53,54). Les différents critères proposés varient entre des paramètres de fonction systolique (FeVG, mesure du *strain* longitudinal) des paramètres de fonction diastolique (rapport E/e'), des paramètres de fonction ventriculaire droite (mesure du *tricuspid annular plane systolic excursion* (TAPSE)), mais aussi des biomarqueurs (élévation de la troponinémie ou du BNP) (54). Du fait de l'absence de définition consensuelle, son incidence est difficile à estimer mais varie selon les séries de 10 à 70% (55). Les études ayant basé leur définition sur une diminution de la FeVG inférieure à 45% retrouvaient une incidence de 30 à 50% (55).

Les données concernant le pronostic de la cardiomyopathie septique sont contradictoires. En effet, alors que les premières études mettaient en évidence que les patients atteints de cardiomyopathie septique avaient un meilleur pronostic (56), les méta-analyses les plus récentes n'identifient aucun lien entre cardiomyopathie septique et mortalité (57).

Physiopathologie

La physiopathologie de la cardiomyopathie septique est multifactorielle et fait intervenir des substances humorales considérées comme des facteurs de dépression myocardique, des anomalies du métabolisme calcique, un dysfonctionnement sarcomérique et mitochondrial, ainsi que des modifications microvasculaires coronariennes (54) (**Figure 5**).

Des facteurs inflammatoires et humoraux semblent au cœur de la physiopathologie de la cardiomyopathie septique. Celle-ci est suggérée depuis 1985, lorsque Parillo et coll. ont exposé *in vitro* des cellules myocardiques de mammifères à du sérum de patients septiques et ont observé une réduction réversible de la fraction de raccourcissement (58). Des observations ultérieures ont mis en évidence le rôle crucial de l'interleukine (IL)-1 β , du *tumor necrosis factor* (TNF) α (59), et de l'IL-8 (60) dans le syndrome de dépression myocardique. Les cardiomyocytes activés par le TNF ou l'IL-1 β sécrètent des chimiokines responsables de la protraction des neutrophiles dans le tissu cardiaque, ce qui pourrait être préjudiciable dans la phase aiguë (61). Dans un modèle de sepsis chez la souris, l'inhibition pharmacologique de l'inflammasome NLRP3 par le glyburide a permis d'atténuer le dysfonctionnement myocardique et de réduire la mortalité (62). Cependant, en clinique, la mesure de nombreuses cytokines circulantes (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, TNF α , et monocyte chemoattractant protein-1) ainsi que le suivi échocardiographique répété n'ont pas permis de mettre en évidence une association entre les niveaux de cytokines circulantes et le dysfonctionnement myocardique (63).

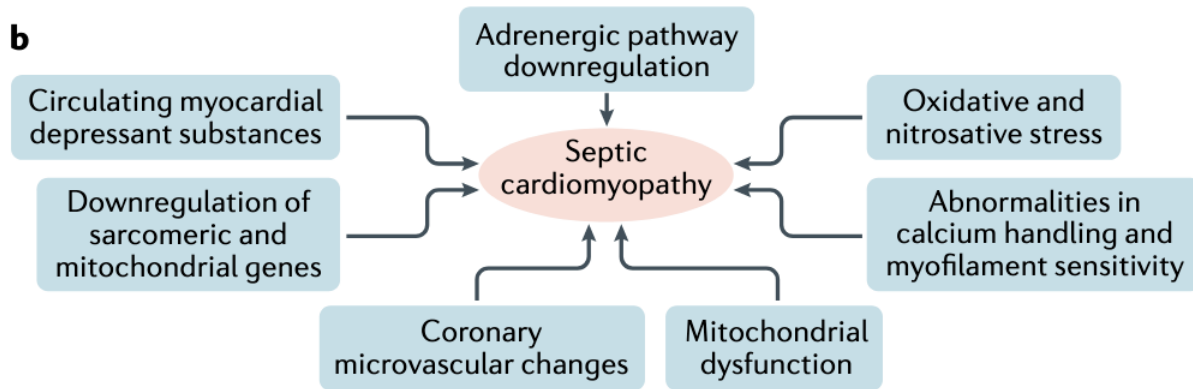


Figure 5 - Physiopathologie de la cardiomyopathie septique d'après Hollenberg et coll.

D'un point de vue thérapeutique, les études évaluant l'effet de l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 humain recombinant (rh-IL1ra) sur l'issue du choc septique n'ont trouvé aucun effet sur la résolution du choc ni sur la réduction de la mortalité (64). Dans leur étude, Fisher et coll. (65) n'ont pas rapporté l'incidence de la cardiomyopathie septique, mais leurs résultats sont en faveur d'une réduction de la mortalité chez les patients les plus graves. Une réanalyse récente chez des patients présentant des caractéristiques du syndrome d'activation macrophagique, syndrome souvent

qualifié d'orage cytokinique (66), a confirmé l'intérêt possible du rhIL-1ra chez les patients septiques présentant des taux élevés de cytokines circulantes (67).

Conséquences à long terme du sepsis

Bien que le pronostic global du sepsis se soit nettement amélioré au cours des dernières décennies (68), de nouvelles données ont mis en évidence que les survivants du sepsis étaient exposés à de nombreuses complications à long terme. En effet, plusieurs études observationnelles ont établi une relation entre sepsis et surmortalité à long terme. Prescott et coll. ont par exemple récemment rapporté que plus d'un patient sur cinq qui survit à un sepsis décède dans les deux ans qui succèdent à l'épisode sans que cela ne puisse être expliqué par son état de santé pré-sepsis (69). Dans une autre étude récemment publiée, Shankar-Hari et coll. ont observé que les principaux facteurs associés à la mortalité à long terme des survivants du sepsis étaient liés aux comorbidités et au niveau de dépendance qui précédait l'épisode (70). Ces observations ont conduit l'auteur à estimer que la part des morts « évitables » liée au sepsis était probablement surestimée (71). Ces observations s'appuient notamment sur le fait que la majeure partie des patients qui décède de sepsis sont, au moins dans les pays développés, les plus âgés et les plus comorbides (**Figure 6**).

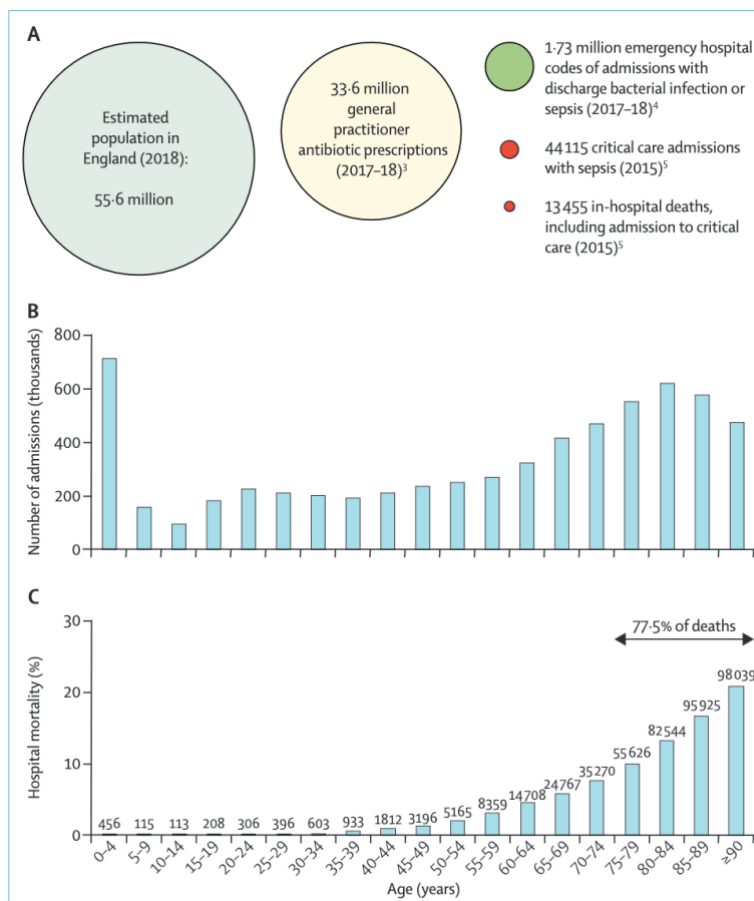


Figure 6 - Données sur les infections, les septicémies et les admissions d'urgence à l'hôpital pour septicémie ou infection bactérienne en Angleterre d'après Shankar-Hari et coll.

Ces constatations sont à mettre en balance avec d'autres observations qui suggèrent que les patients les plus jeunes sont ceux qui présentent le plus important surrisque de décès au décours du sepsis. C'est le cas notamment des données de Linder et coll., dans leur étude de cohorte menée en Colombie-Britannique chez 2 289 patients admis pour sepsis sévère ou chirurgie cardiaque (72). Dans cette étude, les patients admis pour sepsis, pourtant sans comorbidité, présentaient une mortalité à 10 ans nettement supérieure à la mortalité de la population générale avec un Hazard Ratio (HR) à 17,9 pour la mortalité à 1- 5ans et a 6,0 pour la mortalité à 5-10 ans. D'autres études ont également suggéré que le surrisque par rapport à la population générale était maximal dans les premières années après l'épisode infectieux et tendait à revenir à celui de la population générale au décours (73).

Au-delà du surrisque de mortalité, plusieurs études ont également mis en évidence que les survivants du sepsis présentaient un surrisque de réhospitalisation et de réadmission en réanimation (74). En effet, plusieurs auteurs ont souligné que près de 40% des patients étaient réadmis en réanimation au décours de leur hospitalisation pour sepsis. Dans l'étude de Prescott et coll. les principaux motifs de réadmission étaient des défaillances aiguës d'organes (insuffisance respiratoire aiguë, insuffisance rénale aiguë), ce qui suggère que le sepsis peut déséquilibrer ou aggraver des pathologies chroniques (69). Ces motifs de réadmission comprenaient également des réinfections, notamment infections urinaires et respiratoires.

Dans une méta-analyse récente, Shankar-Hari et coll. ont observé un taux de réhospitalisation de 20% à 30 jours et de 40% à 1 an chez les survivants du sepsis (74). Dans cette méta-analyse regroupant près de 12 500 patients sur 56 études, le principal motif de réadmission était un nouvel épisode de sepsis. Les principaux facteurs de risque identifiés étaient principalement liés à l'hôte (âge, comorbidité, dépendance) et à la gravité de l'épisode initial.

Au-delà du risque de réinfection et de décompensation d'une pathologie chronique, le sepsis semble également être à l'origine de nouvelles maladies chez des sujets antérieurement sains.

Sepsis et risque cardiovasculaire

Plusieurs modèles animaux ont mis en évidence que les épisodes infectieux pouvaient accélérer le processus d'athérosclérose (75,76). De même, plusieurs études observationnelles chez l'homme ont rapporté un taux très élevé de complications cardiovasculaires au décours d'un épisode infectieux (77–79). De façon intéressante, cette augmentation du risque d'infarctus n'est pas observée au décours d'une vaccination antigrippale, antipneumococcique ou antitétanique (78). Au-delà du seul risque d'infarctus, une augmentation globale des événements cardiovasculaires est observée dans l'étude de Jentzer (77). De façon intéressante, les patients ayant souffert d'un épisode de cardiomyopathie septique au cours de leur séjour semblent plus à risque de développer des complications cardiovasculaires dans l'année comparativement aux autres (80). Ceci suggère qu'une défaillance d'organe aiguë, même réversible, peut avoir des conséquences à long terme sur les défaillances chroniques de ce même organe. Les mécanismes à l'origine de ce surrisque d'événements cardiovasculaires sont multiples (dysfonction endothéliale, déstabilisation de plaque d'athérome, dysfonction métabolique, dysfonction neuro-hormonale) et font également intervenir des phénomènes inflammatoires. Il existerait donc une cicatrice immunologique et une mémoire immunologique de l'organe (77,81,82).

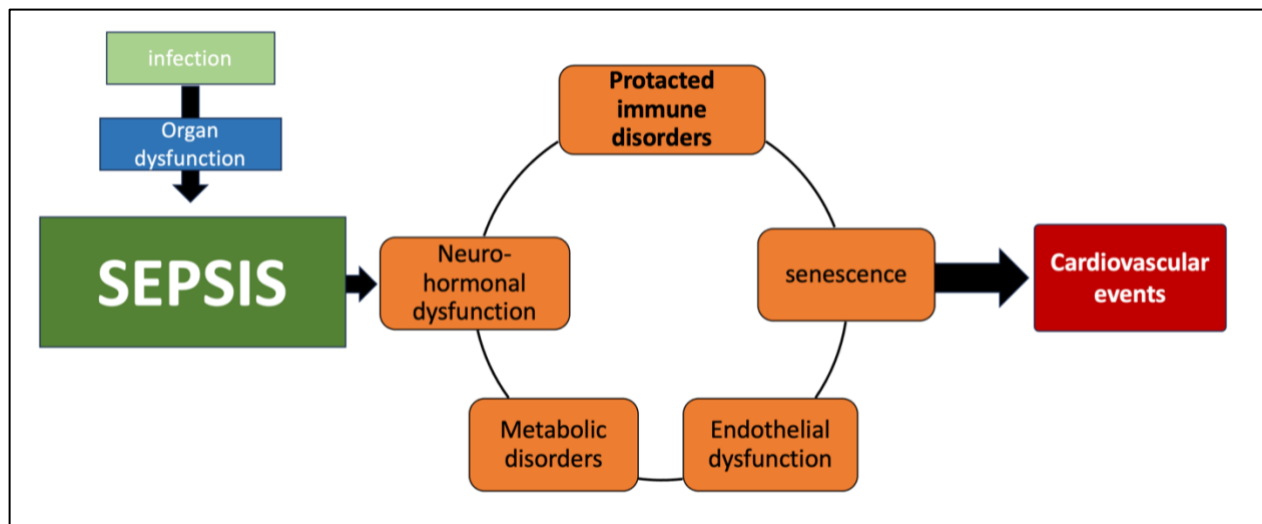


Figure 7 - Modèle conceptuel décrivant les voies potentielles par lesquelles le sepsis pendant l'hospitalisation pourrait être associé à des événements cardiovasculaires après la sortie de l'hôpital. D'après Jentzer et coll.

Sepsis et risque d'insuffisance rénale chronique

De nombreuses études ont mis en évidence que les patients ayant survécu à un épisode de sepsis ont un risque accru de développement d'une insuffisance rénale chronique. Il semblerait que ce risque soit encore supérieur chez les patients ayant présenté une insuffisance rénale aiguë. Dans leur étude de 2009, Wald et coll. avaient observé que les patients ayant présenté une IRA durant leur hospitalisation avaient 4 fois plus de risque de recevoir de la dialyse chronique à 5 ans comparativement aux patients sans IRA (83). Ces résultats ont depuis été confirmés par plusieurs études et méta-analyses (84,85). Dans une étude récente compilant plus de 26 000 patients avec des causes d'IRA variables (sepsis, chirurgie cardiaque, autre) les auteurs observaient que le risque de décès ou de recours à l'EER à 15 ans n'était pas corrélé à la récupération après l'épisode aigu (86). Ces résultats suggèrent donc que le surrisque de développer une IRC n'est pas lié à la gravité de l'épisode initial, et que le surrisque persiste même en cas de récupération *ad integrum*. Chez les patients avec sepsis, alors que 50 à 60% des patients présentent une IRA pendant leur séjour en réanimation, seuls 80% d'entre eux récupèrent une fonction rénale normale pendant l'hospitalisation (87). Dans une étude plus récente, Flannery et coll. observaient que même les patients avec une récupération apparemment complète, présentaient un surrisque de maladie rénale chronique au décours (32).

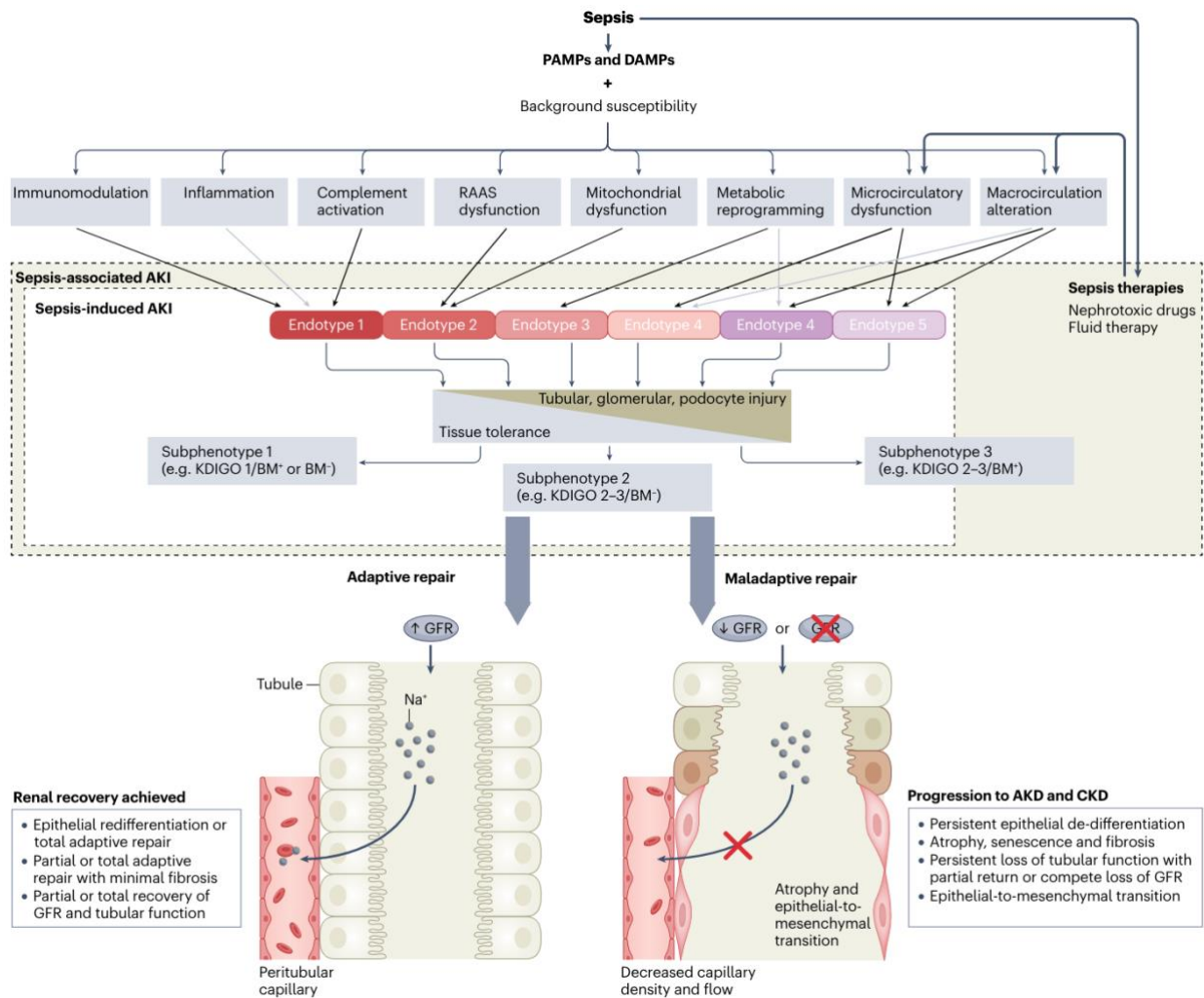


Figure 8 - Physiopathologie de l'IRA septique, d'après Zarbock et coll.

Prises ensemble, ces observations suggèrent qu'un phénomène de réparation inadapté (*maladaptive repair*) au décours d'une agression aiguë, pourrait faire le lit d'une insuffisance chronique d'organe (35). Parmi les mécanismes à l'œuvre, plusieurs facteurs semblent jouer un rôle : dysfonction endothéliale, rupture de plaque, dysfonction métabolique, dysfonction neuro-hormonale, senescence (88). Néanmoins, l'existence d'une mémoire immunologique intra-organe pouvant influencer la résilience en cas de nouvelle agression semble gagner en crédibilité notamment dans d'autres modèles comme dans l'infarctus du myocarde (89,90) ou l'ischémie reperfusion rénale (36).

Le sepsis comme facteur de risque de cancer

Le sepsis et le cancer sont deux pathologies qui partagent beaucoup de similarités. Ces deux maladies résultent d'une incapacité de la part du système immunitaire à surmonter l'agression initiale (91). Les désordres immunitaires en lien avec le sepsis et le cancer sont très similaires, impliquant des altérations quantitatives et fonctionnelles des cellules immunitaires innées et adaptatives. Ces profondes altérations immunitaires associées à la coexistence mutuelle fréquente des deux troubles soulèvent la question de l'impact mutuel de l'un sur l'autre. Le risque de sepsis chez les patients atteints de cancer a été estimé à 10 fois plus élevé que chez les patients non atteints de cancer, avec des variations considérables selon les sous-types de cancer (92). De même, plusieurs auteurs ont observé que les patients survivant d'un sepsis, avaient un sursurrisque de cancer (93). De façon intéressante, certains cancers semblent favorisés par l'épisode (cancer du poumon, colon, col utérin etc..) tandis que d'autres sous-types de cancer semblaient en revanche moins fréquents chez les survivants de sepsis (lymphome, mélanome, thyroïde). Enfin, quelques cas rapportés de guérison post-infectieuse de cancer (principalement au décours d'infection à germes intra-cellulaires) questionnent le possible pouvoir antitumoral du sepsis (94,95).

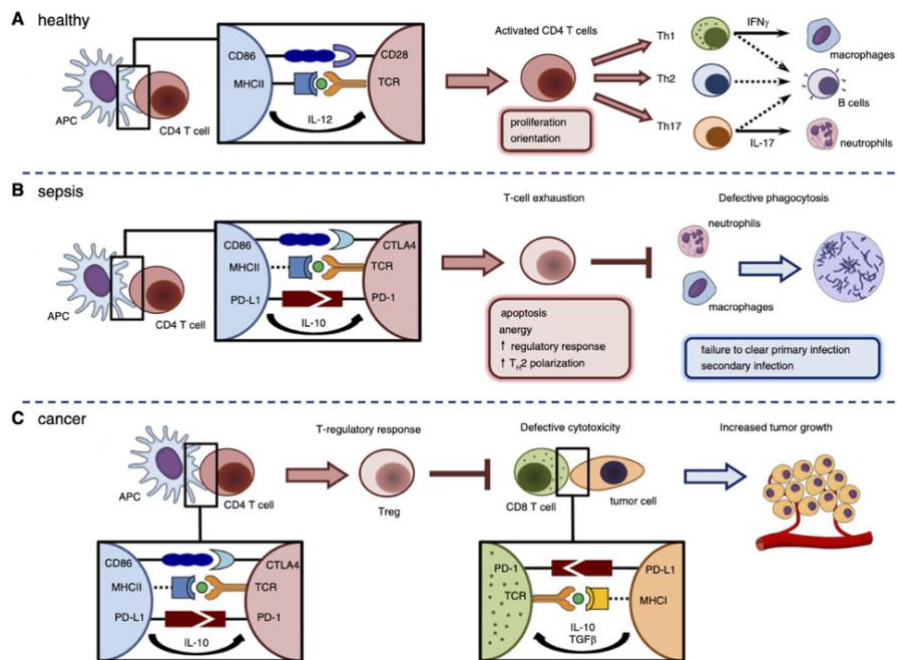


Figure 9 - Altération des réponses immunitaires en cas de septicémie et de cancer selon Mirouse et al. APC=antigen presenting cell; CTLA4=cytotoxic T lymphocyte antigen 4; MHC=Major histocompatibility complex; PD-1=Programmed death 1

Lien entre complications au long court et immunité

Le sepsis semble donc s'associer à un surrisque de mortalité, de maladies rénales et cardiaques chroniques. Parmi les mécanismes impliqués, les altérations immunologiques notamment intra-organes, semblent jouer un rôle prépondérant. Plusieurs études chez l'Homme ont observé que le sepsis est à l'origine de modifications immunologiques qui persistent bien après la résolution de l'épisode. Par exemple, Riché et coll. ont observé une augmentation des cytokines circulantes et de l'expression lymphocytaire de checkpoint inhibiteur PD (Programmed Death)-1 à un an après la guérison de l'épisode aigu (96). Dans le secteur plasmatique, plusieurs auteurs ont également observé des altérations immunitaires persistantes (97–100). De plus, plusieurs auteurs ont observé que les patients chez qui persistent des anomalies immunologiques ont un surrisque de mortalité comparativement aux autres (70,98). Au-delà du secteur plasmatique, des perturbations immunologiques intra-organes pourraient participer au surrisque de maladie chronique d'organe qui existe au décours d'un épisode de sepsis.

Parmi les cellules immunitaires, les macrophages font l'objet d'une attention considérable en raison de leurs fonctions pléiotropiques notamment dans la cicatrisation et la réparation d'organe (101).

Les monocytes et macrophages

Introduction

C'est en 1882, que Ilya (Elie) Metchnikoff devient le premier chercheur à découvrir les « phagocytes » et leur rôle primordial dans la défense de l'hôte, notamment en identifiant leur capacité à ingérer les corps étrangers ou les cellules exogènes (102). Ces découvertes lui ont valu le prix Nobel de 1908, en tant que pionnier de l'immunologie (103). En 1908, les leucocytes sanguins étaient stratifiés sur la base de leur morphologie et leurs propriétés de coloration. En fonction des colorations, on distinguait : les lymphocytes, les grandes cellules mononucléaires (monocytes), les neutrophiles, les éosinophiles et les basophiles (**Figure 10**) (104).

Les monocytes et macrophages sont deux sous-types cellulaires similaires, mais avec des rôles très distincts en pathologie et à l'homéostasie. Les monocytes jouent un rôle clef dans l'inflammation et dans la réponse anti-infectieuse, tandis que les macrophages sont des cellules résidentes des organes ayant une fonction importante dans le développement, le maintien de l'homéostasie intratissulaire et la résolution de l'inflammation (105). Jusqu'à récemment, les scientifiques avaient considéré que les monocytes et macrophages étaient deux sous-types cellulaires qui présentaient un *continuum* de différenciation. Les monocytes étaient considérés comme un intermédiaire de développement entre les précurseurs médullaires et les macrophages tissulaires. Néanmoins, de récents travaux sont venus contredire cette ancienne hypothèse érigée par Furth en 1968 (106). Si les monocytes peuvent effectivement donner naissance à des macrophages intra-tissulaires sous certaines conditions, il apparaît que (107) :

- Les monocytes ne contribuent pas de manière substantielle à la plupart des compartiments intra-organe à l'état stable
- Les macrophages tissulaires adultes dérivent de précurseurs embryonnaires quiensemencent les tissus avant la naissance
- Ces-mêmes macrophages tissulaires sont capables de se maintenir à l'âge adulte par auto-renouvellement

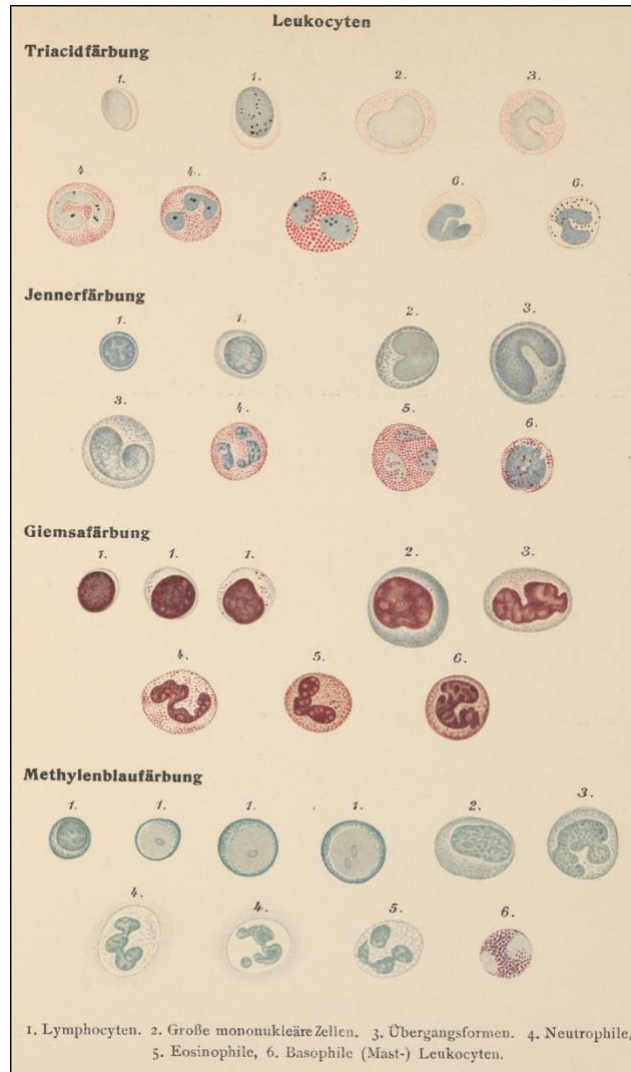


Figure 10 - Classification historique des leucocytes circulants,
 En 1908, les leucocytes sanguins pouvaient être stratifiés sur la base de leur morphologie et de leurs propriétés de coloration. Les différentes techniques de coloration sont représentées ici par 1) Lymphocyten : lymphocyte, 2) Grosse mononukleäre Zellen : grande cellule mononucléaire, 3) Übergangsformen : Cellule transitionnelle d'Ehrlich (monocyte), 4. Neutrophile : neutrophile, 5. Eosinophile : éosinophile, 6. Basophile (Mast) Leukocyten : basophile ou mastocyte d'après Naegeli, 1908(104)

Monocytes

Les monocytes ont longtemps été considérés comme un intermédiaire de développement entre les précurseurs de la moelle osseuse et les macrophages tissulaires (106). Il est désormais clair que de nombreuses cellules dendritiques et macrophages tissulaires ne proviennent pas des monocytes à l'état stable. De plus, les monocytes possèdent des fonctions spécifiques, notamment dans l'inflammation (108).

Développement monocyttaire

Les monocytes sont une population leucocytaire conservée chez tous les vertébrés. Chez l'homme, ils représentent 10% des leucocytes circulants (4% chez la souris) avec un important réservoir splénique pouvant être mobilisé en cas de demande (106). Leur demi-vie est relativement courte (environ 20h) mais variable en fonction des différents sous-types circulants (109). Le développement et la survie de ces cellules sont sous la dépendance complète du *colony-stimulating factor* (CSF1, aussi appelé M-CSF), les souris déficientes en cette protéine ou son récepteur (CSF1R, aussi connu sous le nom de CD115 et M-CSFR) présentent une monocytropénie sévère (110). Les monocytes sont des cellules circulantes issues de la lignée myéloïde, leur synthèse est presque exclusivement médullaire, mais peut, sous certaines conditions, devenir également splénique (aussi appelée hématopoïèse extra-médullaire (*cf. infra*) (111).

Les cellules du système phagocytaire mononucléé (*mononuclear phagocyte system*) dérivent toutes d'un précurseur médullaire commun appelé *myeloid derived precursor* (MDP), identifié initialement dans la moelle osseuse de souris (112). Les MDP sont des cellules lignage négatif (lin^-), elles expriment le CD117 (également connu sous le nom de c-kit), le CD135 (également connu sous le nom de FLT3) et le CSF1R. Plus récemment, un autre précurseur de la lignée myélomonocytaire a été identifié, appelé progéniteur monocyttaire commun (cMoP). Celui-ci diffère des MDP par son absence d'expression de CD135 (113). Les cMoP peuvent donner naissance aux monocytes mais pas aux DC plasmacytoïdes, ni aux cDC. Ces schémas linéaires de développement en arborescence sont aujourd'hui remis en question par les plus récentes études sur le transfert adoptif de cellules (114). Il semble aujourd'hui plus probable que ces précurseurs hématopoïétiques soient eux-mêmes hétérogènes et s'inscrivent dans un continuum de développement avec un engagement graduel (105,115).

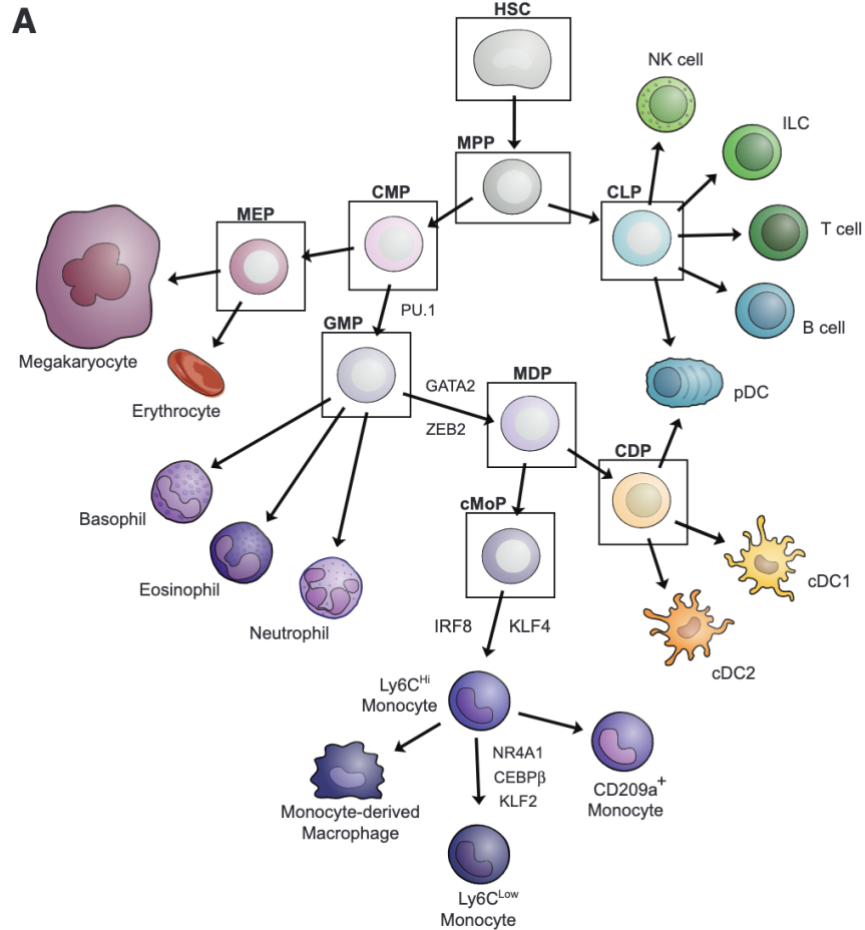


Figure 11 - Hématopoïèse murine en condition physiologique d'après Guilliams et coll. Cellules souches hématopoïétiques (CSH), précurseurs multipotents (MPP) ; monocyte-macrophage/dendritique (MDP). Cellules dendritiques communs (CDP) ; Précurseurs de monocytes communs (cMoP). DC plasmacytoïdes (pDC) ; (CMP) précurseurs myéloïdes communs ; (MEP), progéniteurs mégakaryocytaires/érythrocytaires.

Sous-populations monocytaires

Des populations distinctes de monocytes ont d'abord été identifiées par la morphologie et l'expression différentielle de CD14 et CD16 chez l'Homme, ce qui a représenté une étape importante dans leur compréhension et classification (116). La combinaison de l'analyse de l'expression membranaire de CD14, CD16 et HLA-DR a permis de distinguer différentes sous-populations de monocytes chez l'Homme :

- Les monocytes CD14⁺⁺CD16⁻, aussi appelés "classiques" (117,118) représentent 80 à 90% du pool circulant. Leur équivalent murin correspond aux monocytes Ly6C^{hi}. Ils sont caractérisés par une forte capacité phagocytaire et leur aptitude à pénétrer rapidement les organes et tissus. Ces cellules migrent dans les organes contrairement aux monocytes 'non-classiques' y compris

à l'homéostasie. Après avoir été relargués dans la circulation depuis la moelle osseuse, ces cellules restent dans la circulation pendant une durée relativement courte de 20 à 24h, avant de repeupler une partie du pool de macrophages résidents dans certains tissus comme l'intestin, le derme, le cœur, le rein, le pancréas... Alternativement, ces mêmes cellules peuvent aussi se différencier en monocytes "non-classiques" (118). Les cellules LY6C^{low} de souris, et leur équivalent humain CD14^{low}CD16⁺, pourraient donc être considérés comme des macrophages sanguins résidents plutôt que de véritables monocytes (109).

- Les monocytes CD14⁺⁺ CD16⁺ sont qualifiés de monocytes "intermédiaires" (119,120). Ils représentent 5 % des monocytes du sang périphérique chez les individus sains, mais cette proportion est susceptible d'augmenter considérablement dans plusieurs conditions pathologiques, comme le sepsis et le cancer (121). Ils produisent également des niveaux élevés de cytokines pro-inflammatoires.
- Les monocytes CD14⁺CD16⁺⁺ appelés « non-classiques » ont pour équivalent chez la souris les Ly6C^{low}. Les monocytes "classiques" sont caractérisés par la combinaison de marqueurs de surface Ly6C^{hi}CX3CR1^{int}CCR2⁺CD62L⁺CD43^{low} (précédemment appelés monocytes inflammatoires), tandis que les monocytes "non classiques" (également appelés monocytes patrouilleurs) sont définis comme Ly6C^{low}CX3CR1^{hi}CCR2^{low}CD62L⁻CD43⁺.

Sous-types	Marqueurs	Récepteurs aux chimiokines	Fonction
<i>Murin</i>			
Ly6c ^{hi}	CD11b ⁺ CD115 ⁺ LY6C ^{hi}	CCR2 ^{hi} CX3CR1 ^{low}	Pro-inflammatoires et antimicrobiens
Ly6c ^{lo}	CD11b ⁺ CD115 ⁺ LY6C ^{low}	CX3CR1 ^{hi} CCR2 ^{low}	Immunosurveillance ; réponse précoce ; réparation tissulaire
<i>Humain</i>			
Classique	CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻	CCR2 ^{hi} CX3CR1 ^{low}	Similaires aux monocytes Ly6c ^{hi}
Intermédiaire	CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺	CX3CR1 ^{hi} CCR2 ^{low}	Rôle pro-inflammatoire
Non-classique	CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺	CX3CR1 ^{hi} CCR2 ^{low}	Immunosurveillance, rôle antiviral

Table 1. Sous-types monocytaires humains et murins, d'après Shin et coll.

Hématopoïèse extra-médullaire

Plusieurs auteurs ont mis en évidence l'existence d'une hématopoïèse extra-médullaire lors de certains stimulus inflammatoires comme l'infarctus du myocarde (122) ou le sepsis (123,124). Cette hématopoïèse extra-médullaire, principalement splénique, pourrait être liée à la libération d'HSC dans la circulation systémique lors de stimulus inflammatoires, eux-mêmes captés par les macrophages sous-capsulaires spléniques, notamment via l'expression de molécule d'adhésion comme VCAM-1 et CD169 (125). En effet, si une petite proportion de précurseurs hématopoïétiques monocytaires a été identifiée dans la rate de souris à l'homéostasie (113), aucun précurseur hématopoïétique n'a été identifié dans le sang à l'état basal. Il est possible, que sous l'effet de facteurs de croissance de la lignée myéloïde (GM-CSF, IL-3), les HSC contenues dans la rate soient capables de produire une importante quantité de monocytes plus tard libérés dans la circulation jusqu'aux sites inflammatoires. Sur le plan phénotypique, peu d'études ont pour l'instant spécifiquement exploré les possibles différences phénotypiques entre ces populations spléniques et les populations médullaires. Néanmoins, dans une étude récente, Valet et coll. ont mis en évidence une production plaquettaire extra-médullaire au cours du sepsis. Cette production splénique plaquettaire est à l'origine d'une sous population particulièrement riche en CD40L. Ces plaquettes possèdent un pouvoir anti-inflammatoire, différent des plaquettes médullaires (126). Cette étude est la première à mettre en évidence une différence entre les cellules circulantes d'origine splénique et médullaire, et met en lumière des caractéristiques phénotypiques propres aux cellules de production extra-médullaire. D'autres études sont attendues pour déterminer si les monocytes de production extra-médullaire sont dotés de propriétés uniques.

Devenir des monocytes dans les tissus périphériques

Après un stimulus inflammatoire, les monocytes sont rapidement recrutés au niveau du site de l'agression et, après extravasation, donnent naissance à des cellules monophagocytaires, macrophages, et DC. Les macrophages descendant de monocytes sont appelés macrophages dérivés des monocytes (MoDMac) par opposition au macrophages résidents (RMac) d'origine embryonnaire (*cf infra*) (**Figure 12**). Il existe un important *overlap* fonctionnel entre les RMac et les MoDMac comme l'a confirmé l'analyse de l'expression génétique entre les cDC et les DC dérivés des monocytes (127). Néanmoins, d'autres études ciblant spécifiquement l'analyse des différences phénotypiques entre MoDMac et RMac ont mis en évidence une plasticité supérieure des MoDMac comparativement au RMac, ainsi qu'un effet protecteur dans certaines pathologies (128). Dans d'autres situations plus chroniques comme la cardiopathie hypertensive, le recrutement de MoDMac était en revanche associé à une aggravation de la défaillance cardiaque (129).

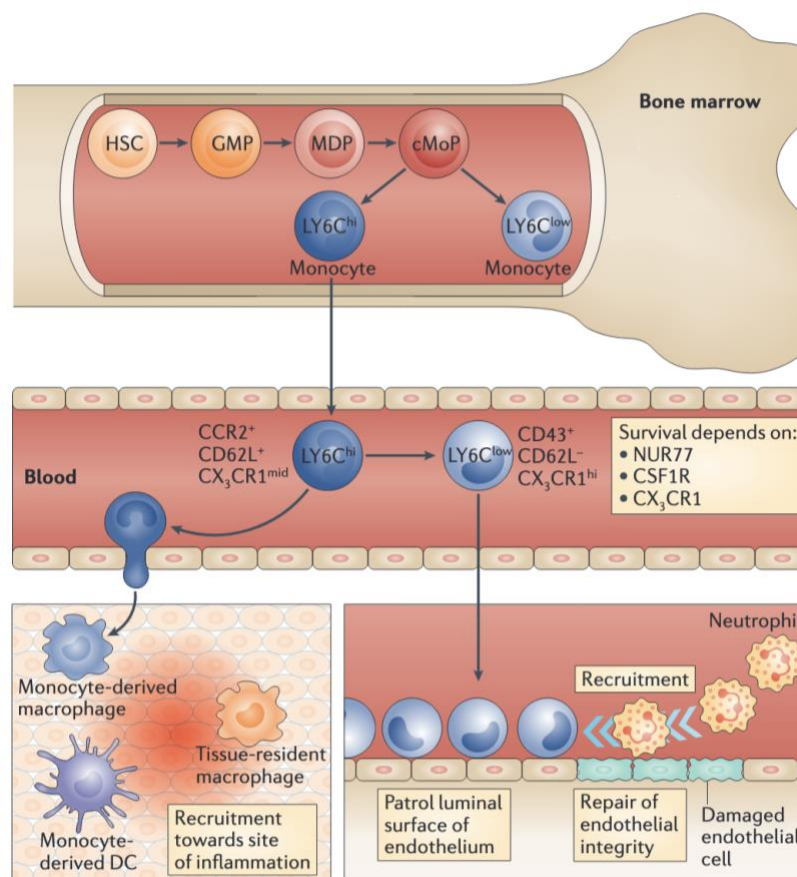


Figure 12 - Le compartiment monocytaire murin, d'après Ginhoux et coll.

Macrophages

Le terme macrophage est issu du grec μάκρος, *makros* = *grand* et φαγεῖν, *phagein* = *manger*, utilisé pour désigner ces cellules capables de phagocyter des pathogènes de grande taille, telles que les bactéries (de l'ordre du micromètre). C'est en 1983, que Hume et Gordon ont démontré que ces cellules pouvaient être identifiées sur la base de leur expression membranaire de F4/80 (130). Les macrophages sont des cellules centrales dans l'homéostasie tissulaire. Elles exercent une multitude de fonctions : présentation antigénique, protection contre les infections, efferocytose, réparation tissulaire. Elles jouent également un rôle dans l'embryogenèse (131).

Origine et abondance

Les RMac sont établis au cours du développement par des précurseurs embryonnaires à partir du 12^{ème} jour après le *coitum*. Les méthodes modernes de *Fate Mapping* et les études embryologiques ont permis de mettre en évidence plusieurs vagues distinctes d'hématopoïèses au cours de la vie embryonnaire. Dès les premiers jours de la vie embryonnaire (*embryonic day* 6.5 [E6.5]–E8.5) les premiers macrophages sont observés. Ils naissent de l'hématopoïèse extra-embryonnaire du sac vitellin (132). Par la suite, les premières HSC migrent dans le foie fœtal d'où elles sont à l'origine d'une deuxième vague d'hématopoïèse (E10.5). Le foie fœtal sert alors d'organe hématopoïétique majeur pendant le reste du développement embryonnaire. Ce n'est qu'au cours de la période périnatale que les HSC de la moelle osseuse deviennent le site principal de l'hématopoïèse et produisent l'ensemble des lignées leucocytaires (133).

A l'âge adulte, les RMac sont principalement maintenus chez l'adulte par auto-renouvellement (115,134,135). Epelmann et coll. ont mis en évidence trois sous-populations distinctes de macrophages à l'homéostasie (134) (**Figure 13**) :

- Les macrophages dérivés des progéniteurs érythro-myéloïdes (EMP) du sac vitellin
- Les macrophages dérivés des EMP du foie fœtal
- Les macrophages dérivés des HSC

Les proportions relatives de chaque progéniteur changent radicalement au cours du développement, à l'âge adulte et dans les organes après agression. Il est intéressant de noter que ces trois sous-types

coexistent dans différents organes dans des proportions variables, mais que leur origine et leur dynamique varient d'un tissu à l'autre. Par exemple, le cœur, le foie et le cerveau sont les seuls tissus dans lesquels les macrophages dérivés du sac vitellin persistent substantiellement à l'âge adulte. A l'inverse, les macrophages alvéolaires et intestinaux proviennent en grande partie de monocytes.

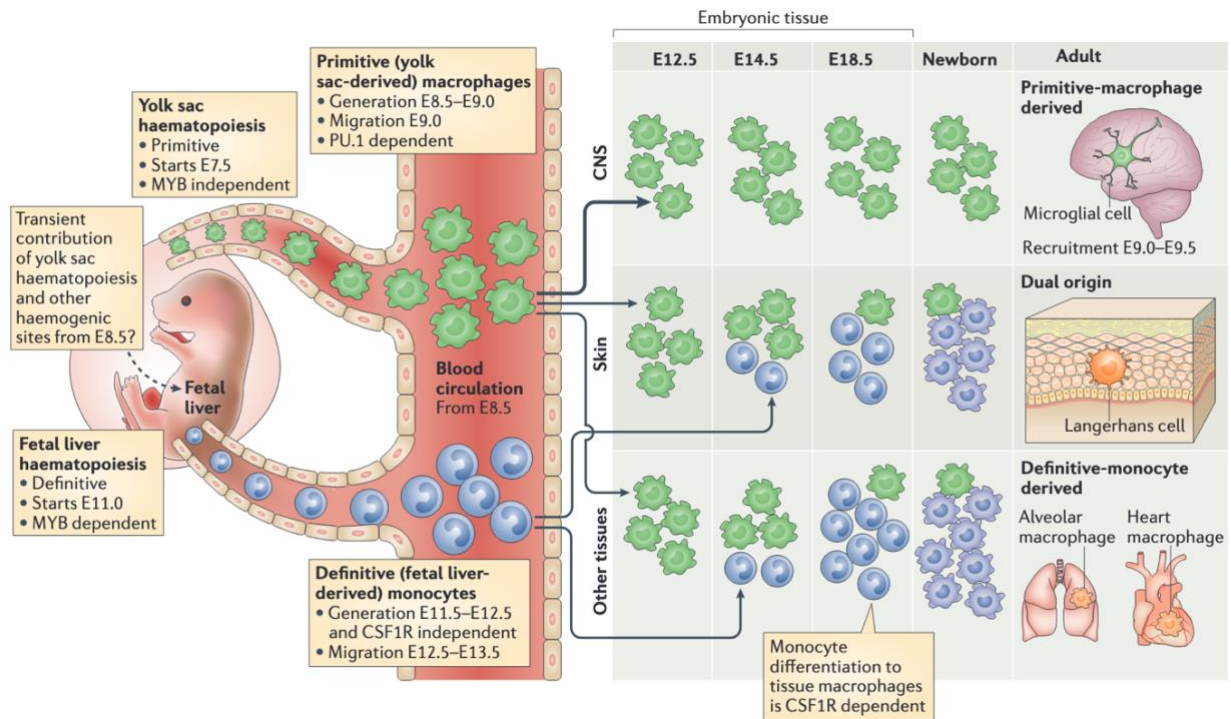


Figure 13 - Développement embryologique des macrophages, d'après Ginhoux et coll.

Origine et abondance des macrophages intra-rénaux

Les reins de souris nouveau-nées contiennent une population de macrophages dérivés embryonnaires MHCII F4/80^{hi} CD11b^{low}, ceux-ci expriment à leur surface *T-cell membrane protein 4* (TIMD4) ainsi que la *MER receptor tyrosine kinase* (MERTK) (136). Quelques semaines après la naissance, ces macrophages sont remplacés par des cellules phénotypiquement similaires, qui expriment le MHCII mais sont dépourvues de TIMD4 et de MERTK (137). Ces résultats ont été récemment confirmés par Dick et coll.(138) qui ont mis en évidence trois sous-populations de macrophages présents dans les reins, le cœur, le foie, les poumons et le cerveau murin. En utilisant la technologie de scRNAseq, ils ont montré que quatre gènes permettent de prédire les trois sous-

ensembles de macrophages : TIMD4, le *Lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1* (LYVE1), le *Folate Receptor Beta 2* (FOLR2) et le CCR2. La première population est appelée TLF⁺ (pour l'expression de TIMD4, LYVE1 et/ou FOLR2) ; elle est peu représentée à l'âge adulte dans le tissu rénal, elle se maintient par auto-renouvellement avec un apport minimal de monocytes. La seconde, définie par l'absence de ces marqueurs et l'expression de CCR2 et MHC II, (appelée CCR2⁺ pour les macrophages TIMD4⁻LYVE1⁻FOLR2⁻). Ces macrophages CCR2⁺ sont presque entièrement de dépendance monocyttaire. La troisième population est appelée macrophages MHC-II^{hi} (TIMD4⁻ LYVE1⁻ FOLR2⁻CCR2⁻), définis par l'absence de gènes TLF et CCR2 et l'expression de gènes de présentation d'antigènes. Les macrophages MHC-II^{hi} reçoivent une contribution modeste des monocytes et ne sont pas continuellement remplacés.

Le nombre de RMac rénaux semble assez stable à l'homéostasie. Liu et coll. ont démontré dans un modèle de souris que le pourcentage de RMac parmi les cellules immunitaires CD45⁺ augmente progressivement de 28,7% au jour 1 à 47,2% au jour 21 et reste à ce niveau jusqu'au jour 105. Ceci correspondant en moyenne à 1 000 RMac/mg de rein (139). Après la naissance, les RMac perdent progressivement le sous-ensemble TLF⁺ au profit des populations CCR2⁺ et MHC-II^{hi} dérivés des monocytes (138,139).

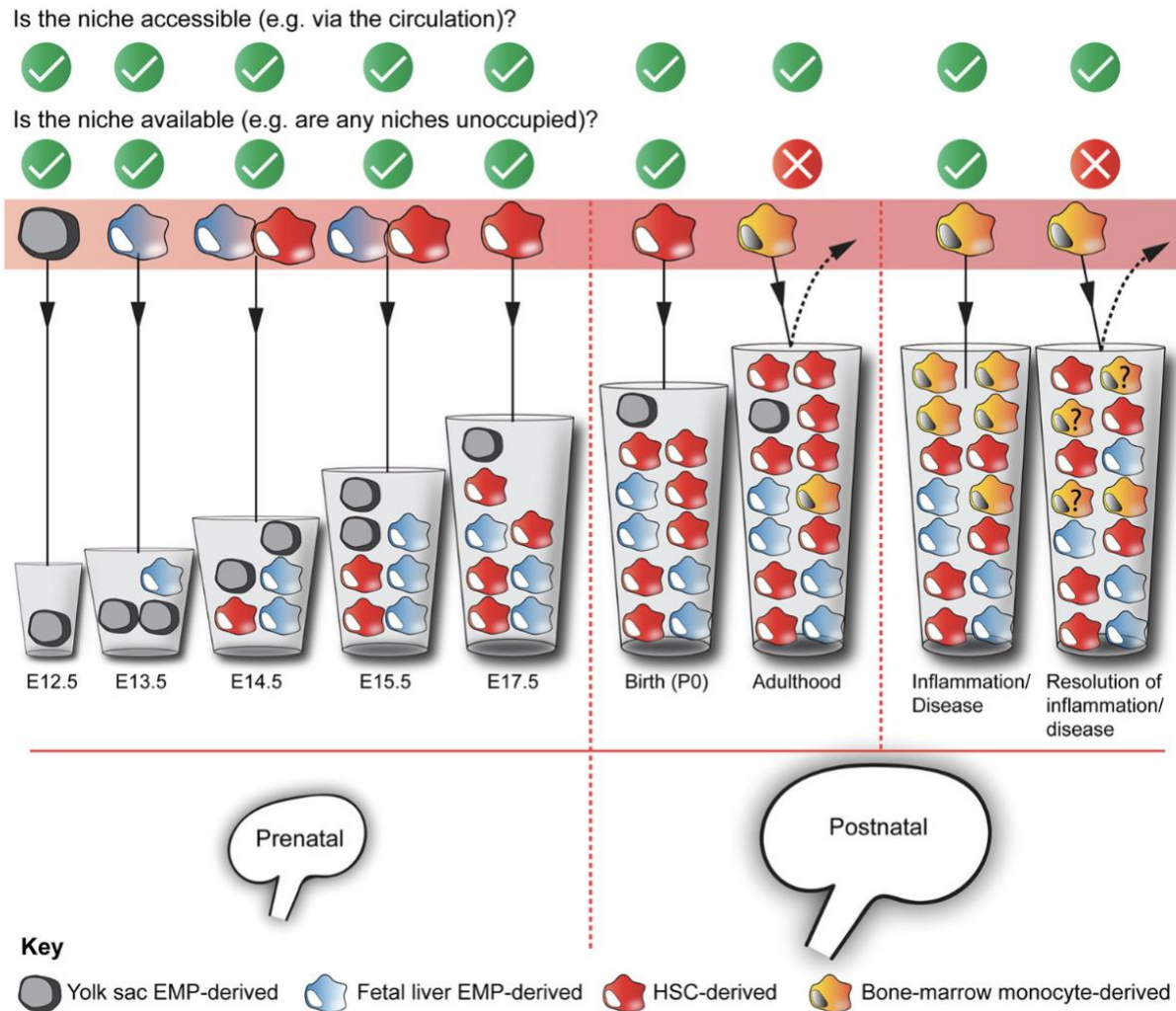


Figure 14 - Origines des macrophages rénaux d'après Munro et Hughes

Origine et abondance des macrophages intra-cardiaques

Epelman et coll. ont été les premiers à étudier les différentes sous-populations de macrophages cardiaques à l'homéostasie (107). Ils avaient alors identifié 4 sous-populations de macrophages cardiaques. Leurs analyses de *FateMapping* ont aussi révélé que la plupart des macrophages cardiaques étaient issus des précurseurs embryonnaires du sac vitellin et des monocytes fœtaux, faisant ainsi du cœur l'un des rares organes dans lesquels un nombre substantiel de macrophages issus du sac vitellin persistent à l'âge adulte (environ 40-50%) (**Figure 15**). Tout comme dans le tissu rénal, 3 sous-populations de macrophages ont ensuite été identifiées, basées sur l'expression de MHC2, CCR2 et TIM4. Les macrophages cardiaques TLF et MHC2 sont issus des précurseurs du sac vitellin et des monocytes fœtaux. Ces sous-populations sont capables de s'autorenouveler

sans participation des monocytes à l'âge adulte. A l'inverse, les macrophages CCR2 sont issus exclusivement d'un renouvellement à partir des monocytes circulant à l'âge adulte. La proportion importante de macrophages dérivés des précurseurs embryonnaires du sac vitellin dans le tissu cardiaque pourrait expliquer les importantes modifications phénotypiques observées chez les macrophages cardiaques après une agression (modèle d'infusion d'angiotensine 2) (107,140). Les RMac sont les principales cellules leucocytaires retrouvées au sein du tissu cardiaque (140), même si leur nombre semble plus faible que celui des macrophages intra-rénaux à l'homéostasie. Hoyer et coll. ont dénombré environ 500 macrophages par mg de tissu (141) ce qui semble cohérent avec d'autres observations qui font état du même ordre de grandeur (129). Néanmoins, ce nombre de macrophages intra-tissulaires est susceptible d'augmenter de façon substantielle en cas d'agression locale ou systémique (*cf infra*).

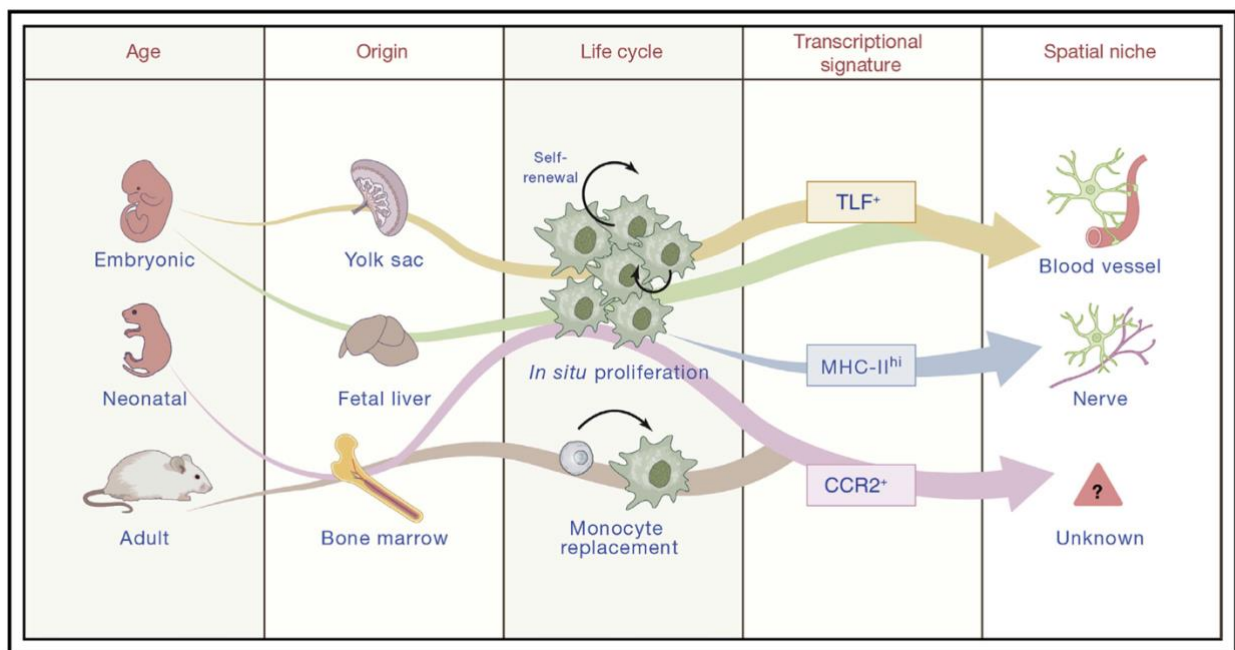


Figure 15 - Origines et diversité des macrophages cardiaques d'après Zaman et Epelman

Sous-populations de macrophages

En raison des différences dans le microenvironnement immunitaire, le macrophage se divise en plusieurs phénotypes et sous-classes fonctionnelles (142). La classification historique des macrophages reconnaît une population de cellules « classiques » induites par l'interféron (IFN), et une deuxième population de macrophages « régulateurs » ou « alternatifs », induits par l'IL-4 (143). Dans les années 2000, Millis et coll. ont proposé une nouvelle classification des macrophages, M1/M2, en parallèle de l'activation Th1 et Th2 lymphocytaire (144,145). M1 et M2 décrit les deux activités principales et opposées des macrophages. L'activité M1 inhibe la prolifération cellulaire et provoque des lésions tissulaires, tandis que l'activité M2 favorise la prolifération cellulaire et la réparation des tissus (144). Cette classification s'est depuis enrichie avec l'identification de sous-populations de macrophages au sein du groupe M2 (**Figure 16**).

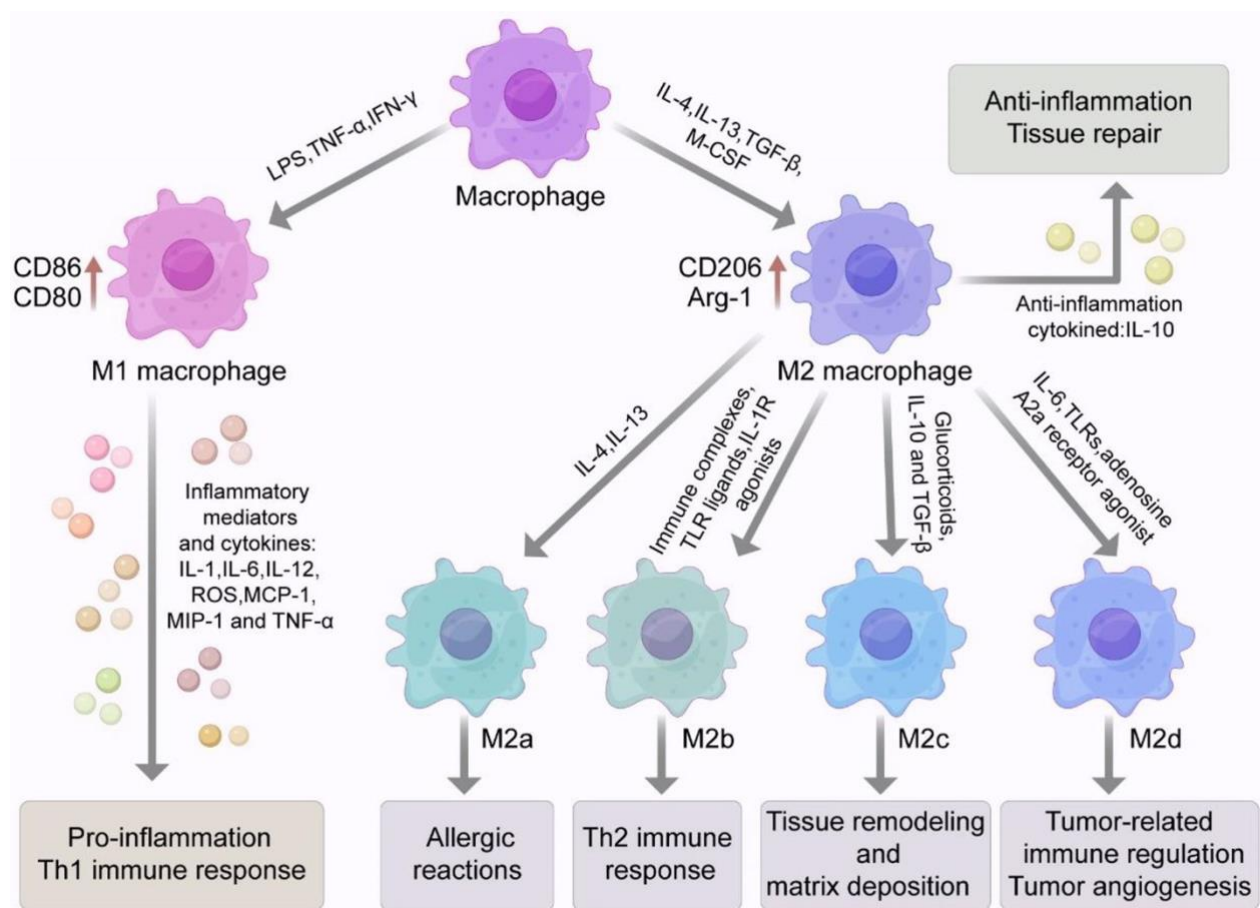


Figure 16 – Polarisation des macrophages M1 et M2, d'après Liu et coll. (146)

Cette classification dichotomique, caricaturale, obtenue initialement *in vitro* à partir de lignées immortalisées ne reflète pas la réalité biologique des situations *in vivo*. Les analyses récentes des données transcriptomiques ont en effet mis en évidence l'existence d'une gamme complète de macrophages entre les phénotypes M1 et M2 (147). Bien que plusieurs auteurs militent pour l'abandon de la classification M1/M2, celle-ci possède l'avantage de pouvoir catégoriser les macrophages en grandes familles et sous-familles aux fonctions différentes (148).

Rôles et destins des macrophages intratissulaires dans le sepsis

Mo/Mac en phase aiguë

Disparition des macrophages résidents

A la phase aiguë du sepsis, le nombre de RMac diminue rapidement dans une réaction appelée *disappearance reaction* (149). Cette disparition a été attribuée à une augmentation de l'adhérence aux tissus structurels ou à l'émigration vers les ganglions lymphatiques. Plus récemment, elle a également été associée à une augmentation de la mort cellulaire des RMac (150,151). Cette nécrose des RMac a également été observée par Hoyer et coll. à la fois au niveau rénal et cardiaque dans un modèle de CLP murin (141). Cette disparition des RMac était initialement considérée comme la conséquence d'une inflammation excessive, donc potentiellement nuisible, détruisant les effecteurs immunitaires de la défense de l'hôte. Récemment, Ginhoux et coll. ont émis l'hypothèse que cette nécrose régulée (pyroptose, nécroptose) des RMac pourrait servir de suicide altruiste, où les DAMPs libérés par les cellules nécrotiques agiraient comme un signal de danger visant à recruter des effecteurs dérivés de la lignée myéloïde (neutrophiles, monocytes) (152) (**Figure 16**). En outre, en favorisant la mort cellulaire régulée, les macrophages peuvent devenir moins disponibles en tant que niche répliquative spécifiquement pour les pathogènes intracellulaires (153,154).

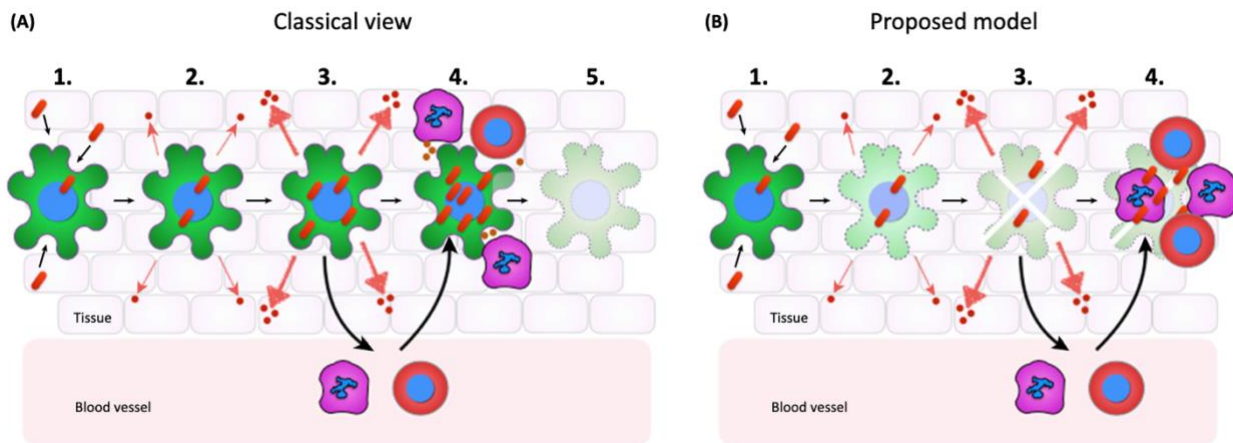


Figure 17 - Modèle des rôles des macrophages dérivés des monocytes et des macrophages résident d'après Ginhoux et coll. (A) Dans la vision classique, les macrophages sont considérés comme des cellules phagocytaires. Leur rôle étant de contenir l'infection. 1. Les bactéries (en rouge) sont efficacement englouties par les macrophages (en vert), ce qui entraîne 2. la libération de signaux inflammatoires (flèches rouges). qui 3. Augmentent en fonction de l'intensité de l'infection et induisent le recrutement de cellules bactéricides, neutrophiles (rose) et de monocytes inflammatoires (rouge). 4. Ces dernières cellules, chargées de l'élimination des bactéries et des cellules infectées, déclenchent la mort non régulée des macrophages des tissus infectés. (B) Dans le modèle proposé par Ginhoux et coll. les étapes 1. et 2. restent inchangées, mais l'ingestion des pathogènes par les macrophages résidents dans les tissus entraîne leur nécrose rapide. Cette mort cellulaire induit 3. le recrutement cellulaire et 4.

Leur disparition du tissu. Dans ce modèle, la mort des RMac n'est pas l'aboutissement passif de la réponse de l'hôte, mais au contraire un élément actif qui déclenche la réponse de l'hôte.

Rôle des monocytes infiltrant les organes

Les monocytes sont impliqués dans la réponse immunitaire précoce, englobant les antigènes et les transportant vers les ganglions lymphatiques où ils réalisent la présentation antigénique, permettant la mise en place d'une réponse spécifique de l'hôte. Les monocytes sont activés par la liaison du lipopolysaccharide (LPS) à leur récepteur membranaire CD14 au cours du sepsis à germes Gram négatif et par la voie dépendante et indépendante de CD14 au cours du sepsis à germes Gram positif (155). Le sepsis, à la différence de l'infection, se caractérise par sa distribution systémique qui n'implique pas qu'un seul compartiment de l'hôte. Il déclenche une hématopoïèse massive qui se caractérise par un recrutement intense de monocytes sur le site de l'infection mais aussi dans les organes à distance (141,156). Les monocytes inflammatoires sont essentiels pour la clairance bactérienne, les modèles de sepsis de souris dépourvues de CCR2 ont démontré une clairance bactérienne altérée et des lésions rénales aggravées (157–159).

Contrairement à d'autres modèles d'IRA ou d'atteinte cardiaque, dans le sepsis, les lésions proviennent d'organes éloignés et des DAMPs et PAMPs circulants. Dans d'autres modèles d'agression aiguë, comme les modèles d'ischémie-reperfusion rénale ou d'infarctus du myocarde, les lésions proviennent de l'organe lui-même, mettant à l'épreuve sa résilience intrinsèque. Ceci pourrait expliquer pourquoi, dans les modèles de sepsis, l'infiltration par les monocytes semble avoir un rôle protecteur (158) alors qu'elle semble avoir un effet néfaste dans d'autres modèles (160–162).

Le rôle des monocytes dans le sepsis est complexe et semble dépendre de la dichotomie fonctionnelle des sous-ensembles de monocytes circulants (163,164) (*cf supra*). Les monocytes inflammatoires classiques (Ly6c^{hi}CX3CR1^{lo}CCR2⁺ chez la souris, CD14⁺CD16⁻ chez l'homme) sont rapidement mobilisés dans le sepsis de manière CCR2-dépendante, tandis que le sous-ensemble de monocytes non classiques (Ly6c^{lo}CX3CR1^{hi}CCR2⁻ chez la souris, CD4⁻CD16⁺ chez l'homme) patrouille le côté intraluminal de l'endothélium (165). Alors que CCR2 est nécessaire à la libération des monocytes de la moelle osseuse, CX3CR1 semble jouer un rôle majeur dans leur extravasation vers le site de la lésion (166,167).

Cette aggravation des lésions rénales observée semble être médiée par une augmentation de l'inflammation systémique plutôt que par une protection rénale spécifique. Ainsi, dans un modèle d'injection de LPS, l'ablation spécifique de CCL2 (également appelé MCP1) (168) sur le tubule proximal était associée à une réduction de l'infiltration des macrophages, de l'expression des cytokines pro-inflammatoires et de l'IRA (169). Il est intéressant de noter que la suppression de la synthèse de CCL2 par les cellules myéloïdes n'a pas modifié le phénotype, ce qui suggère que le CCL2 sécrété par les cellules épithéliales tubulaires est le principal promoteur du recrutement leucocytaire pendant l'IRA.

L'autre sous-ensemble principal de monocytes circulants, appelé monocytes "résidents" (163) semble exercer un effet protecteur spécifique dans la S-IRA (170). Dans une étude récente, Chousterman et coll. ont démontré que les monocytes infiltrant le rein avaient un effet protecteur via un mécanisme d'adhésion dépendant de CX3CR1, ce qui suggère que ce sous-ensemble de monocytes pourrait avoir des propriétés bénéfiques dans le contexte septique (158).

Le devenir des monocytes infiltrés à la suite d'une infection est mal documenté. Lionakis et coll. ont constaté que jusqu'à 80 % des monocytes infiltrés se différencient en macrophages à la suite d'une infection fongique (170). Dans leur modèle de CLP, Hoyer et coll. ont constaté que malgré un doublement du nombre total de macrophages rénaux au quatrième jour, la proportion de macrophages dérivés de monocytes passait de 10 % à l'état de base à environ 20 % après infection (141).

Au niveau cardiaque

A ce jour, peu d'études se sont consacrées à la description des monocytes et macrophages intracardiaque au cours du sepsis. Dans leur étude, Hoyer et coll. remarquaient un important infiltrat du par des cellules CD64⁺CD45⁺ (141). Dans une autre étude utilisant différents modèles d'agression cardiaque (infarctus du myocarde, ischémie-reperfusion, ablation cardiomyocytaire au moyen de toxine diphtérique), Bjapai et coll. ont observé une importante mobilisation de monocytes CCR2⁺Ly6C^{high} dans leurs trois modèles d'agression cardiaque ce qui suggère une réponse stéréotypée à l'agression (171).

Sort des macrophages résidents activés et des monocytes recrutés - Phase tardive

Plasticité des macrophages, passage de M1 à M2

La plasticité et la flexibilité sont des caractéristiques clés des phagocytes mononucléaires et de leur état d'activation. La transition d'un phénotype M1 à un phénotype M2 est bien démontrée *in vitro* mais a également été décrite *in vivo* (172). Il est généralement admis que les cellules M1, classiquement inflammatoires, sont impliquées dans la phase précoce de la S-IRA, et que la phase de récupération implique des cellules M2, associées à la résolution et la cicatrisation. Cependant, on ne sait toujours pas si ce changement phénotypique implique un recrutement durable à partir de précurseurs hématopoïétiques ou une réaffectation de cellules *in situ*. Dans le cadre de la S-IRA, Li et coll. ont montré le rôle crucial du *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF, aussi appelé CSF2) dans le contrôle de la transition des macrophages d'un phénotype M1 à un phénotype M2 (173). Ils ont décrit un passage du phénotype M1 au phénotype M2 dans les cellules HK2 lorsqu'elles sont exposées au GM-CSF de manière dose-dépendante. Les auteurs ont également observé une atténuation de la S-IRA ainsi qu'une réduction de la mortalité dans leur modèle de CLP, lorsqu'ils utilisaient un inhibiteur du GM-CSF.

Macrophages M2

Après l'agression, les macrophages M2a, également appelés macrophages Arg1⁺ (41,174), infiltreront précocement les reins (173,175). Dans un modèle de CLP, ces cellules atteignent leur maximum 72 heures après le sepsis. Dans un modèle d'obstruction unilatérale de l'uretère (UUO), les monocytes Arg1 atteignent leur nombre maximum très tôt après l'agression (dans les 2 jours) et ont tendance à diminuer rapidement par la suite, avec presque aucun monocyte Arg1⁺ au jour 7 (176). Ces monocytes exercent des fonctions anti-inflammatoires en produisant un grand nombre de cytokines anti-inflammatoires (IL-10, IL-1ra) et en inhibant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL-12, IL-1, TNF α). Ces cellules peuvent passer à un phénotype pro-fibrotique sous l'influence d'un milieu inflammatoire et semblent jouer un rôle crucial dans la protection des reins après un traumatisme. Dans leur modèle d'ischémie-reperfusion (IRI), Shin et coll. (177) ont démontré que les macrophages M2a jouent un rôle critique dans la récupération rénale, en favorisant la réparation des cellules épithéliales rénales.

Rôle des Macrophages résidents

Les RMac semblent exercer des effets protecteurs à la phase aiguë du sepsis, au niveau rénal tout comme au niveau cardiaque. Au niveau rénal, Hato et coll. ont démontré que le préconditionnement à l'endotoxine permet de reprogrammer les RMac pour protéger le rein en cas d'agression ultérieure (178,179). La déplétion complète des RMac rénaux à l'aide du clodronate liposomal ou d'un modèle de toxine diphtérique (F4/80-DT) avant la S-IRA a un effet négatif avec une perte de fonction plus sévère, une inhibition de la prolifération des cellules tubulaires (173) ainsi qu'une augmentation de la sécrétion de cytokines (notamment IL-6) par les cellules endothéliales (180). Au niveau cardiaque, récemment, Zhang et coll (181) ont mis en évidence la présence d'une sous-population de RMac cardiaque TREM2⁺, qui partagent des caractéristiques phénotypiques et transcriptomiques avec les TLF. Ils ont démontré que cette population de RMac exercent un effet protecteur lors du sepsis notamment via un support métabolique aux cardiomyocytes (182).

Expansion de la population résidente

Après la disparition initiale des RMac, l'expansion du pool de macrophages se produit et peut durer de quelques jours à quelques semaines. L'augmentation des macrophages rénaux à la suite d'un sepsis a été observée dans de nombreux modèles et il a été démontré qu'elle persistait pendant des jours, voire des mois. En utilisant un modèle de *Fate Mapping*, Hoyer et coll. ont observé une augmentation du pool de macrophages rénaux à la suite d'une CLP, résultant à la fois de l'expansion des macrophages résidents et du recrutement de macrophages dérivés des monocytes (141,170).

*Rôle des monocytes et macrophages dans le *maladaptive repair**

Les mécanismes qui déterminent la réparation par rapport à la fibrose sont mal compris. En raison de leurs fonctions polyvalentes et de leurs capacités de réparation, les macrophages semblent jouer un rôle central dans ce processus (183). Au niveau rénal, la réparation inadaptée à la suite d'une S-IRA correspond au processus qui entraîne une réduction durable de la fonction rénale (généralement associée à une modification de la structure rénale ou à une fibrose) (34). Elle s'oppose à la réparation adaptée, qui correspond à la résolution de la structure et de la fonction rénale, sans séquelle à long terme. La réparation inadaptée est donc étroitement liée à la fibrose

rénale, qui implique une réduction de la densité capillaire, une réduction du flux sanguin capillaire (184).

Au niveau cardiaque, celle-ci prend la forme d'un remodelage cardiaque. Le remodelage cardiaque est caractérisé par les modifications génomiques, moléculaires, cellulaires et interstitielles qui succèdent à une lésion cardiaque, et se manifestent cliniquement par des changements de taille, de forme et de fonction cardiaque, aboutissant, dans sa forme extrême, à l'insuffisance cardiaque (185). De plus, l'expansion des fibroblastes interstitiels et des myofibroblastes joue un rôle majeur dans la réparation inadaptée, aux niveaux rénal et cardiaque (186,187).

Le rôle des macrophages dans le développement de la fibrose rénale semble admis. Les macrophages profibrotiques produisent des médiateurs tels que le TGF β 1, le PDGF et l'IGF1 qui activent directement les fibroblastes. L'abondance des macrophages CD206⁺ et/ou CD163⁺ a été corrélée à l'importance de la fibrose dans plusieurs pathologies dont la maladie rénale diabétique (188), la néphropathie à l'immunoglobuline A (189) et chez les receveurs de greffe (190). Ces résultats incriminent un sous-type spécifique de macrophages ayant des capacités profibrotiques. A notre connaissance, aucune étude n'a rapporté la présence et l'abondance de ce sous-type dans la S-IRA.

On pensait initialement que les macrophages n'avaient que des capacités profibrotiques. Plusieurs modèles d'IRA ont associé la déplétion des macrophages à une réduction de la fibrose (191). Toutefois, ce paradigme a été récemment remis en question par plusieurs observations qui ont établi un lien entre les macrophages et la régénération des tissus. Dans leur modèle de néphropathie à l'adriamycine, Wang et al ont démontré que la perfusion de macrophages polarisés M2 pouvait réduire la fibrose alors que la perfusion de macrophages polarisés M1 (via l'utilisation de LPS) était responsable d'une augmentation de la fibrose (192). Depuis, plusieurs auteurs ont mis en évidence que le microenvironnement rénal et l'agression subséquente peuvent façonner le phénotype des macrophages rénaux et les polariser vers la régénération ou la fibrose (193).

Perspectives thérapeutiques

Effet des agressions cumulées

Les altérations en nombre et en phénotype des macrophages intra-tissulaires, ainsi que le remplacement de certains macrophages embryonnaires par des dérivés hématopoïétiques, pourraient en partie expliquer l'effet supra-additif des agressions répétées observé dans les quelques modèles dédiés (36,194). Un certain nombre d'évidences suggère que les modifications épigénétiques des macrophages impactent leur réponse ultérieure en cas de stimulus. Ce concept d'immunité entraînée (*trained immunity*) a été mis en évidence par Mihai Netea (195). Des modifications épigénétiques, au niveau des macrophages résidents, mais aussi au niveau des précurseurs hématopoïétiques, pourraient expliquer le phénotype observé de réparation inadaptée au décours du sepsis, tel qu'observée chez l'homme (36,90,194). Ces modifications expliqueraient notamment la moindre résilience en cas de nouvelle agression ou d'agression chronique (196). Dans cette perspective, une meilleure sensibilisation vis-à-vis des agressions répétées (récidive d'état de choc, séance d'épuration extra-rénale) et chroniques (hypertension, diabète) permettrait d'améliorer le pronostic des patients survivants du sepsis. A ce titre les résultats des études START-or-NOT (NCT05272878) et DAPA-ICU (à venir) visant spécifiquement à prévenir l'hypertension artérielle chez les survivants du sepsis devraient apporter quelques éléments de réponse.

Cibles thérapeutiques potentielles

À l'avenir, la modulation du recrutement des leucocytes dans les organes pourrait avoir des effets protecteurs ; en effet, plusieurs études ont suggéré que le blocage sélectif du recrutement des monocytes ou de l'activation des macrophages pourrait diminuer l'inflammation et prévenir la réparation inadaptée (197).

Blocage de la voie de l'IL-6

L'IL-6 est une cytokine pro-inflammatoire majeure qui est libérée à un niveau élevé pendant le sepsis (198). Au cours du sepsis, les taux d'IL-6 sont plus élevés chez les patients les plus graves, et lorsqu'ils sont associés à une IRA (199), ce qui suggère un rôle pathogène possible de l'IL-6 dans la S-IRA. Les traitements visant à atténuer la signalisation de l'IL-6 ont gagné en crédibilité en raison de leur efficacité dans les formes les plus graves de la maladie à coronavirus 2019 (COVID-

19) (200). Dans une étude récente, Privratsky et coll. ont démontré que les macrophages rénaux F4/80^{hi} (macrophages de sous-type M2a) pouvaient limiter la S-IRA par la sécrétion d'IL1- α qui elle-même limitait la production d'IL-6 par les cellules endothéliales (180).

Hepcidine

L'hepcidine est une hormone régulatrice du fer, elle est sécrétée par les hépatocytes pendant le sepsis, en réponse à l'IL-6. Elle est responsable d'une hypoferrémie (201). On pense que cette protéine agit comme un mécanisme de protection visant à diminuer les concentrations de fer disponibles pour les bactéries extracellulaires. L'hepcidine est également connue pour limiter l'inflammation dans les modèles de macrophages stimulés par le LPS (202,203) ce qui en fait une cible appropriée dans le sepsis. Récemment, Scindia et coll. ont démontré qu'un prétraitement à l'hepcidine pouvait réduire la mortalité et l'intensité de la S-AKI dans un modèle murin de CLP et d'injection de LPS(204). Dans cette étude, l'effet protecteur de l'hepcidine était lié à la fois à ses propriétés antiseptiques et immunosuppressives.

Blocage du CD38

Le CD38 est une glycoprotéine transmembranaire exprimée sur divers types de cellules immunitaires, allant des cellules NK aux cellules B, aux cellules T, aux plasmocytes, aux DC et aux monocytes. L'activation du CD38 a été liée à la sécrétion de diverses cytokines pro-inflammatoires. On pense qu'il joue un rôle crucial dans la stimulation d'une réponse pro-inflammatoire dans de nombreux types de cellules immunitaires (205). Plusieurs auteurs ont suggéré un bénéfice possible du blocage de la voie CD38 dans des modèles animaux de sepsis (206). Shu et coll. ont démontré qu'il pouvait agir sur la polarisation des macrophages rénaux via l'activation de la voie NF- κ B et diminuer l'activation classique des macrophages induite par le LPS (207).

Blocage du système rénine-angiotensine-aldostérone

Le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) est fortement dérégulé dans le contexte septique (208). Et l'angiotensine II, le principal effecteur du SRAA, a été reconnue comme un important effecteur de l'inflammation dans le contexte septique (209,210). Par conséquent, cibler le SRAA semble séduisant dans le contexte septique (211). Dans le rein, l'angiotensine II exerce

un effet vasoconstricteur sur les artérioles post-glomérulaires, mais elle affecte également la croissance cellulaire et favorise la fibrogenèse (212). Les macrophages sont sensibles à l'angiotensine II via l'expression de l'AT1R, le principal récepteur de l'angiotensine 2. Dans un modèle de lésions rénales dues à l'athérosclérose, Yamamoto et coll. ont démontré que l'activation de la voie angiotensine 2-AT1R dans les macrophages rénaux pouvait aggraver les lésions rénales par la polarisation des macrophages vers un phénotype M1 compatible avec une altération de l'efferoctose et une augmentation de l'apoptose (213). Pour l'instant, aucune étude n'a exploré correctement la voie angiotensine 2-AT1R dans les macrophages rénaux dans les modèles de sepsis. Le SRAA provoque une fibrose rénale par l'activation de la voie Wnt/cathénine(214). La signalisation Wnt est l'une des cascades clés régulant le développement et le caractère souche, plusieurs auteurs ont souligné le rôle central de la voie Wnt dans la résolution de l'inflammation suite à une agression dans plusieurs modèles d'IRA (215,216).

Objectifs du travail

Le sepsis survient à la suite d'une activation complexe de l'immunité innée en réponse à un agent infectieux. Il se définit comme une défaillance potentiellement mortelle en réponse à une infection. Il touche chaque année un nombre croissant d'individus avec un taux de mortalité important. Dans les pays développés, la prise en charge du sepsis à la phase aiguë s'est transformée ces dernières années, conduisant à une nette amélioration du pronostic. L'amélioration du pronostic a révélé de nouvelles complications à la phase retardée, chez les patients survivant à l'épisode aiguë. En effet, plusieurs études ont observé que les survivants du sepsis présentaient un surrisque de maladies cardiovasculaires et rénales, d'autant plus important si ceux-ci avaient présenté une défaillance aiguë, réversible de ces mêmes organes. Cette accélération de l'insuffisance rénale chronique et de l'insuffisance cardiaque pourrait être imputable à des perturbations immunitaires systémiques prolongées.

L'une des caractéristiques du sepsis et du choc septique est le recrutement massif de monocytes provenant de diverses sources, notamment de la moelle osseuse et des organes hématopoïétiques, dans le cadre d'un processus appelé hématopoïèse d'urgence. Mobilisés rapidement dès l'infection, les monocytes peuvent se différencier en monocytes non classiques ou donner naissance à des macrophages dérivés des monocytes (217).

Les RMac se multiplient indépendamment de l'hématopoïèse d'urgence, ils sont généralement qualifiés comme étant moins inflammatoires que les MoDMac. Cependant, en fonction de l'organe et de l'agression, plusieurs auteurs ont observé qu'ils pouvaient jouer des rôles différents. L'augmentation observée de la population de macrophages après la phase aiguë du sepsis peut reposer à la fois sur le recrutement de monocytes et sur la prolifération locale des RMac, bien qu'aucune démonstration n'ait jamais été faite à ce sujet. À un autre niveau, l'inflammation globale due à la libération massive de cytokines ainsi que le niveau élevé de PAMPs et de DAMPs circulants affectent très probablement les macrophages résidents et les monocytes dans leur nombre et leurs phénotypes. Ces deux phénomènes co-existant ont très probablement des conséquences à long terme, renforçant ou compromettant la résilience de l'organe face à une agression ultérieure.

Dans la présente étude, nous nous sommes concentrés sur les reins et le cœur, les deux organes les plus importants et qui contribuent le plus aux risques à long terme des survivants du sepsis. Au moyen d'un modèle de sepsis sub-léthal, nous avons analysé le nombre et le sous-type des macrophages tissulaires ainsi que leur évolution dans le temps. En utilisant un modèle de *FateMapping*, nous avons pu déterminer la participation respective des MoDMac et l'expansion des RMac. Les analyses scRNAseq du cœur et du rein ont montré des modifications profondes et durables du paysage leucocytaire intra-tissulaire. Ces changements étaient associés à une augmentation de la mortalité et de la fibrose tissulaire lorsque des souris septiques étaient soumises à une nouvelle agression.

Article

Tissue macrophages stem sepsis induced altered organ repair

Par Charles de Roquetaillade et coll. – article soumis à publication

Tissue macrophages stem sepsis induced altered organ repair

Charles de ROQUETAILLADE (1) ; Manon DURAND (1) ; Victor BEAUCOTE (1) ; Antoine BOROUCHE (1); Pierre-Louis BLOT (1); Jeremy GUILLEMIN (1); Sehmi MANSOURI (1); Jovana BROĆIĆ (2); Emeline CHERCHAME (2); Malha SADOUNE (1); Adrien PICOD (1); Christos CHADJICHRISTOS (3); Jane-Lise SAMUEL (1); Romane LAFONTAINE (1); Nahid TABIBZADEH (4); Etienne GAYAT (1); Alexandre MEBAZAA (1); Benjamin Glenn CHOUSTERMANN (1)

(1) Department of Anesthesiology and Critical Care, Hopital Lariboisiere, FHU PROMICE, DMU Parabol, AP-HP. Nord, Paris, France and Inserm U942 MASCOT, Paris, France.

(2) Paris Brain Institute (ICM), Hôpital Pitié-Salpêtrière, Inserm U 1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne Université, Data Analysis Core Platform, Paris, France.

(3) Inserm U1138, INSERM-UPC, Centre de Recherche des Cordeliers, Paris, France

(4) UMR-S1155 INSERM-Sorbonne University, Tenon Hospital, 75020, Paris, France

Corresponding author:

Charles de Roquetaillade, U942 MASCOT, INSERM-Université de Paris, Hôpital Lariboisière ; 43

boulevard de la Chapelle 75475 Paris Cedex 10

Telephone : +33 (0)1 53 21 67 60 ; Mail : charles.de-roquetaillade@aphp.fr

Keywords: Sepsis; immunity; Chronic kidney disease ; chronic heart failure ; macrophages

ABSTRACT

Sepsis is the most severe form of infections. It is frequent and severe. Awareness regarding long-term consequences of sepsis, after ICU discharge, is rising. Sepsis survivors face an increased risk of developing organ failure such as chronic kidney disease or heart failure. While numerous studies investigated the early immune mechanisms involved during sepsis, the pathophysiology of those long-term phenomenon has been poorly investigated. Here we showed that sepsis causes transient organ failure but induces an increase of tissue macrophages. Fate mapping study show that the rise in macrophages numbers is mainly due to recruited monocyte-derived macrophages. scRNAseq analyses of heart and kidney show that monocyte-derived macrophages have a distinct transcriptomic signature with pro-inflammatory and pro-fibrotic features. This change in tissue macrophage landscape is associated with an increase in mortality and tissue fibrosis when septic mice are undergoing an angiotensin-2 challenge. Our findings suggest that macrophage stem sepsis-induced altered organ repair and could represent a therapeutic target to improve septic patient long-term outcomes.

INTRODUCTION

Sepsis is defined as a life-threatening organ failure due to a dysregulated host response to an infection (1). It affects annually approximately 45 million individuals with an increasing incidence and is responsible for approximately 11 million deaths annually which makes it the 3rd most frequent cause of death after cardiovascular diseases and cancer(2). During sepsis, cardiac and renal failure are frequent. Due to improvement in patient management, most patients presenting with sepsis survive the acute episode and may leave hospitals with apparent recovery. However, sepsis has a high mid- and long-term morbidity and mortality(3–5).

Despite apparent recovery, recent studies highlighted that sepsis survivors had impairment in their quality of life and increased risk of developing chronic organ failure and especially cardio-renal diseases (CRD), *i.e.* chronic kidney disease and heart failure. This accelerated CRD increases the risk of rehospitalization, need for RRT and increases the risk of death (3–5). These phenomena could be attributable to prolonged systemic immune disturbances.

A hallmark of sepsis and septic shock is massive recruitment of monocytes from various sources including bone marrow and hematopoietic organs in a process called emergency hematopoiesis(6). Mobilized quickly upon infection, monocytes can differentiate to patrolling monocyte or give rise to monocyte-derived macrophages(7).

Tissue-resident macrophages that multiply independently of emergency hematopoiesis are usually recognized as less inflammatory than monocyte-derived macrophages(8) and originate from other source than monocytes(9). However, depending on the organ and challenge several authors have observed various phenotypes(8,10). The observed increase in macrophage population after sepsis growth may rely on both monocyte recruitment and local proliferation although no proper demonstration of this was ever made(11,12). On another level, the global inflammation due to massive cytokine release together with the high level of circulating PAMPs and DAMPs most likely affect resident macrophages and monocytes in their number and

phenotypes. Those two coexisting phenomena most likely have long-term consequences, either bolstering or compromising the organ resilience to subsequent challenge.

In the present study, we focused on kidney and heart, the two most important organs contributing to post-sepsis outcome and risk of rehospitalization. Our results show that sepsis causes transient organ failure and induces an increase of tissue macrophages. Fate mapping study show that the rise in macrophages numbers is mainly due to recruited monocyte-derived macrophages. scRNAseq analyses of heart and kidney show that monocyte-derived macrophages have a distinct transcriptomic signature with pro-inflammatory and pro-fibrotic features. This change in tissue macrophages landscape is associated with an increase in mortality and tissue fibrosis when septic mice are undergoing an angiotensin-2 challenge. Our findings suggest that macrophages stem sepsis-induced altered organ repair and could represent a therapeutic target in order to ameliorate septic patient long-term outcomes.

RESULTS

Sepsis causes transient and reversible organ dysfunction

In order to better understand long-term consequences of sepsis, we developed a model of cecal ligation and puncture (CLP) associated with low mortality (“sub-lethal”) while inducing obvious clinical signs of sepsis (**Figure 1A**)(13). In our experimental conditions, mice experienced an important weight loss (10-15%) during first days as well as behavioral changes (for clinical score details, see **expanded method in Supplementary Material**). Surviving mice experienced a return to normal weight and behavior by day 14. Mortality rate ranged between 20-25% at day 21. During the acute phase of sepsis, mice experienced multiple organ failure: acute kidney injury was confirmed by transient alterations in kidney function biomarkers (urea and creatinine) (**Figure 1B**). Increment in creatinine and urea peaked at day 1 and returned to normal values from day 2 and thereafter. Histological analyses of kidney retrieved no fibrosis following sepsis

up to 90 days (**Figure 1C**), whereas, intense leukocytic infiltration was visible and persisted up to day 14. Analyses of kidney weights, a surrogate for tubular atrophy(14), retrieved no argument in favor up to 90days after the episode. Septic mice also experienced sepsis-induced cardiomyopathy. This was demonstrated by a decrease in shortening fraction measured by echocardiography together with no modification of heart rate (**Figure 1B**). Those alterations were visible by day 1 and returned to normal values by day 4. After resolution of cardiac failure, histological analyzes with Sirius Red revealed no fibrosis up to day 90 (**Figure 1D**). Taken together, our results demonstrate that sepsis is characterized by transient and reversible organ failure, but is not sufficient by itself to induce long term fibrosis at the intra-organ level.

Sepsis induces profound and durable alterations of intra-organ macrophages number and subsets.

In order to understand how sepsis may impact long term outcomes and organ function, we investigated the role of tissue macrophages after sepsis. Several studies have shown that tissue macrophages promote and are necessary for tissue repair after acute injury in various organs (15–18). Using our model of sublethal sepsis, we analyzed the abundance and subsets of macrophages in heart and kidney over time (**Figure 2 and supplementary Figure 1**). Recently, Dick et al. showed that tissue macrophages are composed of 3 subsets conserved throughout species (19). These subsets are identified as TLF⁺ (Timd4⁺Lyve1⁺FoIR2⁺), CCR2⁺ (Timd4⁻CCR2⁺MHC2⁻) and MHC2^{hi} (CCR2⁻Timd4⁻MHC2^{hi}) that can easily be identified by flow cytometry using a gating strategy focused on Timd4 and CCR2 (19). These subsets have been shown to differ by origin and life cycle. Briefly, TLF⁺ resident macrophages comprise a pure population of self-renewing embryonic (yolk sac and fetal liver derived) macrophages. MHC2^{hi} macrophage, comprises another self-renewing, embryonic-derived population with a different transcriptomic and cell-surface signature. Monocyte-derived macrophages enter organs with a CCR2⁺ transcriptional program (20). We therefore explored tissue macrophages temporal evolution using this classification.

In the kidney, at steady state, tissue macrophages were represented by a majority of MHC2^{hi} macrophages and a lower proportion of CCR2⁺ macrophages (nearly 20%). As previously observed, we found very few TLF⁺ macrophages (less than 1%)(19). Salei et al. showed that in the kidney, TLF⁺ macrophages were replaced by phenotypically similar cells within a few weeks after birth (21). After sepsis, we observed a dramatic increase in the number of macrophages in the organs, starting on day 2 and peaking on day 4. This increase in macrophage number lasted for several weeks and continued until day 21 (**Figure 2A**). Phenotypically, we observed an almost complete disappearance of the TLF subset after sepsis. The increase in renal macrophages was initially due to the expansion of the CCR2⁺ subset (day 2) rapidly followed by expansion of both the MHC2^{hi} and CCR2⁺ subsets. While the MHC2^{hi} subset was the most abundant at baseline, CCR2⁺ macrophages tended to be more abundant in the subacute phase and beyond.

In the heart, we found a different repartition of tissue macrophage subsets at baseline. The heart is one of the few organs with a persistent pool of yolk sac and fetal liver-derived tissue macrophage population with self-renewing capacity(22). This TLF⁺ population represented 30-40% of tissue macrophages at baseline, while MHC2^{hi} represented 50% (**Figure 2B**). At steady state, the proportion of CCR2⁺ macrophage was low, around 5-10%. As in the kidney, we observed a dramatic increase in the number of macrophages after sepsis. However, the number of cardiac macrophages increased somewhat later (from day 4) and showed a decrease after day 14. The CCR2⁺ subset of macrophages tended to become more prominent by day 2 while the MHC2^{hi} subset was stable. We observed a reduction in the number of TLF⁺ macrophages during the first days after sepsis, however, the total number of TLF macrophages increased after day 4. This observation suggests a possible differentiation of monocyte-derived macrophages or an expansion of the TLF pool. Dick and colleagues have shown in a previous study that this subpopulation is capable of self-renewal in adulthood with little involvement of hematopoietic progenitors, but this has never been documented in a septic model (22).

Taken together, these findings suggest that, despite apparent recovery from acute organ failure, flow cytometry analyses of tissue-macrophage subsets demonstrated profound and long-lasting alterations of macrophage number and subsets following sepsis. In both organs we observed a

clear increase of CCR2⁺ macrophages. Although several authors have suggested those cells were most likely to be monocyte-derived macrophages, no proper demonstration was made in the context of sepsis. Thus, while acute organ dysfunction normalizes rapidly, sepsis triggers a long term and profound *immunological scar* that could further impact tissue ability to react to new insults.

Sepsis induces intense and sustained hematopoietic response arising from both bone marrow and splenic reservoirs.

Sepsis induces a rise in tissue macrophages numbers that is mainly due to recruited monocytes. Emergency hematopoiesis has been shown to be a crucial contributor to early phase inflammatory response while another study showed that there were two waves of monocytes release after sepsis onset(23). We therefore investigated bone marrow and splenic response to sepsis during a longer time period. The spleen has been demonstrated to play an important part in emergency hematopoiesis during sepsis(24). We compared lineage⁻ ckit⁺ sca-1⁺ (LSK) progenitor cells between sepsis and control in bone marrow and spleen (**Figure 3** and **Supplementary Figure 1**). We found that sepsis induced a modest expansion of LSK in the bone marrow, but a strong increment of LSK was noted in the spleen, peaking at day 8 and lasting until day 14. The number of downstream granulocyte macrophage progenitors (GMPs) and myeloid derived progenitor (MDPs) increased strongly after day 2 with a sustained myelopoiesis of spleen and bone marrow lasting until day 21.

These observations indicate that despite apparent resolution of clinical signs and systemic inflammation, there are strong contributions of both bone marrow and splenic reservoir to the sustained recruitment of monocyte-derived macrophages after sepsis. This exacerbated myelopoiesis that lasts for several weeks likely associates with phenotypical switch of tissue macrophages that could contribute to long-term sepsis immune disturbances.

Fate mapping analysis identifies monocytes-derived macrophages as the main source of tissue macrophages expansion during sepsis

Macrophages expansion in tissue during sepsis raises the question of the origin of these new macrophages, *i.e.*, the contribution of self-expansion of tissue resident macrophages versus the recruitment of circulating monocytes that will transform into macrophages once they enter the tissue. We showed earlier that macrophages phenotype and number evolve over time; it is crucial to understand the respective roles of locally expanded versus recruited cells.

We developed a fate mapping model following the previous description by Kretzschmar et al. (25) using tamoxifen inducible Cx3cr1CreER⁺R26tdTomato⁺ mice (7) (see **method section** for detail). This model takes advantages of the long lifespan of macrophages which express CX3CR1 compared to the short life of circulating monocytes whose progenitors does not express CX3CR1. Prior studies have shown robust induction of reporter gene expression in CX3CR1-expressing resident macrophages, and transient labeling of blood monocytes(12,19,26). Six- to ten-week-old c57Bl6 mice were fed using tamoxifen-containing chow for 10 days (**Figure 4A**). By day 10, complete Cre recombinase induction was confirmed by flow cytometry, with 100% Tomato (Tdt) retention in blood monocytes and tissue macrophages of the kidney and heart. (**Figure 4B.**). After a period of washout of 21days, we observed a complete disappearance of Tdt expression in circulating monocytes suggesting complete renewal of the circulating monocyte pool every 21 days while tissue macrophages still expressed Tdt. Thus, in our fate mapping model, resident macrophages remain Tdt positive for a long time, allowing identification of their origin as tissue-resident macrophages (Tdt⁺) or monocyte-derived macrophages (Tdt⁻).

Surprisingly, we found that up to 30-40% of kidney and heart tissue macrophages were replaced by circulating monocytes after 21 days of washout. (**Figure 4B.**) Those findings are coherent with the recent data of Dick et al. who found a 50% washout of kidney and cardiac tissue macrophages every 4 weeks(19). Immediately following sepsis (day 4), we observed a decrement of Tdt⁺ macrophages in both kidney and heart (**Figure 4C.**) which indicates a disappearance of resident macrophages during the first days of insult. This phenomenon is known as the *disappearance reaction* and was described in other models such as viral infection

or *Listeria* infection but was never described in sepsis(27,28). Recently, Ginhoux *et al.* hypothesized that regulated necrosis of tissue resident macrophages could trigger the recruitment of granulocytes and monocyte-derived macrophages(29). Later, at day 14, we observed an increase in the number and proportion of Tdt⁺ macrophages. These results indicate an expansion of the resident pool in the subacute phase since Tdt⁺ is transmitted to cell descendance(30). Our results are in line with recent studies who also reported the self-expansion capacities of intra-organ macrophages(31,32), however, this was never reported in the septic context. We also observed a recruitment of monocyte-derived macrophages (Tdt⁻) from day 4 to day 14, which were largely responsible for the increase in total macrophage numbers, as resident macrophages tended to return to baseline number (**Figure 4C**). These results were confirmed by immunofluorescent staining of kidney sections among Cx3cr1CreER⁺R26tdTomato⁺ mice (**Figure 4D**). Altogether, our results show that tissue macrophages evolve after sepsis in terms of number, phenotype, and origin with a contribution of both hematopoietic stem cell engraftment and proliferation of tissue-resident macrophages with the latter being delayed as compared to emergency hematopoiesis. Interestingly, we found that tissue-resident macrophages tended to regain their anterior number, while most of the increased number of tissue macrophages was due to the recruitment of monocyte-derived macrophages.

Single cell characterization of monocytes and macrophages in the organs during sepsis

Tissue macrophages expansion observed in the organ after sepsis could be associated with a modification of the transcriptional landscape of these cells of both tissue-resident macrophages and monocyte-derived macrophages. To decipher the phenotype of tissue macrophages, we examined their transcriptome profile at baseline and at day 14 after sepsis, when the mice had apparently recovered clinically. Intra-organ myeloid cells (live⁺CD45⁺CD11b⁺) were flow-sorted from kidney and heart at steady state and at day 14 after CLP (n=3 per condition for each timepoint) (**Figure 5 and supplementary figure 3**). After exclusion of few contaminants, and unwanted cells (dying cells, lymphocytes and neutrophils), a total of 7642 and 963 quality-

controlled cells were selected for analysis of the kidney and heart, respectively. To further characterize the myeloid cell heterogeneity and phenotype, we run an unsupervised clustering on intra-organ myeloid cells which retrieved 12 clusters in the kidney and 7 clusters in the heart (**Figure 5A & 5D**). Clusters were annotated on the basis of canonical markers of macrophages (*Fcgr1*, *C1qa*, *C1qb*, *C1qc*, and *Mafb*), monocyte (*Plac8*, *Ly6c2*, *Ace*, and *Chil3*), and DCs (*Itgae*, *Clec9a*, *Xcr1*) (**Figure 5C & Supplementary Figure 4**). Identification of sub-clusters was made on the basis of previously published literature on tissue macrophages heterogeneity in health and disease (20,33–36).

Sepsis triggers accumulation and differentiation of pro-fibrotic monocytes in the organs

In the heart and kidney, we identified two clusters of monocytes. One sub-cluster was identified as patrolling monocytes due its high expression of *Cx3cr1*, *Ace* and *Pglyrp1* (**Figure 6B and 6E**) (33). The second cluster of monocytes was identified as *Ly6C*⁺ due to their high expression of *Ly6c2* and *Chil3*. *Both monocyte subpopulations increased at day 14 after sepsis (Figure 5B & 5E)*. *Since patrolling monocytes derive from Ly6C⁺ exclusively(7,37), one can hypothesize that both subsets derive from initially recruited Ly6C⁺ cells. Population of monocytes, both Ly6C⁺ and patrolling, harbored pro-fibrotic gene expression with high expression of Tgfb1, Tgfbi. Ly6C⁺ monocytes expressed gene of extracellular matrix (ECM) component (Fn1, Ecm1) while patrolling monocytes harbored high expression of ECM crosslinkers (Tgm2). Both subpopulations expressed high levels of amphiregulin (Areg), a gene that has been shown to amplify the profibrotic response to EGFR(38).*

Pathway analyses confirmed that patrolling monocytes were enriched in TGF- β signaling and fibroblasts growth factor (FGF) signaling (**Figure 6A & 6D**). Interestingly, *none of the monocyte clusters expressed Arg1(39)*, suggesting that *Arg1⁺ monocytes*, which have been shown to peak early after sepsis (within 72h) (40) may have either disappeared or transitioned to become *monocyte-derived macrophages(33)*.

Macrophage heterogeneity after sepsis

We identified 5 macrophage clusters in the kidney, and 4 in the heart with different phenotypic signatures.

In the kidney

In the kidney, we defined a first cluster corresponding to kidney resident macrophages (“local” cells), which had high expression of *Gpx3* and *Hspg2* (**Figure 6C**). *Hspg2*/Perlecan is a matrix stabilizing proteoglycan(41) and GPx enzymes promote hydrogen peroxide metabolism and protect cell membrane structure and function from oxidative damage(42). This cluster tended to decrease after sepsis (**Figure 5B**) suggesting a depletion in anti-inflammatory, protective, macrophage subset following sepsis.

Another subset of macrophages similar to kidney resident macrophages harbored high expression of the pro-inflammatory transcription factor *Nfkb* (*Nfkbiz*) and high level of *Cxcl2*. This chemokine is crucial for monocyte recruitment in the injured kidney(43). This cluster might account for the intense and sustained monocyte infiltration into the kidney after sepsis. The number of pro-inflammatory macrophages was relatively stable over time. However, the transcriptomic profile of these cells switched between Sham-operation and sepsis to a pro-inflammatory program with an increase of interleukin 6 signaling, increased oxidative phosphorylation and glycolysis (**Figure 6A**).

A third macrophage cluster expressed high level of *Mrc1* which encodes for mannose receptor and bear reparative properties(44). Those cells expressed highly scavenging receptors (*Mrc1*, *Fcrls*, *Stab1*) (**Supplementary Figure 4**) which indicates that they might play a role in the repair of extracellular matrix. This subset had high expression of *ApoE* which has been shown to have anti-inflammatory and regenerative capacity (15,45). Those macrophages also had high expression of *Igf1*. Several models of injury have demonstrated that macrophage were abundant

source of *Igf1* which act in favor of tissue repair(17,46). Pathway analyses revealed that those cells activated after sepsis (**Figure 6A**).

While *Mrc1*⁺ macrophages tended to decrease after sepsis, we identified another subset of macrophage whose number tended to dramatically increase after sepsis. Phenotypically, this cluster was very similar to *Mrc1*⁺ macrophages but exhibited higher expression of *Ms4a7*. Due to their relatively high expression of *Ccr2*, we hypothesized those cells could be monocyte-derived macrophages. However, unlike other resident *Mrc1*⁺ macrophages, these macrophages did not express *Igf1*. Those cells harbored less ability to processing and antigen presentation as compared to other macrophages clusters (**Figure 6A**) suggesting a possible role in tissue repair.

We found a last population of macrophages which expressed high levels of *Mmp12*. Those cells were relatively abundant among control mice but nearly disappeared after sepsis. *Mmp12* is a macrophage-specific metalloproteinase suggesting those cells might be involved in matrix remodeling for tissue repair. *Mmp12*⁺ expression was identified as a reparative macrophage phenotype in a model of liver fibrosis (47). Since their number dramatically decreased after sepsis, one can hypothesize their absence might be responsible for protracted fibrosis after sepsis.

In the heart

In the heart, we identified 4 subsets of macrophages with different phenotypes and distributions.

We identified a cluster of resident macrophages, as seen in the kidney, that expressed high level of *Hspg2* and *Gpx3*, those cells decreased drastically after sepsis. Their transcriptional profiles evolution between Sham and sepsis showed an attenuation of their antigen cross presentation abilities and therefore reduced inflammatory signal transmission and tissue clearing (**Figure 6D**).

Another macrophage cluster identified had high expression of *Mrc1* and *Apoe*. Those cells had also high expression of *Trem2* and *Mertk*. Recently, Zhang et al. have demonstrated that TREM2^{hi} macrophages could protect the septic heart by scavenging cardiomyocyte's dysfunctional mitochondria. Trem2 deficiency in macrophages was responsible for defective elimination of damaged mitochondria, and exacerbated cardiac dysfunction(34). Since those cells tended to decrease after sepsis, we hypothesize they might be involved in long term cardiac dysfunction and fibrosis.

We identified a unique subset of macrophages named IFN-induced macrophages, those cells had high expression of the cytokine receptor *Il1r2* and interferon stimulated genes (*Isg15*, *Ifitm1*). They mainly express pro-inflammatory pathways (**Figure 6F**).

Last, another subset of macrophages had high expression of *Ccr2*. Those cells were most likely monocyte-derived due to their high expression of *Ccr2* and their relatively high expression of monocyte-associated genes (*Chil3*, *Ly6c2*). Their number increased after sepsis; They had high expression of pro-fibrotic genes (*Tgfb1*) and extracellular matrix component (*Fn1*) which suggest they might be responsible for cardiac remodeling after insult. They express TNF. We could not identify a Mmp12⁺ macrophage cluster in the heart.

Taken together, we observed large amplitudes change of tissue macrophage landscape in the organs after sepsis. The recruited monocyte-derived macrophages appear to be the stem for inflammatory and pro-fibrotic processes.

Sepsis causes altered organ repair after second hit

Sepsis induces transient organ failures but impacts in the longer-term the network of tissue macrophages with a recruitment of monocyte-derived pro-inflammatory and pro-fibrotic macrophages. The impact on tissue repair of these changes had yet to be evaluated. To do so, we create a clinically plausible double-hit model. Schematically, mice undergo sham-operation

or sub-lethal CLP and were exposed at day 14 to the implantation of a micro-osmotic pump delivering angiotensin 2 in addition to salty drinking water (NaCl 2%) (**Figure 7A**). This model mimics a classical feature seen in patients after sepsis, which develop a hyper-angiotensin-2-like phenotype with an acceleration of cardio-renal disease. Angiotensin-2 induces severe hypertension in sham or CLP-operated mice (**Figure 7B**). We observed a dramatic increase in 28-day mortality in CLP-operated mice compared to Sham-operated ($p < 0.01$) (**Figure 7C**). We did not find in post-mortem analyzes any aneurysm rupture in the peritoneal cavity nor in the brain.

When looking at the organ level, we found no clear evidence of altered renal function using classical biomarkers but tubular atrophy that was identified as an adequate proxy for reduced kidney function(14)(**Figure 7D & E**); Angiotensin-2 infusion led to an increase of cardiac mass together with a decrease of contractility without differences between groups. We found sign of accelerated cardio-renal disease with intra-organ fibrosis at day 28 after angiotensin-2 infusion that was dramatically increased in septic mice as compared to sham-operated mice both in heart and kidney.

These results show that sepsis may not cause fibrosis or long-term impairment *per se* but render the tissue unable to repair adequately after secondary insults. Tissue macrophages are essential for tissue repair, the altered repair ability phenotype fits well with the spatio-temporal reorganization with a pro-fibrotic phenotype of tissue macrophages after sepsis. These data explain well clinical findings of long-term organ failure development after sepsis that could correspond to the reaction to repeated tissue aggression during hospitalization for sepsis and subsequent acute events.

DISCUSSION

Awareness regarding long-term sepsis consequences is increasing worldwide. Sepsis is a frequent and severe condition with a high short-term mortality. However, it appears that most of

the morbidity and mortality attributable to sepsis is due to mid- and long-term impact on ICU survivors(48). Sepsis is associated with a high rate of rehospitalization in the month following sepsis event and with an increased risk of developing kidney and heart failure in the long term(4,5,49–51). The mechanism leading to long term translation of acute sepsis event has been poorly investigated to date. In the present study, we show that sepsis causes an insult to the tissue leading to transient organ failure but also induces long-term reorganization of macrophages populations landscape in the organs. Changes in the transcriptional profiles of tissue resident macrophages and recruitment of monocyte-derived macrophages are observed and picture a pro-inflammatory and pro-fibrotic state of those tissue immune cells. Consequently, the tissues are unable to repair properly after a second hit. Altogether, our data suggest that macrophage populations within tissue contribute to altered organ repair observed after sepsis and could therefore represent a new therapeutic target.

Sepsis, cardiovascular diseases and chronic kidney failure have been linked by numerous observational studies. The occurrence of acute kidney injury during sepsis hospitalization was a major risk factor to develop chronic kidney disease

Sepsis, cardiovascular diseases and chronic kidney failure have been linked by numerous observational studies(4,5). The occurrence of acute kidney injury during sepsis hospitalization was a major risk factor to develop chronic kidney disease. Heart and kidney both recruit thousands of circulating myeloid cells during sepsis, those cells seem to have a protective role in the acute phase, protecting the septic organs from remote injury(52). However, switching phenotype is crucial for monocyte-derived macrophage to favor healing versus fibrosis in various contexts(16,53,54) failure to do so may be responsible for the maladaptive repair observed in various condition(55). In this perspective, we hypothesized that a second hit occurring before complete intra-organ immune restoration (immune reset) but after apparent recovery, might favor emergence of fibrosis and tissue atrophy over tissue regeneration.

To date, there was no model that allow to study tissue impact of long-term sepsis induces immune disturbances. We decided to generate a two-hit model that resemble a frequent clinical scenario. Patients that suffered from sepsis develop cardio-renal disease, whether simultaneously or as a result of organ crosstalk, i.e kidney disease causing heart failure or vice-versa. In addition, inhibition of angiotensin-conversion enzyme by ACEis has been shown to ameliorate patient survival after AKI in several retrospective studies although these results were inconsistent(56–58). Moreover, hypertension is very frequent among sepsis patients and is associated with worse long-term outcome(59). These results suggest that patient discharge from ICU have a hyper-angiotensin state that could explain the acceleration of CRD development. Angiotensin 2 infusion is a well described model which causes robust hypertension and which is pro-fibrotic by itself (60,61). This new two-hit model can be used as a readout to investigated long-term sepsis consequences on organ function and repair by generating, as seen in clinical practice, multiple hits after initial sepsis insult. Interestingly, macrophage in the kidney had high expression of angiotensin receptor associated protein (*Agtrap*) which suggest they might be sensible to angiotensin-2 infusion.

Since sepsis by itself did not induce heart nor kidney fibrosis in our model up to 3 months, but was responsible for long term intra-organ modification of the immune landscape with profound modification of number and phenotype of intra-organ macrophages. We here demonstrate that monocyte-derived-macrophages are responsible for the global increment in intra-organ macrophage pool, which lasts for several weeks despite complete recovery. We also confirmed that monocyte-derived macrophage bears a profibrotic, pro-inflammatory phenotype as compared to resident macrophages. Those modifications were not responsible *per se* for development of fibrosis but were most likely responsible for the observed maladaptive repair after second hit.

In summary, sepsis has a profound impact on tissue macrophages populations especially through the recruitment of pro-fibrotic monocyte-derived macrophages that are associated with altered

organ repair. Macrophages populations and function could therefore represent a new therapeutic target to treat the long-term consequences of sepsis.

MATERIAL AND METHODS

Mice

C57BL/6J mice were purchased from Janvier Laboratory. RosaTd reporter mice (Jackson Laboratory, #007914) were crossed with Cx3cr1CreERT2 (Jackson Laboratory, #020940) for the FateMapping experiments. Recombination in heterozygous Cx3cr1CreER/+R26tdTomato/+. All mice were housed under specific pathogen-free conditions in our animal facility at the Centre Viggo Petersen in Lariboisière University Hospital. For the FateMapping experiments, male and female mice were used due to the rarity of the specimen. Mice were 6-10 weeks old at the start of each experiment. Mice were randomly assigned to the experimental groups. All experiments were approved by our local ethic committee and the Ministère de l'Enseignement et de la Recherche (APAFIS #28236).

Cecal ligation and puncture surgery

Cecal ligation and puncture was performed in mice anesthetized via intraperitoneal (i.p) injection of Ketamine (100mg/kg) and Xylazine (10mg/kg). An abdominal midline incision was made (0.7cm) and the *linea alba* of the abdominal musculature was dissected. For sublethal peritonitis, the cecal tip was exteriorized, and the ligation was performed approximately 10% from its extremity with a 4.0 silk suture. The cecum was punctured with a 24-gauge needle, and a small amount of feces was extruded through the perforation. The cecum was next returned into the peritoneal cavity, and the abdominal musculature was closed with a 4.0 monofilament suture. Mice were treated i.p. with 1mL sterile saline. The skin incision was closed with staples. Sham-operated mice underwent the same procedure except for the caecal ligation and puncture.

Double hit model: Angiotensin 2 infusion

After a first hit with CLP or Sham surgery, surviving mice were subjected to a second challenge with angioII infusion. AngioII (Sigma-Aldrich) was infused at 800ng/kg/min via a subcutaneous osmotic pump (ALZET®) for 28 days, together with addition of salt in the daily water (NaCl 2%). Diet and tap water were provided *ad libitum* throughout the experiment.

Echocardiography in mice.

Cardiac parameters were measured by transthoracic echocardiography using ACUSON S3000™ (Siemens) Cardiovascular Ultrasound system equipped with a 14-MHz linear transducer. Mice were anesthetized by ketamine (80 mg/kg) during measurements. All echocardiography were performed blindly.

Histochemistry

Kidneys were collected and immersed in 5% formo-acetic acid during 24 h, dehydrated, and embedded in paraffin according to the standard protocols. Sections at 4 μm thickness (HM 355S microtome, Thermo scientific) were stained with masson trichrome coloration. Harvest hearts were fixed with OCT and cryostat sections (7 μm) of the ventricles were performed. A sirius red staining of the collagens was realized. All images were acquired on a Leica microscope. Quantification of fibrosis was performed by expert physicians who were blinded of the experiments.

Tissue dissociation and flow cytometry

Heart and kidney were collected in PBS and processed immediately. Organs were finely chopped, and digested with MACS® tissue dissociation kit 2 (Miltenyi Biotec) using GentleMACSTM Octo Dissociator (Miltenyi Biotec) according to the manufacturer instruction. The spleen was harvested and gently ground and bone marrow was collected via centrifugation of the left femur. The cell suspension from all organs was filtered through a 70 μm strainer and red blood cells (RBCs) were lysed in ammonium chloride potassium (ACK) lysis buffer twice for 5min at RT.

For each sample 2 million cells were stained. In heart and kidney, macrophages were identified as $\text{live}^+ \text{lin}^- \text{CD45}^+ \text{CD64}^+ \text{CD11b}^+$ and macrophages subpopulation were later stratified based on expression of TIMD4 and CCR2. In bone marrow and spleen, hematopoietic precursors were identified as LSK ($\text{live}^+ \text{lin}^- \text{sca1}^+ \text{ckit}^+$), GMP ($\text{live}^+ \text{lin}^- \text{ckit}^+ \text{sca1}^- \text{CD115}^- \text{CD16/32}^+ \text{CD34}^+$) and ($\text{live}^+ \text{lin}^- \text{ckit}^+ \text{sca1}^- \text{CD115}^+ \text{CD16/32}^+ \text{CD34}^+$). A full description of the antibody used is provided in Supplementary Materiel. Flow cytometry was carried out using a BD® LSR II Flow Cytometer (Becton Dickinson). Blind analysis of the data was performed using FlowJo™ Software (Tree Star).

Fate mapping

Heterozygous Cx3cr1^{CreER/+}R26^{tdTomato/+} mice were obtained via crossing of Rosa tdTomato (tdT) reporter mice (Jackson Laboratory, #007914) with Cx3cr1CreERT2 (Jackson Laboratory, #020940). These mice constitutively express YFP under the Cx3cr1 promoter and exposure to tamoxifen induces the expression of tdT in Cx3cr1 expressing cells. For fate mapping experiments, mice received tamoxifen via feeding with tamoxifen-containing chow (Envigo) for 10 days. The expression of YFP and tdT in Cx3Cr1 blood monocytes was confirmed by flow cytometry (BD FACSAria™ III) after tamoxifen exposure. As short-lived monocytes are constantly replenished through proliferation of bone marrow progenitors, they lose tdT expression after 21 days of washout. In contrast, resident macrophages remain tdT positive. Thus, this system can distinguish between resident cells which express both, YFP and tdT, and recruited monocyte-derived macrophages, which only express YFP. Sepsis was induced 21 days after tamoxifen exposure. Quantification of resident macrophages (Tdt-) was realized after the washout, at day 4 and day 14 after sepsis by flow cytometry and immunofluorescence.

Immunofluorescence

Kidneys were collected, immersed in 2% formaldehyde during 6 h then in 30 % sucrose overnight at 6°C and embedded in OCT compound. Sections at 7 µm thickness (CM3050S cryostat, Leica) were stained with FITC anti-GFP antibody (ab6662, Abcam®, 1:100) and then with rabbit anti-CD146 (ab75769, Abcam, 1:100). The secondary antibody anti-rabbit coupled to DyLight™ 650 (84546, Invitrogen®, 1:100) was used. Images were acquired on a confocal microscope (LSM 700, Zeiss®) with a x20 magnification. Cells were counted blindly of group allocation per 2 by 2 tiles.

Single-Cell Droplet Library Preparation

For scRNA-seq analysis on the 10×Genomics platform, single-cell suspensions from the kidney from kidney were prepared from pools of three animals for each group, as outlined by the 10× Genomics Single Cell 3' Reagent Kit User Guide version 2. A total of 50,000 to 100,000 live CD45⁺CD11b⁺ cells were sorted on a MACSQuant® Tyto® Cell Sorter. Samples were washed twice in PBS (Sigma), followed by centrifugation at 500 × g for 5 minutes at 4°C. Sample viability was assessed using trypan blue (Sigma) with an automated cell counter (Countess III), and the appropriate volume for each sample was calculated. The chip was loaded with 20,000 cells per lane. After droplet generation, samples were transferred onto a prechilled 96-well plate, heat sealed, and reverse transcription was performed using a Thermal Cycler (Bio-Rad). After reverse transcription, cDNA was recovered using the 10× Genomics Recovery Agent, and a Silane DynaBead (Thermo Fisher) cleanup was performed. Purified cDNA was amplified and cleaned using SPRIselect beads (Beckman). Samples were diluted at 4:1 (elution buffer [Qiagen]/cDNA) and an initial concentration check was performed on a Qubit fluorometer (Invitrogen) to ensure adequate cDNA concentration. The final cDNA concentration was checked on a bioanalyzer (Invitrogen). Sequencing was performed on Novaseq 6000 ILLUMINA. Using 100 cycles cartridge from ILLUMINA, with calculation based on 40000 reads/cell minimum per sample.

Single-Cell sStatistical Analysis

The Cell Ranger Single-cell Software suite (6.1.2) was used to process the data. Count function was used on each GEM well that was demultiplexed by mkfastq to generate gene-cell matrices. FASTQ files are aligned on the mm39 reference genome. Then, filtered_feature_bc_matrix output was loaded into Seurat bioconductor package v4.3.0 to filter the datasets and identify cell types using R v4.2.2. Genes expressed in at least 5 cells and cells with at least 200 features were retained for further analysis. To remove likely dead or multiplet cells from downstream analyses, cells were discarded when they had less than 500 UMIs (Unique Molecular Identifiers), greater than 20 000 UMIs, or expressed over 8% mitochondrial genes for kidney project (samples "REIN-CLP", "REIN-CTRL"), and 15% mitochondrial genes for heart project (samples "C", "S").

All samples were merged for downstream analysis. As no batch effects were observed among the four samples, no integration was performed. The gene expression matrix was

normalized using the negative binomial regression method implemented in the Seurat `NormalizeData()` function, via selection of the top 2000 variable genes and regressed out on the basis of the mitochondrial expression percentage. The final dataset of the kidney was composed of 17930 genes and 7424 cells. The final dataset of the heart was composed of 15265 genes and 1246 cells.

To cluster cells, we computed a Principal Components Analysis (PCA) on scaled variable genes, as determined above, using Seurat's `RunPCA` function. Uniform Manifold Approximation and Projection (UMAP) was computed using Seurat's `RunUMAP` function on the top 28 PCs for kidney and 19 PCs for heart. The k-nearest neighbor graph on these top PCs was computed using Seurat's `FindNeighbors` function with default parameters, and the Seurat's `FindClusters` function with varying resolution values using the Louvain algorithm. A value of 0.7 was chosen for the kidney clustering resolution and 0.5 for the heart resolution parameter at this stage of clustering. The `FindAllMarkers` function with the default parameters (`min.LogFC = 0.25`, `min.pct = 0.25`, `test.use = Wilcox`) was used to identify differentially expressed genes for one cluster compare to the others. Clusters were assigned preliminary identities based an automated cluster annotation by comparing with PBMC public dataset and combinations of up marker gene expression for major cell types based on literature review.

Cluster was subset without NK, B-cells, T-cells and epithelial cells. We chose a final value of 0.7 for the kidney resolution and 0.3 for the heart resolution parameter for the final clustering. Clusters were assigned preliminary identities based on expression of combinations of known marker genes for major cell types. The kidney final subset dataset was composed of 7424 genes and 17930 cells. The heart final dataset was composed of 15265 genes and 1246 cells.

The `FindMarkers` function with parameters `min. LogFC = 0.25`, `min.pct = 0.1`, `test.use = Wilcox` was used to identify deferentially expressed genes for comparing the two samples in each cluster. Functional enrichment analyses were done with EnrichR online tools (<https://maayanlab.cloud/Enrichr>) on the differentially deregulated genes.

Acknowledgments

We would like to thank C. Combadières, E. Laurent-Gauthier, J. Zuber for helpful discussions, O. Thibaudeau and the UMR 1152 team for help with kidney histology. This study was conducted with the support of the Paris Brain Institute's Data Analysis Core (<https://dac.institutduncerveau-icm.org/>). We thank Riwan BRILLET for preliminary analyses and Emeline Cherchame for assistance and advice with single-cell data analysis.

Funding: This work was supported by the ATIP AVENIR funding project (BGC), the Société Française d'Anesthésie-Réanimation (SFAR) contrat recherche (CdR), the ZOLL foundation Grant (CdR), the INSERM Année Recherche (CdR) and INSERM Poste d'Accueil (CdR).

Author contributions: CdR and BGC designed and performed experiments with the help of VB, AB, JG, SM, MD, PLB. NT, MS, RL. Bioinformatics analyses were performed with the help of JB. CdR performed all surgeries. BGC, CdR and MD contributed to study design and data collection. CdR, AM, EG, JLS and BGC contributed to data interpretation and writing of the manuscript. All authors reviewed and approved the manuscript.

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests.

Data and materials availability: All single-cell RNA sequencing data generated in this study have been deposited in the Gene Expression Omnibus (GEO) database and will be released on 25-06-2024. Other data will be made available upon motivated request formulated to the corresponding author.

REFERENCES

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):801-10.
2. Reinhart K, Daniels R, Kissoon N, Machado FR, Schachter RD, Finfer S. Recognizing Sepsis as a Global Health Priority - A WHO Resolution. *N Engl J Med*. 3 août 2017;377(5):414-7.
3. Linder A, Guh D, Boyd JH, Walley KR, Anis AH, Russell JA. Long-term (10-year) mortality of younger previously healthy patients with severe sepsis/septic shock is worse than that of patients with nonseptic critical illness and of the general population. *Crit Care Med*. oct 2014;42(10):2211-8.
4. Flannery AH, Li X, Delozier NL, Toto RD, Moe OW, Yee J, et al. Sepsis-Associated Acute Kidney Disease and Long-term Kidney Outcomes. *Kidney Med*. 1 juill 2021;3(4):507-514.e1.
5. Jentzer JC, Lawler PR, Van Houten HK, Yao X, Kashani KB, Dunlay SM. Cardiovascular Events Among Survivors of Sepsis Hospitalization: A Retrospective Cohort Analysis. *J Am Heart Assoc*. 7 févr 2023;12(3):e027813.
6. Takizawa H, Boettcher S, Manz MG. Demand-adapted regulation of early hematopoiesis in infection and inflammation. *Blood*. 29 mars 2012;119(13):2991-3002.
7. Yona S, Kim KW, Wolf Y, Mildner A, Varol D, Breker M, et al. Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis. *Immunity*. 24 janv 2013;38(1):79-91.
8. Lavin Y, Mortha A, Rahman A, Merad M. Regulation of macrophage development and function in peripheral tissues. *Nat Rev Immunol*. déc 2015;15(12):731-44.
9. Ginhoux F, Williams M. Tissue-Resident Macrophage Ontogeny and Homeostasis. *Immunity*. 15 mars 2016;44(3):439-49.
10. Zigmond E, Samia-Grinberg S, Pasmanik-Chor M, Brazowski E, Shibolet O, Halpern Z, et al. Infiltrating monocyte-derived macrophages and resident kupffer cells display different ontogeny and functions in acute liver injury. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1 juill 2014;193(1):344-53.
11. Swirski FK, Nahrendorf M. Cardioimmunology: the immune system in cardiac homeostasis and disease. *Nat Rev Immunol*. déc 2018;18(12):733-44.
12. Hoyer FF, Naxerova K, Schloss MJ, Hulsmans M, Nair AV, Dutta P, et al. Tissue-Specific Macrophage Responses to Remote Injury Impact the Outcome of Subsequent Local Immune Challenge. *Immunity*. 19 nov 2019;51(5):899-914.e7.

13. Rittirsch D, Huber-Lang MS, Flierl MA, Ward PA. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. *Nat Protoc.* 2009;4(1):31-6.
14. Lech M, Gröbmayr R, Ryu M, Lorenz G, Hartter I, Mulay SR, et al. Macrophage phenotype controls long-term AKI outcomes--kidney regeneration versus atrophy. *J Am Soc Nephrol JASN.* févr 2014;25(2):292-304.
15. Arnold L, Perrin H, de Chanville CB, Saclier M, Hermand P, Poupel L, et al. CX3CR1 deficiency promotes muscle repair and regeneration by enhancing macrophage ApoE production. *Nat Commun.* 3 déc 2015;6:8972.
16. Lee S, Huen S, Nishio H, Nishio S, Lee HK, Choi BS, et al. Distinct macrophage phenotypes contribute to kidney injury and repair. *J Am Soc Nephrol JASN.* févr 2011;22(2):317-26.
17. Lu H, Huang D, Saederup N, Charo IF, Ransohoff RM, Zhou L. Macrophages recruited via CCR2 produce insulin-like growth factor-1 to repair acute skeletal muscle injury. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* janv 2011;25(1):358-69.
18. Lin SL, Li B, Rao S, Yeo EJ, Hudson TE, Nowlin BT, et al. Macrophage Wnt7b is critical for kidney repair and regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2 mars 2010;107(9):4194-9.
19. Dick SA, Wong A, Hamidzada H, Nejat S, Nechanitzky R, Vohra S, et al. Three tissue resident macrophage subsets coexist across organs with conserved origins and life cycles. *Sci Immunol.* 7 janv 2022;7(67):eabf7777.
20. Zaman R, Epelman S. Resident cardiac macrophages: Heterogeneity and function in health and disease. *Immunity.* 13 sept 2022;55(9):1549-63.
21. Salei N, Rambichler S, Salvermoser J, Papaioannou NE, Schuchert R, Pakalniškytė D, et al. The Kidney Contains Ontogenetically Distinct Dendritic Cell and Macrophage Subtypes throughout Development That Differ in Their Inflammatory Properties. *J Am Soc Nephrol.* 1 févr 2020;31(2):257-78.
22. Epelman S, Lavine KJ, Beaudin AE, Sojka DK, Carrero JA, Calderon B, et al. Embryonic and adult-derived resident cardiac macrophages are maintained through distinct mechanisms at steady state and during inflammation. *Immunity.* 16 janv 2014;40(1):91-104.
23. Baudesson de Chanville C, Chousterman BG, Hamon P, Laviron M, Guillou N, Loyher PL, et al. Sepsis Triggers a Late Expansion of Functionally Impaired Tissue-Vascular Inflammatory Monocytes During Clinical Recovery. *Front Immunol.* 30 avr 2020;11:675.
24. Burberry A, Zeng MY, Ding L, Wicks I, Inohara N, Morrison SJ, et al. Infection mobilizes hematopoietic stem cells through cooperative NOD-like receptor and Toll-like receptor signaling. *Cell Host Microbe.* 11 juin 2014;15(6):779-91.
25. Kretzschmar K, Watt FM. Lineage Tracing. *Cell.* 20 janv 2012;148(1):33-45.

26. Liu F, Dai S, Feng D, Qin Z, Peng X, Sakamuri SSVP, et al. Distinct fate, dynamics and niches of renal macrophages of bone marrow or embryonic origins. *Nat Commun.* 8 mai 2020;11(1):2280.
27. Blériot C, Dupuis T, Jouvion G, Eberl G, Disson O, Lecuit M. Liver-Resident Macrophage Necroptosis Orchestrates Type 1 Microbicidal Inflammation and Type-2-Mediated Tissue Repair during Bacterial Infection. *Immunity.* 20 janv 2015;42(1):145-58.
28. Di Paolo NC, Doronin K, Baldwin LK, Papayannopoulou T, Shayakhmetov DM. The Transcription Factor IRF3 Triggers “Defensive Suicide” Necrosis in Response to Viral and Bacterial Pathogens. *Cell Rep.* 27 juin 2013;3(6):1840-6.
29. Ginhoux F, Bleriot C, Lecuit M. Dying for a Cause: Regulated Necrosis of Tissue-Resident Macrophages upon Infection. *Trends Immunol.* 1 oct 2017;38(10):693-5.
30. Miller RL. Transgenic mice: beyond the knockout. *Am J Physiol Renal Physiol.* févr 2011;300(2):F291-300.
31. Schulz C, Gomez Perdiguero E, Chorro L, Szabo-Rogers H, Cagnard N, Kierdorf K, et al. A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells. *Science.* 6 avr 2012;336(6077):86-90.
32. Hashimoto D, Chow A, Noizat C, Teo P, Beasley MB, Leboeuf M, et al. Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes. *Immunity.* 18 avr 2013;38(4):792-804.
33. Conway BR, O’Sullivan ED, Cairns C, O’Sullivan J, Simpson DJ, Salzano A, et al. Kidney Single-Cell Atlas Reveals Myeloid Heterogeneity in Progression and Regression of Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol.* 1 déc 2020;31(12):2833-54.
34. Zhang K, Wang Y, Chen S, Mao J, Jin Y, Ye H, et al. TREM2hi resident macrophages protect the septic heart by maintaining cardiomyocyte homeostasis. *Nat Metab.* janv 2023;5(1):129-46.
35. Zimmerman KA, Bentley MR, Lever JM, Li Z, Crossman DK, Song CJ, et al. Single-Cell RNA Sequencing Identifies Candidate Renal Resident Macrophage Gene Expression Signatures across Species. *J Am Soc Nephrol JASN.* mai 2019;30(5):767-81.
36. Revelo XS, Parthiban P, Chen C, Barrow F, Fredrickson G, Wang H, et al. Cardiac Resident Macrophages Prevent Fibrosis and Stimulate Angiogenesis. *Circ Res.* 3 déc 2021;129(12):1086-101.
37. Kratochvil RM, Kubes P, Deniset JF. Monocyte Conversion During Inflammation and Injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* janv 2017;37(1):35-42.
38. Kefaloyianni E, Keerthi Raja MR, Schumacher J, Muthu ML, Krishnadoss V, Waikar SS, et al. Proximal Tubule-Derived Amphiregulin Amplifies and Integrates Profibrotic EGF Receptor Signals in Kidney Fibrosis. *J Am Soc Nephrol JASN.* déc 2019;30(12):2370-83.

39. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol.* déc 2004;25(12):677-86.
40. Li X, Mu G, Song C, Zhou L, He L, Jin Q, et al. Role of M2 Macrophages in Sepsis-Induced Acute Kidney Injury. *Shock.* août 2018;50(2):233-9.
41. Hayes AJ, Farrugia BL, Biose IJ, Bix GJ, Melrose J. Perlecan, A Multi-Functional, Cell-Instructive, Matrix-Stabilizing Proteoglycan With Roles in Tissue Development Has Relevance to Connective Tissue Repair and Regeneration. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 2022 [cité 11 oct 2023];10. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2022.856261>
42. Zhang ML, Wu HT, Chen WJ, Xu Y, Ye QQ, Shen JX, et al. Involvement of glutathione peroxidases in the occurrence and development of breast cancers. *J Transl Med.* 22 juin 2020;18(1):247.
43. Shi C, Pamer EG. Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 10 oct 2011;11(11):762-74.
44. Shin NS, Marlier A, Xu L, Doilicho N, Linberg D, Guo J, et al. Arginase-1 Is Required for Macrophage-Mediated Renal Tubule Regeneration. *J Am Soc Nephrol.* 1 juin 2022;33(6):1077-86.
45. Yin C, Ackermann S, Ma Z, Mohanta SK, Zhang C, Li Y, et al. ApoE attenuates unresolvable inflammation by complex formation with activated C1q. *Nat Med.* mars 2019;25(3):496-506.
46. Gow DJ, Sester DP, Hume DA. CSF-1, IGF-1, and the control of postnatal growth and development. *J Leukoc Biol.* sept 2010;88(3):475-81.
47. Ramachandran P, Pellicoro A, Vernon MA, Boulter L, Aucott RL, Ali A, et al. Differential Ly-6C expression identifies the recruited macrophage phenotype, which orchestrates the regression of murine liver fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 13 nov 2012;109(46):E3186-3195.
48. Venet F, Monneret G. Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression. *Nat Rev Nephrol.* févr 2018;14(2):121-37.
49. Shankar-Hari M, Saha R, Wilson J, Prescott HC, Harrison D, Rowan K, et al. Rate and risk factors for rehospitalisation in sepsis survivors: systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* avr 2020;46(4):619-36.
50. Prescott HC, Langa KM, Iwashyna TJ. Readmission diagnoses after hospitalization for severe sepsis and other acute medical conditions. *JAMA.* 10 mars 2015;313(10):1055-7.
51. Liu Z, Mahale P, Engels EA. Sepsis and Risk of Cancer Among Elderly Adults in the United States. *Clin Infect Dis.* 15 févr 2019;68(5):717-24.

52. Chousterman BG, Boissonnas A, Poupel L, Chanville CB de, Adam J, Tabibzadeh N, et al. Ly6Chigh Monocytes Protect against Kidney Damage during Sepsis via a CX3CR1-Dependent Adhesion Mechanism. *J Am Soc Nephrol*. 1 mars 2016;27(3):792-803.
53. Arnold L, Henry A, Poron F, Baba-Amer Y, van Rooijen N, Plonquet A, et al. Inflammatory monocytes recruited after skeletal muscle injury switch into antiinflammatory macrophages to support myogenesis. *J Exp Med*. 14 mai 2007;204(5):1057-69.
54. Li Z, Ludwig N, Thomas K, Mersmann S, Lehmann M, Vestweber D, et al. The Pathogenesis of Ischemia-Reperfusion Induced Acute Kidney Injury Depends on Renal Neutrophil Recruitment Whereas Sepsis-Induced AKI Does Not. *Front Immunol*. 21 avr 2022;13:843782.
55. Basile DP, Bonventre JV, Mehta R, Nangaku M, Unwin R, Rosner MH, et al. Progression after AKI: Understanding Maladaptive Repair Processes to Predict and Identify Therapeutic Treatments. *J Am Soc Nephrol*. 1 mars 2016;27(3):687-97.
56. Gayat E, Hollinger A, Cariou A, Deye N, Vieillard-Baron A, Jaber S, et al. Impact of angiotensin-converting enzyme inhibitors or receptor blockers on post-ICU discharge outcome in patients with acute kidney injury. *Intensive Care Med*. mai 2018;44(5):598-605.
57. Brar S, Ye F, James MT, Hemmelgarn B, Klarenbach S, Pannu N, et al. Association of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor or Angiotensin Receptor Blocker Use With Outcomes After Acute Kidney Injury. *JAMA Intern Med*. 1 déc 2018;178(12):1681-90.
58. Chou YH, Huang TM, Pan SY, Chang CH, Lai CF, Wu VC, et al. Renin-Angiotensin System Inhibitor is Associated with Lower Risk of Ensuing Chronic Kidney Disease after Functional Recovery from Acute Kidney Injury. *Sci Rep*. 13 avr 2017;7:46518.
59. Wang HE, Shapiro NI, Griffin R, Safford MM, Judd S, Howard G. Chronic Medical Conditions and Risk of Sepsis. *PLOS ONE*. 31 oct 2012;7(10):e48307.
60. Mezzano SA, Ruiz-Ortega M, Egido J. Angiotensin II and Renal Fibrosis. *Hypertension*. sept 2001;38(3):635-8.
61. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling—concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *J Am Coll Cardiol*. 1 mars 2000;35(3):569-82.

FIGURES

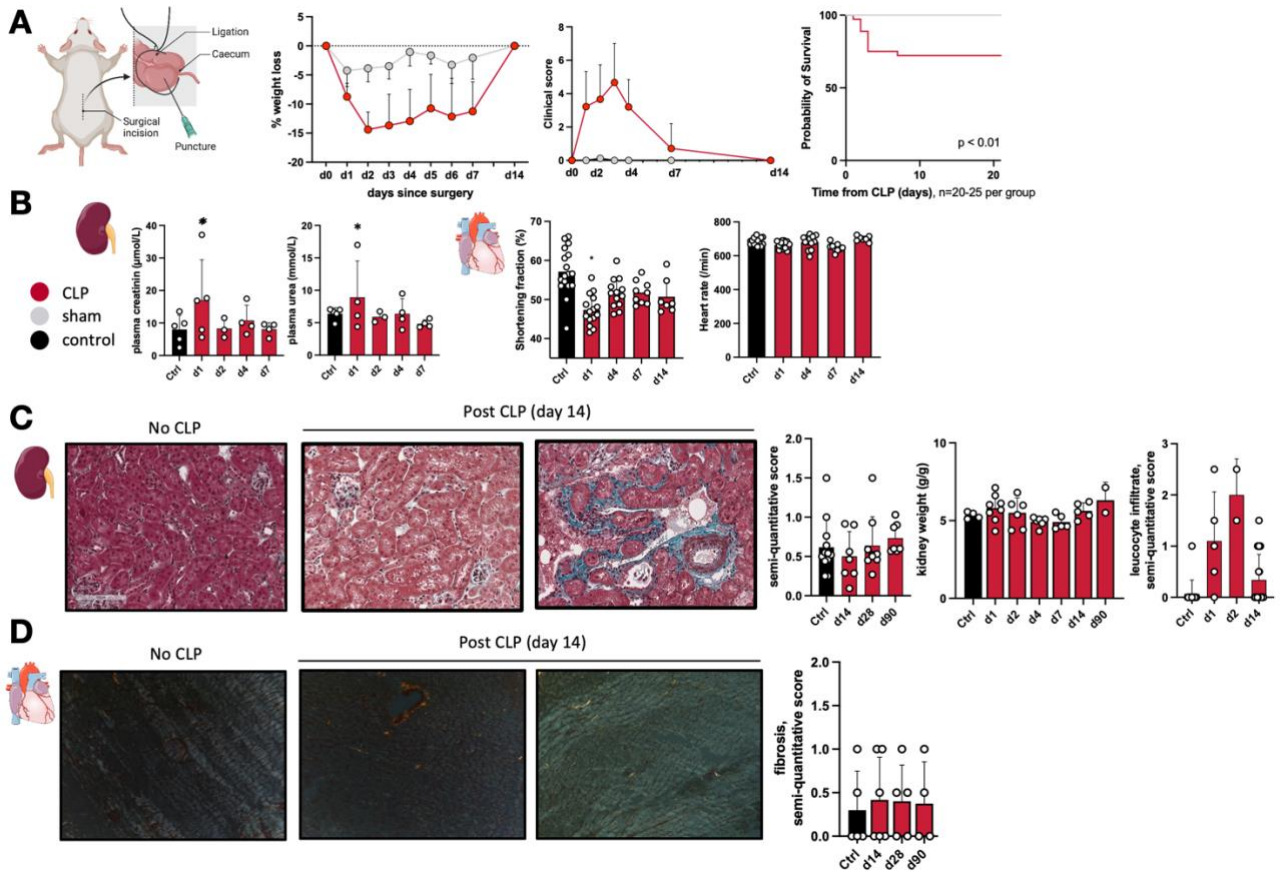


Figure 1. Sepsis is associated with transient and reversible organ dysfunction

(A) Diagram of sub-lethal Cecal ligature puncture model. Weight loss and behavioral changes were returned to normal values among survivors by day 14. Survival curves confirmed the sub-lethal nature of our model **(B)** Diagram of plasma urea and creatinine following sepsis as well as echocardiographic constatations. **(C)** Histology analyses (Masson Trichrome) of kidney after CLP, fibrosis was assessed using semi-quantitative score by blinded physician, tubular atrophy was assessed by monitoring kidney weights at various timepoints. **(D)** Histology analyses (Sirius red) of cardiac fibrosis after sepsis, fibrosis was assessed using semi-quantitative score by blinded physician. *p < 0.05; n = 2-10, 1-way

ANOVA followed by Tukey's multiple comparisons test. Data are mean ± SEM.

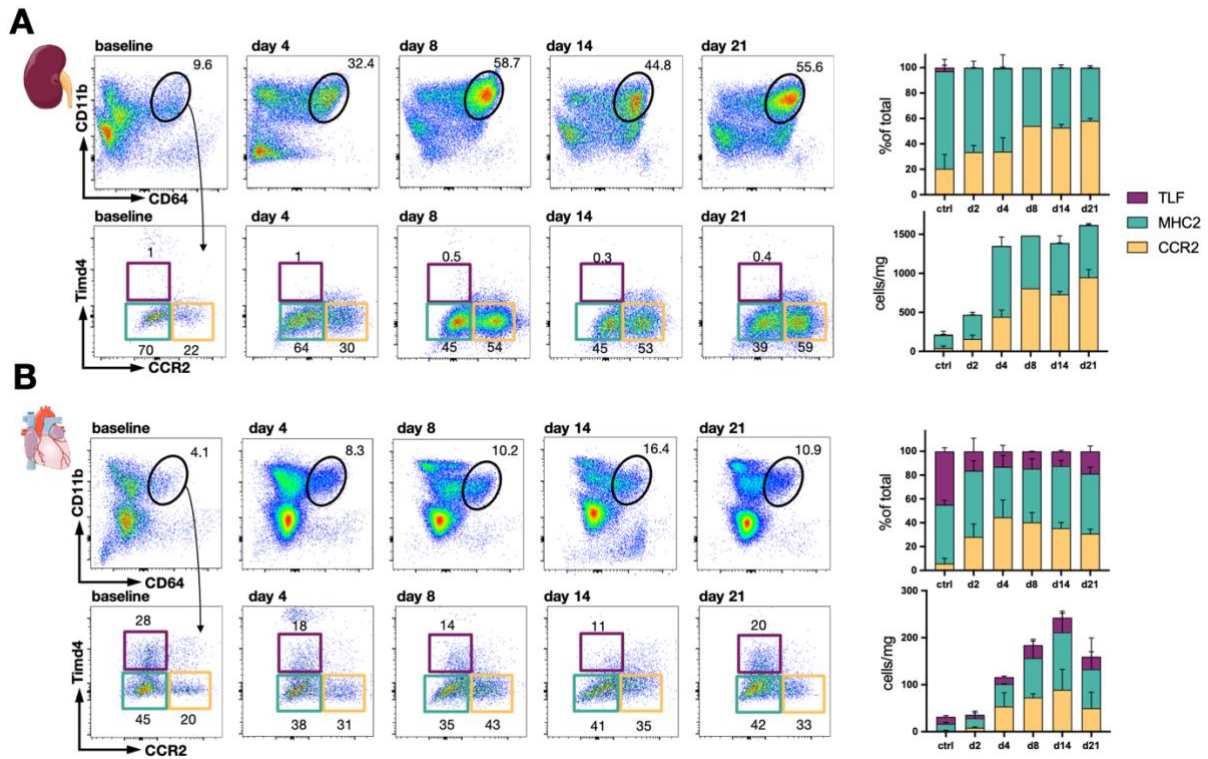


Figure 2. Sepsis induces profound and durable alterations of intra-organ macrophages number and subsets.

Heart (A) and kidney (B) tissues were isolated from adult wild-type mice and single-cell suspensions were prepared for flow cytometry. Macrophages were identified as live⁺lin⁻CD45⁺CD64⁺CD11b⁺ later stratified based on expression of TIMD4 and CCR2. For complete gating strategy see **Supplementary Figure SXX**. *p < 0.05; n=2-6; Data are mean ± SEM.

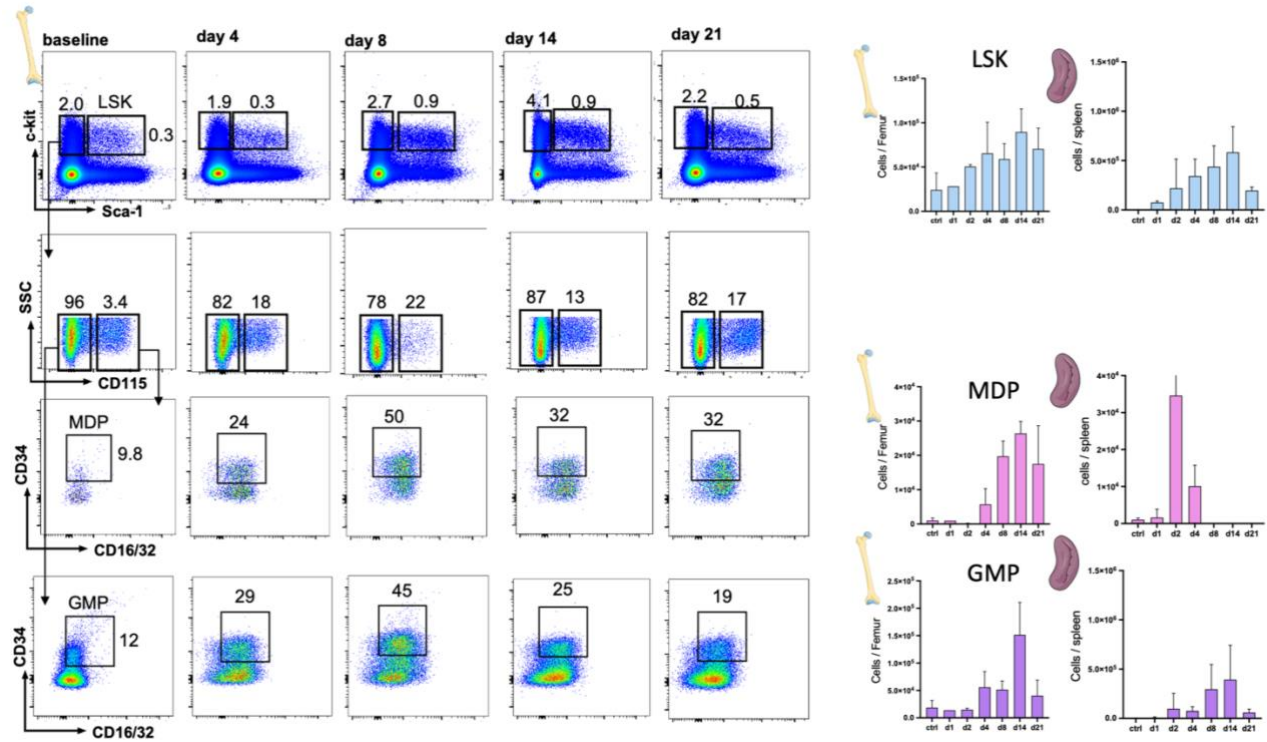


Figure 3. Sepsis induces intense and sustained hematopoietic response arising from both bone marrow and splenic reservoirs.

Flow cytometric quantification of hematopoietic precursors in bone marrow and spleen following sepsis. LSK were gated based on expression of live⁺lin⁻sca1⁺ckit⁺. GMP were gated on live⁺lin⁻ckit⁺sca1⁻CD115⁻CD16/32⁺CD34⁺ and MDP were gated based on live⁺lin⁻ckit⁺sca1⁻CD115⁺CD16/32⁺CD34⁺. For complete gating strategy of the spleen, see **Supplementary Figure S1**. *p < 0.05; n=2-6; Data are mean ± SEM.

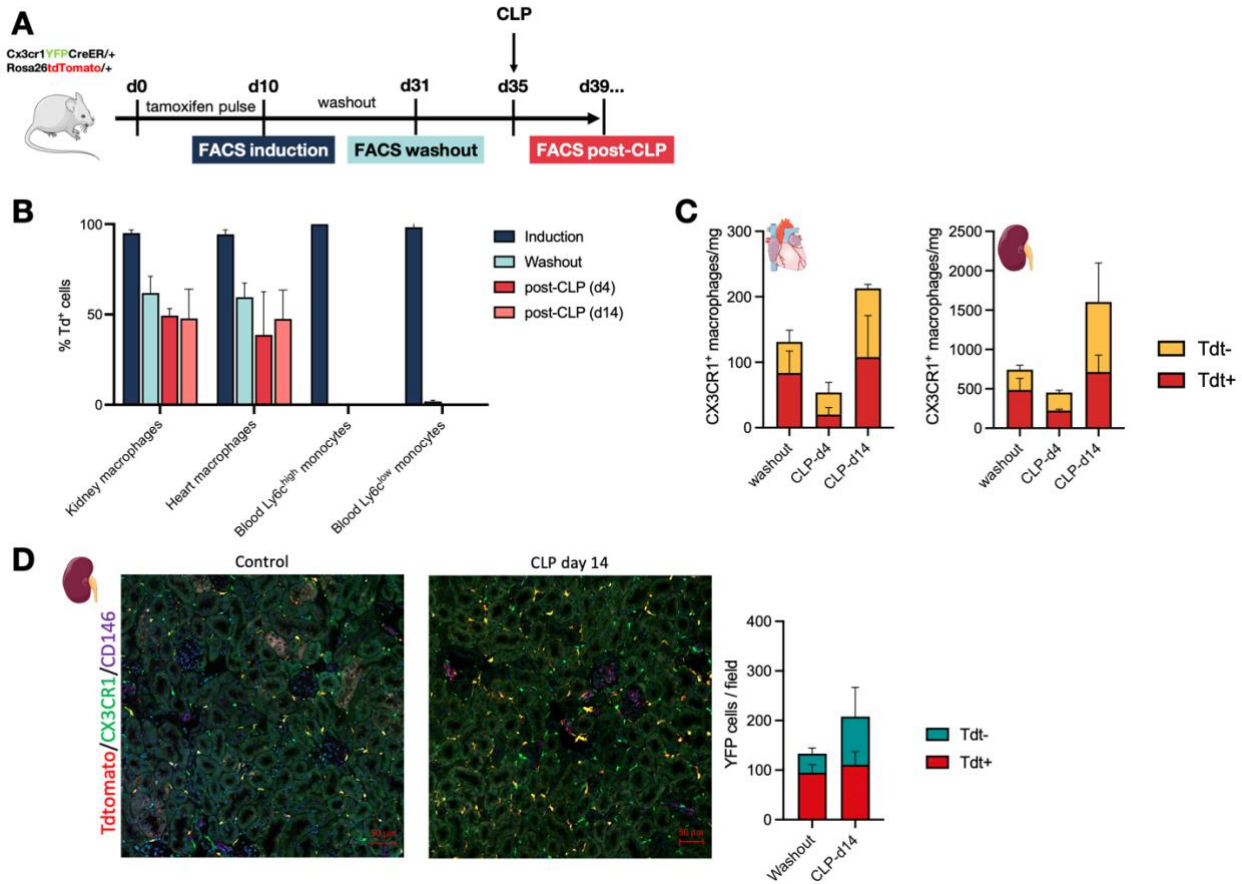


Figure 4. Fate mapping analysis identifies monocytes-derived macrophages as the main source of tissue macrophages expansion during sepsis.

(A) 6–10-week-old *c57Bl6 Cx3Cr1YFP*CreER/+*Rosa26Tdt*tomato/+ mice were fed with tamoxifen-containing chow for 10 days. By day 10, we confirmed by flow-cytometry the complete induction of Cre Recombinase. After a period of washout of 21days (confirmed by flow cytometry), mice were subjected to cecal ligature puncture. Flow-cytometry was used at different timepoints to assess abundance and Tdt+ retention of intra-organ macrophages. **(B)** Percentage of Td+ cells in tLy6C^{hi} monocytes, Ly6C^{lo} monocytes, kidney and heart after induction, after washout or at different timepoints following sepsis. **(C)** For each timepoints, total number of intra-organ macrophages was assessed and Tdt+ retention was computed. **(D)** Representative immunofluorescence staining of EYFP (green), Tdtomato (red) and CD146 (violet) in of adult *Cx3Cr1YFP*CreER/+*Rosa26Tdt*tomato/+ mice at day 14 after sham or CLP, x20 magnification, Quantification of the proportion of Tdt+ in macrophages was performed by blinded physician (n=2-3).

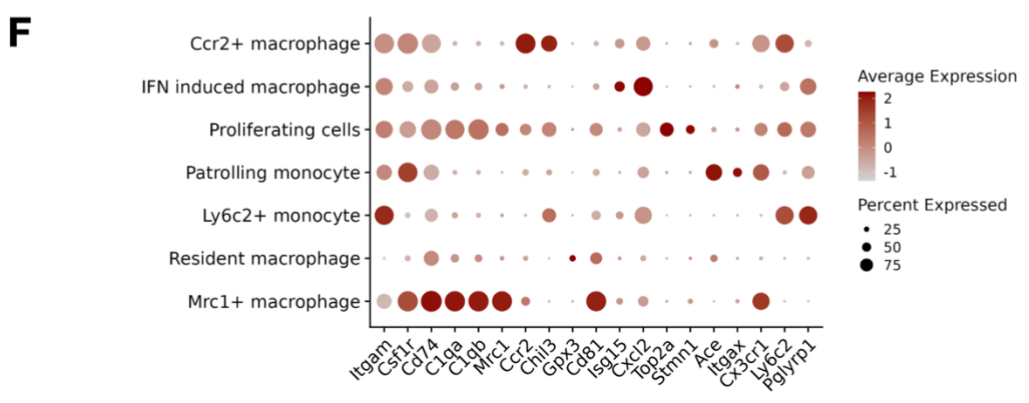
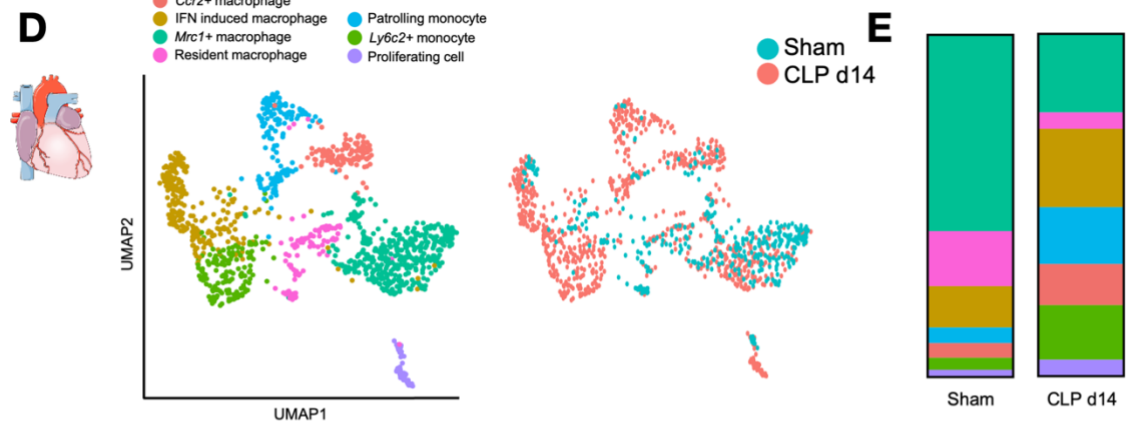
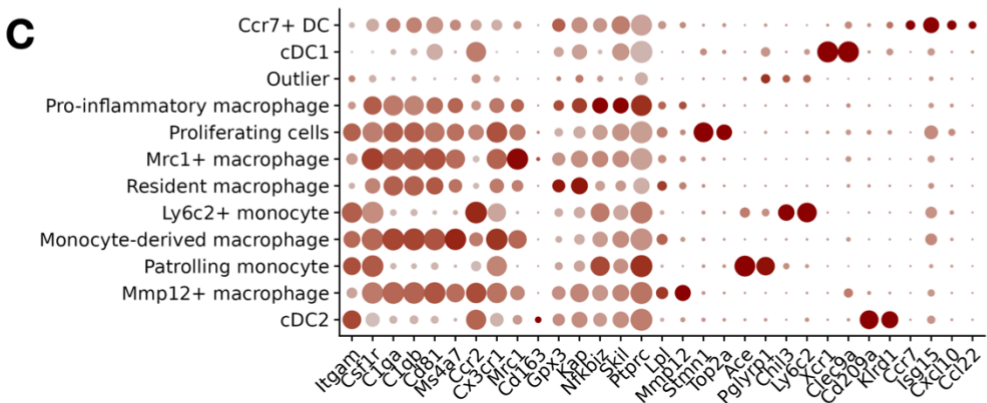
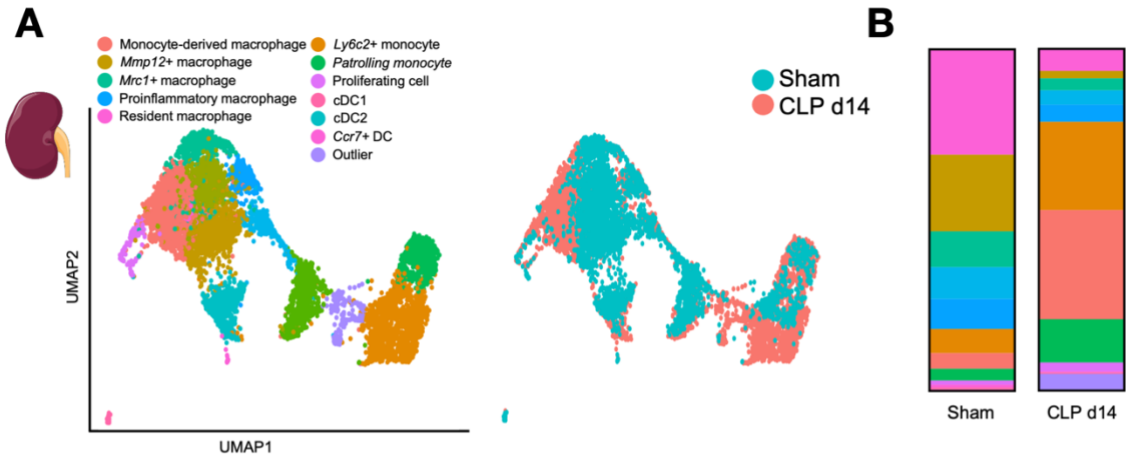


Figure 5. Single cell characterization of myeloid cells in the septic organs

scRNA-seq analysis identifies seven heart monocyte and macrophage cell types, with dynamic changes in the proportion and transcriptome of each cell type observed across the septic model. **(A)** tSNE plot of 7642 pooled myeloid cells from kidney from each time point, annotated by cell type and condition. ($n=3$ per time point). **(B)** Relative proportions of each cell type at each time point. **(C)** Dotplots showing the expression levels of selected marker genes in each cluster. **(D)** tSNE plot of 943 pooled myeloid cells from heart for each time point, annotated by cell type and condition. ($n=3$ per time point). **(E)** Relative proportions of each cell type at each time point. **(F)** Dotplots showing the expression levels of selected marker genes in each cluster. See **supplementary figure 3** for additional information

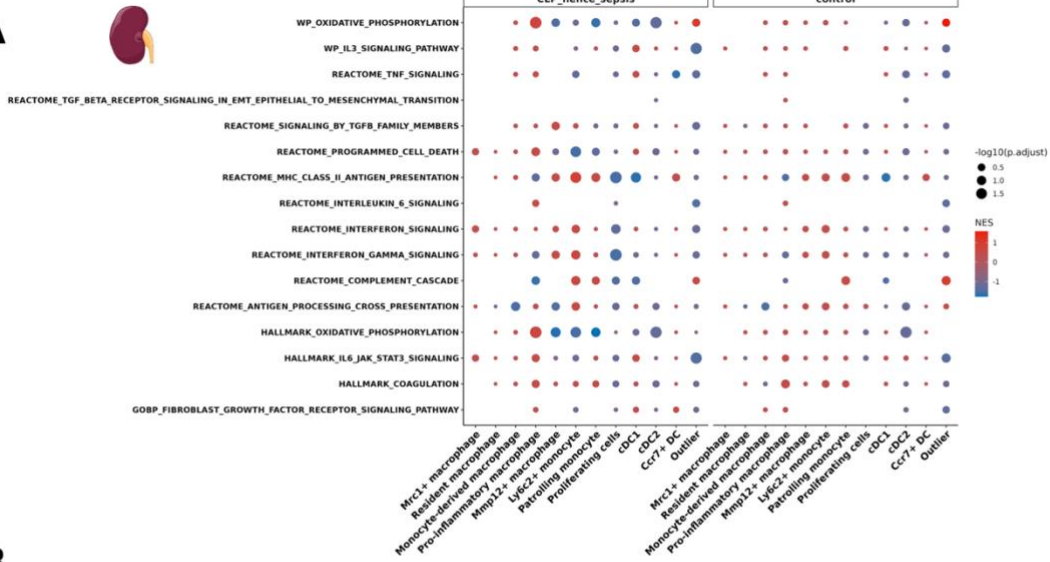
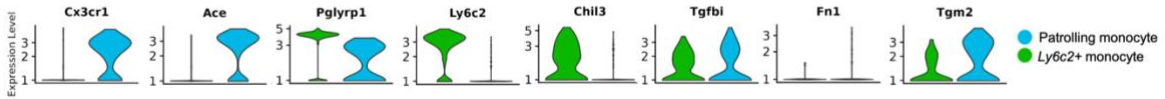
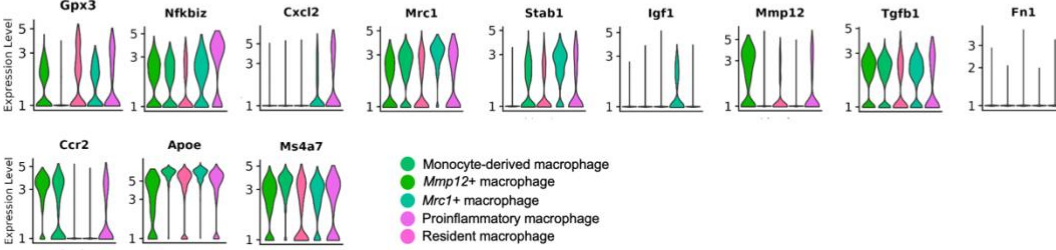
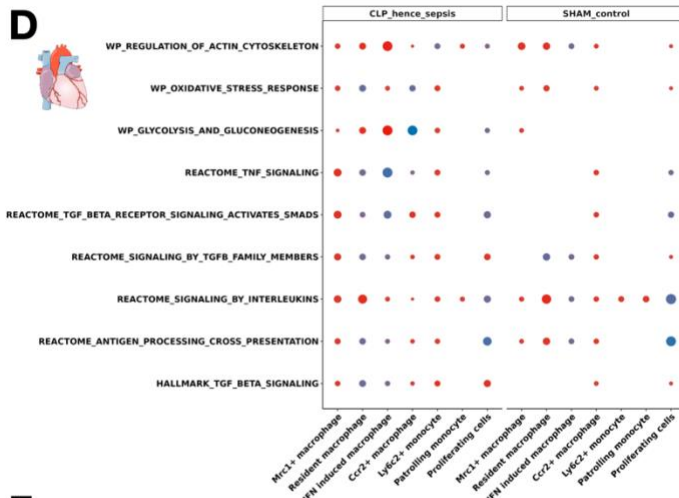
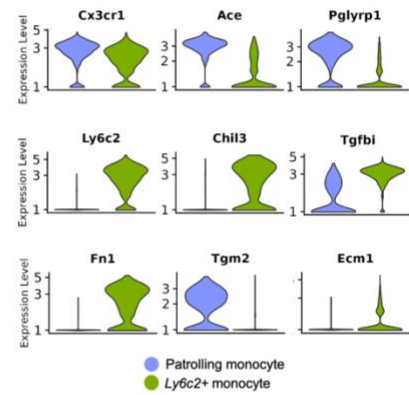
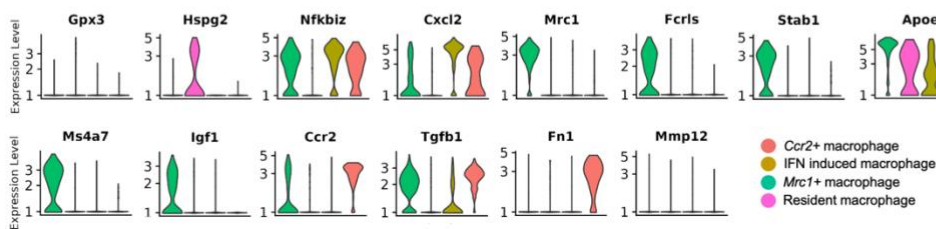
A**B****C****D****E****F**

Figure 6. Pathways analyzes of monocyte and macrophage landscape after sepsis

(A) Representative enriched pathways provided for each kidney myeloid cluster. **(B)** Violin plots showing the expression levels of selected marker genes in monocyte cluster in the kidney. **(C)** Violin plots showing the expression levels of selected markers in macrophage clusters. **(D)** Representative enriched pathways provided for each heart myeloid cluster. **(E)** Violin plots showing the expression levels of selected marker genes in monocyte cluster in the heart. **(F)** Violin plots showing the expression levels of selected markers in macrophage clusters. CLP, cecal ligature punction, NES, Normalized enrichment score

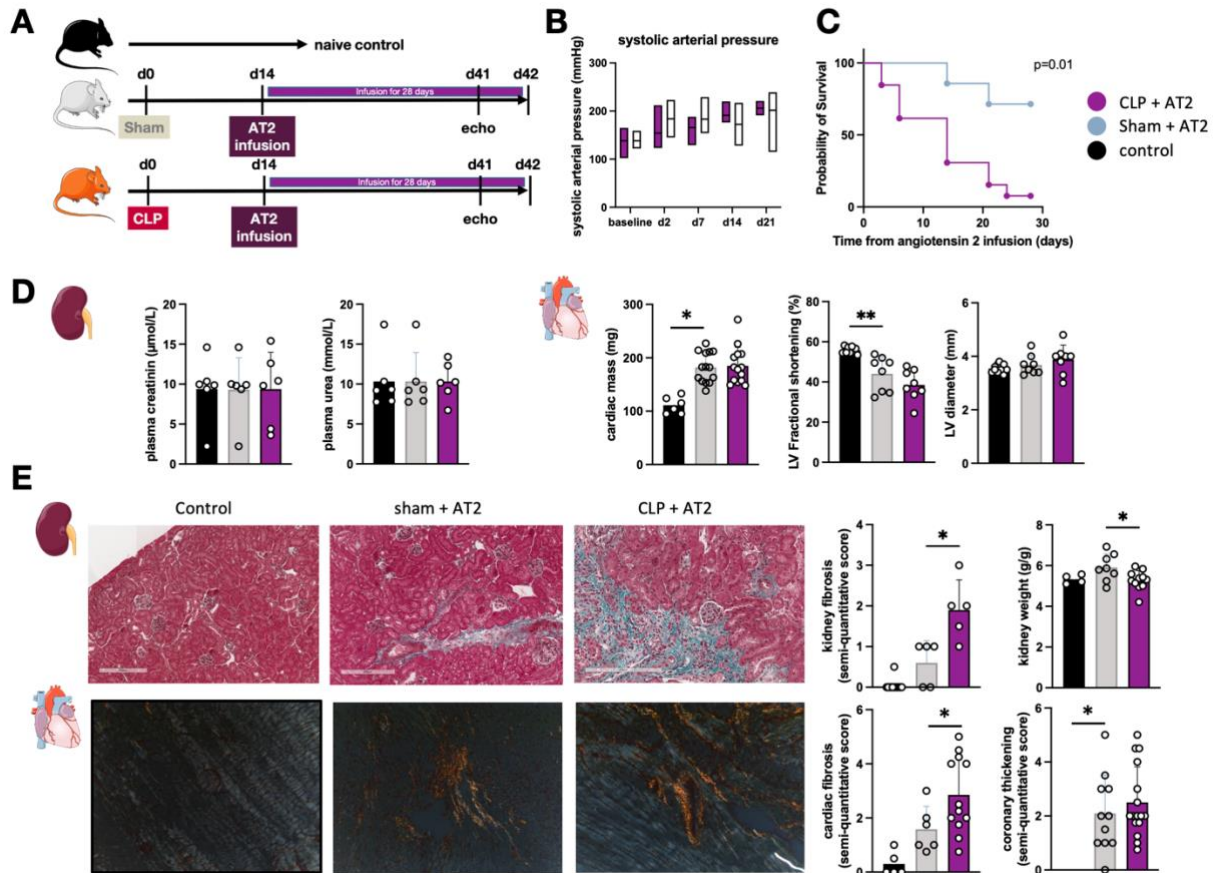


Figure 7. Sepsis causes altered organ repair after second hit

(A) C57bl6 WT mice were randomly assigned to receive either CLP or sham operation. After complete recovery from the septic episode (day 14), sepsis-surviving mice and sham operated mice were subjected to continuous angiotensin (AT) 2 infusion (800ng/kg/min) combined with salty drinking water (NaCl 0.2%) for 28 days. Echocardiographic evaluation was performed by blinded physician just before sacrifice. **(B)** AT 2 infusion induced hypertension as confirmed by arterial pressure monitoring, appearing from day 2 **(C)** Survival curves of WT mice when exposed to AT2 demonstrates an important mortality among sepsis survivor mice when exposed to AT 2 as compared to sham operated mice **(D)** Plasma urea and creatinine did not differ with baseline after AT 2 infusion. Echocardiography revealed increased cardiac mass and reduction of fractional shortening consistent with AT 2 induced cardiac hypertrophy **(E)** Weighting of kidney was in favor of tubular atrophy in CLP mice after AT2 infusion. Histological analyses of kidney (Masson trichrome) revealed fibrosis in both conditions, with a strong increase among sepsis-

surviving mice. Heart analyzes (Sirius red) revealed coronary thickening, consistent with intense shear stress induced by AT 2 infusion. Fibrosis was present in both conditions; it was more important in sepsis survivors as compared with sham operated mice. Coronary thickening and fibrosis were assessed using semi-quantitative score by a blinded physician; t test was performed; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; data are mean \pm SEM.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

EXPENDED METHOD

Antibodies used for flow-cytometry

Antibody; Clone; Distributor

Anti-mouse Biotin-CD11b; M1/70; Biolegend

Anti-mouse Biotin-BCD11c; N418; Biolegend

Anti-mouse Biotin-CD19; 6D5; Biolegend

Anti-mouse Biotin-CD3; 145-2C11; Biolegend

Anti-mouse Biotin-CD4; GK1.5; Biolegend

Anti-mouse Biotin-CD45R/B220; RA3-6B2; Biolegend

Anti-mouse Biotin-CD49b; DX5; Biolegend

Anti-mouse Biotin-CD8; 53-6.7; Biolegend

Anti-mouse Biotin-CD90.2; 30-H12; Biolegend

Anti-mouse Biotin-Ly6c/Ly6g(Gr1); RB6-8C5; Biolegend

Anti-mouse Biotin-NK1.1; PK136; Biolegend

Anti-mouse Biotin-TER-119; TER-119; Biolegend

Anti-mouse CD115; AFS98; Biolegend

Anti-mouse CD117 (c-kit); 2B8; Biolegend

Anti-mouse CD11b; REA592; Miltenyi

Anti-mouse/human CD11b; M1/70; Biolegend

Anti-mouse CD11c; N418; Biolegend

Anti-human CD14; M5E2; Biolegend

Anti-mouse CD16-32; 93; Biolegend

Anti-mouse CD192; SA203G11; Biolegend

Anti-mouse CD3; 145-2C11; Biolegend

Anti-mouse CD34; RAM34; Biolegend

Anti-mouse CD45; 30-F11; Biolegend

Anti-mouse CD45; REA737; Miltenyi

Anti-mouse CD45; 104; Biolegend
Anti-Mouse CD49b; DX5; Biolegend
Anti-mouse CD64; X54-5/7.1; Biolegend
Anti-mouse CD90.2; 20-H12; Biolegend
Anti-mouse CD115; AFS98; eBiosciences
Anti-human CD206; 15-2; Biolegend
Anti-mouse CCR2; SA203G11; Biolegend
Anti-mouse F4/80; BM8; Biolegend
Anti-mouse Folr2; 10/FR2; Biolegend
Anti-mouse Ly6A/E; D7; Biolegend
Anti-mouse Ly6c; HK1.4; Biolegend
Anti-mouse Ly6g; 1A8; Biolegend
Anti-mouse MHC2; M5/114.15.2; BioLegend
Anti-mouse Timd4; RMT4-54; Biolegend
Anti-mouse Siglec-F; E50-2440; BD Biosciences
Anti-mouse BV510-Streptavidin; Biolegend

Behavioral Score used for experiments on mice

[a] appearance:

- normal (0),
- lack of grooming (1),
- piloerection (2),
- hunched up (3),
- above and eyes half closed (4);

[b] behaviour - unprovoked:

- normal (0),
- minor changes (1),
- less mobil and isolated (2),
- restless or very still (3);

behaviour - provoked:

- responsive and alert (0),
- unresponsive and not alert (3);

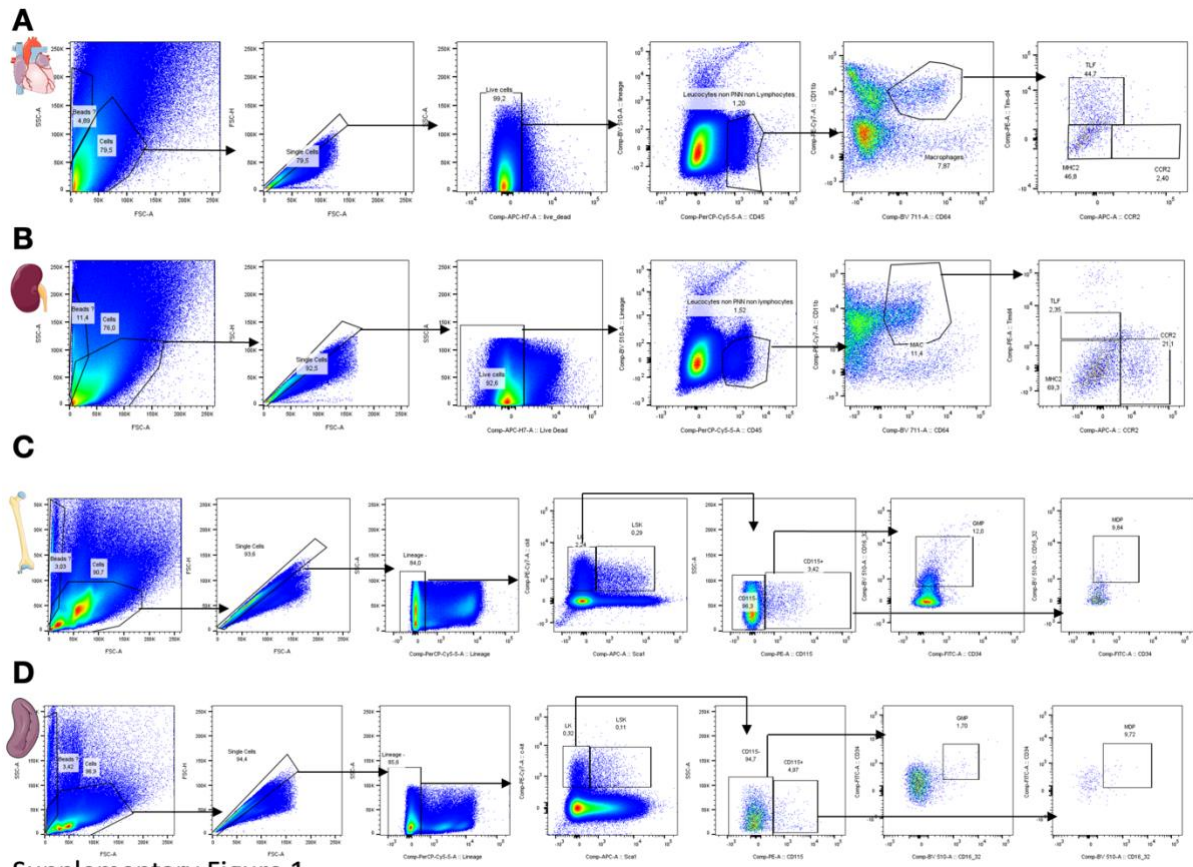
[c] clinical signs:

- normal respiratory rate (0),
- slight changes (1),
- decreased rate with abdominal breathing (2),
- marked abdominal breathing and cyanosis (3);

[d] hydration status:

- normal (0),
- dehydrated (5).

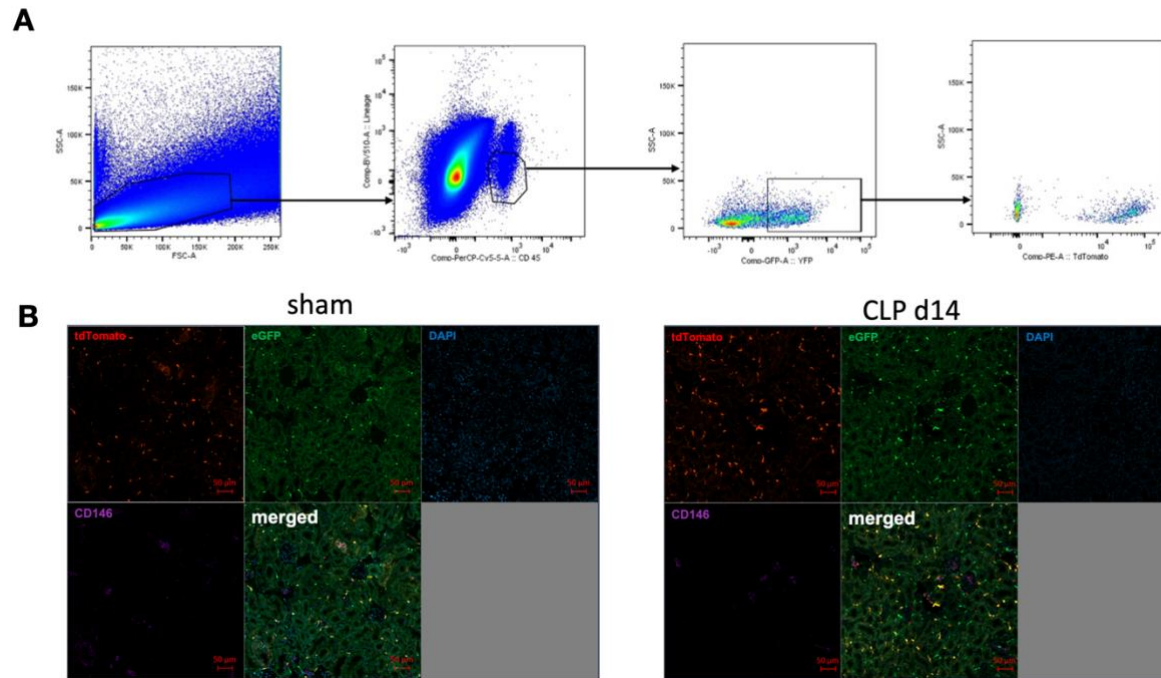
The higher the score the worse the clinical situation of the animal.



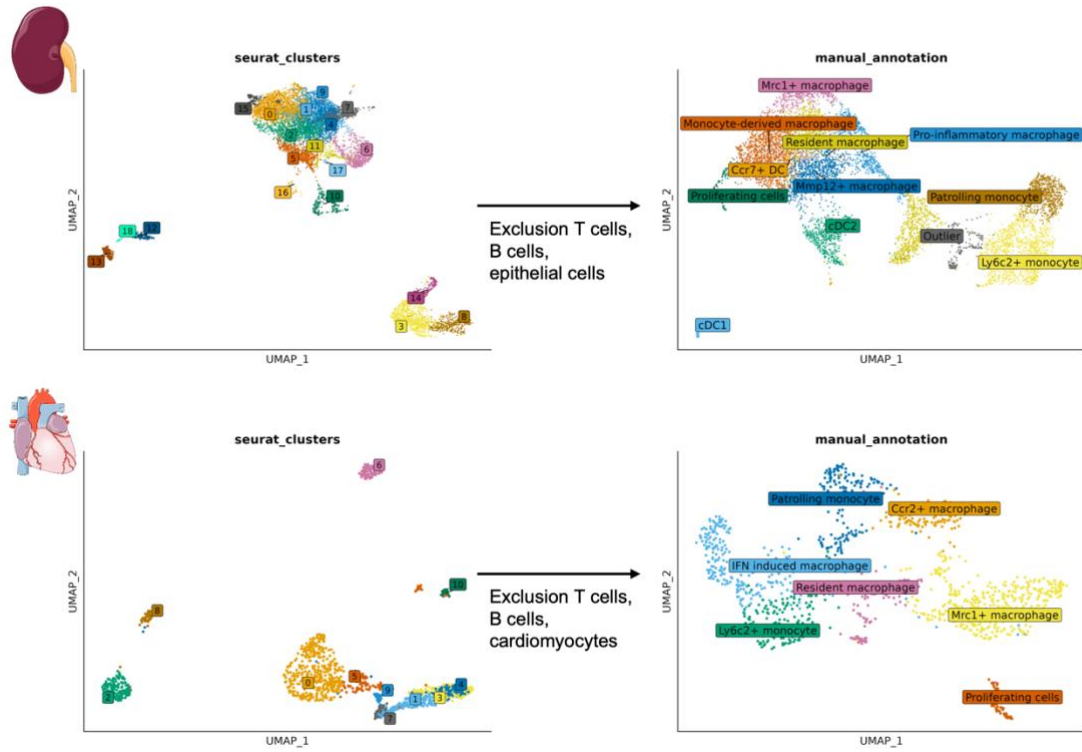
Supplementary Figure 1.

Supplementary Figure 1. Flow cytometry gating strategy for all organs related to Figure 1.

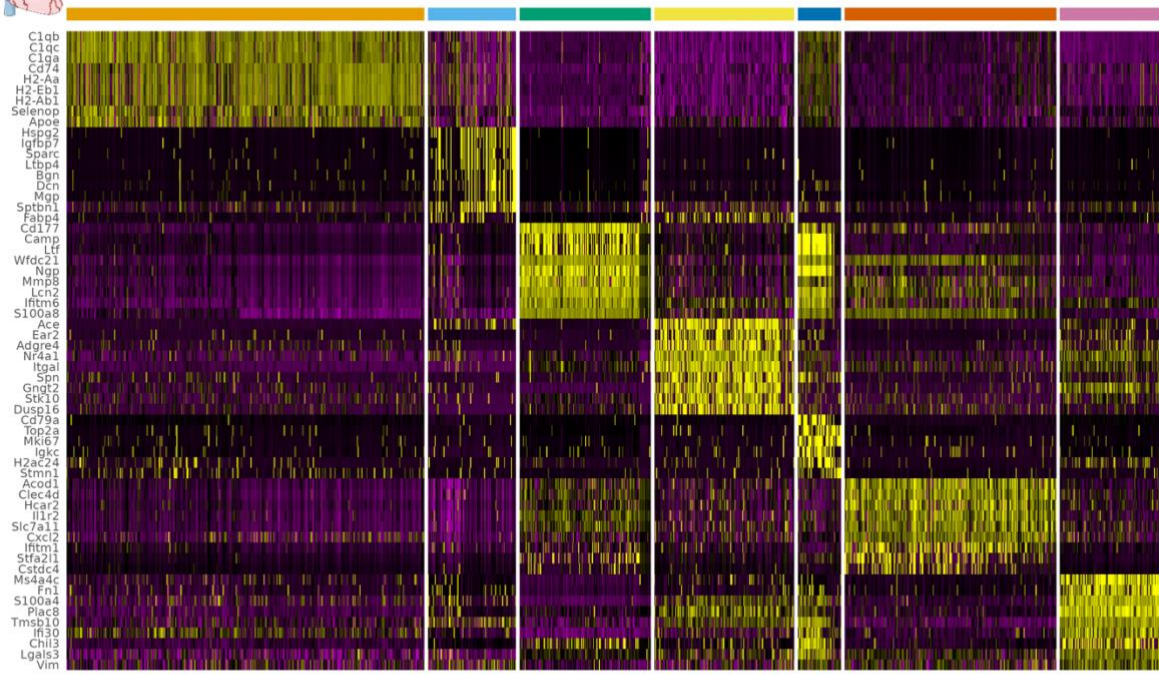
Gating for (A) Heart, (B) Kidney, (C) bone marrow, (D) spleen, those gating strategies followed the Immgen guidelines whenever available.



Supplementary Figure 2. Fate Mapping analyzes, (A) Flow cytometry gating strategy for heart and kidney. **(B)** Immunofluorescence of CX3CR1YFP^{CreER/+}Rosa26Tdtomato/+ macrophages with Tdtomato (red) CX3CR1 (green), CD146 (purple) and DAPI.



Supplementary figure 3. scRNAseq analyzes and clustering

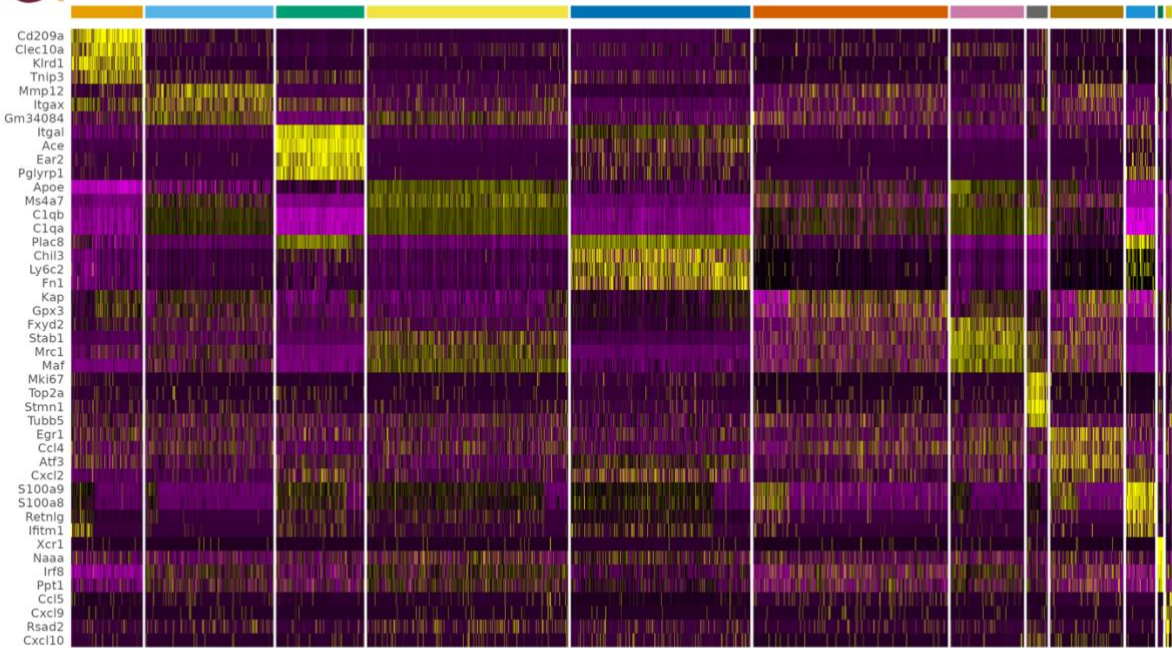


Identity

- Mrc1+ macrophage
- Resident macrophage
- Ly6c2+ monocyte
- Patrolling monocyte
- Proliferating cells
- IFN induced macrophage
- Ccr2+ macrophage

Expression

-2 -1 0 1 2



Identity

- cDC2
- Mmp12+ macrophage
- Patrolling monocyte
- Monocyte-derived macrophage
- Ly6c2+ monocyte
- Resident macrophage
- Mrc1+ macrophage
- Proliferating cells
- Pro-inflammatory macrophage
- Outlier
- cDC1
- Ccr7+ DC

Expression -2 -1 0 1 2

Supplementary figure 4. Top 10 differentially expressed genes by fold change in each cluster, calculated using Wilcoxon signed-rank test. The colour scheme is based on z-score distribution; Top 5 differentially expressed genes in the kidney

Conclusions et perspectives

L'amélioration de la qualité de vie ainsi que le traitement et la prévention des complications à long terme du sepsis constituent les enjeux des décennies à venir. Le sepsis est une maladie dont l'incidence est en augmentation. Depuis 2017, il est reconnu comme priorité mondiale de santé publique par l'OMS, ce qui la place au centre des préoccupations médicales actuelles.

Bien que le sepsis possède un taux de mortalité élevé à court terme, il semble que la majeure partie de la morbidité et de la mortalité attribuables au sepsis soit due à l'impact à moyen et à long terme sur les survivants. Le sepsis est associé à un taux élevé de réhospitalisation dans le mois qui suit l'événement septique et à un risque accru d'insuffisance rénale et cardiaque à long terme. Les mécanismes à l'origine du développement de ces complications à long terme ont été, jusqu'à présent, peu étudiés. Dans la présente étude, nous avons montré que le sepsis était responsable d'une défaillance transitoire du cœur et du rein, mais qu'il induisait une réorganisation à long terme des sous-populations de macrophages tissulaires. Nous avons observé de profonds changements des profils transcriptionnels de ces mêmes macrophages et le recrutement de macrophages dérivés de monocytes. Ces macrophages dérivés de monocytes possèdent un profil pro-inflammatoire et pro-fibrotique comparativement aux cellules résidentes. Ces changements de nombre et de phénotype, qui persistent après la guérison clinique apparente, sont associés à une incapacité des tissus à se réparer correctement après une nouvelle agression. Dans l'ensemble, nos données suggèrent que les macrophages tissulaires contribuent à l'altération de la réparation des organes observée après le sepsis et pourraient représenter une nouvelle cible thérapeutique.

Le sepsis, les maladies cardiovasculaires et l'insuffisance rénale chronique ont été liés par de nombreuses études observationnelles. La survenue d'une IRA au cours d'une hospitalisation pour sepsis est un facteur de risque majeur de développement d'une IRC. Au cours du sepsis, le cœur et les reins recrutent tous des milliers de cellules myéloïdes circulantes, ces cellules semblent avoir un rôle protecteur à la phase aiguë, en protégeant les organes contre l'inflammation systémique. Un changement phénotypique est crucial pour les macrophages dérivés de monocytes, afin de favoriser la guérison par rapport à la fibrose dans divers contextes. L'absence de changement de phénotype pourrait être responsable d'une réparation inadaptée dans diverses conditions. Dans cette perspective, nous avons émis l'hypothèse qu'une seconde agression, survenant avant la

restauration immunitaire intra-organe (*immune reset*) mais après la guérison apparente, pourrait favoriser le développement d'une fibrose et une atrophie tissulaire au détriment de la réparation tissulaire.

Jusqu'à présent, il n'existait pas de modèle permettant d'étudier l'impact à long terme des perturbations immunitaires induites par le sepsis. Dans la présente étude, nous avons mis au point un modèle de double agression qui mime un scénario clinique fréquent et crédible. Les patients survivants du sepsis développent une maladie cardio-rénale. Cette double atteinte d'organe peut être en rapport avec une agression simultanée des deux organes ou alors en lien avec l'interaction entre ces deux organes (c'est-à-dire une atteinte rénale entraînant une atteinte cardiaque où *vice-et-versa*)(218). L'hypertension artérielle est une comorbidité fréquente chez les patients atteints de sepsis, celle-ci est associée à un plus mauvais pronostic à long terme (219). Ces résultats suggèrent que les patients survivant du sepsis présentent un état d'hyper-stimulation du SRAA qui pourrait expliquer l'accélération du développement des insuffisances cardiaques et rénales. En outre, il a été démontré que l'inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine par les IEC améliore la survie des patients après sepsis dans plusieurs études rétrospectives (220–222). Le modèle de perfusion d'angiotensine 2 est un modèle bien décrit, connu pour provoquer une hypertension robuste et pour induire une fibrose cardiaque et rénale (185,212). Ce nouveau modèle de double agression peut être utilisé pour étudier les conséquences à long terme du sepsis en générant, comme observé dans la pratique clinique, une agression chronique après un sepsis. De façon intéressante, nos analyses transcriptomiques ont révélé que les macrophages rénaux présentaient une forte expression de la protéine associée au récepteur de l'angiotensine (*Agtrap*), ce qui suggère qu'ils pourraient être eux-mêmes sensibles à la perfusion d'angiotensine-2.

Dans notre modèle sub-léthal, le sepsis en lui-même n'a pas induit de fibrose cardiaque ni rénale jusqu'à 3 mois. En revanche, il était responsable de modifications intra-organes à long terme avec des modifications profondes du nombre et du phénotype des macrophages intra-tissulaires. Nous démontrons ici que les macrophages dérivés des monocytes sont responsables de l'augmentation globale du pool de macrophages intra-organe, et que cet incrément dure plusieurs semaines malgré une guérison complète. Nous avons également confirmé que les macrophages dérivés de monocytes présentent un phénotype profibrotique et pro-inflammatoire par rapport aux

macrophages résidents. Ces modifications ne sont pas responsables en soi du développement de la fibrose, mais sont très probablement responsables de la réparation inadaptée observée après une seconde agression.

En résumé, le sepsis a un impact profond sur les populations de macrophages tissulaires, en particulier par le recrutement de macrophages dérivés de monocytes pro-fibrotiques qui sont associés à une altération de la réparation tissulaire en cas de nouvelle agression. La modulation du nombre et du phénotype des macrophages tissulaires pourrait donc représenter une nouvelle cible thérapeutique pour prévenir les conséquences à long terme du sepsis.

Annexes

de Roquetaillade C, Laouenan C, Mira JP, Roy C, Thuong M, Azoulay É, Gruson D, Jacobs F, Chommeloux J, Raffi F, Hocqueloux L, Imbert P, Jeantils V, Delassus JL, Matheron S, Fitting C, Timsit JF, Bruneel F. **Cytokine profiles in adults with imported malaria.** *Scientific Report.* 2023

de Roquetaillade C, Mansouri S, Brumpt C, Neuwirth M, Voicu S, Le Dorze M, Fontaine C, Barthélémy R, Gayat E, Megarbane B, Mebazaa A, Chousterman BG. **Comparison of Circulating Immune Cells Profiles and Kinetics Between Coronavirus Disease 2019 and Bacterial Sepsis.** *Critical Care Medicine.* 2021

Ludes PO, **de Roquetaillade C**, Chousterman BG, Pottecher J, Mebazaa A. **Role of Damage-Associated Molecular Patterns in Septic Acute Kidney Injury, From Injury to Recovery.** *Frontiers Immunology* 2021

Liste des articles publiés durant la thèse (Novembre 2019 – Novembre 2023)

Liste des publications durant la thèse (Novembre 2019 - Novembre 2023)

de Roquetaillade C, Collet M, Huot B, Chousterman BG, Barthelemy R. Augmented Creatinine Clearance in Critically Ill Patients with Acute Brain Injury: Are We Measuring Glomerular Filtration? *Neurocritical Care*. 2023 Oct

de Roquetaillade C, Laouenan C, Mira JP, Roy C, Thuong M, Azoulay É, Gruson D, Jacobs F, Chommeloux J, Raffi F, Hocqueloux L, Imbert P, Jeantils V, Delassus JL, Matheron S, Fitting C, Timsit JF, Bruneel F. Cytokine profiles in adults with imported malaria. *Scientific Report*. 2023 Jun 26

Foudhaili A, Barthélémy R, Collet M, de Roquetaillade C, Kerever S, Vitiello D, Mebazaa A, Chousterman BG. Impact of Early Out-of-Bed Mobilization on Functional Outcome in Patients with Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Retrospective Cohort Study. *World Neurosurgery* 2023 Jul

Fialek B, De Roquetaillade C, Pruc M, Navolokina A, Chirico F, Ladny JR, Peacock FW, Szarpak L. Systematic review with meta-analysis of mid-regional pro-adrenomedullin (MR-proADM) as a prognostic marker in Covid-19-hospitalized patients. *Annals of Medicine* 2023 Dec

Blot PL, de Roquetaillade C, Deniau B, Gaugain S, Kindermans M, Julian N, LE Dorze M, Mebazaa A, Chousterman BG, Barthélémy R. Efficacy of almitrine as a rescue therapy for refractory hypoxemia in COVID and non-COVID acute respiratory distress syndrome. A retrospective monocenter study. *Minerva Anesthesiology*. 2023 Mar

Borouchaki A, de Roquetaillade C, Barthélémy R, Mebazaa A, Chousterman BG. Immunotherapy to treat sepsis induced-immunosuppression: Immune eligibility or outcome criteria, a systematic review. *Journal of Critical Care*. 2022 Dec

Picod A, Morisson L, de Roquetaillade C, Sadoune M, Mebazaa A, Gayat E, Davison BA, Cotter G, Chousterman BG. Systemic Inflammation Evaluated by Interleukin-6 or C-Reactive Protein in Critically Ill Patients: Results From the FROG-ICU Study. *Frontiers Immunology*. 2022 May 12

de Roquetaillade C, Dupuis C, Faivre V, Lukaszewicz AC, Brumpt C, Payen D. Monitoring of circulating monocyte HLA-DR expression in a large cohort of intensive care patients: relation with secondary infections. *Annals of Intensive Care*. 2022 May 8

Plais H, Labruyère M, Creutin T, Nay P, Plantefeve G, Tapponnier R, Jonas M, Ngapmen NT, Le Guennec L, De Roquetaillade C, Argaud L, Jamme M, Goulenok C, Merouani K, Leclerc M, Sauneuf B, Shidasp S, Stoclin A, Bardet A, Mir O, Ibrahimi N, Llitjos JF. Outcomes of Patients With Active Cancer and COVID-19 in the Intensive-Care Unit: A Multicenter Ambispective Study. *Frontiers Oncology*. 2022 Mar 10

de Roquetaillade C, Guillemin J, Beaucoté V, Barthelemy R, Chousterman BG. Beta-Blockers in COVID-ARDS: Inflammation or Hemodynamic? *Journal of the American College of Cardiology*. 2022 Jan 4

de Roquetaillade C, Guillemin J, Picod A, Mebazaa A, Kimmoun A, Chousterman BG. Single-dose tocilizumab blunts systemic inflammation in severe COVID-19 patients. *Journal of Critical Care* 2022

Meghraoui-Kheddar A, Chousterman BG, Guillou N, Barone SM, Granjeaud S, Vallet H, Corneau A, Guessous K, de Roquetaillade C, Boissonnas A, Irish JM, Combadière C. Two New Neutrophil Subsets Define a Discriminating Sepsis Signature. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2022 Jan 1

de Roquetaillade C, Chousterman BG, Dépret F, Mebazaa A, Deniau B. Plasmatic NGAL Monitoring in Cardiogenic Shock: Deciphering the Past, the Present, and the Future. *Shock*. 2022 Mar 1

de Roquetaillade C, Bredin S, Lascarrou JB, Soumagne T, Cojocaru M, Chousterman BG, Leclerc M, Gouhier A, Piton G, Pène F, Stoclin A, Llitjos JF. Timing and causes of death in severe COVID-19 patients. *Critical Care*. 2021 Jun 30

de Roquetaillade C, Mansouri S, Brumpt C, Neuwirth M, Voicu S, Le Dorze M, Fontaine C, Barthélémy R, Gayat E, Megarbane B, Mebazaa A, Chousterman BG. Comparison of Circulating Immune Cells Profiles and Kinetics Between Coronavirus Disease 2019 and Bacterial Sepsis. *Critical Care Medicine*. 2021 Oct 1

de Roquetaillade C, Chousterman BG, Mebazaa A. Making things right! Shouldn't we screen patients with thromboembolic events for SARS-CoV-2 infection, during the pandemia? *International Journal of Cardiology*. 2021 Sep 1

Ludes PO, de Roquetaillade C, Chousterman BG, Pottecher J, Mebazaa A. Role of Damage-Associated Molecular Patterns in Septic Acute Kidney Injury, From Injury to Recovery. *Frontiers Immunology*. 2021 Mar 1

Voicu S, Chousterman BG, Bonnin P, Deye N, Malissin I, Gall AL, Barthélémy R, Sutterlin L, Naim G, Mrad A, Pepin-Lehalleur A, Dorze ML, de Roquetaillade C, Ekhérian JM, Gayat E, Sidéris G, Mebazaa A, Mégarbane B. Increased anticoagulation reduces proximal deep vein thrombosis in mechanically ventilated COVID-19 patients: Venous thrombosis prevention & COVID-19. *Journal of Infection*. 2021 May

Barthélémy R, Beaucoté V, Bordier R, Collet M, Le Gall A, Hong A, de Roquetaillade C, Gayat E, Mebazaa A, Chousterman BG. Haemodynamic impact of positive end-expiratory pressure in SARS-CoV-2 acute respiratory distress syndrome: oxygenation versus oxygen delivery *British Journal of Anaesthesiology*. 2021 Feb

COVID-ICU Group on behalf of the REVA Network and the COVID-ICU Investigators. Clinical characteristics and day-90 outcomes of 4244 critically ill adults with COVID-19: a prospective cohort study *Intensive Care Medicine*. 2021 Jan

de Roquetaillade C, Chousterman BG, Tomasoni D, Zeitouni M, Houdart E, Guedon A, Reiner P, Bordier R, Gayat E, Montalescot G, Metra M, Mebazaa A. Unusual arterial thrombotic events in Covid-19 patients *International Journal of Cardiology*. 2021 Jan 15

de Roquetaillade C, Mansouri S, Chousterman BG. Could host response guide VAP treatment? No answer yet. *Lancet Respiratory Medicine*. 2020 May

Blet A, de Roquetaillade C, Hartmann O, Struck J, Mebazaa A, Chousterman BG. Added value of serial bio-adrenomedullin measurement in addition to lactate for the prognosis of septic patients admitted to ICU. *Critical Care* 2020.

de Roquetaillade C, Jamme M, Charpentier J, Chiche JD, Cariou A, Mira JP, Pène F, Llitjos JF. Hemodynamic Impact of Cardiovascular Antihypertensive Medications in Patients With Sepsis-Related Acute Circulatory Failure. *Shock*. 2020 Sep

RÉFÉRENCES

1. Majno G. The Ancient Riddle of $\tilde{\sigma}\eta\pi\iota\zeta$ (Sepsis). *J Infect Dis.* 1 mai 1991;163(5):937-45.
2. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin.* janv 2009;25(1):83-101, viii.
3. Hommes TJ, Wiersinga WJ, van der Poll T. The Host Response to Sepsis. In: Vincent JL, éditeur. *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 2009 [cité 23 oct 2023]. p. 39-50. (*Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine*). Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-3-540-92276-6_4
4. Reinhart K, Daniels R, Kissoon N, Machado FR, Schachter RD, Finfer S. Recognizing Sepsis as a Global Health Priority - A WHO Resolution. *N Engl J Med.* 3 août 2017;377(5):414-7.
5. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock 2012. *Crit Care Med.* févr 2013;41(2):580.
6. Cohen J, Opal S, Calandra T. Sepsis studies need new direction. *Lancet Infect Dis.* 1 juill 2012;12(7):503-5.
7. van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. *Nat Rev Immunol.* juill 2017;17(7):407-20.
8. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):801-10.
9. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* juill 2001;29(7):1303-10.
10. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The Epidemiology of Sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med.* 17 avr 2003;348(16):1546-54.
11. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NKJ, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 févr 2016;193(3):259-72.
12. Yeh RW, Sidney S, Chandra M, Sorel M, Selby JV, Go AS. Population trends in the incidence and outcomes of acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 10 juin 2010;362(23):2155-65.
13. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin.* 2022;72(1):7-33.

14. iarc.com [Internet]. 2018. Dernières données mondiales sur le cancer : le fardeau du cancer atteint 18,1 millions de nouveaux cas et 9,6 millions de décès par cancer en 2018. Disponible sur: https://www.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/09/pr263_F.pdf
15. Vincent JL, Marshall JC, Namendys-Silva SA, François B, Martin-Loeches I, Lipman J, et al. Assessment of the worldwide burden of critical illness: the Intensive Care Over Nations (ICON) audit. *Lancet Respir Med*. 1 mai 2014;2(5):380-6.
16. Hall MJ, DeFrances CJ. Inpatient Care for Septicemia or Sepsis: A Challenge for Patients and Hospitals. 2011;(62):8.
17. Martin AB, Hartman M, Benson J, Catlin A, the National Health Expenditure Accounts Team. National Health Spending In 2014: Faster Growth Driven By Coverage Expansion And Prescription Drug Spending. *Health Aff (Millwood)*. janv 2016;35(1):150-60.
18. Janeway CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*. 2002;20:197-216.
19. Chousterman BG, Swirski FK, Weber GF. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. *Semin Immunopathol*. 1 juill 2017;39(5):517-28.
20. Rubio I, Osuchowski MF, Shankar-Hari M, Skirecki T, Winkler MS, Lachmann G, et al. Current gaps in sepsis immunology: new opportunities for translational research. *Lancet Infect Dis*. 1 déc 2019;19(12):e422-36.
21. Souto FO, Alves-Filho JC, Turato WM, Auxiliadora-Martins M, Basile-Filho A, Cunha FQ. Essential Role of CCR2 in Neutrophil Tissue Infiltration and Multiple Organ Dysfunction in Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 janv 2011;183(2):234-42.
22. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *Lancet Infect Dis*. 1 mars 2013;13(3):260-8.
23. Annane D. The Role of ACTH and Corticosteroids for Sepsis and Septic Shock: An Update. *Front Endocrinol [Internet]*. 2016 [cité 11 mai 2019];7. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2016.00070/full>
24. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med*. 9 janv 2003;348(2):138-50.
25. Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, et al. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA*. 17 août 2005;294(7):813-8.
26. Hoste EAJ, Bagshaw SM, Bellomo R, Cely CM, Colman R, Cruz DN, et al. Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study. *Intensive Care Med*. 1 août 2015;41(8):1411-23.

27. Peerapornratana S, Manrique-Caballero CL, Gómez H, Kellum JA. Acute kidney injury from sepsis: current concepts, epidemiology, pathophysiology, prevention and treatment. *Kidney Int.* nov 2019;96(5):1083-99.
28. Khwaja A. KDIGO Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury. *Nephron Clin Pract.* 2012;120(4):c179-84.
29. Kellum JA, Sileanu FE, Murugan R, Lucko N, Shaw AD, Clermont G. Classifying AKI by Urine Output versus Serum Creatinine Level. *J Am Soc Nephrol JASN.* sept 2015;26(9):2231-8.
30. Haase M, Kellum JA, Ronco C. Subclinical AKI—an emerging syndrome with important consequences. *Nat Rev Nephrol.* déc 2012;8(12):735-9.
31. Mehta RL, Bouchard J, Soroko SB, Ikizler TA, Paganini EP, Chertow GM, et al. Sepsis as a cause and consequence of acute kidney injury: Program to Improve Care in Acute Renal Disease. *Intensive Care Med.* 2011;37(2):241-8.
32. Flannery AH, Li X, Delozier NL, Toto RD, Moe OW, Yee J, et al. Sepsis-Associated Acute Kidney Disease and Long-term Kidney Outcomes. *Kidney Med.* 1 juill 2021;3(4):507-514.e1.
33. James MT, Bhatt M, Pannu N, Tonelli M. Long-term outcomes of acute kidney injury and strategies for improved care. *Nat Rev Nephrol.* avr 2020;16(4):193-205.
34. Basile DP, Bonventre JV, Mehta R, Nangaku M, Unwin R, Rosner MH, et al. Progression after AKI: Understanding Maladaptive Repair Processes to Predict and Identify Therapeutic Treatments. *J Am Soc Nephrol.* 1 mars 2016;27(3):687-97.
35. Ferenbach DA, Bonventre JV. Mechanisms of maladaptive repair after AKI leading to accelerated kidney ageing and CKD. *Nat Rev Nephrol.* mai 2015;11(5):264-76.
36. Bataille A, Galichon P, Chelghoum N, Oumoussa BM, Ziliotis MJ, Sadia I, et al. Increased Fatty Acid Oxidation in Differentiated Proximal Tubular Cells Surviving a Reversible Episode of Acute Kidney Injury. *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol.* 2018;47(4):1338-51.
37. Jang HR, Rabb H. Immune cells in experimental acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol.* févr 2015;11(2):88-101.
38. Cao Q, Harris DCH, Wang Y. Macrophages in Kidney Injury, Inflammation, and Fibrosis. *Physiology.* mai 2015;30(3):183-94.
39. Chen H, Liu N, Zhuang S. Macrophages in Renal Injury, Repair, Fibrosis Following Acute Kidney Injury and Targeted Therapy. *Front Immunol [Internet].* 2022 [cité 26 juill 2023];13. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.934299>

40. Black LM, Lever JM, Traylor AM, Chen B, Yang Z, Esman SK, et al. Divergent effects of AKI to CKD models on inflammation and fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1 oct 2018;315(4):F1107-18.
41. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol.* déc 2004;25(12):677-86.
42. Zarbock A, Gomez H, Kellum JA. Sepsis-induced AKI revisited: pathophysiology, prevention and future therapies. *Curr Opin Crit Care.* déc 2014;20(6):588-95.
43. Schrier RW, Wang W. Acute Renal Failure and Sepsis. *N Engl J Med.* 8 juill 2004;351(2):159-69.
44. Kikeri D, Pennell JP, Hwang KH, Jacob AI, Richman AV, Bourgoignie JJ. Endotoxemic acute renal failure in awake rats. *Am J Physiol.* juin 1986;250(6 Pt 2):F1098-1106.
45. Ravikant T, Lucas CE. Renal blood flow distribution in septic hyperdynamic pigs. *J Surg Res.* 1 mars 1977;22(3):294-8.
46. Brenner M, Schaer GL, Mallory DL, Suffredini AF, Parrillo JE. Detection of Renal Blood Flow Abnormalities in Septic and Critically Ill Patients Using a Newly Designed Indwelling Thermodilution Renal Vein Catheter. *Chest.* 1 juill 1990;98(1):170-9.
47. Langenberg C, Bagshaw SM, May CN, Bellomo R. The histopathology of septic acute kidney injury: a systematic review. *Crit Care Lond Engl.* 2008;12(2):R38.
48. Maiden MJ, Otto S, Brealey JK, Finnis ME, Chapman MJ, Kuchel TR, et al. Structure and Function of the Kidney in Septic Shock. A Prospective Controlled Experimental Study. *Am J Respir Crit Care Med.* 11 mars 2016;194(6):692-700.
49. Takasu O, Gaut JP, Watanabe E, To K, Fagley RE, Sato B, et al. Mechanisms of cardiac and renal dysfunction in patients dying of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 mars 2013;187(5):509-17.
50. Kosaka J, Lankadeva YR, May CN, Bellomo R. Histopathology of Septic Acute Kidney Injury: A Systematic Review of Experimental Data. *Crit Care Med.* sept 2016;44(9):e897-903.
51. Lerolle N, Nochy D, Guérot E, Bruneval P, Fagon JY, Diehl JL, et al. Histopathology of septic shock induced acute kidney injury: apoptosis and leukocytic infiltration. *Intensive Care Med.* mars 2010;36(3):471-8.
52. Parker MM, Shelhamer JH, Bacharach SL, Green MV, Natanson C, Frederick TM, et al. Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock. *Ann Intern Med.* avr 1984;100(4):483-90.

53. Vieillard-Baron A, Cecconi M. Understanding cardiac failure in sepsis. *Intensive Care Med.* oct 2014;40(10):1560-3.
54. Hollenberg SM, Singer M. Pathophysiology of sepsis-induced cardiomyopathy. *Nat Rev Cardiol.* juin 2021;18(6):424-34.
55. Beesley SJ, Weber G, Sarge T, Nikravan S, Grissom CK, Lanspa MJ, et al. Septic Cardiomyopathy. *Crit Care Med.* avr 2018;46(4):625-34.
56. Weisel RD, Vito L, Dennis RC, Valeri CR, Hechtman HB. Myocardial depression during sepsis. *Am J Surg.* avr 1977;133(4):512-21.
57. Huang SJ, Nalos M, McLean AS. Is early ventricular dysfunction or dilatation associated with lower mortality rate in adult severe sepsis and septic shock? A meta-analysis. *Crit Care.* 27 mai 2013;17(3):R96.
58. Parrillo JE, Burch C, Shelhamer JH, Parker MM, Natanson C, Schuette W. A circulating myocardial depressant substance in humans with septic shock. Septic shock patients with a reduced ejection fraction have a circulating factor that depresses in vitro myocardial cell performance. *J Clin Invest.* 1 oct 1985;76(4):1539-53.
59. Kumar A, Thota V, Dee L, Olson J, Uretz E, Parrillo JE. Tumor necrosis factor alpha and interleukin 1beta are responsible for in vitro myocardial cell depression induced by human septic shock serum. *J Exp Med.* 1 mars 1996;183(3):949-58.
60. Hoffmann JN, Werdan K, Hartl WH, Jochum M, Faist E, Inthorn D. Hemofiltrate from patients with severe sepsis and depressed left ventricular contractility contains cardiotoxic compounds. *Shock* Augusta Ga. sept 1999;12(3):174-80.
61. Madorin WS, Rui T, Sugimoto N, Handa O, Cepinskas G, Kvietys PR. Cardiac myocytes activated by septic plasma promote neutrophil transendothelial migration: role of platelet-activating factor and the chemokines LIX and KC. *Circ Res.* 16 avr 2004;94(7):944-51.
62. Zhang W, Xu X, Kao R, Mele T, Kvietys P, Martin CM, et al. Cardiac Fibroblasts Contribute to Myocardial Dysfunction in Mice with Sepsis: The Role of NLRP3 Inflammasome Activation. *PLoS ONE.* 12 sept 2014;9(9):e107639.
63. Landesberg G, Levin PD, Gilon D, Goodman S, Georgieva M, Weissman C, et al. Myocardial Dysfunction in Severe Sepsis and Septic Shock: No Correlation With Inflammatory Cytokines in Real-life Clinical Setting. *Chest.* juill 2015;148(1):93-102.
64. Opal SM, Fisher CJ, Dhainaut JF, Vincent JL, Brase R, Lowry SF, et al. Confirmatory interleukin-1 receptor antagonist trial in severe sepsis: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. The Interleukin-1 Receptor Antagonist Sepsis Investigator Group. *Crit Care Med.* juill 1997;25(7):1115-24.
65. Fisher CJ, Dhainaut JF, Opal SM, Pribble JP, Balk RA, Slotman GJ, et al. Recombinant human interleukin 1 receptor antagonist in the treatment of patients with sepsis syndrome.

Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Phase III rhIL-1ra Sepsis Syndrome Study Group. *JAMA*. 15 juin 1994;271(23):1836-43.

66. Raschke RA, Garcia-Orr R. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: a potentially underrecognized association with systemic inflammatory response syndrome, severe sepsis, and septic shock in adults. *Chest*. oct 2011;140(4):933-8.
67. Shakoory B, Carcillo JA, Chatham WW, Amdur RL, Zhao H, Dinarello CA, et al. Interleukin-1 receptor blockade is associated with reduced mortality in sepsis patients with features of the macrophage activation syndrome: Re-analysis of a prior Phase III trial. *Crit Care Med*. févr 2016;44(2):275-81.
68. Stevenson EK, Rubenstein AR, Radin GT, Wiener RS, Walkey AJ. Two decades of mortality trends among patients with severe sepsis: a comparative meta-analysis*. *Crit Care Med*. mars 2014;42(3):625-31.
69. Prescott HC, Osterholzer JJ, Langa KM, Angus DC, Iwashyna TJ. Late mortality after sepsis: propensity matched cohort study. *BMJ*. 17 mai 2016;353:i2375.
70. Shankar-Hari M, Harrison DA, Ferrando-Vivas P, Rubenfeld GD, Rowan K. Risk Factors at Index Hospitalization Associated With Longer-term Mortality in Adult Sepsis Survivors. *JAMA Netw Open*. 3 mai 2019;2(5):e194900-e194900.
71. Singer M, Inada-Kim M, Shankar-Hari M. Sepsis hysteria: excess hype and unrealistic expectations. *Lancet Lond Engl*. 26 oct 2019;394(10208):1513-4.
72. Linder A, Guh D, Boyd JH, Walley KR, Anis AH, Russell JA. Long-term (10-year) mortality of younger previously healthy patients with severe sepsis/septic shock is worse than that of patients with nonseptic critical illness and of the general population. *Crit Care Med*. oct 2014;42(10):2211-8.
73. Wang HE, Szychowski JM, Griffin R, Safford MM, Shapiro NI, Howard G. Long-term mortality after community-acquired sepsis: a longitudinal population-based cohort study. *BMJ Open [Internet]*. 1 janv 2014 [cité 4 nov 2019];4(1). Disponible sur: <http://bmjopen.bmj.com/content/4/1/e004283>
74. Shankar-Hari M, Saha R, Wilson J, Prescott HC, Harrison D, Rowan K, et al. Rate and risk factors for rehospitalisation in sepsis survivors: systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*. avr 2020;46(4):619-36.
75. Merdji H, Kassem M, Chomel L, Clere-Jehl R, Helms J, Kurihara K, et al. Septic shock as a trigger of arterial stress-induced premature senescence: A new pathway involved in the post sepsis long-term cardiovascular complications. *Vascul Pharmacol*. déc 2021;141:106922.
76. Alber DG, Powell KL, Vallance P, Goodwin DA, Grahame-Clarke C. Herpesvirus infection accelerates atherosclerosis in the apolipoprotein E-deficient mouse. *Circulation*. 15 août 2000;102(7):779-85.

77. Jentzer JC, Lawler PR, Van Houten HK, Yao X, Kashani KB, Dunlay SM. Cardiovascular Events Among Survivors of Sepsis Hospitalization: A Retrospective Cohort Analysis. *J Am Heart Assoc.* 7 févr 2023;12(3):e027813.
78. Smeeth L, Thomas SL, Hall AJ, Hubbard R, Farrington P, Vallance P. Risk of myocardial infarction and stroke after acute infection or vaccination. *N Engl J Med.* 16 déc 2004;351(25):2611-8.
79. Angriman F, Rosella LC, Lawler PR, Ko DT, Martin CM, Wunsch H, et al. Risk Factors for Major Cardiovascular Events in Adult Sepsis Survivors: A Population-Based Cohort Study. *Crit Care Med.* 1 avr 2023;51(4):471-83.
80. Beesley SJ, Sorensen J, Walkey AJ, Tonna JE, Lanspa MJ, Hirshberg E, et al. Long-Term Implications of Abnormal Left Ventricular Strain During Sepsis. *Crit Care Med.* 1 avr 2021;49(4):e444-53.
81. Yap J, Irei J, Lozano-Gerona J, Vanapruks S, Bishop T, Boisvert WA. Macrophages in cardiac remodelling after myocardial infarction. *Nat Rev Cardiol.* juin 2023;20(6):373-85.
82. Merdji H, Schini-Kerth V, Meziani F, Toti F. Long-term cardiovascular complications following sepsis: is senescence the missing link? *Ann Intensive Care.* 1 déc 2021;11(1):166.
83. Wald R, Quinn RR, Luo J, Li P, Scales DC, Mamdani MM, et al. Chronic dialysis and death among survivors of acute kidney injury requiring dialysis. *JAMA.* 16 sept 2009;302(11):1179-85.
84. Coca SG, Singanamala S, Parikh CR. Chronic kidney disease after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Kidney Int.* 1 mars 2012;81(5):442-8.
85. Legouis D, Galichon P, Bataille A, Chevret S, Provenchère S, Boutten A, et al. Rapid Occurrence of Chronic Kidney Disease in Patients Experiencing Reversible Acute Kidney Injury after Cardiac Surgery. *Anesthesiology.* 2017;126(1):39-46.
86. Peerapornratana S, Fiorentino M, Priyanka P, Murugan R, Kellum JA. Recovery after AKI: Effects on outcomes over 15 years. *J Crit Care.* 1 août 2023;76:154280.
87. Arshad A, Ayaz A, Rehman S, Ukrani RD, Akbar I, Jamil B. Progression of Acute Kidney Injury to Chronic Kidney Disease in Sepsis Survivors: 1-Year Follow-Up Study. *J Intensive Care Med.* nov 2021;36(11):1366-70.
88. Zarbock A, Nadim MK, Pickkers P, Gomez H, Bell S, Joannidis M, et al. Sepsis-associated acute kidney injury: consensus report of the 28th Acute Disease Quality Initiative workgroup. *Nat Rev Nephrol.* 23 févr 2023;1-17.
89. Nahrendorf M, Pittet MJ, Swirski FK. Monocytes: protagonists of infarct inflammation and repair after myocardial infarction. *Circulation.* 8 juin 2010;121(22):2437-45.

90. Cremer S, Schloss MJ, Vinegoni C, Foy BH, Zhang S, Rohde D, et al. Diminished Reactive Hematopoiesis and Cardiac Inflammation in a Mouse Model of Recurrent Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol*. 3 mars 2020;75(8):901-15.
91. Hotchkiss RS, Moldawer LL. Parallels between cancer and infectious disease. *N Engl J Med*. 24 juill 2014;371(4):380-3.
92. Danai PA, Moss M, Mannino DM, Martin GS. The epidemiology of sepsis in patients with malignancy. *Chest*. juin 2006;129(6):1432-40.
93. Liu Z, Mahale P, Engels EA. Sepsis and Risk of Cancer Among Elderly Adults in the United States. *Clin Infect Dis*. 15 févr 2019;68(5):717-24.
94. Mirouse A, Vigneron C, Llitjos JF, Chiche JD, Mira JP, Mokart D, et al. Sepsis and Cancer: An Interplay of Friends and Foes. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 déc 2020;202(12):1625-35.
95. Chin KM, Chan CY, Lee SY. Spontaneous regression of pancreatic cancer: A case report and literature review. *Int J Surg Case Rep*. 1 janv 2018;42:55-9.
96. Riché F, Chousterman BG, Valleur P, Mebazaa A, Launay JM, Gayat E. Protracted immune disorders at one year after ICU discharge in patients with septic shock. *Crit Care Lond Engl*. 21 févr 2018;22(1):42.
97. Yende S, Kellum JA, Talisa VB, Peck Palmer OM, Chang CCH, Filbin MR, et al. Long-term Host Immune Response Trajectories Among Hospitalized Patients With Sepsis. *JAMA Netw Open*. 7 août 2019;2(8):e198686.
98. Yende S, D'Angelo G, Kellum JA, Weissfeld L, Fine J, Welch RD, et al. Inflammatory markers at hospital discharge predict subsequent mortality after pneumonia and sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 juin 2008;177(11):1242-7.
99. Arens C, Bajwa SA, Koch C, Siegler BH, Schneck E, Hecker A, et al. Sepsis-induced long-term immune paralysis – results of a descriptive, explorative study. *Crit Care*. 29 févr 2016;20(1):93.
100. Waeckel L, Venet F, Gossez M, Monard C, Rimmelé T, Monneret G. Delayed persistence of elevated monocytic MDSC associates with deleterious outcomes in septic shock: a retrospective cohort study. *Crit Care Lond Engl*. 07 2020;24(1):132.
101. Park MD, Silvin A, Ginhoux F, Merad M. Macrophages in health and disease. *Cell*. 10 nov 2022;185(23):4259-79.
102. Steven JL. Metchnikoff on the Comparative Pathology of Inflammation. *Glasg Med J*. sept 1892;38(3):195.
103. Gordon S. Elie Metchnikoff: Father of natural immunity. *Eur J Immunol*. 2008;38(12):3257-64.

104. Naegeli O. Blutkrankheiten und Blutdiagnostik: Lehrbuch der klinischen Hämatologie. J Am Med Assoc. 1 août 1931;97(5):344.
105. Ginhoux F, Jung S. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis. Nat Rev Immunol. juin 2014;14(6):392-404.
106. van Furth R, Cohn ZA. The origin and kinetics of mononuclear phagocytes. J Exp Med. 1 sept 1968;128(3):415-35.
107. Epelman S, Lavine KJ, Beaudin AE, Sojka DK, Carrero JA, Calderon B, et al. Embryonic and adult-derived resident cardiac macrophages are maintained through distinct mechanisms at steady state and during inflammation. Immunity. 16 janv 2014;40(1):91-104.
108. Auffray C, Sieweke MH, Geissmann F. Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells. Annu Rev Immunol. 2009;27:669-92.
109. Yona S, Kim KW, Wolf Y, Mildner A, Varol D, Breker M, et al. Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis. Immunity. 24 janv 2013;38(1):79-91.
110. Cecchini MG, Dominguez MG, Mocci S, Wetterwald A, Felix R, Fleisch H, et al. Role of colony stimulating factor-1 in the establishment and regulation of tissue macrophages during postnatal development of the mouse. Dev Camb Engl. juin 1994;120(6):1357-72.
111. Robbins CS, Chudnovskiy A, Rauch PJ, Figueiredo JL, Iwamoto Y, Gorbato R, et al. Extramedullary hematopoiesis generates Ly-6C(high) monocytes that infiltrate atherosclerotic lesions. Circulation. 17 janv 2012;125(2):364-74.
112. Fogg DK, Sibon C, Miled C, Jung S, Aucouturier P, Littman DR, et al. A clonogenic bone marrow progenitor specific for macrophages and dendritic cells. Science. 6 janv 2006;311(5757):83-7.
113. Hettinger J, Richards DM, Hansson J, Barra MM, Joschko AC, Krijgsveld J, et al. Origin of monocytes and macrophages in a committed progenitor. Nat Immunol. août 2013;14(8):821-30.
114. Yáñez A, Coetzee SG, Olsson A, Muench DE, Berman BP, Hazelett DJ, et al. Granulocyte-Monocyte Progenitors and Monocyte-Dendritic Cell Progenitors Independently Produce Functionally Distinct Monocytes. Immunity. 21 nov 2017;47(5):890-902.e4.
115. Williams M, Ginhoux F, Jakubzick C, Naik SH, Onai N, Schraml BU, et al. Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny. Nat Rev Immunol. août 2014;14(8):571-8.
116. Passlick B, Flieger D, Ziegler-Heitbrock HW. Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. Blood. 15 nov 1989;74(7):2527-34.

117. Shi C, Pamer EG. Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 10 oct 2011;11(11):762-74.
118. Connor RI, Shen L, Fanger MW. Evaluation of the antibody-dependent cytotoxic capabilities of individual human monocytes. Role of Fc gamma RI and Fc gamma RII and the effects of cytokines at the single cell level. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1 sept 1990;145(5):1483-9.
119. Belge KU, Dayyani F, Horelt A, Siedlar M, Frankenberger M, Frankenberger B, et al. The proinflammatory CD14+CD16+DR++ monocytes are a major source of TNF. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1 avr 2002;168(7):3536-42.
120. Ancuta P, Rao R, Moses A, Mehle A, Shaw SK, Luscinskas FW, et al. Fractalkine preferentially mediates arrest and migration of CD16+ monocytes. *J Exp Med*. 16 juin 2003;197(12):1701-7.
121. Ziegler-Heitbrock HW. Heterogeneity of human blood monocytes: the CD14+ CD16+ subpopulation. *Immunol Today*. sept 1996;17(9):424-8.
122. Swirski FK, Nahrendorf M, Etzrodt M, Wildgruber M, Cortez-Retamozo V, Panizzi P, et al. Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites. *Science*. 31 juill 2009;325(5940):612-6.
123. Glatman Zaretsky A, Engiles JB, Hunter CA. Infection-induced changes in hematopoiesis. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1 janv 2014;192(1):10.4049/jimmunol.1302061.
124. MacNamara KC, Jones M, Martin O, Winslow GM. Transient activation of hematopoietic stem and progenitor cells by IFN γ during acute bacterial infection. *PloS One*. 2011;6(12):e28669.
125. Dutta P, Hoyer FF, Grigoryeva LS, Sager HB, Leuschner F, Courties G, et al. Macrophages retain hematopoietic stem cells in the spleen via VCAM-1. *J Exp Med*. 6 avr 2015;212(4):497-512.
126. Valet C, Magnen M, Qiu L, Cleary SJ, Wang KM, Ranucci S, et al. Sepsis promotes splenic production of a protective platelet pool with high CD40 ligand expression. *J Clin Invest [Internet]*. 1 avr 2022 [cité 6 sept 2023];132(7). Disponible sur: <https://www.jci.org/articles/view/153920>
127. Tamoutounour S, Guilliams M, Montanana Sanchis F, Liu H, Terhorst D, Malosse C, et al. Origins and Functional Specialization of Macrophages and of Conventional and Monocyte-Derived Dendritic Cells in Mouse Skin. *Immunity*. 14 nov 2013;39(5):925-38.
128. Zigmond E, Samia-Grinberg S, Pasmanik-Chor M, Brazowski E, Shibolet O, Halpern Z, et al. Infiltrating monocyte-derived macrophages and resident kupffer cells display different ontogeny and functions in acute liver injury. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1 juill 2014;193(1):344-53.

129. Hulsmans M, Sager HB, Roh JD, Valero-Muñoz M, Houstis NE, Iwamoto Y, et al. Cardiac macrophages promote diastolic dysfunction. *J Exp Med*. 16 janv 2018;215(2):423-40.
130. Hume DA, Gordon S. Mononuclear phagocyte system of the mouse defined by immunohistochemical localization of antigen F4/80. Identification of resident macrophages in renal medullary and cortical interstitium and the juxtaglomerular complex. *J Exp Med*. 1 mai 1983;157(5):1704-9.
131. Guilliams M, Mildner A, Yona S. Developmental and Functional Heterogeneity of Monocytes. *Immunity*. 16 oct 2018;49(4):595-613.
132. Samokhvalov IM. Deconvoluting the ontogeny of hematopoietic stem cells. *Cell Mol Life Sci CMLS*. mars 2014;71(6):957-78.
133. Orkin SH, Zon LI. Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology. *Cell*. 22 févr 2008;132(4):631-44.
134. Epelman S, Lavine KJ, Randolph GJ. Origin and Functions of Tissue Macrophages. *Immunity*. 17 juill 2014;41(1):21-35.
135. Guilliams M, De Kleer I, Henri S, Post S, Vanhoutte L, De Prijck S, et al. Alveolar macrophages develop from fetal monocytes that differentiate into long-lived cells in the first week of life via GM-CSF. *J Exp Med*. 23 sept 2013;210(10):1977-92.
136. Munro DAD, Hughes J. The Origins and Functions of Tissue-Resident Macrophages in Kidney Development. *Front Physiol*. 25 oct 2017;8:837.
137. Salei N, Rambichler S, Salvermoser J, Papaioannou NE, Schuchert R, Pakalniškytė D, et al. The Kidney Contains Ontogenetically Distinct Dendritic Cell and Macrophage Subtypes throughout Development That Differ in Their Inflammatory Properties. *J Am Soc Nephrol*. 1 févr 2020;31(2):257-78.
138. Dick SA, Wong A, Hamidzada H, Nejat S, Nechanitzky R, Vohra S, et al. Three tissue resident macrophage subsets coexist across organs with conserved origins and life cycles. *Sci Immunol*. 7 janv 2022;7(67):eabf7777.
139. Liu F, Dai S, Feng D, Qin Z, Peng X, Sakamuri SSVP, et al. Distinct fate, dynamics and niches of renal macrophages of bone marrow or embryonic origins. *Nat Commun*. 8 mai 2020;11(1):2280.
140. Zaman R, Epelman S. Resident cardiac macrophages: Heterogeneity and function in health and disease. *Immunity*. 13 sept 2022;55(9):1549-63.
141. Hoyer FF, Naxerova K, Schloss MJ, Hulsmans M, Nair AV, Dutta P, et al. Tissue-Specific Macrophage Responses to Remote Injury Impact the Outcome of Subsequent Local Immune Challenge. *Immunity*. 19 nov 2019;51(5):899-914.e7.

142. Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol.* déc 2008;8(12):958-69.
143. Goerdts S, Politz O, Schledzewski K, Birk R, Gratchev A, Guillot P, et al. Alternative versus Classical Activation of Macrophages. *Pathobiology.* 9 mars 2000;67(5-6):222-6.
144. Mills CD. M1 and M2 Macrophages: Oracles of Health and Disease. *Crit Rev Immunol.* 2012;32(6):463-88.
145. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. M-1/M-2 Macrophages and the Th1/Th2 Paradigm. *J Immunol.* 15 juin 2000;164(12):6166-73.
146. Liu C, Xiao K, Xie L. Advances in the Regulation of Macrophage Polarization by Mesenchymal Stem Cells and Implications for ALI/ARDS Treatment. *Front Immunol [Internet].* 2022 [cité 30 oct 2023];13. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.928134>
147. Xue J, Schmidt SV, Sander J, Draffehn A, Krebs W, Quester I, et al. Transcriptome-based network analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation. *Immunity.* 20 févr 2014;40(2):274-88.
148. Nahrendorf M, Swirski FK. Abandoning M1/M2 for a Network Model of Macrophage Function. *Circ Res.* 22 juill 2016;119(3):414-7.
149. Barth MW, Hendrzak JA, Melnicoff MJ, Morahan PS. Review of the macrophage disappearance reaction. *J Leukoc Biol.* mars 1995;57(3):361-7.
150. Blériot C, Dupuis T, Jouvion G, Eberl G, Disson O, Lecuit M. Liver-Resident Macrophage Necroptosis Orchestrates Type 1 Microbicidal Inflammation and Type-2-Mediated Tissue Repair during Bacterial Infection. *Immunity.* 20 janv 2015;42(1):145-58.
151. Di Paolo NC, Doronin K, Baldwin LK, Papayannopoulou T, Shayakhmetov DM. The Transcription Factor IRF3 Triggers “Defensive Suicide” Necrosis in Response to Viral and Bacterial Pathogens. *Cell Rep.* 27 juin 2013;3(6):1840-6.
152. Ginhoux F, Bleriot C, Lecuit M. Dying for a Cause: Regulated Necrosis of Tissue-Resident Macrophages upon Infection. *Trends Immunol.* 1 oct 2017;38(10):693-5.
153. Price JV, Vance RE. The macrophage paradox. *Immunity.* 20 nov 2014;41(5):685-93.
154. Jorgensen I, Zhang Y, Krantz BA, Miao EA. Pyroptosis triggers pore-induced intracellular traps (PITs) that capture bacteria and lead to their clearance by efferocytosis. *J Exp Med.* 19 sept 2016;213(10):2113-28.
155. Ulevitch RJ, Tobias PS. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. *Annu Rev Immunol.* 1995;13:437-57.

156. Takizawa H, Boettcher S, Manz MG. Demand-adapted regulation of early hematopoiesis in infection and inflammation. *Blood*. 29 mars 2012;119(13):2991-3002.
157. Feterowski C, Mack M, Weighardt H, Bartsch B, Kaiser-Moore S, Holzmann B. CC chemokine receptor 2 regulates leukocyte recruitment and IL-10 production during acute polymicrobial sepsis. *Eur J Immunol*. déc 2004;34(12):3664-73.
158. Chousterman BG, Boissonnas A, Poupel L, Chanville CB de, Adam J, Tabibzadeh N, et al. Ly6Chigh Monocytes Protect against Kidney Damage during Sepsis via a CX3CR1-Dependent Adhesion Mechanism. *J Am Soc Nephrol*. 1 mars 2016;27(3):792-803.
159. Kurihara T, Warr G, Loy J, Bravo R. Defects in macrophage recruitment and host defense in mice lacking the CCR2 chemokine receptor. *J Exp Med*. 17 nov 1997;186(10):1757-62.
160. Li Z, Ludwig N, Thomas K, Mersmann S, Lehmann M, Vestweber D, et al. The Pathogenesis of Ischemia-Reperfusion Induced Acute Kidney Injury Depends on Renal Neutrophil Recruitment Whereas Sepsis-Induced AKI Does Not. *Front Immunol*. 21 avr 2022;13:843782.
161. Braga TT, Correa-Costa M, Silva RC, Cruz MC, Hiyane MI, da Silva JS, et al. CCR2 contributes to the recruitment of monocytes and leads to kidney inflammation and fibrosis development. *Inflammopharmacology*. avr 2018;26(2):403-11.
162. Kaikita K, Hayasaki T, Okuma T, Kuziel WA, Ogawa H, Takeya M. Targeted deletion of CC chemokine receptor 2 attenuates left ventricular remodeling after experimental myocardial infarction. *Am J Pathol*. août 2004;165(2):439-47.
163. Geissmann F, Jung S, Littman DR. Blood Monocytes Consist of Two Principal Subsets with Distinct Migratory Properties. *Immunity*. 1 juill 2003;19(1):71-82.
164. Italiani P, Boraschi D. From Monocytes to M1/M2 Macrophages: Phenotypical vs. Functional Differentiation. *Front Immunol* [Internet]. 2014 [cité 30 juin 2023];5. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2014.00514>
165. van Furth R, Sluiter W. Distribution of blood monocytes between a marginating and a circulating pool. *J Exp Med*. 1 févr 1986;163(2):474-9.
166. Serbina NV, Pamer EG. Monocyte emigration from bone marrow during bacterial infection requires signals mediated by chemokine receptor CCR2. *Nat Immunol*. mars 2006;7(3):311-7.
167. Hamon P, Loyher PL, Baudesson de Chanville C, Licata F, Combadière C, Boissonnas A. CX3CR1-dependent endothelial margination modulates Ly6Chigh monocyte systemic deployment upon inflammation in mice. *Blood*. 9 mars 2017;129(10):1296-307.
168. Tsou CL, Peters W, Si Y, Slaymaker S, Aslanian AM, Weisberg SP, et al. Critical roles for CCR2 and MCP-3 in monocyte mobilization from bone marrow and recruitment to inflammatory sites. *J Clin Invest*. 2 avr 2007;117(4):902-9.

169. Jia P, Xu S, Wang X, Wu X, Ren T, Zou Z, et al. Chemokine CCL2 from proximal tubular epithelial cells contributes to sepsis-induced acute kidney injury. *Am J Physiol-Ren Physiol* [Internet]. 19 juill 2022 [cité 17 avr 2023]; Disponible sur: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/ajprenal.00037.2022>
170. Lionakis MS, Swamydas M, Fischer BG, Plantinga TS, Johnson MD, Jaeger M, et al. CX3CR1-dependent renal macrophage survival promotes *Candida* control and host survival. *J Clin Invest*. déc 2013;123(12):5035-51.
171. Bajpai G, Bredemeyer A, Li W, Zaitsev K, Koenig AL, Lokshina I, et al. Tissue Resident CCR2- and CCR2+ Cardiac Macrophages Differentially Orchestrate Monocyte Recruitment and Fate Specification Following Myocardial Injury. *Circ Res*. 18 janv 2019;124(2):263-78.
172. Guiducci C, Vicari AP, Sangaletti S, Trinchieri G, Colombo MP. Redirecting in vivo elicited tumor infiltrating macrophages and dendritic cells towards tumor rejection. *Cancer Res*. 15 avr 2005;65(8):3437-46.
173. Li X, Mu G, Song C, Zhou L, He L, Jin Q, et al. Role of M2 Macrophages in Sepsis-Induced Acute Kidney Injury. *Shock*. août 2018;50(2):233-9.
174. Lee S, Huen S, Nishio H, Nishio S, Lee HK, Choi BS, et al. Distinct macrophage phenotypes contribute to kidney injury and repair. *J Am Soc Nephrol JASN*. févr 2011;22(2):317-26.
175. Janosevic D, Myslinski J, McCarthy TW, Zollman A, Syed F, Xuei X, et al. The orchestrated cellular and molecular responses of the kidney to endotoxin define a precise sepsis timeline. van der Meer JW, Giamarellos-Bourboulis EJ, Giamarellos-Bourboulis EJ, Bermejo-Martin J, Weis S, éditeurs. *eLife*. 15 janv 2021;10:e62270.
176. Conway BR, O'Sullivan ED, Cairns C, O'Sullivan J, Simpson DJ, Salzano A, et al. Kidney Single-Cell Atlas Reveals Myeloid Heterogeneity in Progression and Regression of Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol*. 1 déc 2020;31(12):2833-54.
177. Shin NS, Marlier A, Xu L, Doilicho N, Linberg D, Guo J, et al. Arginase-1 Is Required for Macrophage-Mediated Renal Tubule Regeneration. *J Am Soc Nephrol*. 1 juin 2022;33(6):1077-86.
178. Hato T, Winfree S, Kalakeche R, Dube S, Kumar R, Yoshimoto M, et al. The Macrophage Mediates the Renoprotective Effects of Endotoxin Preconditioning. *J Am Soc Nephrol*. 1 juin 2015;26(6):1347-62.
179. Hato T, Zollman A, Plotkin Z, El-Achkar TM, Maier BF, Pay SL, et al. Endotoxin Preconditioning Reprograms S1 Tubules and Macrophages to Protect the Kidney. *J Am Soc Nephrol*. 1 janv 2018;29(1):104-17.
180. Privratsky JR, Ide S, Chen Y, Kitai H, Ren J, Fradin H, et al. A macrophage-endothelial immunoregulatory axis ameliorates septic acute kidney injury. *Kidney Int*. mars 2023;103(3):514-28.

181. Zhang K, Wang Y, Chen S, Mao J, Jin Y, Ye H, et al. TREM2hi resident macrophages protect the septic heart by maintaining cardiomyocyte homeostasis. *Nat Metab.* janv 2023;5(1):129-46.
182. Nicolás-Ávila JA, Lechuga-Vieco AV, Esteban-Martínez L, Sánchez-Díaz M, Díaz-García E, Santiago DJ, et al. A Network of Macrophages Supports Mitochondrial Homeostasis in the Heart. *Cell.* 1 oct 2020;183(1):94-109.e23.
183. Watanabe S, Alexander M, Misharin AV, Budinger GRS. The role of macrophages in the resolution of inflammation. *J Clin Invest.* 1 juill 2019;129(7):2619-28.
184. Kramann R, Tanaka M, Humphreys BD. Fluorescence microangiography for quantitative assessment of peritubular capillary changes after AKI in mice. *J Am Soc Nephrol JASN.* sept 2014;25(9):1924-31.
185. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling—concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 1 mars 2000;35(3):569-82.
186. Castellano G, Stasi A, Franzin R, Sallustio F, Divella C, Spinelli A, et al. LPS-Binding Protein Modulates Acute Renal Fibrosis by Inducing Pericyte-to-Myofibroblast Trans-Differentiation through TLR-4 Signaling. *Int J Mol Sci.* 27 juill 2019;20(15):3682.
187. Humphreys BD, Lin SL, Kobayashi A, Hudson TE, Nowlin BT, Bonventre JV, et al. Fate tracing reveals the pericyte and not epithelial origin of myofibroblasts in kidney fibrosis. *Am J Pathol.* janv 2010;176(1):85-97.
188. Klessens CQF, Zandbergen M, Wolterbeek R, Bruijn JA, Rabelink TJ, Bajema IM, et al. Macrophages in diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 1 août 2017;32(8):1322-9.
189. Ikezumi Y, Suzuki T, Karasawa T, Hasegawa H, Yamada T, Imai N, et al. Identification of alternatively activated macrophages in new-onset paediatric and adult immunoglobulin A nephropathy: potential role in mesangial matrix expansion. *Histopathology.* 2011;58(2):198-210.
190. Ikezumi Y, Suzuki T, Yamada T, Hasegawa H, Kaneko U, Hara M, et al. Alternatively activated macrophages in the pathogenesis of chronic kidney allograft injury. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* juin 2015;30(6):1007-17.
191. Ko GJ, Boo CS, Jo SK, Cho WY, Kim HK. Macrophages contribute to the development of renal fibrosis following ischaemia/reperfusion-induced acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* mars 2008;23(3):842-52.
192. Wang Y, Wang YP, Zheng G, Lee VWS, Ouyang L, Chang DHH, et al. Ex vivo programmed macrophages ameliorate experimental chronic inflammatory renal disease. *Kidney Int.* 1 août 2007;72(3):290-9.

193. Anders HJ, Ryu M. Renal microenvironments and macrophage phenotypes determine progression or resolution of renal inflammation and fibrosis. *Kidney Int.* nov 2011;80(9):915-25.
194. Davis FM, Schaller MA, Dendekker A, Joshi AD, Kimball AS, Evanoff H, et al. Sepsis Induces Prolonged Epigenetic Modifications in Bone Marrow and Peripheral Macrophages Impairing Inflammation and Wound Healing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* nov 2019;39(11):2353-66.
195. Netea MG, Joosten LAB, Latz E, Mills KHG, Natoli G, Stunnenberg HG, et al. Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Science.* 22 avr 2016;352(6284):aaf1098.
196. Kimball A, Schaller M, Joshi A, Davis FM, denDekker A, Boniakowski A, et al. Ly6CHi Blood Monocyte/Macrophage Drive Chronic Inflammation and Impair Wound Healing in Diabetes Mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* mai 2018;38(5):1102-14.
197. Vielhauer V, Kulkarni O, Reichel CA, Anders HJ. Targeting the recruitment of monocytes and macrophages in renal disease. *Semin Nephrol.* mai 2010;30(3):318-33.
198. Hirano T. Interleukin 6 and its receptor: ten years later. *Int Rev Immunol.* 1998;16(3-4):249-84.
199. Payen D, Lukaszewicz AC, Legrand M, Gayat E, Faivre V, Megarbane B, et al. A multicentre study of acute kidney injury in severe sepsis and septic shock: association with inflammatory phenotype and HLA genotype. *PloS One.* 2012;7(6):e35838.
200. Abani O, Abbas A, Abbas F, Abbas M, Abbasi S, Abbass H, et al. Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *The Lancet.* 1 mai 2021;397(10285):1637-45.
201. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, et al. Heparin Regulates Cellular Iron Efflux by Binding to Ferroportin and Inducing Its Internalization. *Science.* 17 déc 2004;306(5704):2090-3.
202. Rajanbabu V, Pan CY, Lee SC, Lin WJ, Lin CC, Li CL, et al. Tilapia Heparin 2-3 Peptide Modulates Lipopolysaccharide-induced Cytokines and Inhibits Tumor Necrosis Factor- α through Cyclooxygenase-2 and Phosphodiesterase 4D *. *J Biol Chem.* 1 oct 2010;285(40):30577-86.
203. Rajanbabu V, Chen JY. The antimicrobial peptide, tilapia heparin 2-3, and PMA differentially regulate the protein kinase C isoforms, TNF- α and COX-2, in mouse RAW264.7 macrophages. *Peptides.* 1 févr 2011;32(2):333-41.
204. Scindia Y, Wlazlo E, Leeds J, Loi V, Ledesma J, Cechova S, et al. Protective Role of Heparin in Polymicrobial Sepsis and Acute Kidney Injury. *Front Pharmacol.* 6 juin 2019;10:615.

205. Malavasi F, Deaglio S, Funaro A, Ferrero E, Horenstein AL, Ortolan E, et al. Evolution and function of the ADP ribosyl cyclase/CD38 gene family in physiology and pathology. *Physiol Rev.* juill 2008;88(3):841-86.
206. Peng QY, Ai ML, Zhang LN, Zou Y, Ma XH, Ai YH. Blocking NAD(+)/CD38/cADPR/Ca(2+) pathway in sepsis prevents organ damage. *J Surg Res.* avr 2016;201(2):480-9.
207. Shu B, Feng Y, Gui Y, Lu Q, Wei W, Xue X, et al. Blockade of CD38 diminishes lipopolysaccharide-induced macrophage classical activation and acute kidney injury involving NF- κ B signaling suppression. *Cell Signal.* janv 2018;42:249-58.
208. Bellomo R, Wunderink RG, Szerlip H, English SW, Busse LW, Deane AM, et al. Angiotensin I and angiotensin II concentrations and their ratio in catecholamine-resistant vasodilatory shock. *Crit Care Lond Engl.* 6 févr 2020;24(1):43.
209. Celi A, Cianchetti S, Dell’Omo G, Pedrinelli R. Angiotensin II, tissue factor and the thrombotic paradox of hypertension. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* déc 2010;8(12):1723-9.
210. Hirano Y, Takeuchi H, Suda K, Hagiwara T, Miyasho T, Kawamura Y, et al. (Pro)renin receptor blocker improves survival of rats with sepsis. *J Surg Res.* janv 2014;186(1):269-77.
211. Salgado DR, Rocco JR, Silva E, Vincent JL. Modulation of the renin-angiotensin-aldosterone system in sepsis: a new therapeutic approach? *Expert Opin Ther Targets.* janv 2010;14(1):11-20.
212. Mezzano SA, Ruiz-Ortega M, Egido J. Angiotensin II and Renal Fibrosis. *Hypertension.* sept 2001;38(3):635-8.
213. Yamamoto S, Yancey PG, Zuo Y, Ma LJ, Kaseda R, Fogo AB, et al. Macrophage Polarization by Angiotensin II-Type 1 Receptor Aggravates Renal Injury-Acceleration of Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* déc 2011;31(12):2856-64.
214. Miao J, Liu J, Niu J, Zhang Y, Shen W, Luo C, et al. Wnt/ β -catenin/RAS signaling mediates age-related renal fibrosis and is associated with mitochondrial dysfunction. *Aging Cell.* oct 2019;18(5):e13004.
215. Lin SL, Li B, Rao S, Yeo EJ, Hudson TE, Nowlin BT, et al. Macrophage Wnt7b is critical for kidney repair and regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2 mars 2010;107(9):4194-9.
216. Wang X, Chen J, Xu J, Xie J, Harris DCH, Zheng G. The Role of Macrophages in Kidney Fibrosis. *Front Physiol* [Internet]. 2021 [cité 26 juill 2023];12. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2021.705838>
217. Lavin Y, Mortha A, Rahman A, Merad M. Regulation of macrophage development and function in peripheral tissues. *Nat Rev Immunol.* déc 2015;15(12):731-44.

218. Legrand M, Rossignol P. Cardiovascular Consequences of Acute Kidney Injury. *N Engl J Med.* 4 juin 2020;382(23):2238-47.
219. Wang HE, Shapiro NI, Griffin R, Safford MM, Judd S, Howard G. Chronic Medical Conditions and Risk of Sepsis. *PLOS ONE.* 31 oct 2012;7(10):e48307.
220. Gayat E, Hollinger A, Cariou A, Deye N, Vieillard-Baron A, Jaber S, et al. Impact of angiotensin-converting enzyme inhibitors or receptor blockers on post-ICU discharge outcome in patients with acute kidney injury. *Intensive Care Med.* mai 2018;44(5):598-605.
221. Brar S, Ye F, James MT, Hemmelgarn B, Klarenbach S, Pannu N, et al. Association of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor or Angiotensin Receptor Blocker Use With Outcomes After Acute Kidney Injury. *JAMA Intern Med.* 1 déc 2018;178(12):1681-90.
222. Chou YH, Huang TM, Pan SY, Chang CH, Lai CF, Wu VC, et al. Renin-Angiotensin System Inhibitor is Associated with Lower Risk of Ensuing Chronic Kidney Disease after Functional Recovery from Acute Kidney Injury. *Sci Rep.* 13 avr 2017;7:46518.