

Université de Montréal

Évaluation de stratégies ciblant les récepteurs de l'IL-1 et de l'IL-6 pour la résolution des paramètres du Syndrome de Détresse Respiratoire Aiguë (SDRA) dans un modèle murin de lésions pulmonaires aiguës

Par

Émilie Meunier

Faculté de médecine

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences
en Sciences biomédicales, option Médecine expérimentale

Août 2023

© Émilie Meunier, 2023

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé

Évaluation de stratégies ciblant les récepteurs de l'IL-1 et de l'IL-6 pour la résolution des paramètres du Syndrome de Détresse Respiratoire Aiguë (SDRA) dans un modèle murin de lésions pulmonaires aiguës

Présenté par

Émilie Meunier

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Guillaume Emeriaud
Président-rapporteur

Emmanuelle Brochiero
Directrice de recherche

Jean-François Lauzon-Joset
Membre du jury

Résumé

Le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) est une forme sévère de défaillance respiratoire qui se caractérise par la présence de dommages alvéolaires, d'un œdème pulmonaire et d'une réponse inflammatoire exacerbée. C'est une condition pour laquelle il n'existe à ce jour aucun traitement pharmacologique efficace. Lors des dernières années, des antagonistes des récepteurs de l'IL-1 (Kineret) et de l'IL-6 (tocilizumab) ont fait preuve d'une efficacité modérée pour le traitement du SDRA causé par la COVID-19. Cependant, leur potentiel thérapeutique en SDRA clinique non causé par la COVID reste à démontrer et les résultats obtenus dans les modèles animaux sont mitigés. Nous avons émis l'hypothèse que le tocilizumab et le Kineret pourraient améliorer la résolution des différents paramètres du SDRA non causé par la COVID-19. Nous avons aussi posé l'hypothèse que des peptides, antagonistes des récepteurs de l'IL-1 (rytvela) ou de l'IL-6 (HSJ633) et permettant de préserver certaines voies aux propriétés cytoprotectrices en aval de ces récepteurs, pourraient potentiellement être plus efficaces que le Kineret et le tocilizumab pour le traitement des paramètres du SDRA. L'objectif de ma maîtrise était donc de tester ces deux hypothèses dans un modèle murin d'atteinte pulmonaire aiguë (ALI) induite par la bléomycine, qui mime pendant sa phase aiguë les principaux paramètres du SDRA.

Mes travaux montrent qu'aucun des quatre antagonistes n'a permis d'améliorer significativement les paramètres observés à jour 7 post-bléomycine (état général, dommages alvéolaires, œdème et inflammation pulmonaire). Ainsi, mes données suggèrent que dans notre modèle d'ALI induit par la bléomycine, la réponse inflammatoire induite via le IL-1R ou le IL-6R ne semble pas constituer un des mécanismes principaux engendrant les différentes atteintes, puisqu'elles ne sont pas prévenues par les antagonistes de ces récepteurs. En plus de contribuer à mieux comprendre ce modèle animal, mes résultats permettent de mettre en lumière que la réparation des dommages ainsi que la résorption secondaire de l'œdème sont cruciales pour la résolution du SDRA et que de viser seulement la voie inflammatoire est insuffisant.

Mots-clés : Syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA), inflammation, antagoniste de récepteurs, tocilizumab, Kineret, rytvela, HSJ633, IL-1, IL-6, bléomycine

Abstract

Acute respiratory distress syndrome (ARDS) is a form of severe lung failure characterized by the presence of a pulmonary edema, an inflammatory response, and alveolar damage. There is currently no effective pharmacological treatment for ARDS. In recent years, IL-1 and IL-6 receptor antagonists Kineret and tocilizumab, respectively, have shown some efficacy as a treatment of ARDS caused by COVID-19. However, their therapeutic potential in non-COVID ARDS remains to be proven and the results obtained in animal models are conflicting. We thus tested the hypothesis that tocilizumab and Kineret could improve the resolution of key parameters of non-COVID ARDS. We also hypothesized that two peptides, rytvela and HSJ633, IL-1 and IL-6 receptor antagonists, respectively, which preserve some of the cytoprotective downstream pathways, could potentially be more effective than Kineret and tocilizumab in treating the various parameters of ARDS. The goal of my master thesis was therefore to test these two hypotheses in a mouse model of acute lung injury (ALI) induced by bleomycin instillation, which, during its acute phase, mimics the main parameters of ARDS.

My work has shown that none of the antagonists were able to significantly improve the parameters observed on day 7 post-bleomycin (general condition of the mice, alveolar damages, pulmonary edema and inflammation). Thus, my data suggest that in our bleomycin-induced ALI model, the inflammatory response triggered via IL-1R or IL-6R does not appear to be the principal mechanism generating the main damaging outcome, since they are not prevented by the antagonists of these receptors. In addition to contributing to a better understanding of this animal model of ALI, my research has highlighted the fact that targeting inflammation alone is insufficient and that repairing alveolar damages, and secondary resorbing lung edema, are cornerstones for the resolution of ARDS.

Keywords: acute respiratory distress syndrome, inflammation, receptor antagonist, tocilizumab, Kineret, rytvela, HSJ633, IL-1, IL-6, bleomycin

Table des matières

Résumé.....	5
Abstract.....	7
Table des matières.....	9
Liste des tableaux.....	13
Liste des figures.....	15
Liste des sigles et abréviations.....	17
Remerciements.....	25
Chapitre 1 : Introduction.....	27
1.1 : Système respiratoire et homéostasie.....	27
1.2 : Anatomie du système respiratoire.....	27
1.3 : Histologie du système respiratoire.....	29
1.3.1: Histologie de l'épithélium des voies aériennes : de la trachée aux bronchioles respiratoires.....	29
1.3.2: Histologie de l'épithélium alvéolaire.....	29
1.4 : Physiologie alvéolaire.....	31
1.4.1: Épithélium alvéolaire.....	31
1.4.2: Interstitium.....	33
1.4.3: Endothélium.....	33
1.4.4: Macrophages pulmonaires et monocytes.....	34
1.4.5: Cellules dendritiques.....	35
1.5 : Réparation épithéliale.....	35
1.6 : Réponse immunitaire et inflammatoire alvéolaire.....	36

1.6.1: 1 ^{re} phase : initiation	37
1.6.2: 2 ^e et 3 ^e phases : activation et phagocytose	38
1.6.3: 4 ^e phase : résolution	41
1.6.4: Inflammation stérile et DAMPs	42
1.7 : IL-1	42
1.7.1: Caractéristiques et rôles de l'IL-1	42
1.7.2: Production, activation et régulation de l'IL-1 β	43
1.7.3: Récepteurs et voies de signalisation	44
1.8 : IL-6	47
1.8.1: Caractéristiques et rôles de l'IL-6	47
1.8.2: Production et régulation.....	48
1.8.3: Récepteurs de l'IL-6 et voies de signalisation.....	48
1.9 : Syndrome de détresse respiratoire aiguë.....	51
1.9.1: Définition et diagnostic.....	51
1.9.2: Étiologie, épidémiologie et pronostic.....	53
1.9.3: Caractérisation histopathologique	53
1.9.4: Physiopathologie	54
1.9.5: Potentiels effets de l'IL-1 β et de l'IL-6 en SDRA	56
1.9.6: Le SDRA causé par la COVID-19	60
1.9.7: Prise en charge et stratégies thérapeutiques en SDRA.....	60
1.10 : Inhibition fonctionnelle de voies cytokiniques à l'aide de peptides : rytvela et HSI633.....	69
1.11 : Les différents modèles d'ALI	70
1.11.1 : ALI induit par la bléomycine.....	71
1.11.2 : ALI induit par LPS.....	71

1.11.3 : Dommages induits par la ventilation	72
Chapitre 2 : Hypothèses et objectifs.....	73
2.1 : Hypothèse 1.....	73
2.2 : Hypothèse 2.....	73
2.3 : Objectif	73
Chapitre 3 : Article	75
3.1 : Statut de l'article	75
3.2 : Manuscrit de l'article	76
Chapitre 4 : Discussion.....	105
4.1 : Interprétation des résultats obtenus	105
4.1.1: Perte de poids.....	105
4.1.2: Changement des gaz sanguins.....	106
4.1.3: Analyses histologiques suite à l'agression induite par la bléomycine.....	107
4.1.4: Concentration en protéines dans les BALs, indice de dommage	109
4.1.5: Indice d'œdème pulmonaire	109
4.1.6: Réponse inflammatoire suite au challenge par la bléomycine	110
4.1.7: Résumé de l'interprétation des résultats obtenus.....	112
4.2 : Limitations de l'étude.....	113
4.3 : Critique du modèle d'ALI induit par la bléomycine.....	114
4.4 : Comparaison des résultats obtenus avec la littérature : accent sur les différents modèles animaux d'ALI	117
4.4.1: Modèles d'ALI induits majoritairement par l'inflammation.....	117
4.4.2: Modèle de VILI	118
4.4.3: Modèle d'ALI induit par l'acide oléique.....	118

4.4.4: Modèle d'ALI ou de fibrose induit par la bléomycine	119
Chapitre 5 : Perspectives	123
5.1 : Traitements proréparatoires et favorisant la résorption de l'œdème pulmonaire	123
5.2 : Le phénotypage des patients et les traits traitables	124
5.3 : Et les anti-inflammatoires ?.....	125
Chapitre 6 : Conclusion	127
Références bibliographiques.....	129

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Exemples de différences anatomiques et fonctionnelles entre la souris et l'humain pour différentes zones des VA	29
Tableau 1.2 : Fonctions de l'épithélium alvéolaire propres aux ATI et aux ATII	32
Tableau 1.3 : Fonctions principales de l'endothélium pulmonaire	34
Tableau 1.4 : Résumé des pharmacothérapies proposées pour la prise en charge du SDRA (et/ou du SDRAC) ainsi que de leurs principaux mécanismes d'action potentiels	63

Liste des figures

Figure 1.1 : Anatomie générale du système respiratoire humain et murin.	27
Figure 1.2 : Histologie et anatomie des voies aériennes humaines et murines	28
Figure 1.3 : Schématisation de l’histologie alvéolaire	30
Figure 1.4 : Cellules impliquées dans l’immunité innée ainsi que dans l’immunité adaptative....	39
Figure 1.5 : Schématisation simplifiée de l’activation de la pro-IL-1 β	44
Figure 1.6 : Schématisation simplifiée de la signalisation par l’IL-1 β ainsi que de certains des mécanismes des inhibiteurs endogènes existants.....	47
Figure 1.7 : Principales voies de signalisation en amont et en aval de l’IL-6.....	50
Figure 1.8 : Un résumé des critères de la définition de Berlin de 2012 pour le diagnostic du SDRA	52
Figure 1.9 : Comparaison entre une alvéole saine et une alvéole en phase aiguë de SDRA.....	56
Figure 1.10 : Schématisation des potentiels effets pathologiques de l’IL-6 et de l’IL-1 β en contexte de SDRA	59
Figure 1.11 : Algorithme thérapeutique suggéré par Fernando et al.	61
Figure 1.12 : Définition des grades de sévérité de maladie causée par la COVID-19 et pertinence des interventions pharmacologiques en fonction de ces grades selon l’Organisation mondiale de la Santé	64
Figure 1.13 : Exemple de stratégies anti-inflammatoires ciblant les voies de l’IL-1 et de l’IL-6....	68

Liste des sigles et abréviations

AIF : apoptosis-inducing factor (facteur inducteur d'apoptose)

ALI: acute lung injury (atteinte pulmonaire aiguë)

AP-1 : activator protein 1 (protéine activatrice 1)

AQP5 : aquaporine 5

ATI : pneumocytes de type 1

ATII : pneumocytes de type 2

BALs : lavages broncho-alvéolaires

C3 : complement component 3 (composant du complément 3)

C5 : complement component 5 (composant du complément 5)

CFTR : régulateur de la conductance transmembranaire de la fibrose kystique

CLP : cecal ligation and puncture (ligature cæcale et ponction)

CNHD : canule nasale de haut débit

CO₂ : dioxyde de carbone

CPA : cellule présentatrice d'antigène

CXCL1 : équivalent de KC ; chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (ligand de la chimiokine [motif C-X-C] 1)

DAD : dommages alvéolaires diffus

DAMP : molécules associées aux dommages (damage-associated molecular pattern)

ECMO: extracorporeal membrane oxygenation (machine d'oxygénation extracorporelle)

ECMO-VV : oxygénation par membrane extracorporelle veino-veineuse

EGF: epidermal growth factor (facteur de croissance épidermique)

ENaC : canaux sodiques épithéliaux

FC : facteur de croissance

FiO₂ : fraction inspirée d'oxygène

GM-CSF: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages)

gp130 : glycoprotéine 130

H&E : hématoxyline et éosine

HGF: hepatocyte growth factor (facteur de croissance des hépatocytes)

HLA : human leukocyte antigen (antigène leucocytaire humain)

HMGB1 : high mobility group box 1 (protéine de la boîte haute mobilité 1)

IL- : interleukine

IL-*R : récepteur d'IL-*

IL-1Ra : antagoniste du récepteur d'IL-*

IRAK4 : interleukin-1 receptor-associated kinase 4 (kinase associée au récepteur de l'Interleukine-1 de type 4)

JAK : kinase Janus

KC : équivalent de CXCL1 ; keratinocyte-derived chemokine (chimiokine dérivée des kératinocytes)

KGF: keratinocyte growth factor (facteur de croissance des kératinocytes)

LPS : lipopolysaccharide

LTA : acide lipotéichoïques

MAPK/ERK : mitogen activated protein kinases/ extracellular signal-regulated kinase (kinases de la protéine activée par les mitogènes/kinase régulée par signal extracellulaire)

MCP-1 : monocyte chemoattractant protein-1 (protéine de chimiotactisme des monocytes-1)

MEC : matrice extracellulaire

mIL-1 : IL-1 mature

mIL-6R : récepteur d'IL-6 membranaire

MMPS : métalloprotéinases de matrice

MYD88 : myeloid differentiation primary response 88 (réponse primaire à la différenciation myéloïde 88)

NET : neutrophil extracellular trap (piège extracellulaire des neutrophiles)

NF-κB: nuclear factor kappa B (facteur nucléaire kappa B)

NK: natural killer cells (cellules tueuses naturelles)

NLRP3 : NOD-like receptor family pyrin domain containing 3 (protéine de la famille de récepteurs NOD-like, contenant un domaine pyrine 3)

NO : nitric oxide (oxyde nitrique)

O₂ : oxygène

OMS : organisation mondiale de la santé

p38 MAPK : p38 mitogen-activated protein kinase (p38 kinase activée par les mitogènes)

PAMPs : pathogen-associated molecular patterns (motifs moléculaires associés aux pathogènes)

paO₂ : pression artérielle en oxygène

PBS : phosphate buffer saline (tampon phosphate salin)

pCO₂ : pression partielle en dioxyde de carbone

PE : poids estimé

PEP : positive expiratory pressure (pression positive expiratoire)

PI3K/Akt : phosphoinositide 3-Kinase/protein kinase B (protéine kinase activée par les phosphoinositides/protéine kinase B)

pO₂ : pression partielle en oxygène

poly I : C : acide polyinosinique-polycytidylique

PPA : protéines de phase aiguë

PRR : récepteur de reconnaissance de motifs

RAGE : receptor for advanced glycation end-products (récepteur des produits finaux de glycation avancée)

ROS : reactive oxygen species (espèces réactives de l'oxygène)

SDRA : syndrome de détresse respiratoire aiguë

SDRAC : SDRA causé par la COVID-19

Sgp130 : glycoprotéine 130 soluble

sIL-6R : récepteur d'IL-6 soluble

SP- : surfactant protein (protéine du surfactant)

SpO₂ : ratio saturation périphérique en oxygène

STAT3 : signal transducer and transcription-3 (transducteur de signal et activateur de transcription 3)

T CD4+ : équivalent de Th ; helper T cell (lymphocyte T auxiliaire)

T CD8+ : lymphocytes cytotoxiques

TGF-β : transforming growth factor-β (facteur de croissance transformant bêta)

Th : équivalent de lymphocyte T CD4+ ; helper T cell (lymphocyte T auxiliaire)

Th1 : type 1 T helper lymphocytes (lymphocytes T auxiliaires de type 1)

Th2 : type 1 T helper lymphocytes (lymphocytes T auxiliaires de type 2)

TIMP-1 : tissue inhibitor of metalloproteinases (inhibiteur tissulaire des métalloprotéinases)

TLR : toll like receptor (récepteurs de type toll)

TNF- α : tumor necrosis factor- α (facteur de nécrose tumorale- α)

Treg : lymphocytes T régulateurs

VILI: ventilator induced lung injury (dommages pulmonaires causés par ventilation mécanique)

VOHF : ventilation oscillatoire à haute fréquence

WLC : water lung content (contenu pulmonaire en eau)

À Grand-Maman, Lise et Jano

Remerciements

Premièrement, je tiens à remercier les membres de mon jury, Dr Emeriaud ainsi que Dr Lauzon-Joset, d'avoir accepté d'examiner mon mémoire.

Merci à ma directrice de recherche, Emmanuelle, de m'avoir accueillie au laboratoire, fait confiance et guidée tout au long de mes travaux.

Mélissa, merci de m'avoir prise sous tes ailes. Tu es une collègue talentueuse, une mentore exceptionnelle, mais surtout, une amie en or. Merci à mon équipe du R08-200A ; Sarah, Benjamin, Damien, Arianne, Camille et Pascal. Ça n'aurait pas été pareil sans vous, vraiment.

Une pensée spéciale à tous les employés du CRCHUM, présents ou passés, que j'ai eu la chance de côtoyer ; à mes collègues des autres laboratoires, des plateformes, mais aussi à ceux qui, plus discrètement, permettent au centre de recherche de fonctionner. Votre aide ainsi que votre gentillesse ont enrichi mon parcours de manière inestimable.

Finalement, merci à ma famille, à mes amis et à Cédrick, d'avoir été là pour me soutenir et pour m'encourager. Je vous aime.

Chapitre 1 : Introduction

1.1 : Système respiratoire et homéostasie

Plusieurs systèmes d'organes sont nécessaires au maintien de l'homéostasie du corps humain, dont le système respiratoire, qui permet l'élimination du dioxyde de carbone (CO₂) et l'absorption de l'oxygène (O₂) lors du processus de respiration.

1.2 : Anatomie du système respiratoire

Le système respiratoire humain est composé des voies aériennes supérieures et inférieures. Lors d'une inspiration, l'air entre par la partie supérieure des voies aériennes, par les narines ou par la bouche, menant respectivement à la cavité nasale ou buccale, puis est acheminé au pharynx (Figure 1.1). Les deux cavités permettent à l'air d'être réchauffé, humidifié et purifié (1,2).

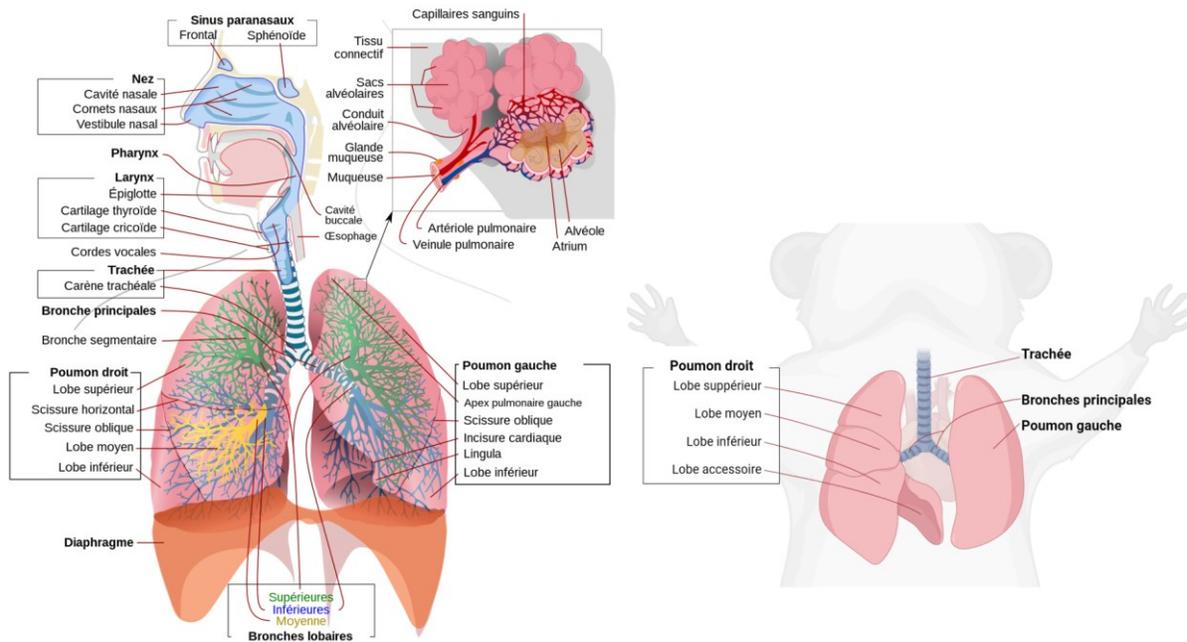


Figure 1.1 : Anatomie générale du système respiratoire humain et murin.

À gauche, une schématisation du système respiratoire humain (3), présentant les voies aériennes supérieures (nez, cavité buccale et pharynx) ainsi qu'inférieures (du larynx aux alvéoles). À droite, une schématisation des lobes pulmonaires chez la souris (4) (créé sur Biorender.com).

L'air est ensuite acheminé dans les voies aériennes inférieures en débutant par le larynx avant de poursuivre son chemin dans la trachée, qui se divise subséquemment en deux bronches principales qui permettent à l'air de pénétrer dans les poumons. Ces dernières se ramifient plusieurs fois en bronches de diamètre décroissant jusqu'à devenir des bronchioles, qui suivent elles aussi un processus de ramification semblable (Figure 1.2) (1,5).

Chez l'humain, les bronchioles terminales sont la dernière composante de la zone de conduction décrite précédemment alors que les bronchioles respiratoires marquent l'entrée de la zone respiratoire. L'air passe ensuite par les conduits alvéolaires pour finalement pénétrer dans les sacs alvéolaires et dans les alvéoles, où se produit la majorité des échanges gazeux (Figure 1.2) (1,5).

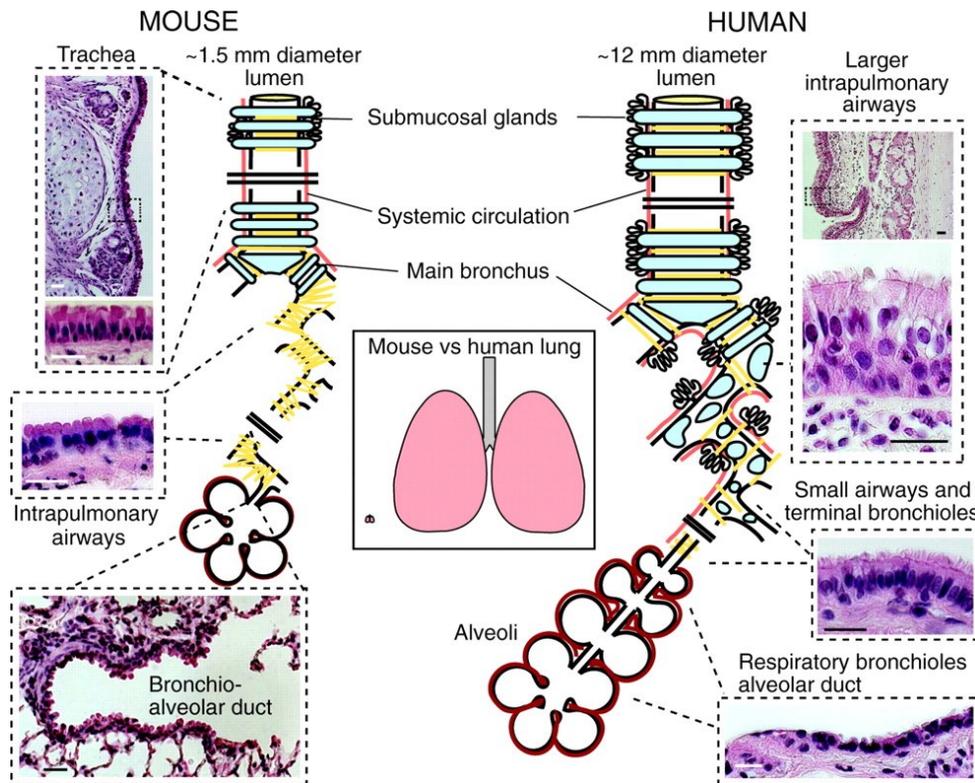


Figure 1.2 : Histologie et anatomie des voies aériennes humaines et murines

Comparaison de l'anatomie et de l'histologie des voies aériennes humaines et murines, allant de la trachée aux alvéoles. À gauche, des photos de coloration H&E représentant les structures histologiques retrouvées dans les différentes parties des voies aériennes murines. Adjacente à ces photos, une schématisation des voies aériennes murines représentant l'abondance de différents éléments tels que les muscles (en jaune), le cartilage (en bleu pâle), les glandes sous-muqueuses et la circulation sanguine (en rouge). Au centre, un schéma comparant la taille des poumons humains à celle des poumons murins. À droite, un schéma des voies aériennes ainsi que des photos représentant les structures histologiques, chez l'humain (6).

En plus de la taille, il existe quelques différences anatomiques et fonctionnelles entre les systèmes respiratoires murins et humains telles que présentées au Tableau 1.1. Les similitudes ainsi que les différences entre l'humain et la souris sont décrites ici, ainsi que dans d'autres sections de ce mémoire, puisque bien que ma recherche porte sur le syndrome de détresse respiratoire aiguë chez l'humain, j'ai utilisé un modèle murin pour mes travaux.

Tableau 1.1 : Exemples de différences anatomiques et fonctionnelles entre la souris et l'humain pour différentes zones des VA

Zone	Élément	Système respiratoire murin (souris)	Système respiratoire humain
Cavité nasale	Respiration	Nasale obligatoire	Nasale ou orale
Voies aériennes	Bronchioles respiratoires	Absentes ou rares	Présentes
Parenchyme pulmonaire	Lobes pulmonaires	4 droits, 1 gauche	3 droits, 2 gauches

Informations tirées de (2,4)

1.3 : Histologie du système respiratoire

1.3.1 : Histologie de l'épithélium des voies aériennes : de la trachée aux bronchioles respiratoires

En fonction de la zone, la proportion des différentes cellules composant l'épithélium des voies aériennes varie (Figure 1.2). Chez l'humain, l'épithélium pseudostratifié de la trachée et des bronches est principalement composé de cellules ciliées, basales, non ciliées (tel que les cellules Club, auparavant nommées cellules de Clara) et muqueuses (telles que les cellules caliciformes, aussi nommées cellules à Goblet) alors qu'au niveau des bronchioles terminales et respiratoires, l'épithélium est plutôt simple cubique et composé de cellules non ciliées et ciliées (4). Étant donné la petite taille des souris, la composition de l'épithélium de leur trachée ressemble à celle des bronches et bronchioles humaines, alors que leurs bronches et bronchioles ressemblent aux bronchioles terminales humaines (5).

1.3.2 : Histologie de l'épithélium alvéolaire

L'alvéole possède une histologie similaire chez la souris et chez l'humain (4). Le septa, qui forme la cloison entre les alvéoles, est généralement composé de trois couches (5). La première, qui est en contact avec la lumière alvéolaire, est l'épithélium (Figure 1.3). Cette couche est constituée

des pneumocytes de type 1 (ATI), ayant une forme aplatie et couvrant la majorité de la surface alvéolaire, ainsi que des pneumocytes de type II (ATII) qui sont plutôt cuboïdes et se caractérisent par leurs microvillosités apicales ainsi que par la présence de corps lamellaires. Ces deux types cellulaires reposent sur la membrane basale. De plus, l'épithélium est recouvert d'une fine couche de surfactant, qui permet entre autres de réguler la tension de surface dans les alvéoles (5,7). La deuxième couche, celle de l'interstitium, est d'épaisseur variable et est majoritairement composée de tissus connectifs dans lesquels on retrouve différentes structures (fibres de collagènes et fibres élastiques) ainsi que des fibroblastes (5).

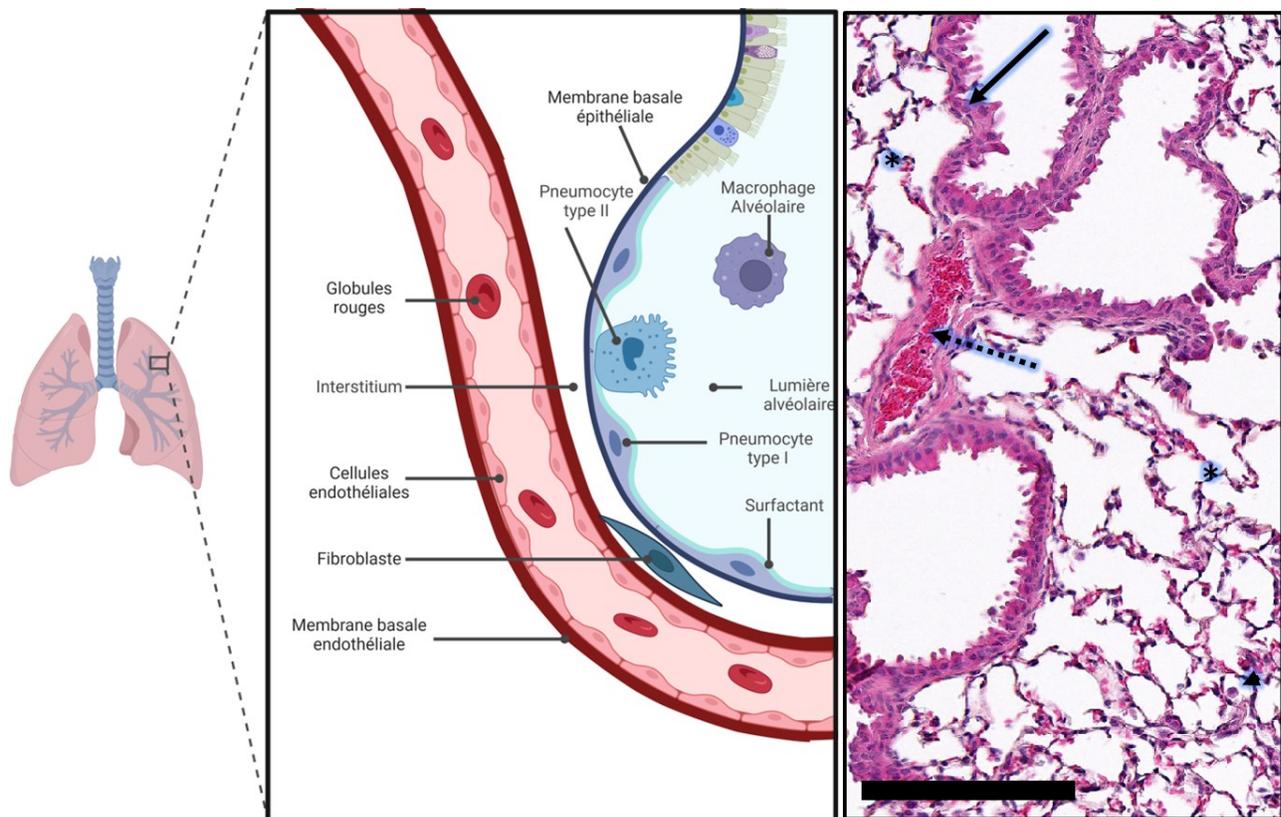


Figure 1.3 : Schématisation de l'histologie alvéolaire

À gauche, une schématisation de l'histologie d'un capillaire sanguin (en rouge) ainsi que d'une demi-alvéole (en bleu ; créé sur Biorender.com). À droite, une photo d'une coloration H&E (hématoxyline et éosine) effectuée sur une coupe longitudinale de parenchyme pulmonaire murin avec des bronches/bronchioles (flèche pleine), un capillaire sanguin (flèche pointillée), des sacs alvéolaires et des alvéoles (astérisques) ainsi que des macrophages (tête de flèche). La bande noire représente 300 µm (magnification 200x).

Finalement, les cellules endothéliales tapissent les capillaires sanguins, constituant l'endothélium. À certains endroits, l'interstitium est absent et la membrane basale de l'épithélium

ainsi que de l'endothélium sont fusionnées, ce qui permet d'obtenir un septa très mince propice à la diffusion des gaz entre la lumière alvéolaire et les capillaires sanguins (4).

En condition d'homéostasie, on retrouve aussi dans les alvéoles certaines cellules immunitaires telles que des macrophages (dans la lumière alvéolaire, dans l'interstitium et bien sûr dans les capillaires sanguins sous forme de monocytes) ou des cellules dendritiques (4).

1.4 : Physiologie alvéolaire

1.4.1 : Épithélium alvéolaire

Le rôle principal de l'épithélium alvéolaire est de permettre l'absorption de l'oxygène et l'excrétion du CO₂ (à travers les ATI), ce qui est rendu possible entre autres par son importante superficie et par la minceur de la barrière alvéolo-capillaire (8).

Les ATI et les ATII ont aussi plusieurs caractéristiques et fonctions communes (Tableau 1.2). Les deux types cellulaires possèdent des jonctions serrées, liant les cellules entre elles et rendant l'épithélium alvéolaire semi-perméable à l'eau et aux ions (9–11). Ces jonctions, combinées au phénomène de clairance liquidienne, permettent de garder l'alvéole presque exempte de liquide, ce qui est nécessaire pour des échanges gazeux efficaces (7,8,12,13).

La clairance liquidienne alvéolaire, soit le mouvement de réabsorption d'eau par voie paracellulaire ou transcellulaire via les aquaporines exprimées à la surface des cellules épithéliales alvéolaires, se fait grâce à un gradient osmotique, lui-même secondaire à un gradient électrochimique créé par un transport ionique transépithélial via les cellules ATI et ATII (11,14,15). Ce dernier est initié par la pompe Na⁺/K⁺ ATPase, qui permet la sortie de 3 ions Na⁺ (contre 2 ions K⁺) du côté basolatéral des cellules ATI et ATII (14,15). Ce transport actif permet le passage d'ions Na⁺ au pôle apical via le canal ENaC. Ce mécanisme de transport transépithélial (réabsorption) de Na⁺ est primordial pour le fonctionnement des poumons (11,14,15). En effet, il a été montré que des souris dont la sous-unité pore du canal ENaC (α ENaC) a été invalidée (KO) présentaient un phénotype létal de détresse respiratoire dans les 40 heures maximums suivant leur naissance, puisqu'elles étaient incapables de résorber le liquide pulmonaire fœtal. Un syndrome de détresse respiratoire néonatale peut aussi être observé chez les nourrissons prématurés, en partie à cause

de la faible expression de ENaC à ce stade de développement (16). Outre ENaC, d'autres canaux ioniques participent également à ce phénomène de transport ionique et liquidien. En effet, suivant le passage des ions sodiques au pôle apical, le canal CFTR permet le passage d'ions chlorures en parallèle, afin de maintenir l'électroneutralité membranaire (14,15). D'autre part, les canaux K⁺ basolatéraux jouent un rôle crucial afin de maintenir le potentiel de membrane nécessaire au gradient électrochimique. Ces canaux K⁺, dont il existe plusieurs classes qui contiennent chacune plusieurs membres (plus de 30 types de canaux K⁺ ont été détectés dans les cellules respiratoires), jouent ainsi un rôle crucial dans la clairance liquidienne (17). Il a aussi été montré qu'ils occupent plusieurs autres fonctions, notamment dans l'immunité ainsi que dans les processus de réparation épithéliale. Ainsi, leur modulation pharmacologique pourrait être une approche prometteuse pour la résolution de pathologies comme le SDRA (17–19).

Tableau 1.2 : Fonctions de l'épithélium alvéolaire propres aux ATI et aux ATII

Fonction	Rôle des ATI	Rôle des ATII
Échanges gazeux	✓	
Étanchéité (jonctions serrées)	✓	✓
Drainage du liquide	✓	✓
Immunité	✓	✓
Production de surfactant		✓
Réparation épithéliale		✓

Informations tirées de (7,8,12,13,20,21)

La grande surface de contact direct entre l'épithélium alvéolaire et l'air inhalé implique qu'il doit constituer une barrière physique résistante contre les agressions environnementales (8). De plus, les ATI et les ATII sont impliqués directement dans la défense immunitaire entre autres via la reconnaissance des pathogènes par les récepteurs de reconnaissance des motifs moléculaires (PRR, Pattern Recognition Receptor) et par la production de cytokines pro-inflammatoires ou de peptides antimicrobiens (8,21,22).

Suite à ces agressions, une des fonctions primordiales spécifique des ATII est d'initier des processus de réparation afin de restaurer l'intégrité de l'épithélium alvéolaire (tel que détaillés à la section 1.5) (7). Les ATII sont également responsables de la production du surfactant. Ce dernier est composé principalement de phospholipides, mais contient aussi des protéines associées

(protéines du surfactant ; SP-) qui contribuent à diminuer la tension de surface alvéolaire (SP-B, SP-C) en plus d'avoir des propriétés antimicrobiennes (SP-A, SP-D) (7,8,23).

1.4.2 : Interstitium

L'interstitium sert de fondation au parenchyme pulmonaire ; c'est grâce à lui que l'architecture alvéolaire est possible. Les fibres le constituant, telles que les fibres de collagène et les fibres élastiques, jouent un rôle crucial pour la compliance pulmonaire (5,24). L'interstitium sert de support physique aux cellules épithéliales et endothéliales en plus de contenir d'autres cellules importantes pour l'homéostasie pulmonaire, notamment les fibroblastes et les macrophages interstitiels (25).

Les fibroblastes sont les cellules les plus abondantes de l'interstitium et peuvent se différencier en différents sous-types ayant différents rôles. De manière générale, avant la naissance et pendant les premières semaines de vie humaine, ils sont responsables de créer la structure du parenchyme pulmonaire par la formation des septas alvéolaires et en fournissant une matrice extracellulaire sur laquelle les autres types cellulaires (ATI, ATII) peuvent s'ancrer (26). Ils envoient aussi des signaux aux cellules avoisinantes afin de favoriser leurs différenciations et leur prolifération. En période postnatale, les fibroblastes ont plutôt comme rôles principaux de renouveler les composantes de la matrice extracellulaire en condition d'homéostasie et de réparer les dommages suite à une insulte (26,27).

1.4.3 : Endothélium

La barrière semi-perméable qu'est l'endothélium pulmonaire permet de transporter le sang, de l'oxygéner et d'en faire sortir le CO₂. L'endothélium est aussi responsable de nombreuses autres fonctions ; les principales sont énumérées au Tableau 1.3.

Tableau 1.3 : Fonctions principales de l'endothélium pulmonaire

En condition d'homéostasie	Barrière semi-perméable
	Production et sécrétion de produits vasoactifs
	Anticoagulation et pro-hémofluidité
	Production et sécrétion de produits vasoactifs
En condition de stress	Expression de molécules d'adhésion
	Production de cytokines
	Modification de l'intégrité et de la tonicité vasculaire
	Pro-coagulant
	Augmentation de l'expression des molécules HLA (antigènes leucocytaires humains)

Référence (28)

1.4.4 : Macrophages pulmonaires et monocytes

Dans la lumière alvéolaire se retrouvent des macrophages. Certains d'entre eux sont résidents et ont la capacité de s'autorenouveler alors que d'autres sont dérivés des monocytes circulants et sont recrutés lors de conditions inflammatoires (29,30). De manière générale, en condition d'homéostasie, les macrophages alvéolaires résidents jouent un rôle anti-inflammatoire par divers mécanismes (30,31). Premièrement, les macrophages « nettoient » la lumière alvéolaire en phagocytant les microbes, déchets, poussières, cellules en apoptose et même le surfactant. Ce nettoyage permet d'éviter l'activation d'une réponse immunitaire inutile (30,31). De plus, les macrophages alvéolaires communiquent avec les cellules pulmonaires telles que les ATI et les ATII par divers moyens (sécrétion de cytokines, molécules membranaires de surface, etc.), ce qui contribue à maintenir l'homéostasie alvéolaire (30,31). Les macrophages alvéolaires sont aussi responsables de distinguer ce qui est un danger réel de ce qui est bénin. Si ces derniers détectent une menace potentielle et qu'ils ne sont pas capables de l'éliminer seuls, ils initient une réponse immunitaire de plus grande envergure entre autres par la production de cytokines pro-inflammatoires (30,31). Lors d'une réponse immunitaire ou en condition pathologique, les monocytes recrutés dans les alvéoles par des chimiokines telles que MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1 ou protéine de chimiotactisme des monocytes-1) se différencient en macrophages et peuvent contribuer à la réponse immunitaire, mais aussi à la mise en place de

fibrose pulmonaire (29,32). Finalement, les macrophages alvéolaires contribuent à la résorption de la réponse inflammatoire suite à un stimulus (29,33).

Des macrophages distincts (les macrophages interstitiels) se retrouvent aussi dans l'interstitium alvéolaire. Leurs rôles ne sont pas très bien définis à ce jour, mais la littérature suggère qu'ils auraient la capacité de présenter des antigènes, d'effectuer la phagocytose et de produire des cytokines anti-inflammatoires (dont l'interleukine-10 [IL-10]) et pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF- α [Tumor Necrosis Factor- α ou Facteur de Nécrose Tumorale- α]) (29,34,35). Dépendamment du contexte et des types de macrophages interstitiels, ces derniers auraient aussi des propriétés pro- ou anti-fibrotiques (29).

1.4.5 : Cellules dendritiques

Les cellules dendritiques ont un rôle important dans l'immunité qui est expliqué plus en détail dans la section 1.6.

1.5 : Réparation épithéliale

Étant donné son importante superficie en contact direct avec l'environnement, l'épithélium alvéolaire est fortement à risque de subir des agressions et des dommages. Ces derniers peuvent être provoqués par différents facteurs directs, ou indirects. Parmi ces deux catégories, l'atteinte peut être de type mécanique (ex : trauma pulmonaire ou induction de dommages causés par la ventilation mécanique), chimique (ex : aspiration de liquide gastrique, toxicité pulmonaire induite par certains médicaments comme la bléomycine, par hyperoxie ou même par l'inhalation de fumée), microbien (causé par des champignons, parasites, virus et bactéries), physiologique (ex : via l'inflammation ou les lésions d'ischémie-reperfusion suite à une transplantation) ou autres (ex : particules exogènes) (36). Les éléments observables d'un épithélium endommagé dans le contexte du syndrome de détresse respiratoire aiguë sont décrits à la section 1.9.

Suite à une agression, les cellules pulmonaires enclenchent non seulement une réponse inflammatoire (et immunitaire si un pathogène est présent ; détaillées à la section 1.6), mais également des processus de réparation épithéliale. Ces mécanismes ont pour but de restaurer l'homéostasie alvéolaire et sont cruciaux puisque les différentes fonctions de son épithélium

(dont celle de barrière physique contre les pathogènes, de transport gazeux, de clairance liquidienne, de production de surfactant, etc.) sont inhérentes à son intégrité structurelle et fonctionnelle (36).

La réparation épithéliale débute par une première phase d'étalement et de migration cellulaire des ATII, ayant des propriétés progénitrices. Lors de ce processus, la réorganisation du cytosquelette des ATII permet la création d'un pôle migratoire. Ainsi, l'avant des cellules forme des protrusions s'attachant à la matrice extracellulaire (MEC), lui permettant d'avancer entre autres grâce aux interactions entre les intégrines et l'actine du cytosquelette. Le pôle arrière des cellules se détache de la MEC à l'aide des métalloprotéinases de matrice (MMPS). Les cellules ATII dédifférenciées ont également la capacité de proliférer puis de se redifférencier en ATI ou en ATII, afin de régénérer un épithélium intègre, différencié et fonctionnel. Plusieurs facteurs de croissance (FC ou GF en anglais) favorisent la réparation à diverses étapes du processus, tels que le FC kératinocytes (KGF), le FC des hépatocytes (HGF) ou encore le FC épidermal (EGF) (36–38).

Il arrive que les mécanismes de réparation soient déréglés, que des stimuli inflammatoires persistent ou que l'insulte initiale ne soit pas complètement éliminée. Cela peut entraîner l'activation des fibroblastes et leur prolifération ainsi que la transition des ATII en cellules mésenchymateuses. Il est alors question d'une réparation pathologique de l'épithélium alvéolaire, accompagnée de fibrose interstitielle et d'une perte de compliance pulmonaire (36,39,40).

1.6 : Réponse immunitaire et inflammatoire alvéolaire

Parfois, des pathogènes parviennent à échapper aux mécanismes de défense pulmonaires de première ligne (clairance mucociliaire, propriétés antimicrobiennes du surfactant [collectines] et des défensines, phagocytose par les macrophages alvéolaires, etc.), entraînant le déclenchement d'une réponse inflammatoire et l'activation du système immunitaire.

La réponse inflammatoire se produit généralement à la suite de la détection de dommage ou d'un corps étranger (vivant ou inerte). Elle se caractérise par la production de cytokines et de chimiokines, une vasodilatation, une augmentation de la perméabilité capillaire au site atteint et

une infiltration de cellules immunitaires (notamment des neutrophiles et des macrophages). Elle peut engendrer certaines manifestations telles qu'une rougeur, une hausse de la température (ou même de la fièvre), un œdème, de la douleur et une perte de fonction des tissus ou de l'organe affecté. Le but de la réponse inflammatoire est de réagir à un danger perçu afin de l'éliminer, de favoriser la réparation des tissus au besoin et d'enlever les débris (41,42).

La réponse immunitaire, quant à elle, a pour but d'éliminer un pathogène par divers mécanismes généraux ou spécifiques, qui seront expliqués plus en détail dans les prochaines sections. Or, l'immunité et l'inflammation sont deux processus aux buts distincts, mais qui sont interreliés et qui possèdent plusieurs mécanismes communs (comme la production de cytokines, la vasodilatation, etc.) (41).

Moldoveanu *et al.* décrivent la réponse inflammatoire pulmonaire comme se découlant en quatre phases : l'initiation, l'activation, la phagocytose et la résolution (42). Les prochains paragraphes décriront celles-ci dans une optique générale d'atteinte pulmonaire par un pathogène ayant un mécanisme d'infection intracellulaire (ex. : virus, bactéries intracellulaires...) ou extracellulaire (bactéries extracellulaires, parasites...).

1.6.1 : 1^{re} phase : initiation

La première phase est celle d'initiation. Pendant cette dernière, les pathogènes présentent à leur surface ou émettent, de manière intra ou extracellulaire, certains « motifs moléculaires associés aux pathogènes » (PAMPs, Pathogen-Associated Molecular Patterns), que les macrophages, les cellules alvéolaires et les cellules dendritiques peuvent reconnaître via leurs PRR (tels que les récepteurs de type Toll, TLR pour toll like receptor) (41,42). Il est intéressant de savoir que les TLRs ont la capacité de reconnaître des structures différentes en fonction des espèces (entre la souris et l'humain, par exemple) (43). Les cellules dendritiques, étant des cellules présentatrices d'antigène (CPA), digèrent et présentent ensuite à leur surface des petites séquences peptidiques provenant du pathogène. Ces CPA migrent ensuite vers les nœuds lymphatiques afin de stimuler les lymphocytes T et de leur présenter l'antigène (41,42). Ailleurs dans le corps, les macrophages jouent aussi le rôle de CPA (41), mais bien qu'il ait été démontré que les macrophages alvéolaires

puissent eux aussi migrer aux nœuds lymphatiques, leur fonction en tant que CPA dans l'immunité pulmonaire reste peu définie (44,45).

1.6.2 : 2^e et 3^e phases : activation et phagocytose

Dans les cellules ayant détecté un PAMP, l'activation de certains facteurs de transcription, tels que NF- κ B (Nuclear Factor Kappa B), se produit. Cela initie la seconde phase de l'inflammation pulmonaire, soit celle de l'activation (42). Cette dernière se produit en deux temps, avec une première étape incluant les cellules alvéolaires locales ainsi que le système immunitaire inné et une deuxième étape incluant le système immunitaire adaptatif (Figure 1.4). L'immunité humorale (c'est-à-dire qui se produit dans les liquides, tel que dans le plasma sanguin, et non avec les cellules directement) est aussi impliquée dans les deux phases.

Dans un premier temps, suite à l'activation des facteurs de transcription, les cellules locales (structurales et immunitaires) sécrètent de nombreuses cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF- α , l'IL-1 β , l'IL-6, MCP-1 et l'IL-8 [chez l'homme ou KC/CXCL1 chez la souris] (8,21,42,43,46). Il se produit aussi une augmentation de la perméabilité au niveau de la barrière alvéolo-capillaire ainsi qu'une augmentation de l'expression des molécules d'adhésion par l'endothélium alvéolaire (46).

Ces éléments favorisent le recrutement et l'activation des cellules du système immunitaire inné, dont entre autres des neutrophiles. Ces derniers combattent de manière non spécifique le pathogène par plusieurs moyens, dont la phagocytose, la formation de NET (Piège Extracellulaire des Neutrophiles), le relâchement de radicaux libres d'oxygène (ROS, Reactive Oxygen Species) et par le contenu de leurs granules (incluant des produits antimicrobiens et des enzymes de dégradation). De plus, les neutrophiles entrant en contact avec le pathogène le reconnaissent eux aussi et, en réponse, sécrètent des cytokines, amplifiant la réponse immunitaire (42,46).

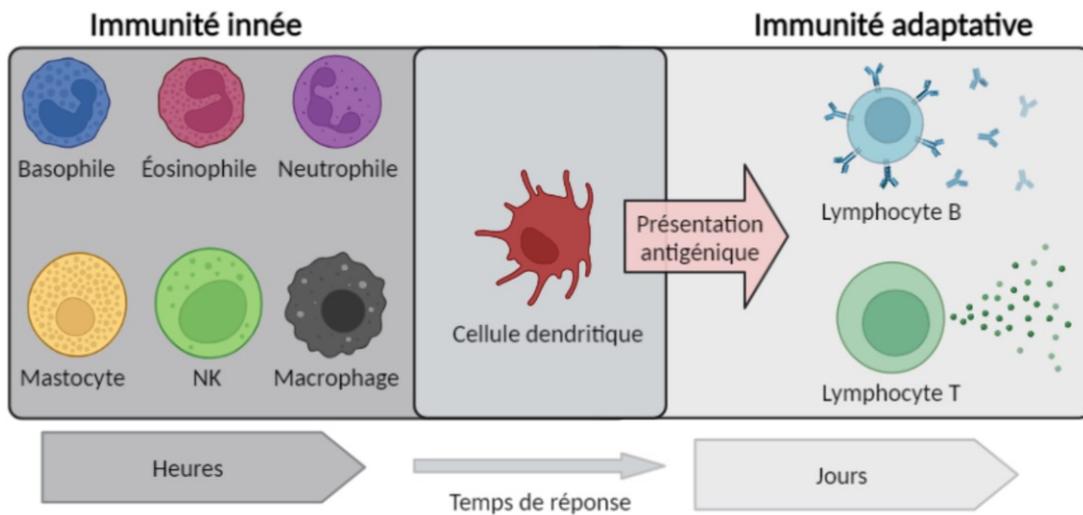


Figure 1.4 : Cellules impliquées dans l'immunité innée ainsi que dans l'immunité adaptative

À gauche, les cellules impliquées dans l'immunité innée. Au milieu, les cellules dendritiques qui permettent de faire le pont entre les deux types d'immunité en présentant les antigènes aux lymphocytes B et T (faisant partie de l'immunité adaptative, à droite). La réponse rapide est effectuée par le système immunitaire inné tandis que l'immunité adaptative demande un certain temps de réponse (créé sur Biorender.com).

Des monocytes circulants sont aussi recrutés dans les alvéoles et se différencient en macrophages ayant un phénotype et des fonctions variables dépendamment du stimulus perçu. En plus de phagocyter les pathogènes, ils peuvent les attaquer à l'aide de ROS et d'espèces réactives d'azote (un mécanisme qui est plus important chez la souris que chez l'homme). En reconnaissant la présence des PAMPs, ils contribuent comme les neutrophiles à l'amplification de la réponse inflammatoire (42,43,46).

Les mécanismes d'attaque des neutrophiles et des macrophages permettent de combattre le pathogène, mais ont comme désavantage d'être potentiellement dommageables pour les cellules alvéolaires (42,46,47). D'autres cellules du système immunitaire inné, telles que les cellules tueuses naturelles (NK), les basophiles et les mastocytes peuvent aussi être recrutées au site d'inflammation en fonction du type d'agent infectieux (42).

En plus de l'immunité innée cellulaire, lors de l'inflammation, le corps déclenche une réponse systémique pouvant impliquer de la fièvre, des symptômes cardiovasculaires et la production de protéines de phase aiguë (PPA). Quelques exemples des presque 200 PPA sont la protéine C-

réactive, la protéine sérique amyloïde P, le fibrinogène ou encore la ferritine. Les PPA sont en grande partie produites par le foie (quoiqu'elles puissent aussi être produites par d'autres types cellulaires) et jouent plusieurs rôles, incluant dans : l'opsonisation, la reconnaissance des microbes par le système immunitaire, la réparation tissulaire, l'homéostasie du fer et la cascade de coagulation (48).

Un autre acteur du système immunitaire inné humoral est le système du complément. Il se compose de plusieurs protéines sériques pouvant être activées par les anticorps (immunité adaptative), mais aussi par la voie des lectines ou par la voie alterne où certains PAMPs peuvent être directement reconnus avec ou sans l'aide de certaines PPA (immunité innée). L'activation du système du complément entraîne une cascade de signalisation complexe dans laquelle deux protéines, C3 (complement component 3) et C5 (complement component 5) convertase, ont des rôles centraux. D'ailleurs, ces dernières protéines sont souvent considérées comme des protéines de phase aiguë. Les effets immunitaires du système du complément activé sont entre autres l'opsonisation des pathogènes (avec ou sans la contribution des anticorps), la formation du complexe d'attaque membranaire (qui crée des trous sur les cellules, permettant leur lyse) et le relâchement de signaux pro-inflammatoires (tel qu'une activité de chimioattraction des neutrophiles par la protéine C5). Bien que les PPA et le système du complément puissent agir de concert avec certains éléments de l'immunité adaptative (notamment les anticorps), ce sont bel et bien des éléments de l'immunité innée « humorale » (41,48–50).

Dans un 2^e temps, le système immunitaire adaptatif se met en action. Suite à la présentation des antigènes pathogénique aux lymphocytes T par les cellules dendritiques, ces lymphocytes se différencient, prolifèrent et migrent au site de la zone infectée (41,42). Tout comme les macrophages, il existe différents sous-types de lymphocytes ayant différentes fonctions, qui sont plus ou moins activés en fonction du stimulus perçu. Les lymphocytes T CD4+, aussi appelés lymphocytes T auxiliaires (helper T cell, Th), se subdivisent en plusieurs classes dont celle des lymphocytes Th1, qui jouent plutôt un rôle dans l'immunité cellulaire (cancer, virus, bactéries intracellulaires...), et celle des Th2, des lymphocytes qui sont surtout importants pour l'immunité extracellulaire et humorale (bactéries extracellulaires, parasites...) (41,42). Les lymphocytes T CD8+, quant à eux, sont nommés les lymphocytes cytotoxiques. Ils combattent de manière

spécifique les pathogènes, en causant la lyse des cellules infectées par le relâchement ciblé de leurs granules cytotoxiques contenant des perforines et des granzymes ainsi que par l'induction de l'apoptose cellulaire par un mécanisme TNF dépendant (41,42). En contraste, les lymphocytes T régulateurs (Treg) ont plutôt un rôle anti-inflammatoire. Ces différents types de lymphocytes T produisent divers types de cytokines dans le but de promouvoir une réponse immunitaire appropriée (41,42).

À l'aide des Th, les lymphocytes B sont aussi activés et prolifèrent afin de produire des anticorps (42). Ces derniers se lient aux antigènes présents sur la membrane des pathogènes, ce qui contribue à l'immunité par plusieurs mécanismes. Premièrement, la liaison aux antigènes neutralise directement les agents infectieux, par exemple en inhibant leur capacité à pénétrer dans les cellules ou en causant une agglomération des pathogènes, bloquant leurs mouvements. De plus, les anticorps permettent l'opsonisation des pathogènes, c'est-à-dire qu'ils encouragent la phagocytose de ces derniers par les macrophages. Les cellules NK peuvent aussi reconnaître la portion Fc des anticorps liés, ce qui entraîne une cytotoxicité pour la cellule ciblée. Finalement, la section Fc des anticorps peut enclencher, par la voie classique, le système du complément (41,51).

À l'aide des forces combinées des divers mécanismes moléculaires et des acteurs cellulaires décrits jusqu'à présent, les pathogènes sont neutralisés pour être finalement phagocytés de façon optimale par les macrophages alvéolaires résidents et par ceux dérivés des monocytes, ce qui constitue la 3^e phase (42).

1.6.3 : 4^e phase : résolution

Afin que la 4^e phase de l'inflammation, celle de la résolution, puisse être initiée, la 3^e phase doit avoir été terminée avec succès. Alors que certains lymphocytes B et T se différencient en lymphocyte B et T mémoire, capables d'être activés rapidement dans le cas où le microbe serait rencontré à nouveau, les autres cellules inflammatoires transitent en un état apoptotique vu le manque de stimulation et doivent être éliminées par les macrophages. De plus, la production de stimuli pro-inflammatoires doit être stoppée et remplacée par la production de médiateurs anti-inflammatoires, tels que l'IL-10 et le TGF- β (Transforming Growth Factor- β ou Facteur de Croissance Transformant bêta). Parfois, un stimulus inflammatoire persiste, ce qui entraîne un

état d'inflammation chronique. Ce stimulus peut par exemple provenir d'une neutralisation incomplète du pathogène ou de dommages tissulaires résiduels (41,42,46). La persistance d'un tel stimulus peut avoir des conséquences graves, telles que la mise en place de fibrose pulmonaire irréversible dans le cas du SDRA, pouvant mener à une défaillance respiratoire fatale (36).

1.6.4 : Inflammation stérile et DAMPs

Les dommages tissulaires peuvent non seulement causer la persistance d'une réaction inflammatoire, mais également contribuer à son déclenchement (52). Par exemple, dans le cas des dommages pulmonaires causés par ventilation mécanique (VILI, ventilator induced lung injury), les cellules affectées exposent et/ou libèrent des motifs moléculaires associés aux dommages (DAMPs, damage-associated molecular pattern), qui activent les PRR et contribuent à la réponse inflammatoire (41,53). Suite à une infection résolue, des cellules endommagées résiduelles et émettant des DAMPs peuvent contribuer à l'inflammation chronique en activant les voies pro-inflammatoires (41,42). Les cellules affectées par un stress peuvent aussi contribuer à l'inflammation stérile par des mécanismes indépendants des PRRs, par exemple en relâchant des cytokines et/ou des alarmines (un type de DAMP) et par l'activation de RAGE (receptor for advanced glycation end-products) (54).

1.7 : IL-1

1.7.1 : Caractéristiques et rôles de l'IL-1

Il existe deux sortes d'IL-1 : l'IL-1 α et l'IL-1 β . Bien que ces deux molécules se lient au même récepteur, aient un poids moléculaire semblable et induisent des réponses cellulaires similaires, les acides aminés les composants sont assez différents (ils ne possèdent que 24 % d'homologie) et leurs fonctions biologiques diffèrent. Ces deux molécules possèdent une forme précurseur de 31 kDa (pro-IL-1 α et pro-IL-1 β) et une forme mature de 17 kDa (mIL-1 α et mIL-1 β) (55).

La pro-IL-1 α est exprimé en condition d'homéostasie et possède une activité qui peut être effectuée de manière paracrine, lorsqu'il est membranaire, ou autocrine lorsqu'il est intracellulaire (comme facteur de transcription). Les deux formes d'IL-1 α sont exprimées

constitutivement, mais se retrouvent assez rarement dans le sang, sauf lorsqu'elles sont relâchées par des cellules nécrotiques et jouent un rôle d'alarmine (55–59).

Contrairement à la pro-IL-1 α , la pro-IL-1 β est inactive et c'est seulement sa forme mature, sécrétée suite à un stimulus inflammatoire, qui est active. Il n'y a pas de forme membranaire de du mL-1 β (55,57). Le mL-1 β possède plusieurs fonctions non inflammatoires, tels que dans le métabolisme osseux et dans l'hématopoïèse (57). Le mL-1 β joue plusieurs rôles dans l'inflammation, dont l'induction de fièvre, d'hypotension, de neutrophilie, de thrombocytose et de PPA. Son niveau semble corrélé à la sévérité de certaines conditions dont le SDRA, qu'elle peut même induire lorsqu'injectée dans certains modèles *in vivo*. Le rôle de l'IL-1 β dans la physiologie du SDRA est détaillé à la section 1.9.5 (60–65). Cette cytokine favorise aussi l'augmentation de l'expression des molécules d'adhésion, le relâchement de médiateurs inflammatoires (NO [oxyde nitrique], prostaglandine E2), la sécrétion de collagénase, la prolifération et la différenciation de certains lymphocytes ainsi que la sécrétion de cytokines par ces derniers (55).

1.7.2 : Production, activation et régulation de l'IL-1 β

La sécrétion d'IL-1 β mature se produit suite à deux signaux entraînant d'une part la production de pro-IL-1 β et d'autre part son activation (Figure 1.5). La stimulation de PRRs, par des DAMPs ou par des PAMPs, entraîne l'activation de facteurs de transcriptions tels que NF- κ B (signal 1), conduisant à la transcription et à la traduction de pro-IL-1 β . Certaines cytokines, telles que le TNF- α ou encore l'IL-1 β et l'IL-1 α elles-mêmes, peuvent aussi induire l'expression d'IL-1 α et d'IL-1 β (58,66).

Le signal 1 entraîne aussi l'augmentation de la transcription de la protéine NLRP3 (NOD-like receptor family pyrin domain containing 3). Le signal 2, quant à lui, entraîne l'activation de NLRP3, conduisant à la formation de l'inflammasome NLRP3. Cette étape est nécessaire afin de permettre le clivage de la pro-IL-1 β par la caspase-1, créant ainsi la forme active et mature de l'IL-1 β (Figure 1.5). Le signal 2 peut être initié suite à plusieurs stimuli (tels que la détection d'ARN viral ou d'adénosine triphosphate extracellulaire). Puisque ces derniers sont très variables, l'hypothèse courante est que le signal 2 serait constitué de changements dans le milieu cytoplasmique (tels qu'un afflux de K⁺ ou la production de ROS). (58). Certaines cellules, dont

entre autres les neutrophiles, ont la capacité d'activer l'IL-1 β de manière caspase-1 indépendante (67).

Bien que les principales cellules à exprimer l'IL-1 β soient les monocytes et les macrophages, d'autres types de cellules immunitaires (neutrophiles, lymphocytes...) ou structurales (épithéliales, endothéliales, fibroblastes...) peuvent aussi exprimer cette cytokine (55,56).

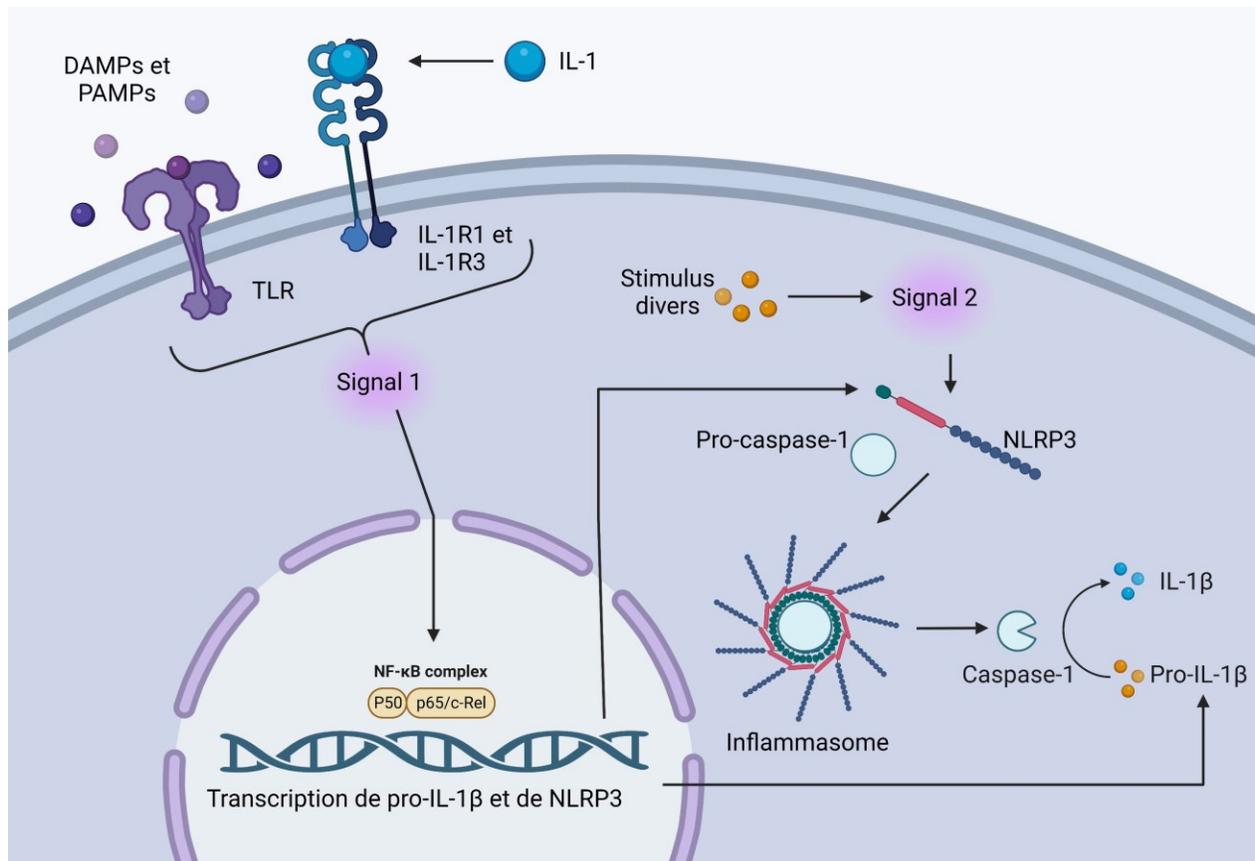


Figure 1.5 : Schématisation simplifiée de l'activation de la pro-IL-1 β

Le signal 1 est déclenché par certaines cytokines telles que l'IL-1 (β ou α) ou par la détection de DAMPs ou de PAMPs (par des PRR tels que les TLR). Le signal 1 entraîne l'activation du complexe NF- κ B, permettant une régulation à la hausse de la transcription de la pro-IL-1 β et des composantes de l'inflammasome. Le signal 2 permet l'activation de l'inflammasome et par conséquent de la caspase-1, entraînant le clivage de la pro-IL-1 β en sa forme mature (créé sur Biorender.com) (58,68).

1.7.3 : Récepteurs et voies de signalisation

Le complexe de signalisation de l'IL-1 est formé du récepteur de type 1 de l'IL-1 (IL-1R1, précédemment nommée IL-1RI) ainsi que de sa protéine accessoire permettant la signalisation (IL-1RacP, IL-1R accessory protein, maintenant nommé IL-1R3). L'IL-1R1 est exprimé de manière

ubiquitaire et se lie de manière spécifique à l'IL-1 α et à l'IL-1 β (ainsi qu'à son antagoniste, l'IL-1Ra endogène). Le IL-1R3 est aussi ubiquitaire, mais peut être utilisé par d'autres complexes formés par les membres de la famille des récepteurs et cytokines de l'IL-1, ayant des effets semblables entre eux (55,56,69).

La liaison de l'IL-1 à l'IL-1R1 permet la formation du complexe avec le IL-1R3, ce qui induit le recrutement de protéines de signalisation en aval (MYD88 [Myeloid Differentiation Primary Response 88] et IRAK4 [Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase 4]). La cascade de signalisation s'en suivant mène à l'activation de trois voies majeures : NF- κ B, AP-1 (Activator Protein 1) et p38 MAPK (p38 Mitogen-Activated Protein Kinase).

Dans les prochaines lignes sont décrits les effets plus spécifiques de chacune de ces voies, mais il est important de noter que celles-ci ne sont pas spécifiques à cette cytokine et à son récepteur, d'autres acteurs moléculaires pouvant les activer. Par exemple, NF- κ B est aussi activé par le TNF- α ou même par certains PRR (70). Il en sera de même pour l'IL-6 dans la prochaine section. NF- κ B, AP-1 et p38 sont des voies entraînant toutes les trois une amplification de la réponse inflammatoire, entre autres via l'induction de la transcription de cytokines pro-inflammatoires.

De plus, la voie NF- κ B est aussi impliquée dans de nombreux mécanismes présents au niveau pulmonaire et entraîne également la transcription de gènes impliqués dans la survie et la différenciation cellulaire, la réparation tissulaire, la réponse aux stress, la production de facteurs de croissance et même dans sa propre régulation (70). C'est un facteur de transcription qui a été relié à la sévérité de plusieurs conditions ayant une inflammation dérégulée, dont le SDRA (70,71). Cependant, il possède aussi d'importantes fonctions cytoprotectrices. La revue de Millar *et al.* expose bien les différents rôles, bénéfiques ou néfastes, de NF- κ B dans une optique d'atteinte pulmonaire aiguë (56,70).

Toujours dans un contexte pulmonaire, le facteur de transcription AP-1 est impliqué dans la régulation de la production des protéines du surfactant, des protéines impliquées dans le remodelage de la membrane extracellulaire (métalloprotéinases et leurs inhibiteurs ainsi que l'EGF et son récepteur) et potentiellement dans la génération des enzymes antioxydantes (56,72).

Quant au facteur p38 MAPK, il est impliqué dans l'invasion, l'accumulation et la survie des neutrophiles, la perte de fonctionnalité de la barrière endothéliale ainsi que potentiellement dans la régulation de l'équilibre Treg/Th17 (voir section 1.9.4 pour plus de détails sur l'importance de ce ratio en SDRA) dans un contexte d'ALI (56,73).

Il existe plusieurs molécules endogènes inhibitrices de la voie de l'IL-1, dont l'IL-1Ra endogène. Cet antagoniste compétitif est exprimé en condition d'homéostasie ainsi que de manière plus importante en condition d'inflammation. D'ailleurs, de manière intéressante, l'IL-1Ra endogène est considéré comme une PPA (48). Une autre stratégie permettant d'inhiber les effets de l'IL-1 α ou β est de capturer la cytokine à l'aide de récepteurs non signalants. En plus de ne pas transmettre le signal, ces récepteurs ont pour effet de diminuer la biodisponibilité de la cytokine pour l'IL-1R1 et l'IL-1R3, limitant leur activation. Le récepteur 2 de l'interleukine 1 (IL-1R2) ainsi que la forme soluble de plusieurs récepteurs de l'IL-1 (sIL-1R1, sIL-1R2 et sIL-1R3) sont des exemples de molécules endogènes utilisant cette stratégie (69,74). Les mécanismes d'action de l'IL-1Ra ainsi que des récepteurs non signalants sont détaillés à la Figure 1.6. Certains inhibiteurs synthétiques, tel que l'antagoniste recombinant du IL-1R anakinra (Kineret), sont aussi disponibles. Ce sujet est approfondi dans la section 1.9.7.

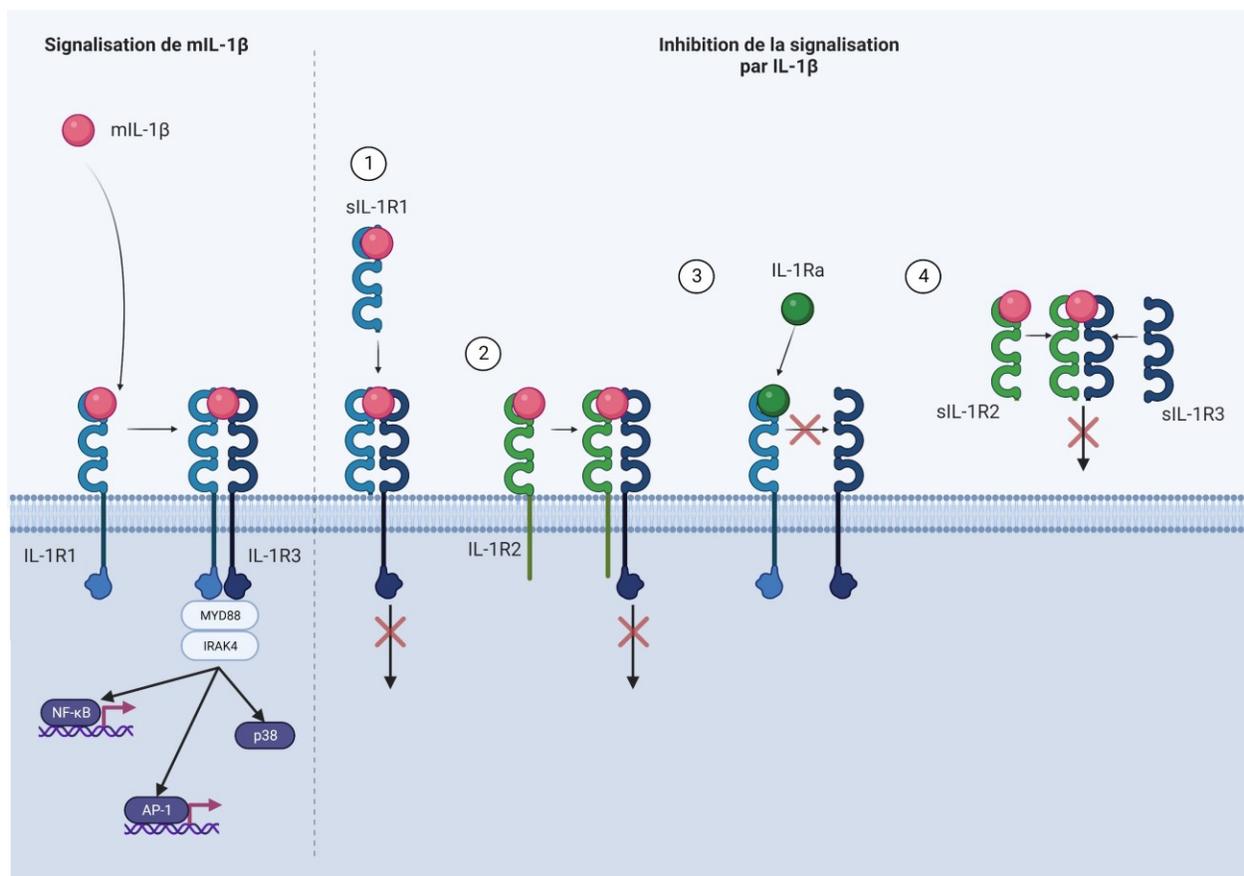


Figure 1.6 : Schématisation simplifiée de la signalisation par l'IL-1β ainsi que de certains des mécanismes des inhibiteurs endogènes existants

À gauche, la voie de signalisation de mIL-1β via le IL-1R1. À droite, certains mécanismes inhibiteurs endogènes de la voie de l'IL-1β existant. En 1, le sIL-1R1 se lie à l'IL-1β (il peut aussi se lier à l'IL-1α et à l'IL-1Ra endogène, non représentés). En 2, le IL-1R2 se lie à IL-1β (il peut aussi se lier plus faiblement à IL-1α). En 1 et en 2, la liaison des récepteurs à l'IL-1 (α ou β) forme un complexe non signalant avec le IL-1R3. L'IL-1Ra endogène (en 3) se lie au IL-1R1 et empêche la formation du complexe avec le IL-1R3. En 4, le sIL-1R2 se lie à l'IL-1 (de type β ainsi que faiblement au type α), puis au sIL-1R3, formant un complexe non signalant et séquestrant l'IL-1β (créé sur Biorender.com) (55,56,69,74).

1.8 : IL-6

1.8.1 : Caractéristiques et rôles de l'IL-6

L'IL-6 est une cytokine pléiotropique, ayant des rôles pro- et anti-inflammatoires, comportant 212 acides aminés et possédant un poids moléculaire allant de 21 à 29 kDa. Cette cytokine joue plusieurs rôles, par exemple dans le métabolisme osseux, au cours de la grossesse, la gestation, l'hématopoïèse et bien sûr l'immunité (75–77). En effet, suite à sa production au site ayant subi une insulte, elle contribue à la mise en place de l'inflammation aiguë en provoquant une

augmentation de la température (systémique et/ou au site atteint) ainsi que de la perméabilité et de l'angiogenèse au site atteint. Elle déclenche aussi la production et le relâchement des PPA par les hépatocytes, en plus de jouer un rôle dans la maturation et/ou la différenciation de plusieurs cellules immunitaires, dont les mégacaryocytes (menant au relâchement de plaquettes sanguines) ainsi que les lymphocytes B et T (75,76). En combinaison avec le TGF- β , elle entraîne entre autres la maturation des lymphocytes Th17 (un sous-type de Th CD4+ plutôt pro-inflammatoire) et l'inhibition de la maturation des Treg (qui antagonisent les effets des Th17) (78,79). Les Th17 produisent plusieurs cytokines, dont l'IL-17 qui favorise à son tour la production de plusieurs cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IL-6 ou le TNF- α , ainsi que de chimiokines attirant les neutrophiles. Or, plusieurs études ont démontré un lien entre un débalancement du ratio Th17/Treg et le développement de maladies auto-immunes ou liées à l'inflammation telles que l'asthme, le cancer pulmonaire ou encore le SDRA (79–81).

L'IL-6 favorise l'invasion des neutrophiles au site touché par l'augmentation de la perméabilité vasculaire, mais aussi en favorisant le relâchement des neutrophiles dans la circulation sanguine et en augmentant l'expression endothéliale des molécules d'adhésion (82). Comme l'IL-1, le niveau de cette cytokine a été corrélé avec la sévérité du syndrome de détresse respiratoire aiguë (sujet discuté à la section 1.9.5) (60–65).

1.8.2 : Production et régulation

La transcription du gène responsable de la production de l'IL-6 est entre autres contrôlée par le NF- κ B. L'activité de ce dernier facteur de transcription peut être régulée à la hausse par l'activation des PRR (DAMPs ou PAMPs), ou encore par l'IL-1 β ou le TNF- α (75). Plusieurs types cellulaires peuvent sécréter de l'IL-6, dont certaines cellules immunitaires (neutrophiles, lymphocytes B et T, monocytes, cellules dendritiques, mastocytes) ou encore des cellules structurales (fibroblastes, cellules endothéliales et épithéliales, fibroblastes, adipocytes) (75,82,83).

1.8.3 : Récepteurs de l'IL-6 et voies de signalisation

Le complexe de signalisation de l'IL-6 se compose de deux molécules d'IL-6, de deux récepteurs d'IL-6 (IL-6R) ainsi que de deux molécules de signalisation gp130 (glycoprotéine 130) (75). L'IL-6R

existe sous la forme membranaire (mIL-6R) ainsi que sous la forme soluble (sIL-6R, présente dans le sérum) et est spécifique à l'IL-6 (Figure 1.7). Sous sa forme membranaire, il est exprimé entre autres dans les hépatocytes, neutrophiles, lymphocytes T et monocytes, mais pas dans les cellules épithéliales pulmonaires (76,82). La signalisation par mIL-6R constitue la voie de signalisation classique, qui joue un rôle important en condition homéostatique et qui a des fonctions plutôt anti-inflammatoires. Puisque gp130 est exprimé de manière ubiquitaire, les cellules alvéolaires peuvent être activées par l'IL-6 suite à sa liaison avec gp130 et sIL-6R. Cette méthode de signalisation constitue la voie de signalisation trans, qui permet une réponse plutôt pro-inflammatoire systémique (75,76,82). Il est aussi possible que deux mIL-6R liés à deux IL-6 soient présents sur une cellule et forment un complexe de signalisation avec les gp130 d'une autre cellule, ce qui constitue la présentation trans (84).

Gp130 peut aussi être utilisé par plusieurs autres cytokines (75,76,82). L'IL-6 fait donc partie d'une famille de cytokines utilisant gp130 et qui ont par conséquent des effets similaires (redondance) (75). Gp130 existe aussi sous forme soluble, sgp130, qui est présente de manière constitutive dans le sérum sanguin et qui inhibe la signalisation trans de l'IL-6. La concentration d'IL-6 dans le sang doit donc dépasser la capacité tampon de sgp130 afin d'initier une réponse inflammatoire (82,85). Il existe aussi certains inhibiteurs synthétiques du IL-6R, tels que l'anticorps monoclonal tocilizumab (voir section 1.9.7).

La liaison de l'IL-6 à son récepteur entraîne la formation du complexe de signalisation avec gp130, initiant la signalisation en aval par l'activation d'une kinase Janus (JAK). Suite à l'activation de JAK, trois voies de signalisations sont possibles (Figure 1.7) : (1) celle du transducteur de signal et transcription-3 (signal transducer and transcription-3, STAT3), (2) des kinases de la protéine activée par les mitogènes et de la kinase régulée par signal extracellulaire (mitogen activated protein kinases and extracellular signal-regulated kinase, MAPK/ERK) et finalement (3) la voie kinase PI3K/Akt (protéine kinase activée par les phosphoinositides [PI3K] et la protéine kinase B [Akt]) (76).

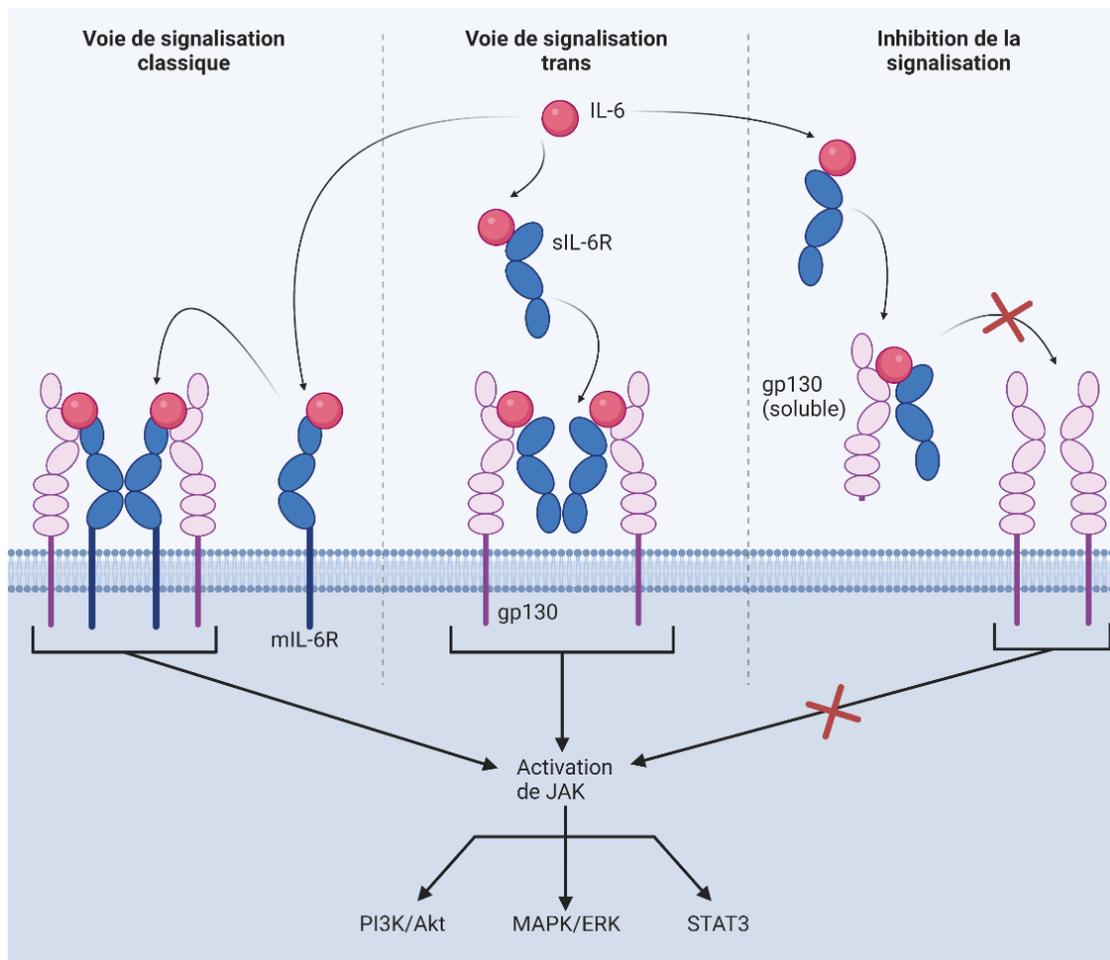


Figure 1.7 : Principales voies de signalisation en amont et en aval de l'IL-6

À gauche, la voie de signalisation classique de l'IL-6 via le mIL-6R. Au milieu, la voie trans de signalisation de l'IL-6, via le sIL-6R. À droite, l'inhibition de la signalisation de l'IL-6 par gp130 soluble. La voie de présentation trans n'est pas présentée. L'activation du complexe formé de deux IL-6, deux IL-6R et deux gp130 membranaires mène à la phosphorylation (activation) de JAK puis à l'activation de trois voies de signalisation : PI3K/Akt, MAPK/ERK et STAT3 (créé sur Biorender.com) (76).

De manière intéressante, la littérature rapporte une contribution des trois voies activées par l'IL-6 dans le cancer pulmonaire et une forte concentration sérique d'IL-6 a été liée à un pronostic peu favorable pour ces cancers (86–92). En plus d'induire la production de gènes pro-inflammatoires, dans les poumons, STAT3 semble contribuer à la fibrose pulmonaire, inhiber l'apoptose de certaines cellules, jouer un rôle pour l'homéostasie des phospholipides du surfactant, induire les protéines de phase aiguë et contribuer à la réparation épithéliale bronchique (93–96). Le rôle de MAPK/ERK dans les poumons est peu défini dans la littérature, mais il semble favoriser la prolifération cellulaire, le développement pulmonaire et avoir un rôle

important dans le cancer pulmonaire non à petites cellules (89–91,97,98). PI3K, quant à lui, contribuerait à la mise en place de fibrose pulmonaire et serait impliqué dans le cancer pulmonaire. De manière générale, l'activation de cette voie entraîne une sécrétion de cytokines inflammatoires et est impliquée dans la croissance, survie et prolifération cellulaire (92,99–101).

En bref, la littérature montre que l'IL-1 (β et α) et l'IL-6 contribuent de manière importante à plusieurs facettes de l'homéostasie, mais aussi à certains mécanismes pathologiques. Leurs rôles sont complexes et de plus amples investigations seront nécessaires afin de vraiment comprendre les effets de chacune de ces cytokines.

1.9 : Syndrome de détresse respiratoire aiguë

1.9.1 : Définition et diagnostic

Le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) est une forme de défaillance respiratoire qui se diagnostiquait depuis 2012 selon les critères de la définition de Berlin (102), présentés à la Figure 1.8. En 2016, la modification de Kigali a été proposée afin de pallier à certains défauts de la définition de Berlin, notamment dû au fait qu'elle soit difficilement applicable dans les pays en développement, menant à une sous-estimation des cas de SDRA diagnostiqués dans ces pays. Elle propose entre autres d'éliminer le critère du PEP, de mesurer l'hypoxie à l'aide du ratio saturation périphérique en oxygène sur fraction inspirée d'oxygène ($SpO_2/FiO_2 \leq 315$) et d'accepter l'observation des opacités bilatérales par ultrason (103). Cependant, elle ne fut pas officiellement incorporée à la définition du SDRA.

Or, tout récemment (en 2023), des experts provenant des quatre coins du globe sont arrivés à un consensus quant à la nouvelle définition du SDRA, à laquelle plusieurs modifications ont été apportées, incluant l'incorporation officielle de la définition de Kigali (104)

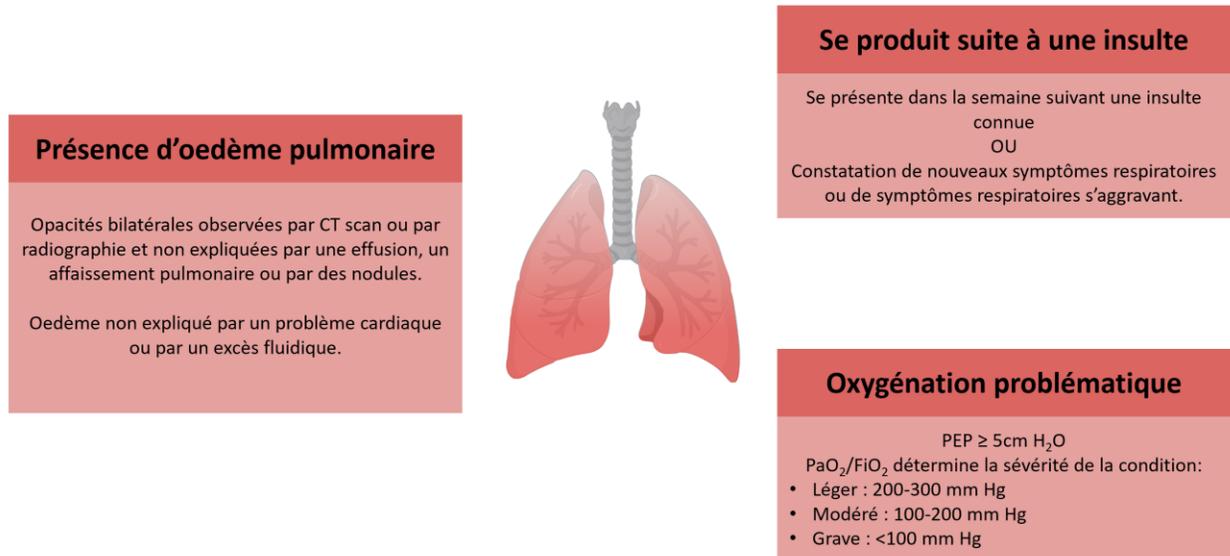


Figure 1.8 : Un résumé des critères de la définition de Berlin de 2012 pour le diagnostic du SDRA
 Figure détaillant les trois éléments importants pour le diagnostic du SDRA selon la définition de Berlin de 2012 (créé sur Biorender.com). PEP = Pression Expiratoire Positive.

L'une des principales modifications apportées est l'inclusion des patients recevant de l'oxygénation nasale à haut débit (permettant entre autres un diagnostic plus précoce). Deux catégories ont aussi été créées : la première concerne les patients se trouvant dans un milieu ayant des ressources variables (et assouplit certains des critères afin de permettre la pose d'un diagnostic dans ce contexte) alors que l'autre est pour les patients non intubés (incluant les patients recevant de l'oxygénation nasale à haut débit). Pour les patients intubés dans un contexte où les ressources sont accessibles (la 3^e catégorie, qui est semblable à l'ancienne définition), les trois degrés de gravité du SDRA, tels que montrés à la Figure 1.8, persistent, mais sont maintenant des sous-catégories. De plus, dans chacune des catégories et sous-catégories, des seuils de mesure de l'oxygénation artérielle à l'aide du ratio SpO_2/FiO_2 (si le $SpO_2 \leq 97\%$) ont été ajoutés aux seuils traditionnels de PaO_2/FiO_2 . Il est aussi maintenant acceptable d'identifier la perte d'aération pulmonaire bilatérale en utilisant des ultrasons (à la condition que l'opérateur soit bien formé). Plusieurs autres détails ont aussi été modifiés ou précisés, tels que l'ajout d'un facteur de correction en altitude élevée (plus de 1000 mètres). Cette nouvelle définition du SDRA est plus complexe, mais permettra idéalement d'éviter de sous-diagnostiquer des patients (104).

Puisque le SDRA définit un ensemble de symptômes pouvant découler de différentes causes potentielles, il se manifeste de manière hétérogène. Conséquemment, plusieurs biomarqueurs, tels que la concentration sérique d'IL-6 ou de ferritine, ont été reliés avec différents paramètres de ce syndrome, comme sa gravité ou l'efficacité de certaines interventions thérapeutiques, mais il n'existe à ce jour aucun biomarqueur servant de « gold standard » pour le diagnostic du SDRA (105,106). Cependant, tel que détaillé dans la section 5.2, certains phénotypes définis par des ensembles de biomarqueurs commencent à émerger, dont un phénotype hypo- et hyperinflammatoire (107).

1.9.2 : Étiologie, épidémiologie et pronostic

En 2014, environ 10 % des patients admis aux soins intensifs étaient atteints d'un SDRA (108), qui peut se développer à la suite d'une insulte directe (pneumonie, aspiration de liquide gastrique, trauma pulmonaire, presque-noyade...) ou indirecte (septicémie, traumas multiples...) (109). Le patient atteint nécessite habituellement une prise en charge intensive et longue (nécessitant plusieurs ressources humaines et matérielles) (110). De plus, depuis 3 ans déjà, la population mondiale fait face à la pandémie de COVID-19 (111), qui dans les cas les plus graves, peut également entraîner le développement d'un SDRA (112). Il ne serait donc pas surprenant d'observer une hausse de la fréquence du SDRA dans les études à venir (113–115).

Le SDRA est associé à un taux de mortalité inacceptablement élevé (35-45 %, habituellement suite à une défaillance multiorganes) (108,116,117). De plus, chez les survivants, il est commun que des séquelles importantes subsistent, tant au niveau physique, mental, cognitif que social. Quelques-unes des séquelles possibles sont : persistance de toux, d'essoufflement, de cicatrices, développement d'un choc post-traumatique, d'une dépression, d'anxiété, d'un déficit d'attention, perte de mémoire, déclin de la qualité de vie, incapacité à reprendre une vie professionnelle et perte partielle d'autonomie (118–121).

1.9.3 : Caractérisation histopathologique

Les dommages histologiques causés par le SDRA sont traditionnellement qualifiés de « dommages alvéolaires diffus » (DAD) et possèdent les caractéristiques suivantes : une atteinte épithéliale alvéolaire et endothéliale vasculaire, un œdème pulmonaire, une infiltration de cellules

immunitaires (principalement de neutrophiles) ainsi que la formation d'une membrane hyaline. En absence d'une résolution rapide et efficace de la phase aiguë exsudative se met en place une fibrose pulmonaire irréversible. Or, bien que la plupart des modèles animaux visant à mimer le SDRA humain se basent sur ces critères pour juger de leur pertinence, plusieurs études ont démontré que ces atteintes ne se présentent pas toutes de façon homogène chez les patients, avec ainsi des sous-types de profils de SDRA (107,122).

1.9.4 : Physiopathologie

Suite à l'insulte initiale, le SDRA évolue en trois phases se chevauchant dans le temps (36,107,123). Lors de la première phase aiguë exsudative (Figure 1.9), l'insulte initiale cause des dommages alvéolaires directement et/ou indirectement par le biais de l'inflammation (36). Dans les deux cas, une augmentation de la perméabilité de la barrière alvéolo-capillaire se produit. Au niveau de l'épithélium alvéolaire, cela peut s'expliquer par une perte de fonctionnalité des cellules le composant, menant à une perte d'étanchéité au niveau des jonctions serrées, et/ou par un dénuement de la membrane basale suite à la mort cellulaire des ATI et des ATII (qui sont toutefois plus résistantes que les ATI) (124–126). Les dommages entraînent aussi, par plusieurs mécanismes, une diminution de la capacité à drainer le liquide chez ces mêmes cellules épithéliales et à produire le surfactant pour les ATII (127–129). L'augmentation de la perméabilité alvéolo-capillaire ainsi que l'altération du mécanisme de clairance liquidienne mènent à la formation d'un œdème pulmonaire suite à l'infiltration de liquide riche en protéines dans l'interstitium ainsi que dans la lumière alvéolaire (36).

À cela s'ajoute une production de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-1 β , IL-8, TNF- α ...), une infiltration alvéolaire et interstitielle de cellules immunitaires (majoritairement des neutrophiles, mais aussi d'autres leucocytes et/ou des globules rouges), une activation des plaquettes sanguines, une désactivation du surfactant sécrété ainsi que la formation de membranes hyalines (36,107). De plus, les Th17, lorsqu'ils ne sont pas adéquatement antagonisés par les Treg, peuvent contribuer au SDRA en entraînant la production de cytokines pro-inflammatoires ainsi qu'en favorisant l'infiltration des neutrophiles (79,130).

Ces éléments entraînent chez la personne atteinte une baisse des échanges gazeux, une augmentation du risque de septicémie, de thrombose pulmonaire et de microatélectasie, une diminution de la compliance pulmonaire ainsi qu'une hypertension pulmonaire (36,107).

Il est important de noter que lors de cette phase aiguë, trois des paramètres principaux (l'œdème, l'inflammation ainsi que le dommage) ont le fort potentiel de s'amplifier entre eux et d'aggraver la situation.

Idéalement, à ce stade, il y a une désescalade de la phase aiguë comprenant une résolution de l'inflammation, une restauration de l'intégrité de la barrière alvéolo-capillaire et finalement une clairance de l'œdème pulmonaire. Cela nécessite la mise en route et l'aboutissement de plusieurs mécanismes complexes, tels que l'apoptose et la clairance des neutrophiles, une transition de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires à des cytokines anti-inflammatoires ainsi que la prolifération des ATII et leur transdifférenciation en ATI afin de restaurer l'intégrité alvéolaire (36,107). Pendant la phase aiguë s'initie une seconde phase chevauchante, dite proliférative, lors de laquelle les cellules tentent de réinstaurer l'intégrité alvéolaire. La troisième phase se caractérise soit par une résolution adéquate du SDRA, soit par la mise en place d'une fibrose pathologique, menant à une perte encore plus grande de la compliance pulmonaire, à une augmentation de l'espace mort alvéolaire et à une hypoxémie réfractaire (131,132). Les causes exactes pour lesquels les cellules s'engagent dans une réparation fibrotique plutôt que saine ne sont pas encore très bien comprises, mais certains éléments encourageant son développement sont connus, tels qu'une réparation désorganisée ou inadéquate, ou encore l'activation excessive de TGF- β (107,109,133,134).

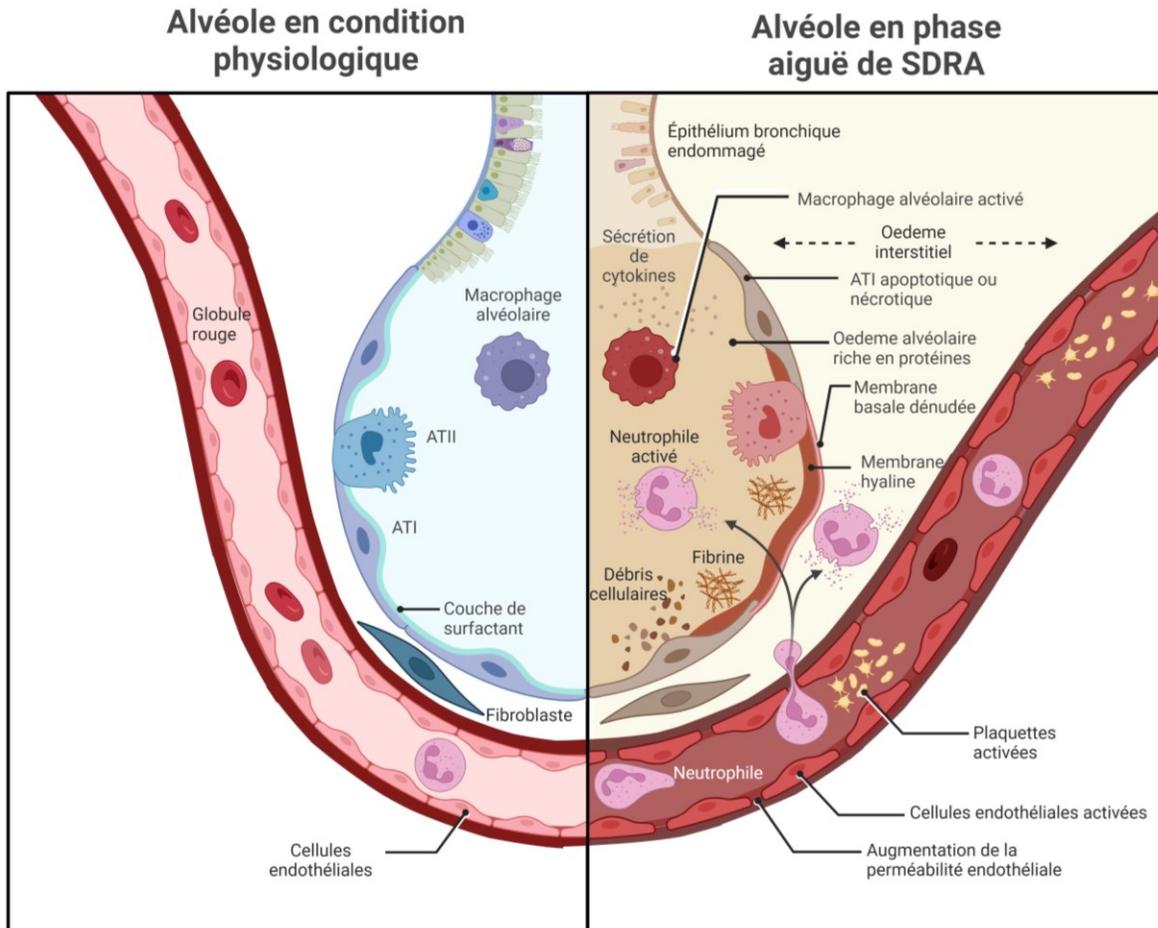


Figure 1.9 : Comparaison entre une alvéole saine et une alvéole en phase aiguë de SDRA

Schématisation d'une alvéole en condition physiologique (à gauche) ainsi que d'une alvéole en phase aiguë de SDRA (à droite). Le SDRA en phase aiguë se caractérise par la présence d'inflammation (production de cytokines, infiltration alvéolaire ainsi qu'activation de neutrophiles, des plaquettes et des cellules endothéliales) ainsi que par des altérations structurelles (mort des cellules épithéliales alvéolaires et exposition subséquente de la membrane basale, formation de membrane hyaline, déposition de fibrine, relâchement de débris cellulaires) et fonctionnelles (inactivation du surfactant). Ces éléments, combinés à l'augmentation de la perméabilité endothéliale et épithéliale (non indiqué sur la figure) ainsi qu'à une diminution de la capacité de clairance liquidienne (non représenté) mènent à la formation d'un œdème interstitiel et alvéolaire. Créé sur Biorender.com inspiré de (131).

1.9.5 : Potentiels effets de l'IL-1 β et de l'IL-6 en SDRA

L'IL-1 β et l'IL-6 sont deux cytokines particulièrement importantes dans la pathologie du SDRA, qui peuvent être détectées dans les lavages broncho alvéolaires (BALs) ainsi que dans le sang des patients atteints. Plusieurs études ont d'ailleurs démontré un lien entre la sévérité de la condition et la concentration de ces cytokines (60–65). L'IL-1 β et l'IL-6 entraînent l'activation des neutrophiles et favorisent leur invasion dans le parenchyme pulmonaire en augmentant

l'expression des molécules d'adhésion ainsi que la perméabilité alvéolo-capillaire (61,63,65,82,135,136). Or, un nombre ou une activation trop importante de neutrophiles peut entraîner des dommages au parenchyme pulmonaire et l'augmentation de la perméabilité, ce qui peut aussi contribuer à l'œdème pulmonaire (46,47).

L'IL-1 et l'IL-6 possèdent aussi des mécanismes qui leur sont propres. Par exemple, il a été démontré que l'IL-1 β diminuait l'expression d'ENaC, ce qui pourrait impacter la capacité de clairance alvéolaire (137). L'IL-1 β possède aussi la capacité de s'auto-induire, ce qui peut mener à la mort cellulaire de macrophages par pyroptose, un processus qui se produit via l'activation de caspase-1 et qui se caractérise par le relâchement du contenu fortement inflammatoire de la cellule (138,139).

L'IL-1 (α et β) peut aussi induire l'IL-6, et cette dernière ainsi que l'IL-1 β ont la capacité de faire pencher la balance Th17/Treg en faveur des Th17, ce qui pourrait contribuer au SDRA tel que mentionné à la section 1.9.4 (78,79,130,140,141).

Tel que résumé à la Figure 1.10, l'IL-1 β et l'IL-6 ont le potentiel de jouer un rôle néfaste en SDRA par de nombreux mécanismes. Cependant, il existe également plusieurs autres évidences de la littérature rapportant à l'inverse un effet bénéfique de ces cytokines. Par exemple, certaines études ont montré que l'IL-1 pouvait promouvoir l'expression d' α -ENaC ainsi que la réparation épithéliale (142,143). Quant à l'interleukine 6, plusieurs études rapportent qu'elle a un ou des effets bénéfiques dans des contextes variés.

Kobayashi *et al.* ont montré que suite à une instillation de bléomycine dans un modèle murin, l'IL-6 atteignait deux pics de concentration dans les lavages broncho-alvéolaires, soit entre les jours 1 et 3 post-instillation ainsi qu'au jour 8 à 10. Ils ont aussi rapporté que d'inhiber l'IL-6 avait des effets bénéfiques si l'administration était effectuée tardivement (aux jours 8, 9 et 10), mais que les effets étaient plutôt néfastes si l'inhibition était effectuée dans les premiers jours (0, 1 et 2). Ces données suggèrent donc un effet potentiellement bénéfique de l'IL-6 dans la phase aiguë du SDRA, mais néfaste dans la phase fibrotique (144). Bhargava *et al.* ont montré que l'instillation intratrachéale d'IL-6 dans des modèles murins courts (4 h) était bénéfique (effet anti-inflammatoire) pour l'ALI de cause directe (endotoxine intratrachéale), mais pas indirecte

(modèles de dommages rénaux aigus et d'endotoxine intrapéritonéale) (145). Voiriot *et al.*, quant à eux, ont démontré que lorsque le gène de l'IL-6 était silencé, des souris subissant une instillation de LPS combinée à de la ventilation mécanique développaient une inflammation plus importante que les souris normales (146). Finalement, Wolters *et al.*, également grâce à un modèle murin silencé pour l'IL-6 et comparé à des contrôles, proposent que lorsque cette cytokine est sécrétée par certaines cellules, dont notamment les neutrophiles, elle pourrait limiter les atteintes à la barrière alvéolo-capillaire dans un contexte d'ALI induit par VILI (147). Les effets bénéfiques ou pathologiques de l'IL-6 sont aussi observés dans plusieurs autres conditions non pulmonaires, tel que discuté dans la revue de Forcina *et al.* (148).

En résumé, la littérature montre un manque de consensus quant à l'effet de l'IL-1 et de l'IL-6 en SDRA. Cependant, l'idée qu'un excès de ces deux cytokines soit nocif dans ce contexte semble émerger, à la vue des nombreuses études cliniques visant à évaluer des traitements anti-inflammatoires ciblant ces deux voies (voir la section 1.9.7).

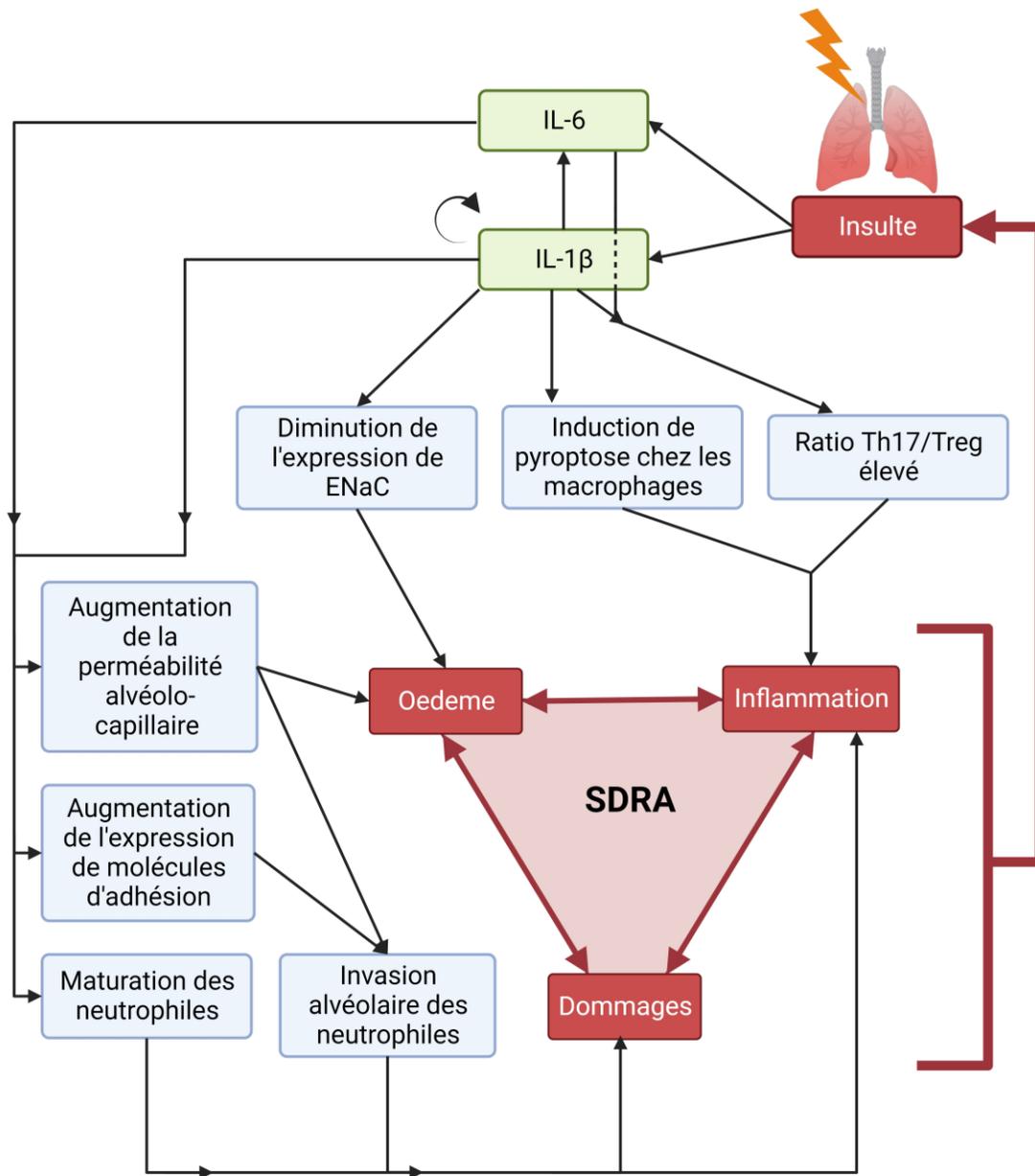


Figure 1.10 : Schématisation des potentiels effets pathologiques de l'IL-6 et de l'IL-1β en contexte de SDRA

L'IL-1β et l'IL-6 sont produits suite à une insulte pulmonaire (en haut à droite). L'IL-1β peut s'auto-induire et induire la production de l'IL-6. L'IL-1β pourrait mener à une diminution d'ENaC. L'IL-6 et l'IL-1β peuvent entraîner un déséquilibre du ratio Th17/Treg. L'IL-1β et l'IL-6 causent une augmentation de la perméabilité alvéolo-capillaire ainsi qu'une augmentation de l'expression des molécules d'adhésion, ce qui mène à une invasion alvéolaire neutrophilique. L'IL-1β et l'IL-6 favorisent aussi la maturation des neutrophiles. Ces éléments contribuent à l'inflammation, aux dommages ainsi qu'à l'œdème pulmonaire, qui sont en soi une source d'insulte pulmonaire et qui contribuent au SDRA. Ce schéma met en évidence les potentiels effets pathologiques de l'IL-6 et de l'IL-1β en contexte de SDRA, mais il est important de noter que pour plusieurs de ces paramètres, des études ont aussi montré le contraire, soit un ou des effets bénéfiques des cytokines sur ces paramètres (créé sur Biorender.com).

1.9.6 : Le SDRA causé par la COVID-19

Certaines caractéristiques distinguent le SDRA causé par la COVID-19 (SDRAC) du SDRA non COVID. Cependant, il est important de prendre en compte que les deux types de SDRA se présentent de manière hétérogène chez les patients et que bien que les affirmations suivantes soient des tendances observées, chaque patient est différent (149,150). Entre autres à cause de sa nature virale, le SDRAC tend à se développer plus tard (plus de 7 jours suite au début des symptômes) que le SDRA non COVID (dans les 7 premiers jours suite à l'insulte initiale) (121,149,151,152). Le SDRAC se distingue aussi par une prévalence importante d'évènements thrombotique et par une présence extensive de dommages vasculaires (ces derniers seraient en fait aussi typiques des SDRA de cause virale) (121,149,150,153). Le SDRA non COVID ainsi que le SDRAC se caractérisent tous les deux par une inflammation dérégulée. Dans le cas du SDRAC, la littérature rapporte même souvent un état de « tempête inflammatoire », allant généralement de pair avec la sévérité du syndrome (154). Cependant, plusieurs revues et études suggèrent que les niveaux de divers médiateurs pro-inflammatoires retrouvés chez les patients atteints de SDRAC ne seraient pas différents ou seraient même inférieurs à ceux retrouvés en SDRA non COVID (155–158).

1.9.7 : Prise en charge et stratégies thérapeutiques en SDRA

À ce jour, il n'existe aucun traitement pharmacologique efficace pour le SDRA (36,159). Cependant, plusieurs éléments peuvent être mis en place pour la prise en charge des patients atteints (un exemple d'algorithme de traitement est présenté à la Figure 1.11). En premier lieu, il est parfois possible de traiter la cause du SDRA, par exemple avec des antibiotiques dans le cas d'une pneumonie bactérienne (36).

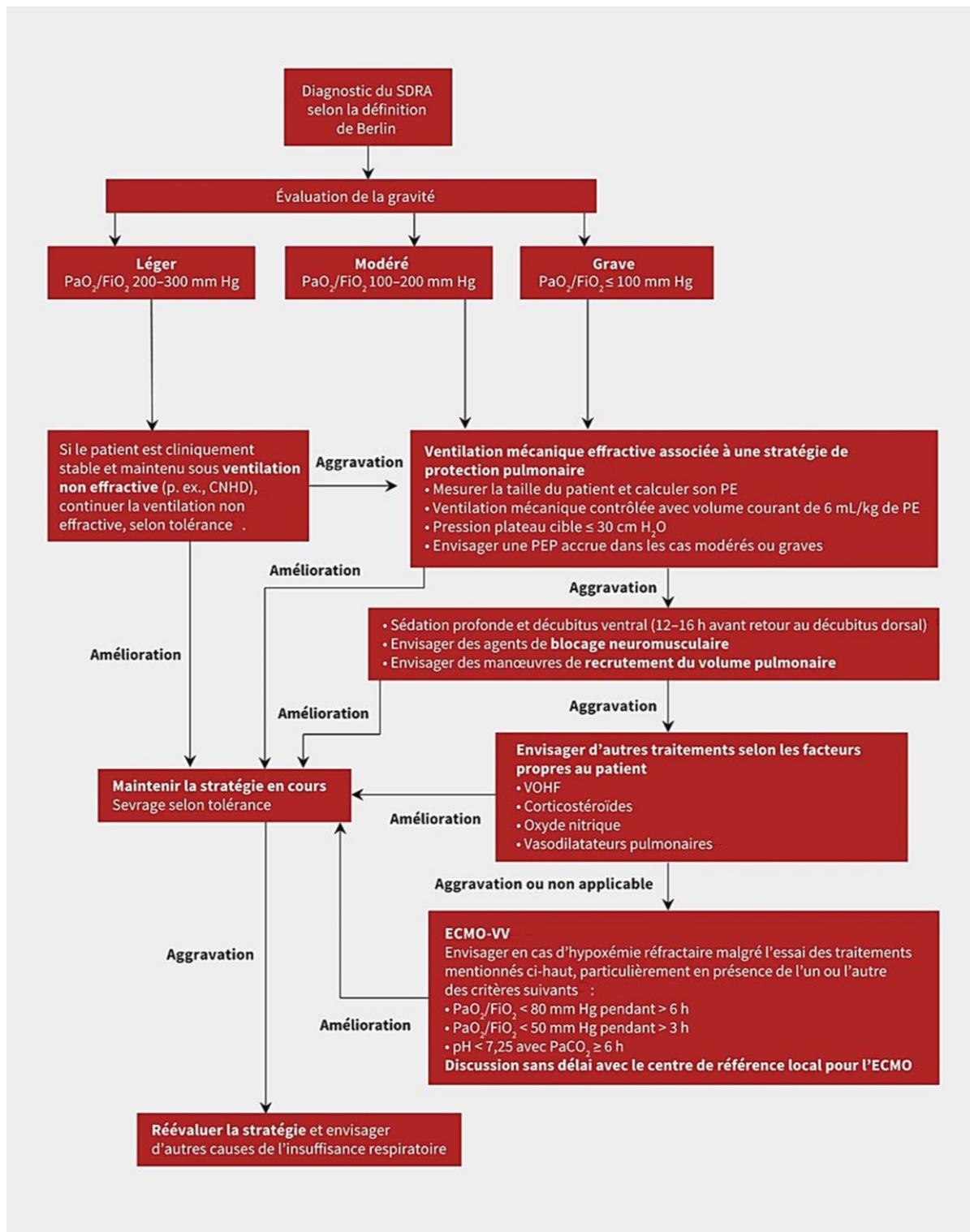


Figure 1.11 : Algorithme thérapeutique suggéré par Fernando et al.

CNHD = canule nasale de haut débit, ECMO-VV = oxygénation par membrane extracorporelle veino-veineuse, PE = poids estimé, PEP = pression expiratoire positive, VOHF = ventilation oscillatoire à haute fréquence (160).

De plus, plusieurs traitements de soutien peuvent être offerts au patient lors de son hospitalisation, dont l'oxygénation (invasive ou non). Dans les dernières années, un nombre important d'études ont mis en lumière le potentiel dommageable de la ventilation, ce qui a permis de développer des protocoles de ventilation protectrice, qui constitue une des plus grandes avancées dans la prise en charge du SDRA (36,105,159). En complémentarité, un blocage neuromusculaire est parfois induit chez le patient, entre autres afin d'éviter l'asynchronie patient-ventilateur, bien que la pertinence de cette intervention reste sujette à débat. La régulation des fluides (afin de ne pas empirer l'œdème pulmonaire), des traitements de prévention des thromboses (telle que l'aspirine), le retournement en position couchée sur le ventre (afin d'optimiser le ratio ventilation-perfusion pulmonaire) ainsi que l'utilisation d'un appareil d'oxygénation extracorporelle (ECMO) sont aussi des traitements de soutiens possibles (36,105,159).

Finalement, un nombre impressionnant de stratégies pharmacologiques ont été testées afin de tenter de traiter le SDRA, en particulier lors des dernières années (voir le résumé présenté au Tableau 1.4). En effet, des équipes de recherches se sont mobilisées partout à travers le monde afin de trouver une cure à la COVID-19 et, par le fait même, au SDRAC. Seulement certaines de ces stratégies, en lien avec l'inflammation (testées dans le cadre de la pandémie ou non), seront discutées dans les prochains paragraphes. Cependant, plusieurs revues intéressantes offrant une vue d'ensemble plus complète sont disponibles (36,161–163). Bien que certaines stratégies pharmaceutiques plus ou moins efficaces aient été approuvées dans le cadre de la COVID-19 et du SDRAC (un exemple des traitements approuvés pour la COVID par l'Organisation mondiale de la Santé [OMS] à la Figure 1.12), ces dernières ne peuvent pas être extrapolées au SDRA non COVID, pour lequel il n'existe à ce jour aucun traitement pharmacologique efficace (159,164–167).

Tableau 1.4 : Résumé des pharmacothérapies proposées pour la prise en charge du SDRA (et/ou du SDRAC) ainsi que de leurs principaux mécanismes d'action potentiels

Pharmacothérapie	Effet anti-inflammatoire	Autres principaux mécanismes d'action potentiels
<ul style="list-style-type: none"> • Héparine, enoxaparin • Protéine C activée • Anti-inflammatoire non stéroïdien : aspirine, ibuprofène 		<ul style="list-style-type: none"> • Anticoagulant (faible pour ibuprofène)
<ul style="list-style-type: none"> • Corticostéroïdes: dexaméthasone, hydrocortisone, methylprednisolone • Inhibiteurs de cytokines (cibles : IL-1β, IL-6, IFN-γ, TNF-α, IL-23, IL-12, IL-17A) • Antagonistes des récepteurs de cytokines (cibles : IL-1β [via IL-1r; ex : KINERET®], IL-6 [via IL-6r; ex : Tocilizumab], IL-2 [via CD25], IL-4 et IL-13 [via IL-4Rα]) • Omega-3 • Vitamines : D3, C 	✓	
<ul style="list-style-type: none"> • Inhibiteurs de kinases (cibles : tyrosine kinase, Janus kinase [JAK], phosphatidylinositol-3-kinase [PI3K], cible mammalienne de la rapamycine [mTOR], protéine kinase activée par des agents mitogènes [MAPK]...) 	✓	<ul style="list-style-type: none"> • Anti-fibrotique (certaines kinases t.q. : tyrosine kinase, JAK)
<ul style="list-style-type: none"> • Inhibiteurs du système du complément (cibles: C1 estérase, Ca5) 	✓	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibe le recrutement des neutrophiles • Cytoprotecteur • Anticoagulant
<ul style="list-style-type: none"> • Statines : simvastatin, rosuvastatin 	✓	<ul style="list-style-type: none"> • Stabilisation endothéliale
<ul style="list-style-type: none"> • β-agonistes : salbutamol 	✓	<ul style="list-style-type: none"> • Broncho - et vasodilatateur • Favorise la résorption de l'œdème
<ul style="list-style-type: none"> • Vasodilatateurs : oxyde nitrique (NO), prostaglandine E 		<ul style="list-style-type: none"> • Vasodilatateur : optimise la correspondance ventilation/perfusion
<ul style="list-style-type: none"> • N-acétylcystéine (NAC) 		<ul style="list-style-type: none"> • Antioxydant • Cytoprotecteur • Mucolytique
<ul style="list-style-type: none"> • Inhibiteur de GM-CSF 		<ul style="list-style-type: none"> • Inhibe le recrutement des neutrophiles
<ul style="list-style-type: none"> • Inhibiteur de kinine-kallikréine : Icatibant 	✓	<ul style="list-style-type: none"> • Minimise la formation de l'œdème pulmonaire • Anticoagulant
<ul style="list-style-type: none"> • Surfactant exogène 		<ul style="list-style-type: none"> • Prévient les dommages causés par atelectasie • Améliore compliance pulmonaire • Modulateur de l'inflammation
<ul style="list-style-type: none"> • Inhibiteur de l'élastase neutrophilique : Sivelestat 		<ul style="list-style-type: none"> • Prévention des dommages causés par l'élastase neutrophilique
<ul style="list-style-type: none"> • Inhibiteurs de pièges extracellulaires à neutrophiles (NET) : anticorps monoclonaux 	✓	<ul style="list-style-type: none"> • Prévention des dommages causés par les NETS • Cytoprotecteur • Anticoagulant
<ul style="list-style-type: none"> • Blocage neuromusculaire et sédation 		<ul style="list-style-type: none"> • Prévention des dommages causés par une asynchronie ventilateur-patient et par barotraumatisme
<ul style="list-style-type: none"> • Exosomes • GM-CSF • Cellules souches mésenchymateuses (MSC) • Facteurs de croissance kératinocytes (KGF) 		<ul style="list-style-type: none"> • Proréparateur • Cytoprotecteur • Modulateur de l'inflammation
<ul style="list-style-type: none"> • Activateurs de canaux K⁺ : R-L3 • Activateur du canal ENaC: solnatide 		<ul style="list-style-type: none"> • Favorise la clairance de l'œdème • Proréparateur
<ul style="list-style-type: none"> • Cytokines recombinantes : rhIL-7 		<ul style="list-style-type: none"> • Stimule la défense virale
<ul style="list-style-type: none"> • Interférons : IFNβ-1a/1b, IFN-γ recombinant 		<ul style="list-style-type: none"> • Stimule la défense virale • Améliore la fonction de la barrière épithéliale (IFNβ-1a)

Informations tirées de (161–163,168–177)

Population

This recommendation applies only to people with these characteristics:



Interventions

Strong recommendations in favour

For those with highest risk of hospital admission

Weak or conditional recommendations in favour

Use the interactive multiple comparison tool to compare and choose treatments

[MATCH-IT](#)

Weak or conditional recommendations against

Strong recommendations against

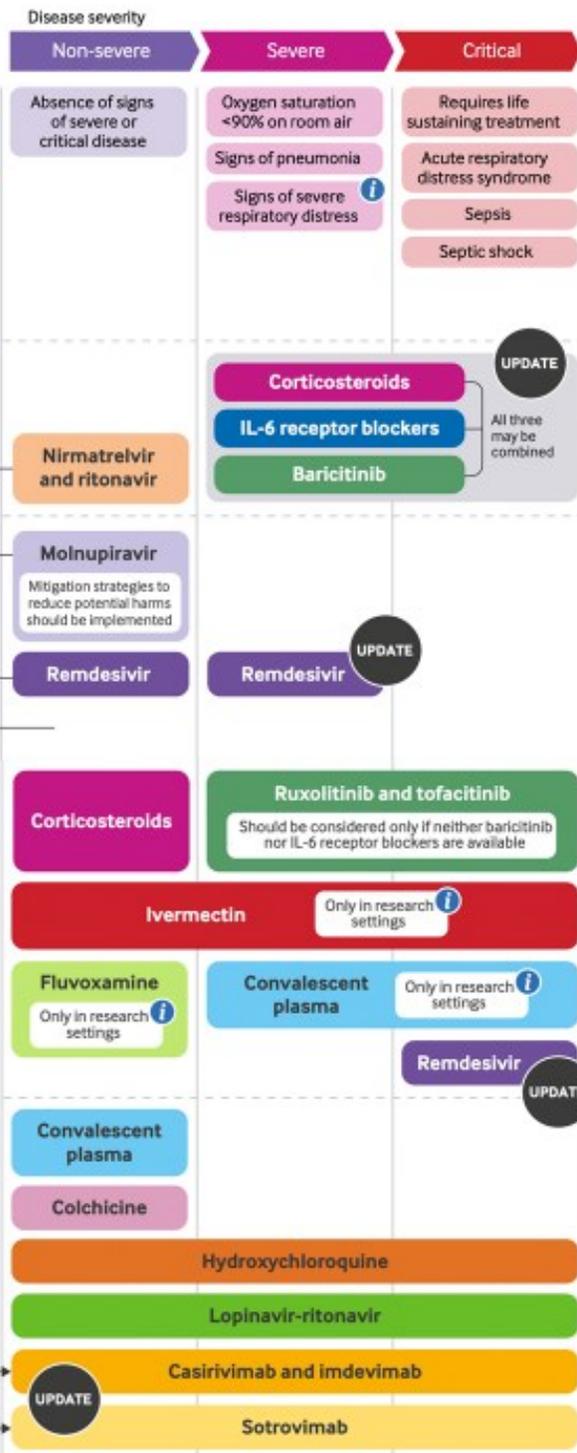


Figure 1.12 : Définition des grades de sévérité de maladie causée par la COVID-19 et pertinence des interventions pharmacologiques en fonction de ces grades selon l'Organisation mondiale de la Santé Référence (165)

Étant donné le rôle important de l'inflammation dans la pathologie du SDRA, plusieurs stratégies thérapeutiques visant cette composante ont été testées ou proposées (36,62,109). Les glucocorticoïdes (tels que le dexaméthasone ou la méthylprednisolone) sont un type d'anti-inflammatoire à large spectre qui fonctionne en régulant plusieurs gènes via le récepteur de glucocorticoïdes (178). Ces molécules ont été grandement étudiées en clinique ainsi qu'*in vivo*. Dans notre laboratoire, nous avons d'ailleurs montré que le dexaméthasone ne permettait pas d'améliorer les différents paramètres de l'ALI dans un modèle murin induit par bléomycine (probablement à cause de son effet délétère sur la réparation épithéliale) (179). À ce jour, les glucocorticoïdes sont utilisés en SDRAC. Ils peuvent aussi être utilisés en SDRA non COVID, mais leur efficacité demeure controversée dans ce contexte (159,180–185).

De nombreux autres types d'anti-inflammatoires non spécifiques ont été testés. Pour certains, il n'existe pas d'étude complétée en contexte non COVID (ex. : aspirine) alors que pour d'autres les résultats des études se sont démontrés peu concluants (ex. : vitamines, β -agonistes) ou contradictoires (ex. : interférons, statines) (159).

Plusieurs molécules ciblant une partie plus spécifique de l'inflammation ont aussi été proposées (souvent testées en complément avec les corticostéroïdes si en essai clinique), dont entre autres des molécules inhibant les voies de l'IL-1 et de l'IL-6, qui sont des cibles intéressantes considérant leurs potentiels effets pathologiques en SDRA tel que décrit à la section 1.9.5. Or, afin de contrer les effets causés par ces molécules, il existe plusieurs stratégies ciblant diverses étapes de leur signalisation (Figure 1.13).

Un premier type d'approche qui peut être utilisée est d'agir en amont du récepteur de la cytokine. Par exemple, il est possible d'inhiber l'inflammasome NLRP3 (ex. : MCC950) ce qui empêche la maturation de l'IL-1 β , ou encore de cibler le facteur de transcription NF- κ B (ex. : glucocorticoïdes tels que le dexaméthasone), limitant la production de l'IL-1 β et de l'IL-6 (178,186). De manière intéressante, cibler certains facteurs de transcription tels que le NF- κ B peut aussi avoir un effet en aval de cytokines telles que l'IL-1, pour lesquelles ce facteur de transcription est impliqué non seulement dans leur production, mais aussi dans leur voie de signalisation. Certaines thérapies ont d'ailleurs tenté d'inhiber directement ce facteur de transcription, mais des résultats

décevants ont été observés, probablement parce que bien que le NF- κ B entraîne une amplification de la réponse inflammatoire, son activation a aussi des fonctions protectrices (70). Cibler la cytokine elle-même, avec un anticorps tel que canakinumab (visant l'IL-1 β), est aussi une possibilité (187,188).

Un deuxième type de stratégie est d'agir directement sur le récepteur. Par exemple, en inhibant sa fonction avec un anticorps monoclonal tel que le tocilizumab (Actemra[®], ciblant le IL-6R) ou avec un antagoniste recombinant tel que l'anakinra (Kineret[®]), qui mime l'IL-1Ra endogène. Ces stratégies seront décrites plus en détail dans les pages à venir. Dans le cadre de ce mémoire, la formulation « IL-1Ra » sera utilisée pour nommer un antagoniste quelconque du récepteur de l'IL-1. S'il est question de l'IL-1Ra endogène, cela sera spécifié (IL-1Ra endogène).

Finalement, il est possible d'agir en aval du récepteur des cytokines. En plus de bloquer certains facteurs de transcription (comme NF- κ B, mentionné ci-dessus), bloquer les kinases en aval du récepteur (par ex., le baricitinib qui inhibe l'activité de JAK) (96) ou bloquer le produit d'une voie (ex. : le vilobelimab inhibant l'activité de C5a) sont aussi des exemples de cette approche (189).

Le Kineret est une forme recombinante de l'IL-1Ra endogène. En se liant au IL-1R, il empêche de manière compétitive la liaison de l'IL-1 et inhibe par le fait même la signalisation de l'IL-1 β et de l'IL-1 α . Ce médicament est indiqué pour traiter certains patients atteints d'arthrite rhumatoïde, d'une déficience en IL-1Ra endogène ainsi que d'une forme de syndromes périodiques associés à la cryopyrine (190). Parmi les études cliniques, certaines ont montré un impact positif du Kineret comme traitement du SDRAC alors que d'autres ont plutôt montré une absence d'effet (191–194). Malgré ces résultats mitigés, en 2022, le Kineret a reçu une « emergency use authorizations » aux États-Unis en tant que traitement pour certains cas graves de COVID-19 (patients ayant développé une pneumonie, étant oxygénés et à risque d'insuffisance respiratoire tout en ayant un taux élevé de récepteur soluble de l'activateur du plasminogène de l'urokinase [suPAR]) (167).

Le tocilizumab est un anticorps monoclonal humanisé. En se liant au récepteur de l'IL-6 (membranaire ou soluble), il inhibe la signalisation classique et trans de l'IL-6. Son utilisation pour traiter certains patients atteints d'arthrite rhumatoïde (AR) a été approuvée en 2010. À ce jour,

le tocilizumab est aussi indiqué pour traiter certaines populations de patients atteints d'artérite à cellules géantes, d'arthrite juvénile idiopathique polyarticulaire, d'arthrite juvénile idiopathique systémique, du syndrome de libération de cytokines et de la maladie pulmonaire interstitielle associée à la sclérodermie systémique (195). De plus, les études cliniques ont montré que le tocilizumab est modérément efficace en SDRAC (196–198). Son utilisation dans les cas graves de COVID-19 est donc recommandée par l'OMS et a été autorisée entre autres au Canada et aux États-Unis (165–167).

Malheureusement, les résultats relativement encourageants du Kineret et du tocilizumab comme traitement du SDRAC n'ont pas été reproduits dans un contexte clinique de SDRA non COVID et ne peuvent donc pas y être extrapolés (165–167). Ces deux antagonistes ont aussi été étudiés dans des modèles murins, mais les résultats varient grandement en fonction des modèles expérimentaux mimant le SDRA utilisés (appelés modèles de dommages pulmonaires aigus ; ALI pour acute lung injury) et des autres conditions expérimentales (dose administrée, fréquence d'administration...). Les modèles étaient notamment induits par bléomycine, acide polyinosinique-polycytidylique (poly I : C) + protéine spike provenant de SRAS-CoV-2, ligature cœcale et ponction (CLP), LPS (Lipopolysaccharide) et/ou ventilation mécanique (199–204).

De surcroît, l'utilisation de molécules anti-inflammatoires telles que le Kineret et le tocilizumab est liée à une certaine immunosuppression, entraînant théoriquement une augmentation des risques d'infection. Dans le passé, l'utilisation de tocilizumab a été corrélée avec un risque accru d'infection (75,195,205), mais en contexte de SDRAC, les études cliniques ne s'accordent pas à ce sujet. En effet, certaines études rapportent un risque légèrement plus élevé d'infection, alors que d'autres non (206–209). La situation est semblable pour le Kineret (208,210,211).

Un moyen de minimiser l'immunosuppression et de conserver certains effets bénéfiques de l'IL-1 ou de l'IL-6 pourrait être de bloquer seulement une partie de leur cascade signalétique. Cependant, un désavantage de ce genre de stratégie est qu'elles ne bloquent souvent pas une voie spécifique. Par exemple, ce n'est pas seulement la voie de l'IL-1 qui mène à l'activation de NF- κ B, et inhiber ce dernier facteur de transcription mènerait donc à l'inhibition de la réponse de

plusieurs voies cytokiniques (212,213). Une approche intéressante serait donc de réussir à inhiber de manière spécifique, mais partielle (inhibition fonctionnelle), la réponse à l'IL-1 ou à l'IL-6.

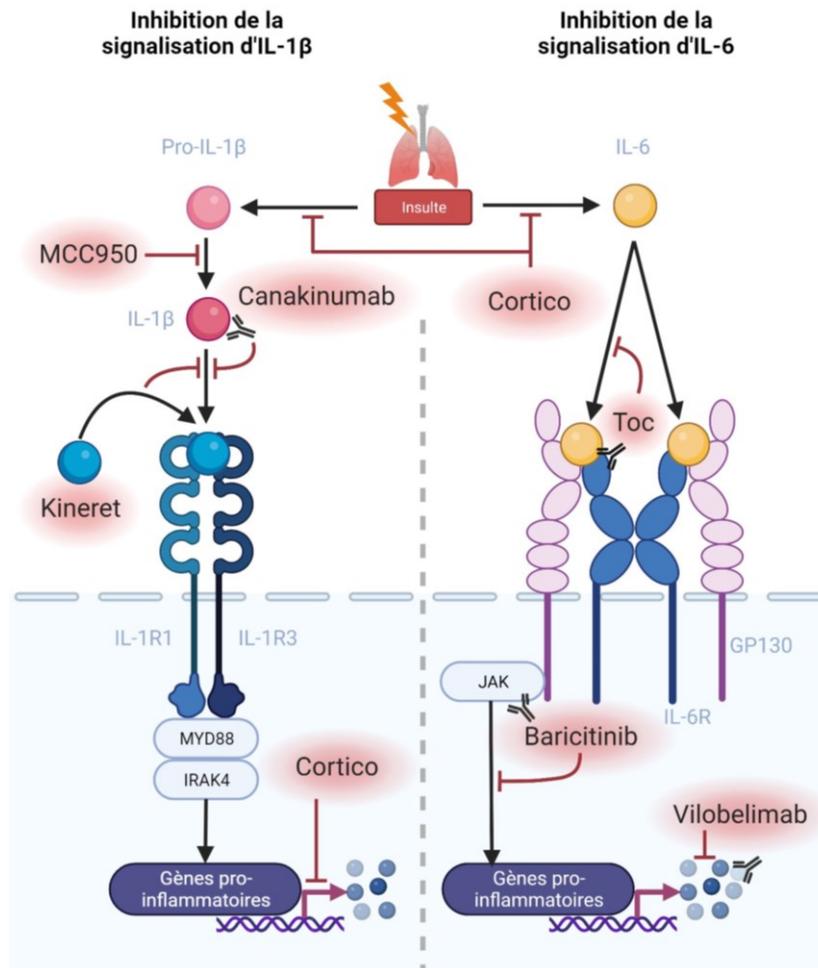


Figure 1.13 : Exemple de stratégies anti-inflammatoires ciblant les voies de l'IL-1 et de l'IL-6

À gauche, MCC950 inhibe l'inflammasome NLRP3 (non représenté), ce qui empêche la maturation de la pro-IL-1 β en IL-1 β mature. Le Canakinumab inhibe la signalisation de l'IL-1 β (et de l'IL-1 α , non représenté) en se liant directement à la cytokine alors que le Kineret l'inhibe en se liant au IL-1R1. Les corticostéroïdes (Cortico, au milieu en bas et en haut) peuvent empêcher la transcription de gènes en amont des voies de l'IL-1 β et de l'IL-6 ou en aval d'IL-1. À droite, le tocilizumab (Toc) empêche la signalisation par le IL-6R en se liant au récepteur de l'IL-6 (membranaire et soluble [non représenté]), alors que le baricitinib agit plutôt en aval en bloquant la signalisation par les Janus kinases (JAK). Le Vilobelimab se lie à C5a, qui est normalement produit en réponse à la signalisation d'IL-6. Créé sur Biorender.com.

1.10 : Inhibition fonctionnelle de voies cytokiniques à l'aide de peptides : rytvela et HSJ633

L'utilisation de peptides pour traiter diverses pathologies, inflammatoires ou non, est une stratégie qui a gagné en popularité dans les dernières années. Plusieurs de ces derniers sont d'ailleurs disponibles sur le marché ou sont en essai clinique (214,215). L'une des manières dont un peptide thérapeutique peut agir est en inhibant l'interaction entre un ligand et son récepteur. Cela peut se produire de manière orthostérique (en se liant au site actif de l'enzyme ou du récepteur, entraînant une potentielle compétition avec le substrat ou avec le ligand), mais aussi de manière allostérique, offrant par conséquent un meilleur potentiel d'inhibition fonctionnelle (216,217).

Une des techniques qui permet d'arriver à ce résultat est de dériver le peptide d'une région protéinique connue. Par exemple, nos collaborateurs de l'Université de Montréal (équipe du Dr S. Chemtob) ont développé un peptide nommé rytvela (aussi nommé 101.10 dans certains articles), qui est dérivé de boucles du IL-1R3 (anciennement IL-1RaCP) et qui permet de moduler de manière allostérique et fonctionnelle le récepteur de l'IL-1 (218). En effet, le rytvela permet de bloquer les voies de MAPK ainsi que de RhoK, tout en préservant celle du NF- κ B (219). Puisque ces trois voies sont impliquées dans l'inflammation, en bloquer certaines pourrait permettre de la diminuer. De plus, dans un contexte de SDRA, l'utilisation du rytvela pourrait être intéressante, puisque tel que mentionné dans la section 1.7.3, NF- κ B possède des propriétés cytoprotectrices, alors que p38 est associée à une accumulation de neutrophiles, à une perte de fonctionnalité de la barrière endothéliale et à un déséquilibre du ratio Treg/Th17 (56,70,72,73). L'effet thérapeutique de cette molécule a d'ailleurs été prouvé comme étant équivalent et même supérieur au Kineret dans des modèles murins de prématurité induits par les lipopolysaccharides (LPS), l'acide lipotéichoïques (LTA) ou l'IL-1 β (219–222).

De manière similaire, le HSJ633 été nouvellement développé par nos collaborateurs afin d'inhiber le IL-6R de manière fonctionnelle. Plus précisément, ce peptide permet d'inhiber STAT3 tout en conservant la signalisation des voies MAPK/ERK et PI3K/AKT (article en révision, mais thèse à ce sujet disponible (223)). Puisque ces trois voies semblent contribuer au cancer pulmonaire, à la

prolifération cellulaire et à l'inflammation, en inhiber seulement certaines pourrait permettre de conserver un meilleur équilibre réparation/fibrose dans un contexte SDRA tout en diminuant l'inflammation (voir section 1.8.3) (86–101).

L'utilisation de tels peptides dans une optique curative comporte, en contraste à d'autres types de médicaments, plusieurs avantages intrinsèques à leur nature (216). En comparaison à de petites molécules thérapeutiques, les peptides offrent une meilleure spécificité, une meilleure efficacité et sont plus sécuritaires. En comparaison à des agents biologiques tels que des anticorps, les peptides sont moins immunogènes et moins coûteux à produire (215,216). Cependant, de manière générale, les peptides ont pour désavantage de passer difficilement la membrane cellulaire (les peptides y parviennent mieux que les agents biologiques, mais moins bien que les petites molécules thérapeutiques) et d'avoir une faible stabilité, et donc une courte demi-vie (215). Heureusement, il est possible de concevoir les peptides de manière à ce que ces désavantages soient négligeables. Par exemple, le rytvela et le HSJ633 sont des peptides de stéréochimie-D, ce qui les rend plus résistants aux protéases et donc plus stables. De plus, une demi-vie relativement courte peut aussi être un avantage (en limitant la durée des effets immunosuppresseurs, par exemple) (218,223).

Or, le rytvela et le HSJ633 n'ont jamais été testés dans le cadre d'un traitement pour le SDRA, ce qui pourrait être intéressant considérant leur mécanisme d'action, le potentiel pathogénique de l'IL-1 β et de l'IL-6 dans cette condition ainsi que le succès relatif de tocilizumab et de Kineret en SDRAC.

1.11 : Les différents modèles d'ALI

La souris présente plusieurs différences au niveau du système respiratoire avec l'humain, telles que décrites dans les sections 1.1 à 1.4 ainsi que dans le Tableau 1.1., mais elles possèdent aussi plusieurs similitudes et c'est l'animal chez lequel le plus d'études sur le SDRA (dans des modèles d'atteinte pulmonaire aiguë ; ALI) ont été effectuées (224). Or, il existe plusieurs approches permettant d'induire l'ALI chez la souris. Une revue de Matute-Bello *et al.* Décrit d'ailleurs comment ces modèles permettent de mimer plus ou moins bien les différents paramètres du

SDRA (43). Dans les prochaines sections, je résume certaines des caractéristiques de trois de ces principaux modèles.

1.11.1 : ALI induit par la bléomycine

La bléomycine est un agent de chimiothérapie couramment utilisé pour le traitement de divers cancers et qui a pour effet secondaire grave le développement de dommages pulmonaires aigus chez certains patients (225). Ce médicament, qui cause des dommages tissulaires en initiant des cassures d'ADN, en engendrant la production de ROS et ultimement en menant à la mort cellulaire (au moins en partie par ferroptose, un type de mort cellulaire) offre donc un modèle d'ALI très intéressant (43,225–227). En effet, une seule administration intranasale chez la souris permet de mimer à J7 une grande partie des critères utilisés pour définir la phase aiguë exsudative du SDRA chez les animaux, dont la présence de dommages à l'épithélium alvéolaire menant à la formation d'un œdème pulmonaire, l'apparition de dysfonctions physiologiques ainsi que le développement d'une réaction inflammatoire caractérisée entre autres par la production de diverses cytokines (telles que l'IL-1 β , l'IL-6, le TNF- α , MCP-1 et l'IL-8 [KC chez la souris]) et par l'infiltration alvéolaire de neutrophiles (43,224). De plus, les souris instillées développent de la fibrose (de manière proportionnelle à la dose administrée) lors de la phase plus chronique qui se mesure généralement des jours 14 à 21. Cependant, contrairement au DAD classiquement retrouvé en SDRA, l'ALI induit par la bléomycine se démarque histologiquement par l'absence de membrane hyaline (43). D'autres avantages du modèle d'ALI induit par la bléomycine sont qu'il est reproductible et bien caractérisé. En contraste, les désavantages sont que la bléomycine ne mime pas une source fréquente (ex. : infection pulmonaire) de SDRA et que l'insulte qu'elle induit est parfois caractérisée comme étant trop intense (overwhelming) (43).

1.11.2 : ALI induit par LPS

L'administration de LPS, de manière pulmonaire ou systémique, a comme avantage par rapport à la bléomycine de mimer une partie de la réponse immunitaire se produisant suite à une infection avec des bactéries Gram-négatives, grâce à la liaison du LPS à son récepteur (LPS binding protein), ce qui se produit entre autres via l'activation du TLR4. C'est un modèle qui réplique partiellement la phase aiguë du SDRA en entraînant une infiltration alvéolaire de cellules

immunitaire, une augmentation pulmonaire et systémique de la concentration en cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6...) ainsi qu'une hypoxémie. Cependant, c'est un modèle assez court (mesures souvent prises dans les premiers 24 h) dans lequel les dommages pulmonaires observés sont faibles. De plus, l'intensité de la réponse dépend grandement de l'animal utilisé, de la souche de provenance du LPS ainsi que de sa préparation (43). Finalement, c'est un modèle incomplet puisqu'évidemment, dans une infection réelle, des mécanismes plus complexes, tels que la réplication virale ou bactérienne, entrent en jeu.

1.11.3 : Dommages induits par la ventilation

Le modèle de dommages induits par la ventilation (VILI pour ventilator induced lung injury) est aussi un modèle court d'ALI qui repose sur le principe qu'un étirement excessif des poumons par la ventilation engendre des atteintes pulmonaires. Ce modèle se caractérise par la formation de membrane hyaline, une infiltration neutrophilique, des hémorragies alvéolaires, une compliance pulmonaire réduite ainsi que des anomalies au niveau des échanges gazeux. Son impact sur l'état inflammatoire reste controversé. Bien qu'il soit difficile à effectuer chez la souris, c'est un modèle d'ALI important puisque les améliorations dans la ventilation mécanique sont les seules ayant conduit à de réels progrès dans la prise en charge du SDRA et puisque la ventilation est offerte à une grande partie des patients atteints. En plus de causer des dommages lorsqu'elle est excessive, une ventilation qui serait normalement considérée comme non dommageable dans des poumons sains peut causer des dommages lorsqu'effectuée en concomitance avec un autre facteur tel qu'une pneumonie (ou du LPS). Il est alors question de dommages associés à la ventilation (43).

Ainsi, bien qu'aucun des modèles disponibles ne permette de mimer parfaitement l'ensemble des paramètres du SDRA, le choix peut dépendre de la question scientifique investiguée et de l'espèce animale choisie.

Chapitre 2 : Hypothèses et objectifs

2.1 : Hypothèse 1

Compte tenu des résultats encourageants montrant un effet bénéfique du tocilizumab ainsi que du Kineret dans le traitement du SDRA causé par la COVID ou pour la résolution de l'ALI dans certains modèles animaux, ainsi que l'importance et le potentiel dommageable de l'inflammation dans cette condition, nous avons posé l'hypothèse que ces antagonistes des récepteurs de l'IL-1 et de l'IL-6 pourraient prévenir, du moins en partie, l'effet dommageable de la réponse inflammatoire et potentiellement être bénéfiques pour la résolution des paramètres de la phase aiguë du SDRA, induit dans un modèle murin d'ALI.

2.2 : Hypothèse 2

La voie cytoprotectrice en aval des récepteurs de l'IL-1 et de l'IL-6 étant préservée en présence des antagonistes de rytvela et de HSJ633, nous avons postulé que leurs effets pourraient potentiellement être supérieurs, comparé au Kineret ou au tocilizumab.

Toutefois, compte tenu de la composante lésionnelle considérable ainsi que de l'importance de réabsorber l'œdème, en plus de contrôler l'inflammation, nous avons posé l'hypothèse que ces traitements pourraient ne pas réussir à résoudre totalement cette phase aiguë.

2.3 : Objectif

Afin de tester ces hypothèses, notre objectif était d'étudier les effets des antagonistes des récepteurs de l'IL-1 (Kineret et rytvela) et de l'IL-6 (tocilizumab et HSJ633) sur les principaux paramètres du SDRA (état général, dommages histologiques, œdème pulmonaire et statut inflammatoire) dans un modèle murin d'ALI induit par la bléomycine, à jour 7 (soit en phase aiguë exsudative).

Chapitre 3 : Article

3.1: Statut de l'article

Titre : Evaluation of IL-1 and IL-6 receptor antagonists in a murine model of acute lung injury

Auteurs : Émilie MEUNIER*, Mélissa AUBIN VEGA*, Damien ADAM, Anik PRIVÉ, Mohammad Ali MOHAMMAD NEZHADY, Isabelle LAHAIE, Christiane QUINIOU, Sylvain CHEMTOB, Emmanuelle BROCHIERO

Statut : Soumis dans Experimental Lung Research le 17 août 2023

Contribution : J'ai été responsable, avec une autre étudiante du laboratoire, Mélissa Aubin Vega, de l'ensemble des expérimentations *in vivo*. De plus, j'ai effectué la majorité de l'extraction et de la compilation des données brutes, dont j'ai ensuite effectué l'analyse et l'interprétation. Finalement, j'ai produit les figures et rédigé le manuscrit soumis à Exp Lung Research.

3.2 : Manuscrit de l'article

Evaluation of IL-1 and IL-6 receptor antagonists in a murine model of acute lung injury

Émilie MEUNIER^{a,b,*}, Mélissa AUBIN VEGA^{a,b,*}, Damien ADAM^{a,b}, Anik PRIVÉ^a, Mohammad Ali MOHAMMAD NEZHADY^c, Isabelle LAHAIE^c, Christiane QUINIOU^c, Sylvain CHEMTOB^{c,d,#}, Emmanuelle BROCHIERO^{a,b,\$,#}

*Co-first authors, #co-senior authors, \$corresponding author

^aCentre de recherche du CHUM (CRCHUM), Montréal, Canada ; ^bDépartement de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Canada ; ^cCentre de recherche du Centre hospitalier Universitaire Sainte-Justine, Montréal, Canada ; ^dDépartement de pédiatrie, Université de Montréal, Montréal, Canada

Corresponding author information :

Emmanuelle Brochiero, PhD

Centre de recherche du CHUM (CRCHUM), Pavillon R,
900 rue St-Denis, Montréal (Québec) H2X0A9

Tel : +1-514-890-8000 x 14691

Email addresses :

[REDACTED]

Word count: 4280 words

Evaluation of IL-1 and IL-6 receptor antagonists in a murine model of acute lung injury

Aim: The acute exudative phase of acute respiratory distress syndrome (ARDS), a severe form of respiratory failure, is characterized by alveolar damage, pulmonary edema, and an exacerbated inflammatory response. There is no effective treatment for this condition, but based on the major contribution of inflammation, anti-inflammatory strategies have been evaluated in animal models and clinical trials, with conflicting results. In COVID-19 ARDS patients, IL-1 and IL-6 receptor antagonists (IL-1Ra and IL-6Ra, Kineret and tocilizumab, respectively) have shown some efficacy. Moreover, we previously developed novel peptides modulating IL-1R and IL-6R activity (rytvela and HSJ633, respectively) while preserving immune vigilance and cytoprotective pathways. We aimed to assess the efficacy of these novel IL-1Ra and the IL-6Ra, compared to commercially available drugs (Kineret, tocilizumab) during the exudative phase (day 7) of bleomycin-induced acute lung injury (ALI) in mice.

Methods: Animals were challenged with bleomycin and treated with the antagonists (alone or in combination) or with saline, twice a day, for 7 days. Body weight changes, pulmonary function (as indicated by blood pCO₂ and pH), lung damage (histological score and protein concentration in bronchoalveolar lavages), and edema (water-lung content), as well as inflammation (cell count and cytokine [IL-6, IL-1 β , MCP-1, and TNF- α] levels), were assessed on day 7 (acute exudative phase).

Results: Our results first showed that none of the IL-1Ra (Kineret, rytvela) and IL-6Ra (tocilizumab, HSJ633) compounds attenuated bleomycin-induced weight loss and venous pCO₂ increase. Histological analyses and water-lung-content measurements also showed that these drugs did not improve lung injury scores or pulmonary edema, after the bleomycin challenge. Finally, IL-1Ra and IL-6Ra failed to alleviate the inflammatory status of the mice, as indicated by cytokine levels and alveolar neutrophil infiltration.

Conclusions : Altogether, these results indicate a lack of beneficial effects of IL-1R and IL-6R antagonists on key parameters of ALI in the bleomycin mouse model.

Keywords: Acute respiratory distress syndrome (ARDS), bleomycin, tocilizumab, Kineret, inflammatory response

Introduction

Acute respiratory distress syndrome (ARDS)¹, a severe form of respiratory failure, is a leading cause of intensive care unit (ICU) admissions and has a high mortality rate.² ARDS can be caused by either direct lung insults, e.g. following bacterial or viral infections, or indirect injuries, such as sepsis.^{3,4} Regardless of the cause, the acute exudative phase of ARDS is characterized by extensive alveolar and endothelial damage, resulting in lung edema flooding, as well as an exacerbated inflammatory response. The latter is manifested by an increase in lung and systemic levels of pro-inflammatory cytokines (e.g. IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) and neutrophil infiltration into the lungs, both of which amplify alveolar damage and pulmonary edema.^{3,5,6} The rapid resolution of this reversible acute phase is critical for ARDS resolution, before the development, and establishment, of pulmonary fibrosis, ultimately leading to respiratory or multi-organ failure.⁷⁻¹⁰

Although the causes of this syndrome can be treated in some cases and the management of ARDS has improved over the years (with interventions such as protective mechanical ventilation, fluid management, and/or prone positioning)¹¹, there is still no effective pharmacological treatment for this condition and its mortality rate remains unacceptably high.^{2,6,12,13} Therefore, the development of new therapeutic strategies that could help to resolve ARDS is critical.¹³ Due to the major contribution of inflammation in the pathophysiology of ARDS^{3,5,6}, several clinical trials^{12,14-21} and experimental studies in animal models of acute lung injury (ALI)²²⁻²⁹ have investigated the efficacy of anti-inflammatory therapies, particularly with systemic corticosteroids. However, the available evidence on the benefit of glucocorticoids (e.g., methylprednisolone, dexamethasone, and hydrocortisone) is conflicting, and their use in ARDS remains controversial.³⁰⁻³⁶ Treatments targeting specific signaling pathways of the inflammatory response, including with antagonists of the IL-6 receptor (IL-6Ra, such as the humanized monoclonal antibody tocilizumab (Actemra)) and the IL-1 receptor (IL-1Ra, such as the recombinant form of IL-1Ra Kineret[®] (anakinra)), have also been studied. In clinical trials, tocilizumab was found to be moderately effective in COVID-19-related ARDS.³⁷⁻⁴⁰ Therefore, this drug was recently approved by the FDA and Health Canada in a subset of hospitalized, ventilated COVID-19 patients.^{41,42} Although the outcomes of Kineret in COVID-19 ARDS are more mitigated^{37,43-45}, an emergency use authorization has been issued by the FDA for COVID-19

hospitalized patients at high risk of severe respiratory failure.⁴⁶ However, the use of Kineret and tocilizumab in non-COVID-19-related ARDS is still limited, due to both their potential immunosuppressive properties and the lack of consensus on the benefit of these antagonists in experimental studies. Indeed, in animal models of ALI (induced either by bleomycin, polyinosinic:polycytidylic acid (poly I:C) + SARS-CoV-2 spike protein, oleic acid (OA), cecal ligation and puncture (CLP), lipopolysaccharide (LPS), and/or mechanical ventilation), mixed results have been reported for both drugs, depending on the experimental conditions used.^{47–52}

We have previously designed a small stable (D-) peptide antagonist of the IL-1R (consisting of the amino acid sequence 'rytvela') derived from the IL-1RacP subunit of IL-1R.⁵³ Rytvela biases signaling by blocking both the MAPK and RhoK pathways, while preserving NF- κ B, a key factor in immune vigilance. This peptide was also found to be more effective than its commercial counterpart (Kineret) in murine LPS, lipoteichoic acid (LTA), and IL-1 β -induced preterm birth models, as well as in the murine oxygen-induced retinopathy of prematurity model.^{53–57} We have also designed an IL-6R antagonist (HSJ633, with the amino acid sequence 'vrkfqnsipa') that inhibits STAT-3 while preserving the cytoprotective Akt pathway. This antagonist shows promising preliminary results in a murine LPS-induced preterm birth model (unpublished data). However, none of these molecules have yet been tested in a model of induced acute lung injury in adult animals.

The aim of this study was to test the efficacy of the designed peptide antagonists rytvela and HSJ633, compared to the commercially available antagonists Kineret and tocilizumab, in a mouse model of ALI. We opted for the well-known model of bleomycin-induced lung injury and focused our study on the acute phase on day 7 (D7), which features an inflammatory response (with neutrophil infiltration and inflammatory cytokine production), pulmonary edema, and alveolar damage associated with impaired lung function, thus mimicking the exudative phase of ARDS.^{29,58} The evaluation of the general and pulmonary condition of the mice, lung injury scores, pulmonary edema formation, and the inflammatory response on D7 after the bleomycin challenge showed that none of the compounds had a significant effect on these parameters in this ALI animal model.

Materials and methods

Ethical approval

All procedures on animals were approved by the Institutional Animal Protection Committee (CIPA, approval reference #CM20028Ebs) of the Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), according to the guidelines of the Canadian Council on Animal Care (CCAC).

Animal care

Wild-type C67BL/6 mice, originally purchased from Charles River Laboratories (445 Bd Armand-Frappier, Laval, Quebec H7V 4B3), were maintained by breeding at the CRCHUM animal care facility from our mouse colony which was backcrossed every 10 generations. Mice were housed under standard humidity and lighting conditions (12:12-h light/dark cycles) and allowed free access to a standard mouse diet and water ad libitum.

Bleomycin-induced lung injury model

Experiments were conducted on 6- to 13-week-old female and male mice randomized into control (PBS) and bleomycin (Bleo) groups (matched for age and sex). Specifically, mice were anesthetized with isoflurane (4 %) prior to intranasal (IN) instillation of 50 µl of PBS or bleomycin (Bleo, 3U/kg ; MaynePharma Canada, Qc, Canada) on day 0 (D0).

Treatments with IL-1 β and -IL-6 receptor antagonists

Mice from the control group (IN with PBS) were injected subcutaneously (SC, 200 µl) with saline (0.9 %, vehicle, twice daily, from day 0 to day 6; Saline-PBS), while mice from the bleomycin group (IN with Bleo) were randomly divided into 5 experimental subgroups with the following subcutaneous injections (200 µl, twice daily, from day 0 to day 6): saline (0.9 % ; Saline-Bleo), Kineret (Amgen; 12.5 mg/kg/injection; KIN-Bleo), rytvela (property of the Université de Montréal, 1 mg/kg/injection; Ryt-Bleo), tocilizumab (Genentech; 10 mg/kg/injection; TCZ-Bleo), HSJ633 (property of the Université de Montréal; 1 mg/kg/injection; 633-Bleo) or a combination of rytvela and HSJ633 (1 mg/kg/injection of each compound; Ryt+633-Bleo). Experimental procedures and

outcome measures (detailed in the following sections) were performed on day 7 after the bleomycin challenge (i.e. during the acute exudative inflammatory phase).

Physiological parameters

Mice were weighed daily to calculate the body weight changes (reported as % of initial weight). In accordance with the CCAC standards and after daily animal assessment by the CRCHUM animal care staff, mice were also monitored for potential endpoints (respiratory failure, loss of more than 30 % of the initial body weight, prostration, uncontrollable pain, dehydration), according to the procedure approved by the CRCHUM Institutional Animal Care Committee. On day 7, none of the animals reached these combined endpoints, and no mortality was observed.

Euthanasia

For all procedures, except those involving measurements with the epoc[®] Blood Analysis System (Siemens Healthineers, Oakville, Ontario, Canada), mice were sacrificed on day 7 after the bleomycin challenge by intraperitoneal (IP) injection of an overdose of pentobarbital (75 mg/kg) followed by sectioning of the inferior vena cava.

Measurements of blood pH and pCO₂ with the epoc[®] blood Analysis system

To reduce the number of animals needed per procedure/measured outcome, in accordance with the 3Rs principles (CCPA), mice used for blood parameter measurements on day 7 were also used for other analyses, in particular for lung histological assessment or inflammatory profiling after bronchoalveolar lavage (BAL) collection. On day 7, mice were deeply anesthetized with isoflurane (3 % mixed with 21 % O₂ and medical air), prior to venous blood sampling using a heparinized needle and syringe for measurement of blood pH and pCO₂(partial pressure of carbon dioxide) using the epoc[®] Blood Analysis System. Mice were then euthanized by cutting the inferior vena cava, followed by cervical dislocation, to allow subsequent lung sampling and outcome measurements to be performed (as described below).

Water-lung-content measurement (as an index of lung edema)

After sacrifice on day 7, the lungs were removed and directly weighed (wet weight). They were then heated to 95 °C for 24 h to measure the dry weight and then to calculate the water-lung-content (WLC) ratio ($[(\text{wet weight} - \text{dry weight}) / \text{D0 body weight}]$).

Bronchoalveolar lavages (BALs)

In another series of experiments, bronchoalveolar lavages (BALs) were performed after euthanasia on day 7 post-bleomycin challenge by proceeding with 3 repeated intratracheal (IT) instillations of 1 ml of PBS, which were then pooled together on ice. After centrifugation (700 g, 4 °C, 8 min), the supernatant was aliquoted and stored at -80 °C until further use (see below).

Measurements of protein concentration in BALs

Protein concentration in BAL supernatants was determined by the Bradford method (Bio-Rad Life Science, Mississauga, ON, Canada).

Total and differential immune cell counts

Cell pellets obtained after BAL centrifugation were resuspended in 400 µl of PBS, before counting the total number of cells in a hemacytometer. Cell suspensions were then diluted to an approximate density of 4×10^5 cells/ml before cytocentrifugation (850 rpm [82 g]), 6 min, Cytospin 4 Cytocentrifuge, Thermo Scientific, Runcorn, UK) onto glass slides (8×10^4 cells/spot). Cells were then stained with Eosin Y (71225; Richard-Allan Scientific, Kalamazoo, USA) and Harris Hematoxylin (Hg Free; 10143-608; VWR, Radnor, USA) to allow differential cell counting (number of neutrophils reported as a percentage of a total of 400 leukocytes/slide). For a more accurate total cell count, the glass slides were scanned at 200x (Aperio Versa 200; Leica Biosystems Inc., Concord, Canada) and then analyzed using Visiopharm® software (Visiopharm, Hoersholm, Denmark).

RNA extraction and real-time quantitative PCR

After harvesting, the lungs were immediately snap frozen in 2-methylbutane on dry ice and stored at -80 °C until needed. One of the lungs was crushed in liquid nitrogen and the total RNA was

extracted using the Rneasy mini Kits (QIAGEN, Toronto, Canada). The RNA concentration and purity were assessed using a NanoDrop™ One Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Madison, USA). Samples without $OD_{260/280} \geq 1.8$, $OD_{260/230} \geq 1.8$, were disqualified. The RNA integrity was also verified by migrating the samples onto an agarose gel (1 %) containing SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen, Carlsbad, Canada), visualized with the Typhoon Gel Imager (Typhoon TRIO variable mode imager, General Electric Healthcare) and the Image Lab software version 6.0.0 (Bio-Rad, Hercules, CA). The RNA extracts were then treated with Dnase (DNA-free™ DNA Removal Kit, Invitrogen) before reverse transcription of RNA (1 µg) into cDNA using the iScript Reverse Transcription SuperMix Kit (Bio-Rad).

For PCR amplification and quantitative analysis of IL-6, KC (the murine equivalent of human IL-8), TNF- α , and MCP-1 gene expression levels, 5 ng of cDNA was amplified using the SYBR Green Master Mix Kit (172-5124 ; Bio-Rad, Hercules, CA, USA) in real-time PCR systems (Roche LightCycler (Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, USA) and Corbett Rotor-Gene RG-6000 Real-Time PCR Analyzer (Qiagen Canada, Toronto, Canada)) in the presence of 337.5-500 nM of forward and reverse primers designed on the National Center for Biotechnology Information Primer Blast website and synthesized by Integrated DNA Technologies (Canada based) (see sequences in Table 1). All kits were used according to the manufacturer's instructions. The delta-delta Ct method ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ method) was used to calculate the relative expressions, compared with control groups, and the expression level of the housekeeping gene 18S (AM1718; Invitrogen) was used for normalization [TABLE 1 HERE].

Lung collection and histological analyses

On day 7 after the bleomycin challenge, the lungs were carefully inflated with 500 µl of 10 % formalin (ChapTec, Montréal-Est, Canada) prior to harvest, and then immersed in formalin. Fixed lung tissues were placed in 4 % paraformaldehyde, dehydrated in a series of ethanol solutions of increasing concentrations (70 %, 95 %, 99 %), cleared in xylene, embedded in paraffin, and sectioned (4 µm) at the CRCHUM Molecular Pathology Core Facility. Lung sections were stained with hematoxylin (VWR) and eosin-Y (Richard-Allan) (H&E) before scanning at 200x (Aperio Versa 200). A blinded histological analysis of the whole section of each lung was performed by Dr. Feryel

Azzi (Pathologist, Molecular Pathology Platform, CRCHUM) and Dr. Guillaume St-Jean (Assistant Professor of Veterinary Anatomical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Université de Montréal), who defined a qualitative score for the severity of lung injury, adapted from a well-recognized scoring system used to evaluate experimental ALI in animals 59. The area of damaged zones (as a percentage of the total lung section) and an average score, from 0 to 3, of inflammation and septal thickening for these injured zones were then assigned to each section.

Statistical analysis

Data are presented as mean \pm standard error of the mean (SEM). Graphs and statistical analyses were performed using GraphPad Prism software (GraphPad Prism version 9.3.1 for Windows, GraphPad Software, San Diego, California USA). Normality tests (D'Agostino & Pearson) were performed first, followed by statistical tests, adapted to each type of experiment, as indicated in each figure legend. A p-value < 0.05 was considered significant.

Results

Before examining the effect of treatments targeting IL-1 and -IL-6 receptors on the main features of the exudative phase of bleomycin-induced acute lung injury (i.e. lung damage, edema flooding, and inflammatory response), we assessed the general condition of the animals in our experimental groups. While the average body weight of the control group (Saline-PBS) remained stable, mice instilled with bleomycin (3 U/kg ; Saline-Bleo, KIN-Bleo, Ryt-Bleo, TCZ-Bleo, 633-Bleo, and Ryt+633-Bleo groups) gradually lost weight, resulting in a statistically significant difference in mass change starting from D4, compared with the control group (Fig. 1A). On day 7, the average body mass change of the Saline-PBS group was $-2.1 \% \pm 0.6$, compared to $-14.9 \% \pm 1.0$ for Saline-Bleo (Fig. 1B). Treatments with the IL-1Ra and IL-6Ra in mice instilled with bleomycin (KIN-Bleo, Ryt-Bleo, TCZ-Bleo, 633-Bleo, and Ryt+633-Bleo) had no significant beneficial effect on mass change (Fig. 1A-B). The survival rate was 100 % for each group (data not shown).

Bleomycin caused a significant increase ($>40 \%$) in venous pCO₂ in both the saline (Saline-Bleo) and treatment (KIN-Bleo, Ryt-Bleo, TCZ-Bleo, 633-Bleo, and Ryt+633-Bleo) groups (Fig. 1C), indicating an impaired respiratory function. Venous pH also tended to be more acidic in all groups

receiving bleomycin, although no significant difference was found between the mean of the Saline-PBS and the Saline-Bleo groups (Fig 1D).

Histological analyses of lung tissues collected at D7, based on a scoring defined by pathologists (Fig. 2A), revealed the presence of an inflammatory infiltrate and diffuse pulmonary injury in the vast majority of the bleomycin-challenged mice (Fig. 2B-D). Approximately 5-20 % of the lung area of these bleomycin-challenged mice showed foci of acute injury (Fig. 2D). While the control group had no ALI foci at all, lungs from the bleomycin groups exhibited inflammation and septal thickening scores (from 1 to 3) within the damaged foci, with no apparent beneficial effect of IL-1Ra and IL-6Ra treatments on the injury scores (Fig. 2B-D).

While protein concentration in bronchoalveolar lavages (Fig. 2E), an indicator of lung injury, was ~8-fold higher after the bleomycin challenge, none of the treatments with IL-1 β and -IL-6 receptor antagonists attenuated this increase.

Similarly, the different treatments did not prevent the development of pulmonary edema, induced by bleomycin, as shown by the measurements of water-lung-content ratio in all groups tested (Fig. 3).

Finally, the effect of the IL-1 β and IL-6 receptor antagonists on the bleomycin-induced inflammatory response was evaluated. We verified that the total number of infiltrating cells was increased after the bleomycin challenge (by 3.7 fold), as well as the proportion of neutrophils in BALs (Fig. 4A-B). Treatments targeting IL-1 β and -IL-6 receptors showed a slight, although not significant, downward trend for these parameters.

Bleomycin instillation also induced an increase in pro-inflammatory cytokine/chemokine mRNA levels in the whole lung (Fig. 4C-F), as indicated by quantitative real-time RT-qPCR measurements of MCP-1 (a macrophage chemoattractant), KC (the murine equivalent of IL-8; a neutrophil chemoattractant), TNF- α , and IL-6. Treatment with the receptors antagonists did not significantly reduce these pro-inflammatory molecules.

Discussion

Our results showed that the administration of IL-1R and IL-6R antagonists failed to prevent body weight loss, improve lung integrity and edema resolution, and reduce the inflammatory response in bleomycin-challenged mice at D7.

As expected, bleomycin instillation resulted in a significant loss of body weight, when compared to the control group; however, treatment with IL-6Ra and/or IL-1Ra did not alleviate this weight loss (Fig. 1A and B). In a murine model of LPS-induced ALI, Kineret was previously shown, at an early time point (day 2), to reduce weight loss, which was however no longer different from untreated LPS mice by day 7.⁵¹ Similarly, we previously reported that the glucocorticoid dexamethasone failed to prevent the bleomycin-induced weight loss over a 7-day period.²⁹

A large proportion of bleomycin-challenged mice (but not control mice), exhibited an increase in pCO₂ and an acidification of pH, indicating a state of respiratory acidosis (Fig. 1 C and D). Likewise, a recent paper⁶⁰ reported blood gas analyses indicative of hypercapnia, hypoxemia, and acidosis, occurring on day 7 after bleomycin. Our measurements also showed that treatment with the different compounds did not improve the observed respiratory acidosis in bleomycin-challenged mice. In experimental studies of ALI induced by LPS and/or mechanical ventilation (ventilator-induced lung injury, VILI), blood gas analyses have shown conflicting results on the efficacy of IL1/6 antagonists, with either an improvement in hypoxemia^{61,62} or a lack of benefit on O₂ saturation in the study by Wang *et al.*⁵²

Our results demonstrated that the IL-1Ra and IL-6Ra were ineffective in preventing lung injury, as evidenced by histopathologic scores and BAL protein concentration (Fig. 2). In some other models of ALI (induced either by OA, LPS, or sepsis), beneficial effects of tocilizumab on lung injury scores were observed.⁴⁸⁻⁵⁰ While the literature reports a lack of effect of Kineret on histopathologic scores and protein levels in the lavage solution in an animal model of mechanical ventilation (MV) combined with LPS^{52,61}, a significant decrease in BAL protein concentration was observed in an inflammatory model induced by LPS alone⁵¹. We have also previously shown that rytvela is more effective than Kineret in preventing the lung injury observed in adolescent mice following

antenatal IL-1 β injection and that it is beneficial in promoting lung tissue integrity in both IL-1 β - and LPS-induced preterm birth models.^{56,57}

Water-lung-content ratios show no improvement in the resolution of edema in groups of bleomycin mice treated with the IL-1Ra and IL-6Ra (Fig. 3). These data are inconsistent with what Zhu *et al*⁵⁰ obtained with a single IP injection of tocilizumab (4 mg/kg) in a rat cecal ligation and puncture (CLP) model or to what Frank *et al*⁶² observed in a VILI rat model with a loading dose of intra-jugular IL-1Ra (10 mg/kg) prior to MV, followed by a continuous infusion (10 mg/kg/h) throughout the protocol. Therefore, differences in protocols, doses, and models may explain these conflicting results.

Analyses of the bleomycin-induced inflammatory response, by measuring immune cell counts in BALs and cytokine levels in lung tissue, showed, as expected, a rise in immune cell counts and neutrophil infiltration as well as an increase in MCP-1, KC, TNF- α , and IL-6 mRNA at D7 in all groups of bleomycin-challenged mice (Fig. 4). Although a downward trend was observed for some parameters, none of the IL-6Ra and IL-1Ra compounds produced a statistically significant effect on this inflammatory response. Evidence from the literature regarding the potential anti-inflammatory effects of tocilizumab⁴⁷⁻⁵⁰ and Kineret^{47,52,61-63} in various animal models of ALI is conflicting and varies depending on the experimental conditions. Analysis of short and long time points (day 1 and 14) after bleomycin (15 mg/kg at D0) in mice treated with Kineret (1 mg/kg) previously showed a reduction of neutrophil infiltration (at D1 and at D14) and pro-inflammatory cytokines (at D1, KC, IL-6, IL-1 β)⁶⁴.

In summary, our study did not show a beneficial effect of the antagonists of IL-1R and IL-6R in our ALI model and analysis of the literature reflects a lack of consensus regarding the ability of tocilizumab and Kineret to improve key parameters of ALI. Nevertheless, the overall evidence from the literature suggests that in animal models of ALI where inflammation is the primary source of injury (LPS, Poly I:C + spike), beneficial effects of tocilizumab and/or Kineret on at least some of the parameters of ALI have been reported.^{47,48,51} Similarly, in a recent clinical trial, ferritin, an inflammatory marker, was positively associated with better clinical outcomes of tocilizumab

treatment.⁶⁵ Therefore, treatment with IL-1Ra or IL-6Ra may be more optimal in patients presenting ARDS subphenotypes with specific inflammatory profiles.

Conversely, when the primary cause of the observed lung structural damage is not directly due to the damaging effects of inflammatory cytokines (such as IL-6 and IL-1 β), drugs that act on IL-6 or IL-1 receptors may be ineffective. Similarly, in animal models that exhibit extensive lung damage and pulmonary edema in addition to inflammation, thus mimicking the key features of ARDS^{3,58}, there is, to the best of our knowledge, no clear evidence of beneficial effects of IL-6R or IL-1R antagonists at the peak of the acute exudative phase of ALI (day 7), which is a critical time point for ARDS resolution.^{6,9} The bleomycin-induced ALI model is one such example, as bleomycin causes tissue damage by inducing DNA breakage, free radical production, and ultimately cell death (at least in part via ferroptosis).^{58,66-68} The lack of beneficial effects of IL-1 and IL-6 receptor antagonists observed in our study using this model suggests that although IL-1 β and IL-6 are produced, these cytokines may not be the primary contributors to the observed damage at D7. Furthermore, in a previous study, we showed that targeting inflammation, with a broad-spectrum anti-inflammatory drug (dexamethasone) failed to improve the resolution of bleomycin outcomes, particularly mortality rates, immune cell infiltration, and pulmonary edema, likely due to residual alveolar damage and impairment of repair processes.²⁹ Due to the importance of the lesional component of ARDS^{3,5,6}, the development of novel therapeutic approaches that promote the restoration of alveolar integrity and function, e.g. with mesenchymal stromal cells⁶⁹ or by targeting key proteins involved in epithelial repair processes, is critical for the recovery of ARDS patients, before the establishment of irreversible fibrosis. Compelling evidence suggests that a class of membrane proteins, i.e. K⁺ channels, play an important role in epithelial repair and play a protective role in animal models of epithelial injury.⁷⁰⁻⁷² Our data also indicate that these ion channels also regulate alveolar fluid clearance *in vitro* and *in vivo*.⁷³⁻⁷⁶ Thus, such strategies favoring the resorption of pulmonary edema and the restoration of epithelial integrity, combined with anti-inflammatory treatments, may thus be beneficial for ARDS resolution. Further studies, in complementary models of ALI, may be useful to evaluate the efficacy of IL-1R and IL-6R modulators, in combination with pro-regenerative strategies.

Acknowledgments

We thank the CRCHUM as well as the Animal Care and Molecular Pathology Core Facilities of CRCHUM. We also acknowledge Drs P. Ferraro, M. Prentki and G. Rutter for sharing their equipment with us.

Funding details

This work was supported by the Ministère de l'Économie, de l'Innovation et de l'Énergie de la Province de Québec under the Grant [2020-2021-COVID-19-PSOv2a-51194] (to SC and EB) ; the Canadian Institutes of Health Research (CIHR) under Grant [PJT166004] (to EB); and the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) under discovery Grant [RGPIN-2016-04378] (to EB).

The CRCHUM and the Université de Montréal also supported this work through a scholarship to EB. The CRCHUM is supported by a Centre grant from the FRQ-S. MAV also acknowledges a studentship from the Fonds de Recherche du Québec-Santé (FRQ-S). EM, MAV, DA, AP, and EB are members of the Respiratory Health Research Network of Québec. The funders had no role in study design, data collection, and interpretation, or the decision to submit the work for publication.

Data availability statement

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author, [EB], upon reasonable request.

Declaration of interest statement

SC and CQ hold a patent on composition of matter for the use of 101.10 (rytvela ; interleukin 1 receptor antagonists, compositions, and methods of treatment; US patent number USPTO8618054; May 5, 2005). The remaining authors report no conflict of interest.

Health and Safety

All mandatory laboratory health and safety procedures have been complied within the course of conducting any experimental work reported.

References

1. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA*. 2012;307(23) :2526-2533. Doi :10.1001/jama.2012.5669
2. Bellani G, Laffey JG, Pham T, et al. Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries. *JAMA*. 2016;315(8):788-800. Doi:10.1001/jama.2016.0291
3. Monahan LJ. Acute respiratory distress syndrome. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2013;43(10):278-284. Doi:10.1016/j.cppeds.2013.10.004
4. Hu Y, Sun J, Dai Z, et al. Prevalence and severity of corona virus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol*. 2020;127:104371. Doi:10.1016/j.jcv.2020.104371
5. Butt Y, Kurdowska A, Allen TC. Acute Lung Injury: A Clinical and Molecular Review. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140(4):345-350. Doi:10.5858/arpa.2015-0519-RA
6. Matthay MA, Zemans RL, Zimmerman GA, et al. Acute respiratory distress syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2019;5(1) :18. Doi:10.1038/s41572-019-0069-0
7. Bosch NA, Lee MM, LeSieur MN, Law AC, Walkey AJ. Death due to irreversible hypoxemic respiratory failure in ARDSnet clinical trials. *J Crit Care*. 2022;67:85-87. Doi:10.1016/j.jcrc.2021.10.017
8. Chesnutt AN, Matthay MA, Tibayan FA, Clark JG. Early detection of type III procollagen peptide in acute lung injury: pathogenetic and prognostic significance. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156(3) :840-845. Doi:10.1164/ajrccm.156.3.9701124.
9. Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2000;342(18):1334-1349. Doi:10.1056/NEJM200005043421806
10. Ketcham SW, Sedhai YR, Miller HC, et al. Causes and characteristics of death in patients with acute hypoxemic respiratory failure and acute respiratory distress syndrome: a retrospective cohort study. *Crit Care*. 2020;24(1) :391. Doi:10.1186/s13054-020-03108-w
11. Griffiths MJD, McAuley DF, Perkins GD, et al. Guidelines on the management of acute respiratory distress syndrome. *BMJ Open Respir Res*. 2019;6(1) :e000420. Doi:10.1136/bmjresp-2019-000420

12. Fan E, Brodie D, Slutsky AS. Acute Respiratory Distress Syndrome: Advances in Diagnosis and Treatment. *JAMA*. 2018;319(7):698-710. Doi:10.1001/jama.2017.21907
13. Fitzgerald M, McAuley DF, Matthay M. Is there a need for emerging drugs for the acute respiratory distress syndrome? *Expert Opin Emerg Drugs*. 2014;19(3):323-328. Doi:10.1517/14728214.2014.953052
14. Steinberg KP, Hudson LD, Goodman RB, et al. Efficacy and safety of corticosteroids for persistent acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2006;354(16):1671-1684. Doi:10.1056/NEJMoa051693
15. Foster JR. Steroids for early acute respiratory distress syndrome: critical appraisal of Meduri GU, Golden E, Freire AX, et al: Methylprednisolone infusion in early severe ARDS: results of a randomized controlled trial. *Chest* 2007; 131:954-963. *Pediatr Crit Care Med*. 2010;11(3):404-407. Doi:10.1097/PCC.0b013e3181c014eb
16. Yehya N, Servaes S, Thomas NJ, Nadkarni VM, Srinivasan V. Corticosteroid exposure in pediatric acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med*. 2015;41(9):1658-1666. Doi:10.1007/s00134-015-3953-4
17. Meduri GU, Bridges L, Shih MC, Marik PE, Siemieniuk RAC, Kocak M. Prolonged glucocorticoid treatment is associated with improved ARDS outcomes: analysis of individual patients' data from four randomized trials and trial-level meta-analysis of the updated literature. *Intensive Care Med*. 2016;42(5):829-840. Doi:10.1007/s00134-015-4095-4
18. Kimura D, Saravia J, Rovnaghi CR, et al. Plasma Biomarker Analysis in Pediatric ARDS: Generating Future Framework from a Pilot Randomized Control Trial of Methylprednisolone: A Framework for Identifying Plasma Biomarkers Related to Clinical Outcomes in Pediatric ARDS. *Front Pediatr*. 2016;4:31. Doi:10.3389/fped.2016.00031
19. Tongyoo S, Permpikul C, Mongkolpun W, et al. Hydrocortisone treatment in early sepsis-associated acute respiratory distress syndrome: results of a randomized controlled trial. *Crit Care*. 2016;20(1) :329. Doi:10.1186/s13054-016-1511-2
20. Standiford TJ, Ward PA. Therapeutic targeting of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Transl Res*. 2016;167(1) :183-191. Doi :10.1016/j.trsl.2015.04.015
21. Yang ZG, Lei XL, Li XL. Early application of low-dose glucocorticoid improves acute respiratory distress syndrome: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Exp Ther Med*. 2017;13(4):1215-1224. Doi:10.3892/etm.2017.4154
22. Chen F, Gong L, Zhang L, et al. Short courses of low dose dexamethasone delay bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *Eur J Pharmacol*. 2006;536(3) :287-295. Doi :10.1016/j.ejphar.2006.03.011

23. Leite-Junior JHP, Garcia CSNB, Souza-Fernandes AB, et al. Methylprednisolone improves lung mechanics and reduces the inflammatory response in pulmonary but not in extrapulmonary mild acute lung injury in mice. *Crit Care Med*. 2008;36(9):2621-2628. Doi:10.1097/CCM.0b013e3181847b43
24. Wang XQ, Zhou X, Zhou Y, Rong L, Gao L, Xu W. Low-dose dexamethasone alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats and upregulates pulmonary glucocorticoid receptors. *Respirology*. 2008;13(6):772-780. Doi:10.1111/j.1440-1843.2008.01344.x
25. Xu T, Qiao J, Zhao L, et al. Effect of dexamethasone on acute respiratory distress syndrome induced by the H5N1 virus in mice. *Eur Respir J*. 2009;33(4):852-860. Doi:10.1183/09031936.00130507
26. Yubero S, Manso MA, Ramudo L, Vicente S, De Dios I. Dexamethasone down-regulates the inflammatory mediators but fails to reduce the tissue injury in the lung of acute pancreatitis rat models. *Pulm Pharmacol Ther*. 2012;25(4):319-324. Doi:10.1016/j.pupt.2012.05.009
27. Hegeman MA, Hennis MP, Cobelens PM, et al. Dexamethasone attenuates VEGF expression and inflammation but not barrier dysfunction in a murine model of ventilator-induced lung injury. *PLOS ONE*. 2013;8(2):e57374. Doi:10.1371/journal.pone.0057374
28. Engel M, Nowacki RME, Boden P, et al. The effects of dexamethasone and oxygen in ventilated adult sheep with early phase acute respiratory distress syndrome. *Lung*. 2015;193(1):97-103. Doi:10.1007/s00408-014-9670-x
29. Aubin Vega M, Chupin C, Pascariu M, et al. Dexamethasone fails to improve bleomycin-induced acute lung injury in mice. *Physiol Rep*. 2019;7(21):e14253. Doi:10.14814/phy2.14253
30. Bein T, Briegel J, Annane D. Steroids are part of rescue therapy in ARDS patients with refractory hypoxemia: yes. *Intensive Care Med*. 2016;42(5):918-920. Doi:10.1007/s00134-015-4162-x
31. Bihari S, Bailey M, Bersten AD. Steroids in ARDS: to be or not to be. *Intensive Care Med*. 2016;42(5):931-933. Doi:10.1007/s00134-015-4135-0
32. Seam N, Suffredini AF. Steroids are part of rescue therapy in ARDS patients with refractory hypoxemia: we are not sure. *Intensive Care Med*. 2016;42(5):924-927. Doi:10.1007/s00134-015-4160-z
33. Thompson BT, Ranieri VM. Steroids are part of rescue therapy in ARDS patients with refractory hypoxemia: no. *Intensive Care Med*. 2016;42(5):921-923. Doi:10.1007/s00134-016-4255-1

34. Sweeney RM, McAuley DF. Prolonged glucocorticoid treatment in acute respiratory distress syndrome – Authors’ reply. *Lancet*. 2017;389(10078):1516-1517. Doi:10.1016/S0140-6736(17)30953-4
35. Meduri GU, Siemieniuk RAC. Prolonged glucocorticoid treatment in acute respiratory distress syndrome. *Lancet*. 2017;389(10078):1516. Doi:10.1016/S0140-6736(17)30952-2
36. Bos LD, Martin-Loeches I, Schultz MJ. ARDS: challenges in patient care and frontiers in research. *Eur Respir Rev*. 2018;27(147) :170107. Doi:10.1183/16000617.0107-2017
37. Felsenstein S, Herbert JA, McNamara PS, Hedrich CM. COVID-19: Immunology and treatment options. *Clin Immunol*. 2020;215 :108448. Doi :10.1016/j.clim.2020.108448
38. Peng J, Fu M, Mei H, et al. Efficacy and secondary infection risk of tocilizumab, sarilumab and anakinra in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol*. 2022;32(3):e2295. Doi:10.1002/rmv.2295
39. Elahi R, Karami P, Heidary AH, Esmailzadeh A. An updated overview of recent advances, challenges, and clinical considerations of IL-6 signaling blockade in severe coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Int Immunopharmacol*. 2022;105:108536. Doi:10.1016/j.intimp.2022.108536
40. RECOVERY Collaborative Group. Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): preliminary results of a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet*. 2021;397(10285):1637-1645. Doi:10.1016/S0140-6736(21)00676-0
41. Health Canada. Regulatory Decision Summary – Actemra. Canada.ca. Published 2022. Accessed May 5, 2023. <https://covid-vaccine.canada.ca/info/regulatory-decision-summary-detail.html?linkID=RDS01008>
42. Food and Drug Administration HHS. Authorizations of Emergency Use of Certain Biological Products During the COVID-19 Pandemic; Availability. *Federal Register / Notices*. 2021;86(148) :42850-42868.
43. Iglesias-Julián E, López-Veloso M, de-la-Torre-Ferrera N, et al. High dose subcutaneous Anakinra to treat acute respiratory distress syndrome secondary to cytokine storm syndrome among severely ill COVID-19 patients. *J Autoimmun*. 2020;115 :102537. Doi :10.1016/j.jaut.2020.102537
44. Kyriazopoulou E, Huet T, Cavalli G, et al. Effect of anakinra on mortality in patients with COVID-19: a systematic review and patient-level meta-analysis. *Lancet Rheumatol*. 2021;3(10):e690-e697. Doi:10.1016/S2665-9913(21)00216-2
45. Shang W, Zhang Y, Wang G, Han D. Anakinra was not associated with lower mortality in hospitalised COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Rev Med Virol*. 2023;33(2):e2418. Doi:10.1002/rmv.2418

46. Food and Drug Administration HHS. Authorization of Emergency Use of a Drug Product During the COVID-19 Pandemic; Availability. *Federal Register / Notices*. 2023;88(48):15399-15409.
47. Gu T, Zhao S, Jin G, et al. Cytokine Signature Induced by SARS-CoV-2 Spike Protein in a Mouse Model. *Front Immunol*. 2021;11 :621441. Doi :10.3389/fimmu.2020.621441
48. Sarioğlu N, Sunay FB, Yay A, et al. Antiinflammatory effects of adalimumab, tocilizumab, and steroid on lipopolysaccharide-induced lung injury. *Turk J Med Sci*. 2021;51(5):2741-2751. Doi:10.3906/sag-2010-303
49. Terzi F, Demirci B, Çınar İ, Alhilal M, Erol HS. Effects of tocilizumab and dexamethasone on the downregulation of proinflammatory cytokines and upregulation of antioxidants in the lungs in oleic acid-induced ARDS. *Respir Res*. 2022;23(1) :249. Doi:10.1186/s12931-022-02172-w
50. Zhu J, Lin X, Yan C, Yang S, Xu Z. Tocilizumab attenuates acute lung injury in rats with sepsis by regulating S100A12/NLRP3. *Am J Transl Res*. 2023;15(1):99-113.
51. Engeroff P, Belbézier A, Monsel A, Klatzmann D. Anakinra reduces lung inflammation in experimental acute lung injury. *Immun Inflamm Dis*. 2022;10(2) :123-129. Doi:10.1002/iid3.548
52. Wang X, Chen S, Zhao L, Shi X. Protective effect of combination of anakinra and MCC950 against acute lung injury is achieved through suppression of the NF-κB-mediated-MAPK and NLRP3-caspase pathways. *Int Immunopharmacol*. 2021;97 :107506. Doi :10.1016/j.intimp.2021.107506
53. Quiniou C, Sapiéha P, Lahaie I, et al. Development of a Novel Noncompetitive Antagonist of IL-1 Receptor. *J Immunol*. 2008;180(10) :6977-6987. Doi :10.4049/jimmunol.180.10.6977
54. Nadeau-Vallée M, Quiniou C, Palacios J, et al. Novel Noncompetitive IL-1 Receptor-Biased Ligand Prevents Infection- and Inflammation-Induced Preterm Birth. *J Immunol*. 2015;195(7) :3402-3415. Doi :10.4049/jimmunol.1500758
55. Sayah DN, Zhou TE, Omri S, et al. Novel Anti-Interleukin-1 β Therapy Preserves Retinal Integrity: A Longitudinal Investigation Using OCT Imaging and Automated Retinal Segmentation in Small Rodents. *Front Pharmacol*. 2020;11 :296. Doi :10.3389/fphar.2020.00296
56. Habelrih T, Tremblay DÉ, Di Battista E, et al. Pharmacodynamic characterization of rytvela, a novel allosteric anti-inflammatory therapeutic, to prevent preterm birth and improve fetal and neonatal outcomes. *Am J Obstet Gynecol*. 2023;228(4) :467.e1-467.e16. doi :10.1016/j.ajog.2022.10.007

57. Nadeau-Vallée M, Chin PY, Belarbi L, et al. Antenatal Suppression of IL-1 Protects against Inflammation-Induced Fetal Injury and Improves Neonatal and Developmental Outcomes in Mice. *J Immunol*. 2017;198(5):2047-2062. Doi:10.4049/jimmunol.1601600
58. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008;295(3):L379-L399. Doi:10.1152/ajplung.00010.2008
59. Matute-Bello G, Downey G, Moore BB, et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2011;44(5):725-738. Doi:10.1165/rcmb.2009-0210ST
60. Kitzerow O, Zucker IH, Lisco SJ, Wang HJ. Timeline of Multi-Organ Plasma Extravasation After Bleomycin-Induced Acute Lung Injury. *Front Physiol*. 2022;13 :777072. Doi :10.3389/fphys.2022.777072
61. Jones HD, Crother TR, Gonzalez-Villalobos RA, et al. The NLRP3 inflammasome is required for the development of hypoxemia in LPS/mechanical ventilation acute lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2014;50(2) :270-280. Doi:10.1165/rcmb.2013-0087OC
62. Frank JA, Pittet JF, Wray C, Matthay MA. Protection from experimental ventilator-induced acute lung injury by IL-1 receptor blockade. *Thorax*. 2008;63(2) :147-153. Doi:10.1136/thx.2007.079608
63. Lindauer ML, Wong J, Iwakura Y, Magun BE. Pulmonary inflammation triggered by ricin toxin requires macrophages and IL-1 signaling. *J Immunol*. 2009;183(2):1419-1426. Doi:10.4049/jimmunol.0901119
64. Gasse P, Mary C, Guenon I, et al. IL-1R1/MyD88 signaling and the inflammasome are essential in pulmonary inflammation and fibrosis in mice. *J Clin Invest*. 2007;117(12) :3786-3799. Doi :10.1172/JCI32285
65. Tom J, Bao M, Tsai L, et al. Prognostic and Predictive Biomarkers in Patients With Coronavirus Disease 2019 Treated With Tocilizumab in a Randomized Controlled Trial*. *Crit Care Med*. 2022;50(3) :398-409. Doi:10.1097/CCM.0000000000005229
66. Reinert T, Baldotto CS da R, Nunes FAP, Scheliga AA de S. Bleomycin-Induced Lung Injury. *J Cancer Res*. 2013;2013 :e480608. Doi:10.1155/2013/480608
67. Burger RM, Peisach J, Horwitz SB. Activated bleomycin. A transient complex of drug, iron, and oxygen that degrades DNA. *J Biol Chem*. 1981;256(22):11636-11644. Doi:10.1016/S0021-9258(19)68452-8
68. Zhan P, Lu X, Li Z, et al. Mitoquinone alleviates bleomycin-induced acute lung injury via inhibiting mitochondrial ROS-dependent pulmonary epithelial ferroptosis. *Int Immunopharmacol*. 2022;113(Pt A):109359. Doi:10.1016/j.intimp.2022.109359

69. Wick KD, Leligdowicz A, Zhuo H, Ware LB, Matthay MA. Mesenchymal stromal cells reduce evidence of lung injury in patients with ARDS. *JCI Insight*. 2021;6(12):e148983, 148983. Doi:10.1172/jci.insight.148983
70. Girault A, Brochiero E. Evidence of K⁺ channel function in epithelial cell migration, proliferation, and repair. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2014;306(4):C307-C319. Doi:10.1152/ajpcell.00226.2013
71. Trinh NTN, Privé A, Kheir L, et al. Involvement of KATP and KvLQT1 K⁺ channels in EGF-stimulated alveolar epithelial cell repair processes. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007;293(4):L870-882. Doi:10.1152/ajplung.00362.2006
72. Trinh NTN, Privé A, Maillé E, Noël J, Brochiero E. EGF and K⁺ channel activity control normal and cystic fibrosis bronchial epithelia repair. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008;295(5):L866-880. Doi:10.1152/ajplung.90224.2008
73. Leroy C, Privé A, Bourret JC, Berthiaume Y, Ferraro P, Brochiero E. Regulation of EnaC and CFTR expression with K⁺ channel modulators and effect on fluid absorption across alveolar epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006;291(6):L1207-1219. Doi:10.1152/ajplung.00376.2005
74. Bardou O, Privé A, Migneault F, et al. K⁺ channels regulate EnaC expression via changes in promoter activity and control fluid clearance in alveolar epithelial cells. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1818(7):1682-1690. Doi:10.1016/j.bbamem.2012.02.025
75. Sakuma T, Takahashi K, Ohya N, Nakada T, Matthay MA. Effects of ATP-sensitive potassium channel opener on potassium transport and alveolar fluid clearance in the resected human lung. *Pharmacol Toxicol*. 1998;83(1):16-22. Doi:10.1111/j.1600-0773.1998.tb01436.x
76. Aubin Vega M, Girault A, Adam D, et al. Impact of KvLQT1 potassium channel modulation on alveolar fluid homeostasis in an animal model of thiourea-induced lung edema. *Front Physiol*. 2023;13:2729. Doi:10.3389/fphys.2022.1069466

Table with caption

Table 1. Primer sequences and RT-qPCR conditions

Gene	Primer sequence	Primer concentration	Cycling condition
IL-6	F: 5'-AGACAAAGCCAGAGTCCTTCAG-3' R: 5'-TGCCGAGTAGATCTCAAAGTGA-3'	337.5 nM	95°C - 30s + 40 x (95°C - 15s + 60°C - 60s)
TNF- α	F: 5'-TCAGCCGATTTGCTATCTCATA-3' R: 5'-AGTACTTGGGCAGATTGACCTC-3'		
CCL2 (MCP-1)	F: 5'-AGCTGTAGTTTTTGTACCAAGC-3' R: 5'-GACCTTAGGGCAGATGCAGT-3'	500 nM	95°C - 10 min + 40 x (95°C - 10s + 60°C - 20s + 72°C - 20s)
CXCL1 (KC)	F: 5'-TGAAGCTCCCTTGGTTCAG-3' R: 5'-GGTGCCATCAGAGCAGTCT-3'		

Figures

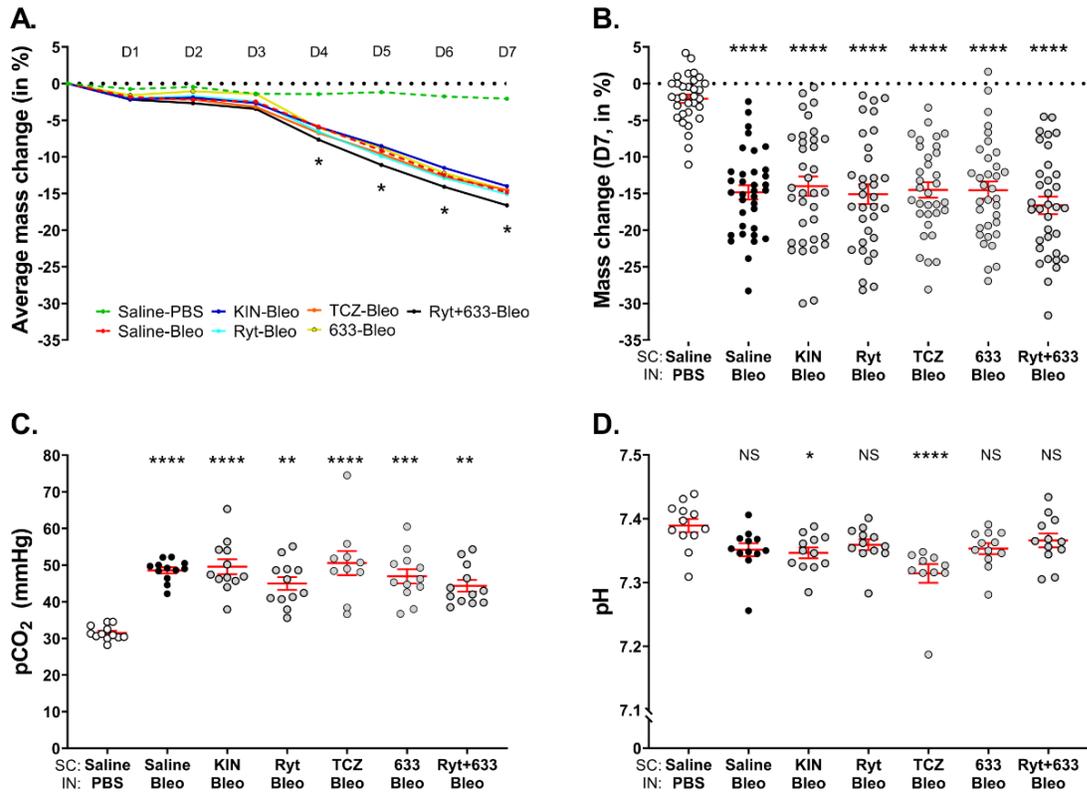


Figure 1. Effect of treatments with IL-1 and IL-6 receptor antagonists on body weight changes and pulmonary function in mice after bleomycin-induced acute lung injury.

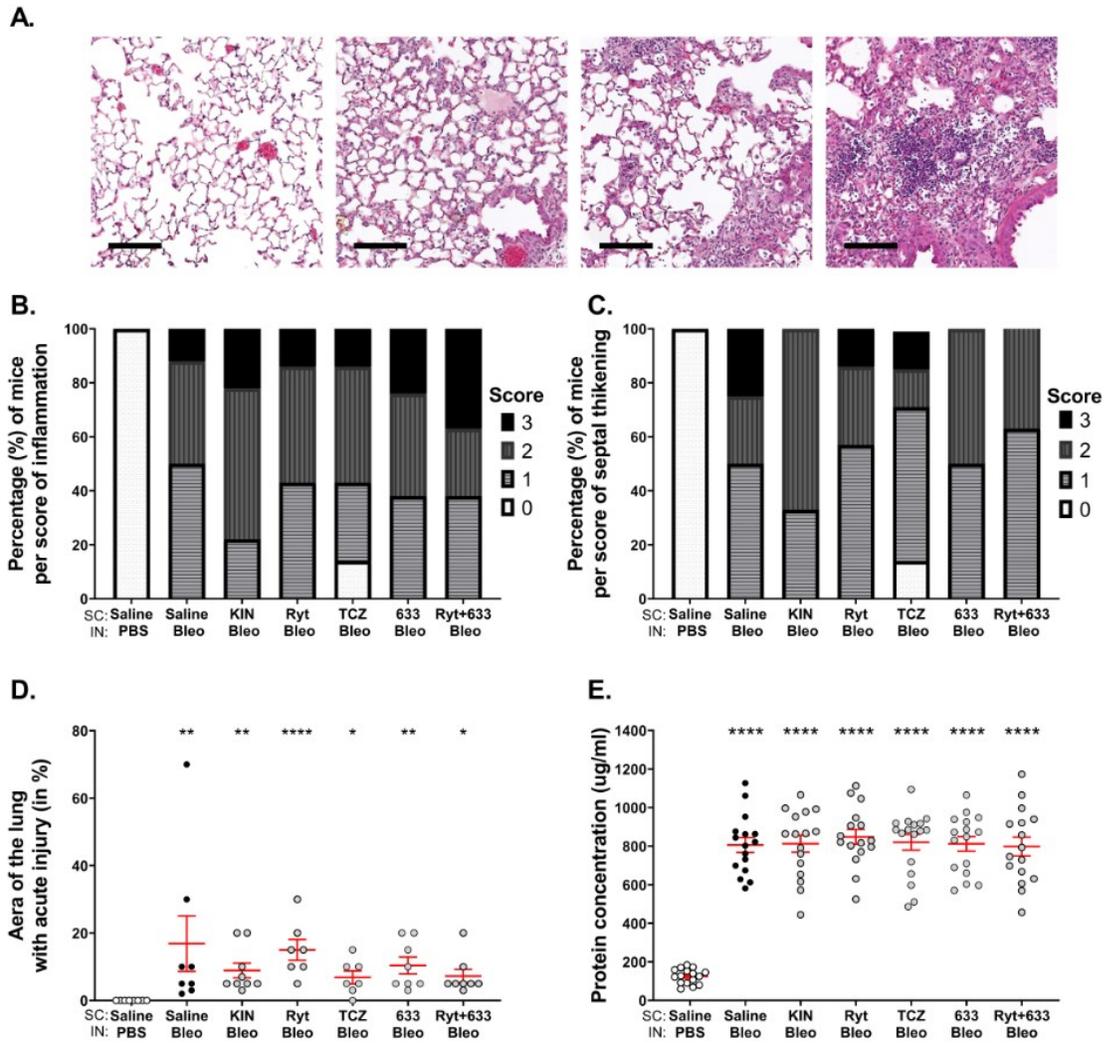


Figure 2. Effect of treatments with IL-1 and IL-6 receptor antagonists on lung damage after bleomycin-induced acute lung injury at D7.

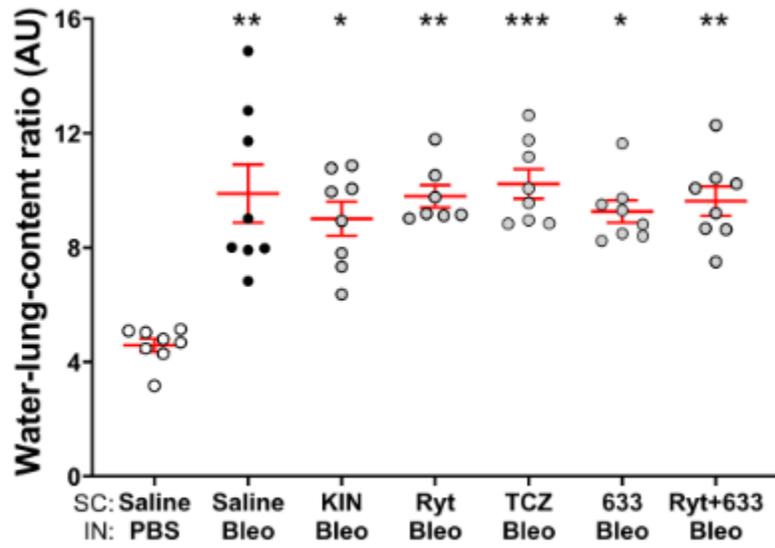


Figure 3. Effect of treatments with IL-1 and IL-6 receptor antagonists on lung edema after bleomycin-induced acute lung injury at D7.

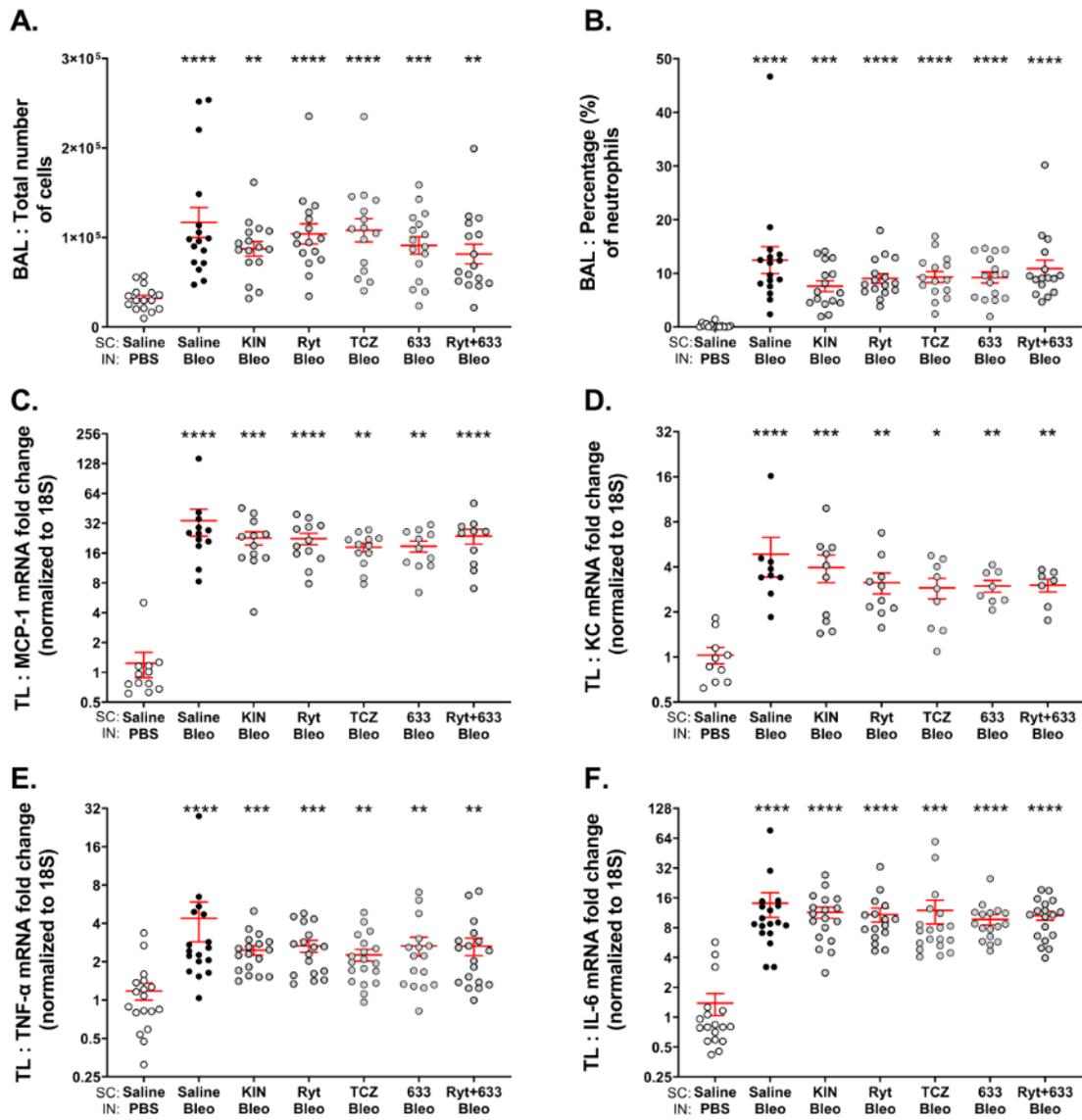


Figure 4. Effect of treatments with IL-1 and IL-6 receptor antagonists on the inflammatory response after bleomycin-induced acute lung injury in mice at D7.

Figure captions

Figure 1. Effect of treatments with IL-1 and IL-6 receptor antagonists on body weight changes and pulmonary function in mice after bleomycin-induced acute lung injury. Mice received IN instillation of bleomycin (Bleo, 3 U/kg) or PBS on day 0 and were injected (SC) twice daily with either vehicle (Saline) or IL-1 and IL-6 receptor antagonists (Kineret® 12.5 mg/kg/dose, rytvela 1 mg/kg/dose, tocilizumab 10 mg/kg/dose, HSJ633 2 mg/kg/dose or a combination of rytvela+HSJ633) for 7 days. Mean change in body weight over time (**A**) and individual mass change on day 7 (**B**), N = 32-35. Venous pCO₂ (**C**) and pH (**D**) on day 7, N = 10-12. **A.** was analyzed with mixed-effects model (restricted maximum likelihood) and Dunnett's multiple comparisons versus Saline-PBS (* p < 0.05 for each condition) and versus Saline-Bleo (p ≥ 0.05 not showed). **B.** was analyzed with Welch's ANOVA test and Dunnett's T3 multiple comparison test and **C. – D.** with Kruskal-Wallis and Dunn's multiple comparisons test. Multiple comparisons against Saline-PBS (**** p < 0.001, *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05, NS p ≥ 0.05) and against Saline-Bleo (p ≥ 0.05 not shown). Dots are individual mice and red lines are mean ± SEM.

Figure 2. Effect of treatments with IL-1 and IL-6 receptor antagonists on lung damage after bleomycin-induced acute lung injury at D7. Mice received IN instillation of bleomycin 3 U/kg or PBS at D0 and were injected (SC) twice daily with either vehicle (Saline) or IL-1 and IL-6 receptor antagonists (Kineret® 12.5 mg/kg/dose, rytvela 1 mg/kg/dose, tocilizumab 10 mg/kg/dose, HSJ633 2 mg/kg/dose or a combination of rytvela+HSJ633) for 7 days, N = 7-9. **A.** Representative images of the H&E-stained lung parenchyma for each score level (scale (black line) = 200 µm, 200 X magnification). **B.** Percentage of mice per score of inflammation (X² [18 degrees of freedom (df), N = 55] = 53.04, p < 0.0001) and **(C)** septal thickening (X² [18 df, n = 55] = 60.14, p < 0.0001). **D.** Percentage of zones with acute injury per lung section, Kruskal-Wallis and Dunn's multiple comparison test. **E.** Protein concentration in BALs, indicator of alveolar injury (Welch's ANOVA, Dunnett's T3 multiple comparisons test, N = 16-17). Multiple comparisons versus Saline-PBS (**** p < 0.001, *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05) and versus Saline-Bleo (p ≥ 0.05 not shown). Dots are individual mice and red lines are mean ± SEM.

Figure 3. Effect of treatments with IL-1 and IL-6 receptor antagonists on lung edema after bleomycin-induced acute lung injury at D7. Mice received an IN instillation of bleomycin 3 U/kg or PBS at D0 and were injected (SC) twice daily with either vehicle (Saline) or IL-1 and IL-6 receptor antagonists (Kineret® 12.5 mg/kg/dose, rytvela 1 mg/kg/dose, tocilizumab 10 mg/kg/dose, HSJ633 2 mg/kg/dose or a combination of rytvela+HSJ633) for 7 days. Kruskal-Wallis test, Dunn's multiple comparison test, N = 7-8. Multiple comparisons versus Saline-PBS (***) $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$) and versus Saline-Bleo ($p \geq 0.05$ not showed). Dots are individual mice and red lines are mean \pm SEM.

Figure 4. Effect of treatments with IL-1 and IL-6 receptor antagonists on the inflammatory response after bleomycin-induced acute lung injury in mice at D7. Mice received an IN instillation of bleomycin 3 U/kg or PBS at D0 and were injected (SC) twice daily with either vehicle (Saline) or IL-1 and IL-6 receptor antagonists (Kineret® 12.5 mg/kg/dose, rytvela 1 mg/kg/dose, tocilizumab 10 mg/kg/dose, HSJ633 2 mg/kg/dose or a combination of rytvela+HSJ633) for 7 days. Total number of cells **(A)** and percentage of neutrophils **(B)** in BALs, N = 15-16. mRNA (from total lung, (TL)) fold changes normalized to 18S for MCP-1 **(C)**, N = 10-12), KC **(D)**, N = 7-10), TNF- α **(E)**, N = 16-19), IL-6 **(F)**, N = 16-19). Data set were analyzed using Kruskal-Wallis and Dunn's multiple comparison test. Multiple comparisons versus Saline-PBS (***) $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, NS $p \geq 0.05$) and versus Saline-Bleo ($p \geq 0.05$ not shown). Dots are individual mice and red lines are mean \pm SEM.

Chapitre 4 : Discussion

Mes travaux de maîtrise ont permis de démontrer que les antagonistes du récepteur de l'IL-1 (Kineret, rytvela) ainsi que de l'IL-6 (tocilizumab, HSJ633) n'ont amélioré aucun des différents paramètres caractéristiques du SDRA (perte de poids, pH et pCO₂ [pression partielle en dioxyde de carbone]), score histologique, indice d'œdème pulmonaire et marqueurs d'inflammation) dans un modèle d'ALI induit par la bléomycine.

4.1 : Interprétation des résultats obtenus

4.1.1 : Perte de poids

Nos résultats ont montré que les souris instillées avec de la bléomycine perdaient du poids de manière significative à partir du jour 4 et que cette perte se poursuivait de manière relativement continue jusqu'au jour 7 (J7). Les traitements (Kineret, tocilizumab, rytvela et/ou HSJ633) n'ont pas permis de prévenir cette perte. Engeroff *et al.* ont aussi mesuré la perte de poids des jours 0 à 7 dans un modèle d'ALI induit par LPS et ont trouvé que le Kineret (50 mg/kg SC, 2 fois par jour) avait permis de minimiser la perte de poids sur cette période, mais de manière statistiquement significative à J1 et J2 seulement (203). Les raisons pouvant expliquer les résultats en fonction du modèle d'ALI utilisés sont discutées plus en détail à la section 4.4. De manière similaire, nous n'avions pas observé d'effet bénéfique du dexaméthasone sur la perte de poids (J0 à 12) dans un modèle d'ALI induit par la bléomycine (4 U/kg, 50 µl), mais cela était peut-être dû au fait que les glucocorticoïdes peuvent entraîner une atrophie musculaire (179).

Habituellement, des souris n'ayant pas reçu d'insulte devraient gagner du poids. Nous avons toutefois noté qu'à J7, la plupart des souris contrôles (instillées avec du PBS) avaient subi une légère perte de poids en comparaison à J0. Il se peut que cet effet soit dû au stress causé par les injections et les contentions que les souris devaient subir deux fois par jour. Il serait possible de mesurer certains biomarqueurs du stress, comme les niveaux de corticostéroïdes, afin de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse.

4.1.2: Changement des gaz sanguins

À J7, une augmentation significative de la $p\text{CO}_2$ était observable pour tous nos groupes de souris instillées avec de la bléomycine, en comparaison au groupe contrôle (Saline-PBS). Une tendance à la baisse était aussi observable pour le pH, bien que seuls les groupes KIN-Bleo et TCZ-Bleo étaient significativement différents du groupe contrôle. Le fait que la $p\text{CO}_2$ augmentait de manière significative alors que le pH baissait de manière plus modérée indique une possible compensation (par les ions bicarbonates). Cependant, en observant la distribution des souris pour ces deux paramètres (et pas seulement la moyenne), il est possible de remarquer que dans chaque groupe instillé à la bléomycine, plusieurs souris dépassaient les seuils de $\text{pH} < 7,35$ (acidose) ou de $p\text{CO}_2 > 45 \text{ mmHg}$ (hypercapnie), qui, lorsque combinés, délimitent habituellement le seuil d'acidose respiratoire. Aucun des différents traitements par les antagonistes n'a permis d'améliorer ces deux paramètres respiratoires. Kitzerow *et al.* ont rapporté des résultats similaires ($p\text{CO}_2$ augmentée et pH diminué, tous deux de manière statistiquement significative) dans du sang artériel à J7 post-instillation de bléomycine (2,5 mg/kg, pas de traitement) chez des rats (228).

Dans la littérature, Frank *et al.* ont rapporté ne pas avoir détecté d'augmentation de la paCO_2 (pression artérielle en CO_2) ou de diminution significative du pH dans un modèle de VILI chez le rat. Ils ont cependant observé une baisse de la PaO_2 au temps 4 h, qui était prévenue dans le groupe traité au Kineret (229). Similairement, Jones *et al.* ont rapporté un effet bénéfique du Kineret (10 mg/ml, 2 $\mu\text{l/g}$ intratrachéal) sur le pourcentage de saturation en O_2 à 4 h dans un modèle d'ALI induit par LPS combiné à la ventilation mécanique (230). En contraste, au même temps (4 h) et dans un modèle similaire d'ALI induit par LPS et par une ventilation mécanique, Wang *et al.* ont montré que le Kineret seul (10 mg/ml, en aérosol pendant 1,5 heure) ne permettait pas d'améliorer le pourcentage de saturation en O_2 (199).

Nous avons choisi d'utiliser le sang veineux, car cela nous permettait d'avoir accès de manière répliquable à 200 μl de sang. Cependant, il serait intéressant, dans le cadre de futures expériences, de réussir à obtenir des échantillons de sang artériel, puisque le sang veineux, en plus d'être grandement désoxygéné, contient plus de CO_2 (environ 4 à 6 mmHg de plus) et est légèrement plus acide (environ 0,02 à 0,05 unité de plus) que le sang artériel (231,232). Prélever le sang du

ventricule gauche du cœur pourrait être une option, mais il faudrait développer une expertise permettant de piquer dans le bon ventricule sans aller trop profondément et risquer d'atteindre les poumons. Utiliser un plus gros animal, tel que le rat, pourrait être une autre alternative.

Nous avons aussi choisi d'utiliser l'isoflurane pour anesthésier les animaux, car cela nous permettait de facilement récolter le sang dans des souris toujours vivantes. De plus, Schwarzkopf *et al.* ont démontré que cette méthode d'anesthésie n'a d'effet ni sur les paramètres gazeux sanguins ni sur le pH. Par contre, elle affecte le glucose et le lactate (233,234). Puisque ces données ont été mesurées en même temps que les paramètres gazeux dans nos expériences grâce à l'appareil epoc, il faudrait prendre en compte cette limitation lors de l'interprétation des valeurs de glucose et de lactate. Toutefois, nous n'avons pas rapporté ces données, car aucun effet de la bléomycine n'était observé.

Ces résultats de paramètres sanguins, combinés à ceux de la perte de poids, indiquent que dans notre modèle d'ALI, aucun des antagonistes n'a d'effet bénéfique sur l'état de santé général de la souris, tandis que la littérature rapporte des résultats divergents (soit neutres ou encourageants).

4.1.3: Analyses histologiques suite à l'agression induite par la bléomycine

Nos souris ont développé à J7 des dommages pulmonaires qui se présentaient sous la forme d'une atteinte hétérogène (avec des zones saines et d'autres présentant des dommages plus ou moins sévères au sein d'un même poumon), typique de l'ALI induit par la bléomycine administrée directement (de manière intratrachéale ou intranasale) (235,236). Les foyers lésionnels se caractérisaient entre autres par un épaissement du septa alvéolaire ainsi que par une infiltration de cellules immunitaires (notamment des neutrophiles) dans l'interstitium et la lumière alvéolaire, se traduisant par des scores de 0 (normal) à 3 (important épaissement/importante infiltration de cellules immunitaires). Sauf pour une souris se portant étonnement bien en tocilizumab, aucune amélioration notable ne fut apportée par les différents traitements avec les antagonistes des récepteurs de l'IL-1 et de l'IL-6, tant au niveau du pourcentage d'aire atteinte que des scores de dommages.

Wang *et al.* ont aussi rapporté un manque de bénéfice du Kineret sur le score histologique dans un modèle de LPS + ventilation mécanique (204). De manière intéressante, Kobayashi *et al.* ont démontré un effet néfaste de l'inhibition de l'IL-6 (et non de IL-6R) sur le score fibrotique d'Ashcroft à J7 (et aucun effet à J14) lorsque le traitement était effectué aux jours 0, 1 et 3, mais un effet bénéfique sur ce même score à J14 lorsque le traitement était effectué aux jours 8, 9 et 10 dans un modèle murin induit par instillation de bléomycine intranasale (3 mg/kg) (144). En contraste, des résultats positifs ont été observés pour le tocilizumab dans des modèles d'ALI induits par acide oléique, par LPS ou par une ligature cœcale et ponction (200–202).

Des résultats encourageants avaient aussi montré que le rytvela permettait de limiter les dommages pulmonaires (comptes et tailles alvéolaires, nombre de septas et épaisseur du parenchyme pulmonaire), qui pourraient aussi se qualifier de défauts de développement, dans des modèles de prématurité murine induite par l'IL-1 β ou par LPS. Lorsque comparée au Kineret dans ces modèles, l'efficacité de rytvela était égale ou supérieure (221,222).

Dans le cadre de futures études (pas nécessairement en lien avec les anti-inflammatoires), il serait pertinent de considérer induire des dommages histologiques légèrement plus importants en augmentant un peu la dose de bléomycine (de 3 à 4U). Cela aurait pour effet d'accroître le contraste entre les groupes contrôles (Salin-PBS et Salin-Bleo), permettant potentiellement à un groupe traitement de se démarquer plus facilement de ces derniers. Toutefois, il faut noter que la dose de bléomycine que nous avons utilisée a été optimisée pour éviter une trop forte mortalité. Pour des raisons éthiques, ce paramètre devrait donc être surveillé si la dose devait être augmentée.

De plus, plusieurs autres paramètres pourraient être mesurés afin d'obtenir un portrait plus complet de l'atteinte chez les souris instillées avec la bléomycine, traitées ou non avec les antagonistes. Par exemple, il serait possible d'effectuer des essais d'immunofluorescence ou d'immunohistochimie afin d'observer des marqueurs indicatifs de l'intégrité des jonctions serrées (ZO-1 [zonula occludens 1], occludine...) ou spécifiques des cellules de l'épithélium alvéolaire en elles-mêmes (proSP-C pour les ATII et AQP5 [aquaporine 5] ou podoplanine pour les ATI). Il serait aussi possible d'observer des marqueurs d'apoptose généraux (AIF [apoptosis-inducing factor],

caspase-3 activée...), des marqueurs de prolifération cellulaire (Ki67) ou même du IL-1R (afin de voir si sa régulation entraîne une modification de son expression et de pouvoir observer l'effet de la bléomycine sur ce dernier).

4.1.4 : Concentration en protéines dans les BALs, indice de dommage

La bléomycine entraînait aussi une augmentation de la concentration des protéines retrouvées dans les BALs qu'aucun des antagonistes n'a réussi à prévenir, indiquant une perte d'intégrité de la barrière alvéolo-capillaire et la formation typique d'un œdème pulmonaire riche en protéines. Dans la littérature, Engeroff *et al.* ont démontré un effet positif du Kineret sur la quantité de protéines retrouvée dans les BALs (modèle de LPS), ce qui ne fut pas le cas pour Jones *et al.* et pour Wang *et al.* (tous deux dans des modèles de LPS + ventilation mécanique) (203,204,230).

Ces résultats, combinés aux résultats des scores histologiques, nous ont permis de conclure que dans notre modèle, les différents antagonistes du IL-1R et du IL-6R n'ont pas d'effet sur les dommages pulmonaires alors que dans la littérature, les résultats sont mitigés.

4.1.5 : Indice d'œdème pulmonaire

Outre les protéines de BAL détectées en plus grande quantité, l'augmentation du ratio « Water-Lung-Content » (WLC) indiquait elle aussi la formation d'un œdème pulmonaire, non prévenu par les traitements aux antagonistes, chez les souris instillées avec de la bléomycine. En contraste, la littérature a rapporté des effets bénéfiques du Kineret (« excess lung water » dans un modèle de VILI chez le rat) ainsi que du tocilizumab (ratio « wet to dry » dans un modèle de CLP chez le rat) pour des paramètres similaires (202,229).

Nous avons considéré inclure l'œdème pulmonaire dans notre analyse histologique, mais cet élément n'était pas observable dans nos échantillons (probablement à cause du formol injecté dans les poumons afin de maintenir les alvéoles ouvertes). Un des désavantages du ratio WLC est qu'il est non spécifique puisqu'il prend notamment en compte la masse des cellules immunitaires infiltrées ainsi que l'œdème interstitiel. Afin d'analyser de manière plus isolée la perméabilité alvéolo-capillaire, il aurait été possible d'utiliser des techniques telles que celle d'extravasation du bleu d'Evans.

4.1.6 : Réponse inflammatoire suite au challenge par la bléomycine

La bléomycine a entraîné une hausse des divers marqueurs pro-inflammatoires observés, soit le nombre de cellules totales ainsi que le pourcentage de neutrophiles retrouvés dans les BALs et les niveaux d'expression dans les poumons totaux de diverses cytokines caractéristiques d'un profil SDRA (MCP-1 [chimioattractant de macrophages], KC [l'équivalent murin de l'IL-8, un chimioattractant de neutrophiles], TNF- α et IL-6). Bien qu'une légère tendance à la baisse (suite au traitement avec les antagonistes, en comparaison au groupe Salin-Bleo) ait été observable pour la moyenne de chacun de ces paramètres, aucune diminution statistiquement significative n'a pu être mesurée. La littérature a rapporté beaucoup de résultats divergeant quant à l'effet du Kineret ou du tocilizumab sur la réponse inflammatoire. Ces observations contradictoires s'expliquent probablement par les différents modèles d'ALI utilisés ainsi que par d'autres variables méthodologiques (dose, fréquence, méthode d'instillation...) (200–204,229,230,237,238).

Dans un modèle d'ALI induit par la bléomycine (15 mg/kg en intranasal, ce qui est très élevé comparé à la dose que nous avons utilisée [3 U/kg, correspondant à environ 1.5 à 2 mg/kg]), le Kineret (10 mg/kg en intrapéritonéal, aux deux jours) a permis de diminuer le pourcentage de neutrophiles infiltrés à J1 et à J14 ainsi que les niveaux de KC, d'IL-1 β et d'IL-6 à J0 (mesurés par ELISA) (237). Kobayashi *et al.* ont quant à eux montré que l'administration d'un anticorps anti-IL-6 aux jours 0, 1 et 2 suivant une instillation de bléomycine (3 mg/kg) entraînait une augmentation du nombre de cellules totales ainsi que de la proportion de neutrophiles retrouvés dans les BALs à J7 (144). Je reviens plus en détail sur les différences méthodologiques entre ces études et la nôtre dans la section 4.4.4. Une autre étude a rapporté que malgré l'inhibition du IL-1R (induite par la production d'IL-1Ra recombinant humain via un adénovirus), chez de souris C57BL/6, le nombre de neutrophiles ainsi que le nombre total de cellules à J3 post-instillation de bléomycine (0.1 U) n'étaient pas différent du groupe contrôle-Bleo (239).

Le fait que le niveau d'IL-6 n'ait pas diminué suite au traitement avec les différents antagonistes peut s'expliquer par le fait qu'inhiber un récepteur n'équivaut pas à empêcher la production de la cytokine d'intérêt. De plus, bien que l'activation du IL-1R entraîne théoriquement la production secondaire d'IL-1 β et d'IL-6 (et que l'on pourrait donc s'attendre à une diminution de ces

cytokines suite au blocage du IL-1R) (66), dans le modèle de bléomycine, l'œdème et les dommages peuvent perpétuer l'inflammation, par exemple suite à la détection des DAMPs (voir section 1.6.4). Ces résultats nous ont donc menés à poser l'hypothèse que dans notre modèle de bléomycine, l'activation des récepteurs d'IL-1 et d'IL-6 ne semble pas être l'un des mécanismes principalement responsables des différentes atteintes observées, puisque les antagonistes les visant ne permettent pas de prévenir cette atteinte.

Nous avons tenté également de mesurer les niveaux d'IL-1 β , une autre cytokine pro-inflammatoire jouant un rôle important en SDRA ainsi que d'IL-10, une cytokine anti-inflammatoire. Pour l'IL-10, le signal était trop faible pour être amplifié alors que l'IL-1 β ne semblait pas être induit par la bléomycine. Ceci s'explique probablement par le fait que le pic d'IL-1 β suite à l'instillation de bléomycine ait été rapporté entre 6 h et 63 h (43), alors que nos mesures ont été réalisées à J7. Ainsi, notre étude aurait été renforcée par des mesures à des temps plus précoces (voir section 4.2). Il pourrait également être intéressant d'étudier l'expression d'autres cytokines ou alarmines, tel que RAGE (indice de dommages cellulaires), HMGB1 (high mobility group box 1), IL-1 α (qui agit aussi sur IL-1R) ou IL-1Ra endogène.

De plus, il pourrait être pertinent de comparer les résultats d'expressions géniques (en RT-qPCR) et protéiques (en ELISA). Effectué sur les poumons totaux, cela permettrait de confirmer que la hausse en ARNm correspond à une hausse de la protéine d'intérêt, alors qu'effectué sur les BALs, cela permettrait de mesurer la quantité de cytokines sécrétées dans l'espace alvéolaire. Une analyse des cytokines présentes dans le sang pourrait aussi permettre d'évaluer l'inflammation systémique.

Une autre perspective intéressante serait d'analyser le contenu cellulaire des BALs grâce à la cytométrie en flux. En plus de nous permettre d'obtenir un compte total et différentiel plus précis, cette méthode nous permettrait d'obtenir des informations supplémentaires telles que l'état d'activation des macrophages (plutôt pro- ou anti-inflammatoires) ou la présence de cellules épithéliales desquamées.

4.1.7 : Résumé de l'interprétation des résultats obtenus

En résumé, aucun des antagonistes n'a permis d'améliorer les différents paramètres dans notre modèle d'ALI induit par la bléomycine à J7. La littérature montre plusieurs résultats conflictuels concernant les effets du Kineret et du tocilizumab et le modèle animal utilisé semble être une des causes importantes des divergences observées. Cet aspect est discuté plus en détail à la section 4.4. Concernant le rytvela, il y a peu d'études disponibles en ce moment abordant son effet thérapeutique sur les poumons et celles trouvées sont dans des modèles de prématurité, ce qui est très différent du modèle d'ALI chez l'adulte induit par la bléomycine, présentant une composante lésionnelle importante. De plus, puisque le HSJ633 est un nouveau peptide thérapeutique, aucune étude l'utilisant n'a été publiée à ce jour. Ces deux peptides (rytvela et HSJ633), malgré leur capacité d'inhibition partielle des récepteurs de l'IL-1 et de l'IL-6 permettant de conserver l'activation de certaines voies cytoprotectrices, n'ont pas permis d'obtenir des résultats supérieurs au tocilizumab et au Kineret.

D'autres conditions expérimentales, dont notamment les méthodes, fréquences et doses d'administration pourraient aussi expliquer les différences observées entre les études de la littérature, ainsi qu'entre ces études et les résultats présentés dans ce mémoire. Par exemple, plusieurs études ont utilisé des injections intrapéritonéales pour administrer le traitement, alors que nous utilisons des injections sous-cutanées (200–202). Il est aussi possible que les doses que nous avons utilisées pour les différents antagonistes n'aient pas été optimales. Les doses d'antagonistes rapportées dans la littérature dans des modèles murins d'ALI étaient pour le tocilizumab environ de 2 à 10 mg/kg avec une à trois injections au total (200–202) et pour le Kineret environ de 10 à 100 mg/kg par jour (203,204,237,238). Pour rytvela dans des modèles murins de prématurité induit par LPS ou par l'IL-1 β , la dose était de 1 mg/kg deux fois par jour (221,222). En comparaison, nos doses par injection sous-cutanée (biquotidiennes pendant 7 jours) étaient de 10 mg/kg pour le tocilizumab, 12,5 mg/kg pour le Kineret et 1 mg/kg pour le rytvela et le HSJ633. Je discute plus en profondeur des doses utilisées dans la section suivante (4.2).

Il est également possible que notre mode d'injection explique pourquoi aucun effet bénéfique des antagonistes n'a été retrouvé dans notre modèle, contrastant avec ce qui est rapporté dans

la littérature. Cependant, de manière intéressante et au meilleur de mes connaissances, aucune étude n'ayant utilisé le modèle d'ALI induit par la bléomycine n'a trouvé d'effet bénéfique à J7 (ou aux alentours) à la suite d'une inhibition des voies de l'IL-1 ou de l'IL-6, quel que soit le mode d'injection. Des effets bénéfiques pour ce modèle d'ALI ont cependant été rapportés à J1 ou encore à J14 et des effets néfastes de l'inhibition d'IL-6 ont même été rapportés à J7 (144,237).

Considérant tous ces faits, notre hypothèse est que l'utilisation d'antagonistes (bloquant de manière complète ou partielle certains récepteurs) est simplement inefficace à J7 dans notre modèle d'ALI induit par la bléomycine (ainsi que potentiellement dans les modèles d'ALI ou dans les cas de SDRA hautement lésionnels), tel que détaillé à la section 4.4.4.

4.2 : Limitations de l'étude

Comme dans toutes les études, les conclusions pouvant être tirées des résultats que j'ai obtenus dans le cadre de ma maîtrise sont intrinsèquement liées au contexte des expériences menées. L'une des limitations de notre étude est que nous avons pris nos mesures à J7 seulement. Nous avons choisi ce temps, car il correspond au pic de la phase aiguë, au moment où plusieurs paramètres intéressants peuvent être analysés (43). Cependant, il se pourrait que les antagonistes du IL-1R et du IL-6R que nous avons étudiés aient un effet plus notable à un temps plus précoce (J1 à J3) ou encore lors de la phase fibrotique/proliférative (J14 ou J21). Nos essais préliminaires indiquaient toutefois des résultats peu encourageants des antagonistes en analyse histologique à J14.

De plus, comme mentionnés dans l'introduction, plusieurs éléments diffèrent entre la souris et l'humain, et même entre les souches de souris, tels que la taille, le fonctionnement du système immunitaire, l'anatomie du système respiratoire ou encore la sensibilité à la bléomycine (43). Cette dernière peut varier en fonction de divers paramètres, comme l'abondance pulmonaire en bléomycine hydrolase (permettant de dégrader la bléomycine) ou encore différents niveaux d'expression de certains gènes (entre autres antioxydants ou reliés à l'apoptose) (43,240–242). Cela fait en sorte que les souris de souche C57BL/6 (qui sont souvent utilisées dans les différents modèles d'ALI) sont considérées comme étant sensibles à la bléomycine alors que la souche de souris Balb/c ainsi que les lapins sont plus résistants (43,241).

Il faut aussi prendre en compte que dans notre modèle, les souris ont commencé à être traitées avec les antagonistes au même moment que l'induction de l'insulte, ce qui ne reflète pas la réalité des patients, où le traitement serait probablement initié suite au diagnostic du SDRA. Les stratégies d'injections utilisées dans notre étude sont aussi différentes de celles utilisées en clinique. Pour le Kineret, dont la demi-vie est d'environ 6h, la dose recommandée pour le SDRA causé par la COVID-19 est équivalente à en moyenne 1.25 mg/kg de manière sous-cutanée pendant 10 jours. Notre dose est plus élevée, avec 12.5 mg/kg aux 12h (243). Pour le tocilizumab, une dose unique de 8 mg/kg pour les patients adultes de moins de 100 kg en intraveineux est recommandé, ce qui est largement plus bas que ce que nous administrions, soit 10 mg/kg à toutes les 12h. De plus, le tocilizumab a une demi-vie de longue durée, qui est d'environ 13 jours, mais qui varie en fonction de la dose administrée, et c'est une molécule qui tend à se bioaccumuler. Quant aux peptides, leur pharmacocinétique complète n'est pas publiée à ce jour et ils ne sont pas encore utilisés en clinique, mais on s'attend à de courtes demi-vies (<1h). L'écart entre les doses que nous avons administrées et celles utilisées en clinique, ainsi que l'absence de tests de dose fonctionnelle ou encore prouvant l'inhibition des récepteurs par les antagonistes sont des limitations importantes de notre étude. Toutefois, il est difficile de comparer et d'extrapoler les doses administrées en clinique chez l'humain, avec celles utilisées dans des modèles expérimentaux animaux tels que le nôtre.

Finalement, le modèle de bléomycine, comme tous les modèles animaux d'ALI, n'est pas parfait. J'en discute plus en détail dans la section suivante.

4.3 : Critique du modèle d'ALI induit par la bléomycine

Aeffner *et al.* ont proposé une liste de critères à atteindre afin de diagnostiquer un animal comme en SDRA (224). Plus précisément, les animaux doivent montrer au moins un critère très pertinent (en contraste aux critères un peu importants) dans trois de quatre catégories pour obtenir le diagnostic. La première catégorie est la présence de dommages pulmonaires observés de manière histologique. Parmi les critères proposés, les animaux de notre étude en rencontraient trois très importants : une accumulation alvéolaire de neutrophiles, un épaissement des parois alvéolaires ainsi qu'un score histologique révélant la présence de dommages pulmonaires.

La deuxième caractéristique à observer est une altération de la barrière alvéolo-capillaire, qui s'est manifesté dans nos animaux par une augmentation des protéines dans les BALs (critère très important) ainsi que par une augmentation du ratio « water-lung-content » (critère un peu important).

Au niveau de la réponse inflammatoire, qui est le troisième critère à observer, une augmentation des neutrophiles dans les BALs ainsi qu'une augmentation de l'expression des cytokines pro-inflammatoires dans les poumons totaux étaient les deux critères importants qui furent mesurés et atteints pour nos animaux.

La quatrième catégorie est celle des dysfonctions physiologiques. Nous n'avons pas mesuré de critères dans cette catégorie, puisqu'ils concernent des mesures d'oxygène (nous avons utilisé du sang veineux pour nos mesures de gaz sanguin, ne nous permettant pas de conclure quant à l'hypoxie). Cependant, le fait que nous ayons observé dans le sang veineux une acidification du pH combinée à une augmentation du pCO₂, signes d'une acidose respiratoire (36), indique une défaillance de la capacité à excréter le CO₂ chez une grande partie des animaux instillés à la bléomycine. Cette observation reste donc intéressante pour juger d'une dysfonction physiologique même si elle n'est pas énumérée par Aeffner *et al.* Une autre technique, qui aurait pu être utilisée pour juger de la défaillance pulmonaire et qui a déjà été effectuée avec succès sur des souris dans notre laboratoire est l'utilisation d'un appareil tel que le flexiVent, qui permet de mesurer différents paramètres de fonction pulmonaires comme la compliance et l'élastance (18).

Ainsi, le modèle d'ALI induit par la bléomycine, tel qu'effectué dans notre étude, rencontre les critères mis en place par Aeffner *et al.*

Matute-Bello *et al.* proposent aussi certains critères permettant d'obtenir le meilleur modèle (mais jamais parfait) d'ALI mimant le SDRA (43). Ces derniers sont semblables à ceux d'Aeffner *et al.*, incluant entre autres la présence au niveau pulmonaire de dommages aigus, d'inflammation et d'un œdème, mais Matute-Bello *et al.* apportent deux notions supplémentaires. La première est celle de temporalité : l'atteinte, initialement aiguë, devrait idéalement progresser à travers le temps. Or, le modèle de bléomycine se développe bien dans le temps, avec la première phase aiguë exsudative atteignant un pic à jour 7, suivie de la phase

fibroproliférative qui est habituellement observée des jours 14 à 21. Nous avons d'ailleurs fait quelques tests à J14 pour l'étude dont il est question dans ce mémoire, mais considérant le manque de résultats encourageants à J7 ainsi que dans des tests à J14, nous avons décidé de ne pas poursuivre dans cette direction pour l'instant.

La 2^e notion intéressante apportée par Matute-Bello *et al.* est que le modèle devrait viser à mimer non seulement les symptômes du SDRA, mais aussi les mécanismes le causant. Or, bien que le modèle d'ALI induit par la bléomycine soit assez bon pour répliquer les atteintes, il n'en est pas de même pour la cause. La bléomycine, normalement utilisée comme traitement de chimiothérapie, entraîne des cassures d'ADN et cause la mort des cellules alvéolaires (au moins en partie par le mécanisme de pyroptose). Cela cause des dommages tissulaires importants entraînant par le fait même un œdème pulmonaire ainsi que de l'inflammation, menant au développement d'un SDRA. Or, bien que certaines causes de SDRA entraînent directement d'importantes lésions (ex : aspiration de liquide gastrique, trauma pulmonaire, presque noyade...), ces dernières ne sont pas dues au même mécanisme d'action que la bléomycine. De plus, de nombreuses causes de SDRA ont une importante composante infectieuse (pneumonie, septicémie, aspiration de liquide gastrique...) et chez l'humain, les interventions thérapeutiques (notamment la ventilation si elle n'est pas suffisamment protectrice) peuvent être des sources supplémentaires d'insulte (43,109).

Plusieurs des études dont j'ai discuté jusqu'à maintenant sont intéressantes puisqu'elles permettent justement d'observer les effets du Kineret et du tocilizumab dans des modèles ayant une composante inflammatoire plus importante et/ou incluant les potentiels dommages amplifiés par la ventilation. Or, il serait intéressant de tester les antagonistes dans d'autres modèles d'ALI. Les modèles de « double hit », utilisant par exemple du LPS combiné à du poly I : C, puisqu'ils activent plusieurs voies inflammatoires, sont des options intéressantes, car ils permettent de se rapprocher de la réalité d'une infection. Utiliser un modèle d'ALI dans lequel le Kineret et le tocilizumab ont déjà montré une certaine efficacité (tel que dans le modèle de LPS) permettrait de comparer les effets des deux composés commerciaux à ceux des peptides dans un contexte pulmonaire. Il pourrait aussi être pertinent d'induire directement une septicémie ou une pneumonie aux souris, mais cela comporte plusieurs défis et désavantages tels que l'accès à de

l'hébergement murin en niveau de confinement 2 ou 3, la nécessité d'effectuer une chirurgie invasive, le haut taux de mortalité, une faible atteinte pulmonaire possible et la grande variabilité biologique observable (43).

4.4 : Comparaison des résultats obtenus avec la littérature : accent sur les différents modèles animaux d'ALI

4.4.1 : Modèles d'ALI induits majoritairement par l'inflammation

Plusieurs études utilisant les modèles de LPS (détaillé à la section 1.11.2) et/ou de VILI (détaillé à la section 1.11.3) ont rapporté des résultats encourageants du Kineret et du tocilizumab. Pour le modèle avec LPS seulement, divers mécanismes pro-inflammatoires sont les principaux responsables de l'induction des dommages ainsi que de l'œdème pulmonaire. Or, comme décrit à la section 1.9.5, l'IL-1 β et l'IL-6 en particulier peuvent causer, par divers mécanismes, de multiples atteintes au parenchyme pulmonaire et il est donc logique que de bloquer ces voies avec le Kineret (203) ou le tocilizumab (200) ait un impact positif sur les différents paramètres de l'ALI. Une conclusion similaire peut être tirée pour les études utilisant d'autres modèles où l'inflammation est une source importante de dommages, tels que la combinaison de VILI+LPS, la ligature caecale et ponction (CLP), l'utilisation de poly I : C (avec protéine spike de SRAS-CoV-2) ou encore de ricine (199,201,204,230,238).

En bref, dans ces modèles induits majoritairement par l'inflammation, les résultats sont plutôt encourageants alors que dans notre étude, aucun impact bénéfique des antagonistes n'a pu être relevé. Cette divergence peut probablement être expliquée par le fait que dans notre modèle, la cause initiale principale des atteintes observées à J7 ne semble pas due à l'inflammation médiée par le IL-1R ou le IL-6R. Nous avons d'ailleurs trouvé des résultats similaires pour un modèle d'ALI induit par la bléomycine dans lequel les souris étaient traitées avec du dexaméthasone (un anti-inflammatoire à large spectre qui avait aussi un effet délétère sur la réparation épithéliale, lorsque testé *in vitro*) (179). Les implications des conclusions de cette section ainsi que des prochaines, pour le traitement des patients atteints du SDRA, sont discutées au Chapitre 5 .

4.4.2 : Modèle de VILI

Le modèle de VILI est détaillé à la section 1.11.3. Une étude en VILI seulement (30 ml/kg sans PEP) sur des rats a rapporté que le Kineret (10 mg/kg/h en infusion continue dans la veine jugulaire) permettait d'améliorer le statut inflammatoire (niveau de CXCL1 qui est un orthologue d'IL-8 et nombre de neutrophiles), la perméabilité et l'œdème pulmonaire en plus de minimiser significativement l'augmentation en PaO₂ (pression artérielle en oxygène) et la perte de compliance du système respiratoire après 4 h (en comparaison à des rats ayant reçu de la saline seulement) (229). L'hypothèse des auteurs est que l'inhibition du IL-1R permettrait de minimiser le recrutement alvéolaire de neutrophiles et donc permettrait d'éviter les dommages qui auraient résulté de leur infiltration.

De nouveau, comme exposé à la section précédente, les résultats positifs obtenus dans cette étude pourraient être expliqués par la nature inflammatoire du modèle utilisé. Évidemment, pour ces études ainsi que pour toutes les autres, des différences méthodologiques (notamment au niveau des voies d'administration [en intraveineux vs sous-cutané], fréquences et dose d'administration [dose unique dans un modèle court vs dose biquotidienne pour un modèle sur 7 jours]) peuvent aussi avoir contribué aux divergences observées.

4.4.3 : Modèle d'ALI induit par l'acide oléique

Terzi *et al.* ont observé l'effet de tocilizumab (4 mg/kg, intrapéritonéal) dans un modèle d'ALI induit chez des rats par l'acide oléique (50 µl, IV), un modèle court qui comporte une atteinte initialement endothéliale qui se répand par la suite à l'épithélium alvéolaire (43,201). Les auteurs proposent que le tocilizumab serait cytoprotecteur via un effet antioxydant. Plus précisément, leur modèle a induit une hausse des niveaux de peroxydation des lipides ainsi qu'une diminution du niveau ou de l'activité de différentes enzymes antioxydantes (glutathion, superoxyde dismutase et catalase) et ces différents paramètres furent tous améliorés par un traitement avec du tocilizumab (2 et/ou 4 mg/kg). Bien que le mécanisme exact par lequel le tocilizumab a un tel effet antioxydant reste à préciser, l'observation d'une telle propriété a été rapportée par d'autres auteurs (244,245). Cependant, de manière intéressante, certaines études ont plutôt rapporté que l'IL-6 en soit serait protecteur contre l'oxydation, par des mécanismes tels que l'activation de Nrf2

(un facteur de transcription redox sensible) dans le cadre de traitements de radiothérapie, ou encore l'induction de Bcl-2 via la voie PI3K/Akt (une famille de protéines régulant l'apoptose) dans des modèles de dommages mitochondriaux induits par hyperoxie (246,247).

Ces résultats sont particulièrement intéressants, puisque l'effet cytotoxique de la bléomycine est grandement dû à son effet oxydant (43,225–227,248). Certaines études ont d'ailleurs rapporté des effets bénéfiques de traitements antioxydants (combinés ou non à des traitements chélateurs de fer) dans des modèles de fibrose induite par la bléomycine (249,250).

Il est possible que l'effet antioxydant de l'IL-6 soit médié via son effet anti-inflammatoire, et qu'il ne soit donc pas retrouvé dans notre modèle de bléomycine, puisque l'inflammation semble demeurer malgré l'utilisation des antagonistes. Il serait cependant intéressant de mesurer des paramètres similaires à ceux rapportés dans l'étude de Terzi *et al.* (peroxydation des lipides et niveaux d'enzymes antioxydantes) dans notre étude afin de mieux expliquer ces résultats divergents. Ces informations seraient aussi utiles pour caractériser notre modèle d'ALI induit par la bléomycine et pour mieux contextualiser les données en résultant.

De plus, étant donné les résultats contradictoires concernant l'effet d'IL-6 sur l'état oxydatif, cet aspect mériterait d'être approfondi, potentiellement en faisant une revue de la littérature mettant en relief d'une part le rôle des atteintes oxydatives en SDRA clinique (et ainsi la pertinence de s'y attarder dans les modèles animaux) et d'autre part l'effet de l'IL-6 ainsi que de son inhibition sur ces atteintes (étudié en clinique ou en laboratoire).

4.4.4 : Modèle d'ALI ou de fibrose induit par la bléomycine

Gasse *et al.* ont rapporté un effet positif du Kineret sur la concentration en cytokines pro-inflammatoires (KC, IL-6, IL-1 β et TIMP-1 [Tissue Inhibitor of Metalloproteinases] à J1) ainsi que sur le nombre de neutrophiles (J1, J14) retrouvés dans les BALs dans un modèle d'ALI induit par instillation de bléomycine (237).

Plusieurs différences méthodologiques pourraient expliquer la divergence observée entre les résultats rapportés par Gasse *et al.* et les nôtres. Premièrement, bien qu'aucune conversion précise d'unité en mg ou vice-versa ne soit disponible, la dose de bléomycine utilisée dans l'étude

de Gasse *et al.* (15 mg/kg) semblait environ 10 fois à la nôtre (3 U/kg, qui serait approximativement égal à 1,5 à 2 mg/kg), ce qui implique probablement une atteinte plus faible pour les souris de notre étude. Ensuite, la méthodologie d'administration du Kineret était aussi totalement différente (suite au challenge avec la bléomycine, 10 mg/kg en intrapéritonéal aux jours 0, 2, 4, 7 et 9 en comparaison à 12,5 mg/kg deux fois par jour pendant 7 jours pour notre protocole). En clinique, pour la COVID-19 dans un contexte nord-américain, le Kineret (dont la demi-vie est d'approximativement 6h) est normalement administré à des adultes pendant 10 jours à une dose de 100 mg (environ 1,25 mg/kg pour une personne de 80 kg) de manière sous-cutanée (243). Ainsi, la dose de Gasse *et al.*, qui est environ 5x moins élevée que la nôtre en considérant la fréquence d'administration, est la dose se rapprochant le plus de celle utilisée cliniquement. Cependant, étant donné la demi-vie d'environ 6h du Kineret, il est possible que l'inhibition des récepteurs de l'IL-1 n'ait pas toujours été absolue lors de leur étude.

Finalement, il est aussi fort possible que le temps auquel les mesures furent effectuées soit un des facteurs principaux expliquant les divergences observées. Dans notre modèle, les souris instillées à la bléomycine se portaient bien (perte de poids et observations lors des manipulations) jusqu'à jour 4, où nous remarquons une perte de vigueur ainsi qu'une perte de poids significative en comparaison aux souris contrôles (instillées seulement avec du PBS). Il serait donc possible de poser l'hypothèse que les dommages causés par la bléomycine sont probablement moins sévères avant J4 et que les antagonistes auraient pu avoir un effet plus notable (entre autres sur l'inflammation) avant ce temps, ce que nous n'avons pas mesuré. Cependant, Ortiz *et al.* ont eux aussi trouvé un manque d'effet bénéfique de l'IL-1Ra recombinant humain (qui n'est pas le Kineret et qui est induit par adénovirus ou sécrété par mini-pompe osmotique) dans des souris C57BL/6 instillées avec de la bléomycine (1 U) à J3 (compte de cellules totales et pourcentage de neutrophiles dans les BALs ainsi que niveau d'ARNm de TNF- α), 7 et 14 (niveau d'expression relative de l'ARNm de l'IL-1 α) (239).

Suite à la phase aiguë vers J7, la phase de réparation s'enclenche graduellement. Or, le papier de Gasses *et al.* s'intéresse particulièrement à cette phase et à l'effet potentiellement anti-fibrotique et anti-inflammatoire du Kineret. D'autres études ont aussi trouvé un effet bénéfique de divers IL-1Ra non endogènes dans des modèles de fibrose induite par la bléomycine (J14 et plus) (251–

253). Cependant, le résumé (l'article est malheureusement dans une langue que je ne maîtrise pas) d'un autre article rapporte au contraire n'avoir détecté aucun effet bénéfique d'une version recombinante humaine du IL-1Ra sur la fibrose pulmonaire induite par bléomycine chez des rats (254). De plus, de manière plus générale (dans un contexte pulmonaire, mais sans bléomycine), l'effet anti-fibrotique de divers antagonistes de l'IL-1R ne semble pas unanime (255).

En contraste à ces articles, nous avons plutôt étudié la capacité de deux IL-1Ra (et de deux IL-6Ra) à minimiser l'inflammation, les dommages, l'œdème ainsi que la perte de capacité pulmonaire à J7. Il n'est pas impossible que le Kineret échoue à améliorer les différents paramètres de la phase aiguë du SDRA à J7, mais qu'il ait des effets anti-fibrotiques et anti-inflammatoires à J14, lorsque les dommages et l'œdème pulmonaires se sont partiellement résorbés.

D'ailleurs, Kobayashi *et al.* ont trouvé que d'inhiber l'IL-6 directement à l'aide d'anticorps (anti-IL-6, pas anti-IL-6R) dans un modèle murin avait des effets bénéfiques (notamment au niveau de la perte de masse et du score histologique à J14) lorsque le traitement était effectué en début de phase fibrotique (jour 8, 9 et 10 post instillation), mais néfastes (comptes cellulaires totaux et différentiels à J7 et score histologique aux J7 et 14) lorsqu'appliqué en début de phase inflammatoire (jours 0, 1 et 2) (144). Ces résultats viennent supporter l'hypothèse qu'une intervention en phase précoce de SDRA peut avoir des effets très différents d'une intervention en phase plus tardive. De plus, il s'agit de l'une des rares études à avoir rapporté un effet négatif de l'inhibition de l'IL-6 en SDRA, et cela dans un modèle d'ALI induit par la bléomycine et à J7. Ces résultats diffèrent malgré tout des nôtres (car nous n'observons pas un effet négatif, mais plutôt une absence d'effet des traitements).

Il existe aussi plusieurs différences méthodologiques entre l'étude de Kobayashi *et al.* et la nôtre. Premièrement, la dose de bléomycine utilisée semblait légèrement plus élevée (3 mg/kg, ce qui correspondait à environ 4,5 à 6 U/kg alors que nous utilisons 3 U/kg) et la méthode d'administration était légèrement différente (intratrachéale par atomisation du produit en comparaison à intranasale). Ensuite, l'anticorps utilisé était différent et ne ciblait pas le récepteur, mais bien la cytokine elle-même. Finalement, les périodes d'administration étaient différentes (deux fois par jour dans notre étude et à J0, 1, 2 ou 8, 9, 10, dans l'étude de Kobayashi *et al.*). En

comparaison, dans le cadre de la COVID-19, une dose unique de 8 mg/kg pour les patients adultes de moins de 100 kg en intraveineux est recommandée (256,257). Encore une fois, afin de mieux expliquer la divergence entre nos résultats et ceux rapportés dans la littérature, il serait pertinent de poursuivre nos expérimentations à des temps plus précoces ou plus tardifs. Il serait aussi intéressant de revoir les stratégies d'injection des différents composés en prenant en compte leur utilisation clinique ainsi que leur demi-vie.

Chapitre 5 : Perspectives

Considérant que les antagonistes du IL-1R et du IL-6R n'ont pas permis, dans notre modèle, d'améliorer les différents paramètres de l'ALI induit par la bléomycine à J7 et considérant les résultats contradictoires rapportés dans les articles quant aux effets du Kineret ou du tocilizumab dans divers modèles d'ALI, trois perspectives inspirées de la littérature et de nos travaux au laboratoire me semblent malgré tout prometteuses.

5.1 : Traitements proréparatoires et favorisant la résorption de l'œdème pulmonaire

Tous les patients atteints du SDRA ont en commun la formation d'un œdème pulmonaire ainsi qu'un certain niveau de dommages à la barrière alvéolo-capillaire. Bien que la stratégie de viser l'inflammation, qui peut parfois entraîner ou aggraver le SDRA, ne soit pas mauvaise, une stratégie plus efficace pourrait être d'essayer de réparer l'intégrité de la barrière alvéolo-capillaire et/ou d'améliorer la clairance de l'œdème pulmonaire. En effet, si la barrière alvéolo-capillaire n'est pas réparée (de manière structurelle et fonctionnelle), l'infiltration de liquide dans les alvéoles risque de se poursuivre. Cette atteinte résiduelle va inévitablement empêcher les échanges gazeux efficaces, entraîner des atélectasies et causer des dommages supplémentaires aux différentes structures alvéolaires, tout en contribuant à perpétuer l'inflammation (36). La réparation structurelle (présence d'un épithélium et d'un endothélium ayant un niveau de perméabilité appropriée) et fonctionnelle (sécrétion de surfactant activé, clairance liquidienne adéquate, etc.) de la barrière alvéolo-capillaire est donc nécessaire pour la guérison du SDRA et pour le rétablissement d'une compliance et d'une fonction pulmonaire convenable. Plusieurs pharmacothérapies visant à rétablir l'intégrité de la barrière sont à l'étude (chez l'humain ou *in vivo*) à ce jour, telles que l'utilisation d'exosomes, de cellules souches mésenchymateuses, de facteurs de croissance tels que GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor), de KGF ou encore d'activateurs de canaux tels que ENaC ou les canaux potassiques (168,169,171,172,175–177,258). Dans notre laboratoire, nous avons justement pu observer un

effet encourageant des activateurs de canaux potassiques *in vitro*, *in vivo* (19,37,259) ainsi que dans le modèle d'ALI induit par la bléomycine (publication de M. Aubin Vega à venir).

5.2 : Le phénotypage des patients et les traits traitables

Outre certains éléments qui définissent la condition, le SDRA se présente de manière très hétérogène. Un des éléments qui ressort de plus en plus dans la littérature est la pertinence de créer des groupes plus homogènes, ou en d'autres mots de réussir à distinguer certains phénotypes particuliers parmi les patients atteints de SDRA. Pour le patient, être associé à un phénotype pourrait permettre de mieux prédire, d'une part l'évolution clinique du SDRA, et d'autre part, la réponse à certains traitements.

Du point de vue des essais cliniques randomisés, enrôler des patients en fonction de leur classification dans certains phénotypes pourrait augmenter les chances de détecter l'efficacité d'un traitement testé. Dans ce contexte, il est alors question d'enrichissement pronostique (classification en fonction du développement prédit du SDRA) ou d'enrichissement prédictif (classification en fonction de la réponse prédite au traitement) (260).

Il existe plusieurs manières de classer les patients, tel qu'en fonction de la cause (directe, indirecte), de biomarqueurs (IL-1 β , IL-6, protéine C...), d'observations radiologiques ou physiologiques ou même en se basant sur des données omiques (de la génomique à la métabolomique). Idéalement, la classification permettrait de s'éloigner du concept de seuil (comme ceux de PaO₂/FiO₂ déterminant la sévérité du SDRA) pour favoriser la création de groupes distincts se basant sur l'analyse de plusieurs éléments (comme pour le phénotype hyperinflammatoire, rapporté dans de nombreuses études) (261). Dans une optique similaire, plusieurs auteurs suggèrent de focaliser les efforts sur les « traits traitables ». Par exemple, l'utilisation d'anti-inflammatoires pourrait être pertinente pour des patients ayant un SDRA de type hyperinflammatoire (107,260,262–265).

Récemment, certains résultats encourageants ont justement été observés suite à une classification pertinente des patients. Notamment, les patients atteints du SDRA causé par la COVID-19 (SDRAC) forment un groupe distinct pour lequel certains traitements

pharmacologiques, qui ne fonctionnaient pas en SDRA non COVID, se sont révélés efficaces (tels que le tocilizumab ; voir Figure 1.12 à la page 64). Une étude a même récemment montré que parmi les patients atteints de SDRAC, la ferritine était un biomarqueur prédictif de l'efficacité du traitement avec le tocilizumab (106). De plus, des améliorations significatives suite à divers traitements (auparavant non détectées) ont été observées dans plusieurs études suite à une seconde analyse où les patients étaient groupés de manière différente (162).

Au laboratoire, nous avons depuis bientôt un an la chance d'avoir des échantillons provenant de lavages broncho-alvéolaires de patients atteints de SDRA. La caractérisation de ces échantillons précieux pourrait nous permettre de contribuer à la création de catégorisation de patients et leur utilisation *in vitro* pour étudier, par exemple, la réponse des cellules alvéolaires primaires exposées aux BALS de patients SDRA, pourrait contribuer à identifier des cibles thérapeutiques potentielles en fonction des groupes créés. Il serait aussi vraiment intéressant de réussir à corrélér, de manière certaine, les phénotypes cliniques ou les traits traitables aux différents modèles d'animaux d'ALI. Par exemple, peut-être que le modèle d'ALI induit par LPS serait pertinent pour étudier le SDRA induit par pneumonie bactérienne, mais pas pour ceux induits par trauma pulmonaire. Cela améliorerait certainement la correspondance entre les résultats obtenus *in vivo* et ceux obtenus en clinique, qui est à l'heure actuelle décevante.

5.3 : Et les anti-inflammatoires ?

L'IL-1 β et l'IL-6 sont des cytokines pléiotropiques pour lesquelles les effets sont grandement dépendants du contexte. Il est fort probable que des antagonistes des récepteurs de l'IL-1 ou de l'IL-6 tels que ceux que nous avons testés aient un potentiel dans le traitement du SDRA, seuls ou en combinaison avec des thérapies proréparatrices ou favorisant la clairance de l'œdème pulmonaire. Cependant, plus de recherches sont nécessaires afin de pouvoir les utiliser au bon moment, pour des patients présentant un phénotype particulier ou un trait traitable validé, par exemple. De plus, étant donné les avantages intrinsèques à l'utilisation des peptides (voir section 1.10) et leur capacité à inhiber seulement certaines des voies en aval de l'IL-1 et de l'IL-6, il ne serait pas surprenant que ces molécules soient aussi ou plus efficaces que les anti-inflammatoires plus traditionnels.

Chapitre 6 : Conclusion

Les résultats obtenus dans le cadre de ma maîtrise montrent que d'inhiber le IL-1R (Kineret, rytvela) et/ou le IL-6R (tocilizumab, HSJ633) ne permet pas d'améliorer les différents paramètres observés (état général des animaux ainsi que dommages, œdème et statut inflammatoire pulmonaires) dans un modèle d'ALI induit par la bléomycine à J7. En contraste, la littérature montre un manque de consensus quant à l'impact exact de l'inhibition du IL-1R et du IL-6R, mais rapporte quand même plusieurs résultats encourageants. Les différents paramètres méthodologiques, dont entre autres le modèle animal utilisé, semblent être à la source d'une grande partie des divergences observées. Le développement de pharmacothérapies ayant des propriétés proréparatrices ou favorisant la clairance de l'œdème pulmonaire ainsi que le phénotypage approprié des patients (et la détermination de traits traitables) paraissent être des perspectives prometteuses, en combinaison avec lesquelles des traitements anti-inflammatoires pourraient être utiles.

Références bibliographiques

1. Weinberger SE, Cockrill BA, Mandel J. 1 - Pulmonary Anatomy and Physiology: The Basics. Dans: Weinberger SE, Cockrill BA, Mandel J, rédacteurs. Principles of Pulmonary Medicine (Seventh Edition) [En ligne]. Philadelphia : Elsevier; 2019. p. 1-18. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323523714000040>
2. Harkema JR, Carey SA, Wagner JG, Dintzis SM, Liggitt D. 6 - Nose, Sinus, Pharynx, and Larynx. Dans: Treuting PM, Dintzis SM, Montine KS, rédacteurs. Comparative Anatomy and Histology (Second Edition) [En ligne]. San Diego : Academic Press; 2018. p. 89-114. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128029008000063>
3. LadyofHats, Berru J (traducteur). Le système respiratoire est composé des voies respiratoires, des poumons, et des muscles respiratoires qui induisent les mouvements de l'air inspiré et expiré. [Illustration en ligne]. 2007 [cité le 31 mai 2022]. Disponible: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Respiratory_system_complete_fr.svg
4. Meyerholz DK, Suarez CJ, Dintzis SM, Frevert CW. 9 - Respiratory System. Dans: Treuting PM, Dintzis SM, Montine KS, rédacteurs. Comparative Anatomy and Histology (Second Edition) [En ligne]. San Diego : Academic Press; 2018. p. 147-62. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128029008000099>
5. Fraser RS. Histology and gross anatomy of the respiratory tract. Physiologic basis of respiratory disease. Citeseer; 2005;1-14.
6. Rock JR, Randell SH, Hogan BLM. Airway basal stem cells: a perspective on their roles in epithelial homeostasis and remodeling. Dis Model Mech [En ligne]. 1 sept 2010 [cité le 10 avr 2022];3(9-10):545-56. Disponible: <https://doi.org/10.1242/dmm.006031>
7. Mason RJ. Biology of alveolar type II cells. Respirology. janv 2006;11:S12-15.
8. Guillot L, Nathan N, Tabary O, Thouvenin G, Le Rouzic P, Corvol H, et al. Alveolar epithelial cells: master regulators of lung homeostasis. Int J Biochem Cell Biol. nov 2013;45(11):2568-73.
9. Bartels H. The air-blood barrier in the human lung. A freeze-fracture study. Cell Tissue Res. 18 mai 1979;198(2):269-85.
10. Frank JA. Claudins and alveolar epithelial barrier function in the lung. Annals of the New York Academy of Sciences [En ligne]. John Wiley & Sons, Ltd; 1 juin 2012 [cité le 21 févr 2023];1257(1):175-83. Disponible: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06533.x>

11. Dagenais A, Boncoeur É, Berthiaume Y. Transport du Na⁺ dans les poumons. *Med Sci (Paris)* [En ligne]. oct 2009;25(10):815-20. Disponible: <https://doi.org/10.1051/medsci/20092510815>
12. Flodby P, Kim YH, Beard LL, Gao D, Ji Y, Kage H, et al. Knockout Mice Reveal a Major Role for Alveolar Epithelial Type I Cells in Alveolar Fluid Clearance. *Am J Respir Cell Mol Biol* [En ligne]. American Thoracic Society - AJRCMB; 1 sept 2016 [cité le 15 févr 2023];55(3):395-406. Disponible: <https://doi.org/10.1165/rcmb.2016-0005OC>
13. Basset G, Crone C, Saumon G. Significance of active ion transport in transalveolar water absorption: a study on isolated rat lung. *J Physiol* [En ligne]. mars 1987 [cité le 21 févr 2023];384:311-24. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1192264/>
14. Hollenhorst MI, Richter K, Fronius M. Ion Transport by Pulmonary Epithelia. *J Biomed Biotechnol* [En ligne]. 2011 [cité le 22 févr 2023];2011:174306. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3205707/>
15. Downs C. Chapter 2 - Ion Transport and Lung Fluid Balance. Dans: Sidhaye VK, Koval M, rédacteurs. *Lung Epithelial Biology in the Pathogenesis of Pulmonary Disease* [En ligne]. Boston : Academic Press; 2017 [cité le 22 août 2023]. p. 21-31. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128038093000026>
16. Katz C, Bentur L, Elias N. Clinical implication of lung fluid balance in the perinatal period. *J Perinatol* [En ligne]. Nature Publishing Group; avr 2011 [cité le 22 août 2023];31(4):230-5. Disponible: <https://www.nature.com/articles/jp2010134>
17. Bardou O, Trinh NTN, Brochiero E. Molecular diversity and function of K⁺ channels in airway and alveolar epithelial cells. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* [En ligne]. American Physiological Society; 1 févr 2009 [cité le 18 févr 2021];296(2):L145-55. Disponible: <https://doi.org/10.1152/ajplung.90525.2008>
18. Aubin Vega M, Girault A, Adam D, Chebli J, Privé A, Maillé E, et al. Impact of KvLQT1 potassium channel modulation on alveolar fluid homeostasis in an animal model of thiourea-induced lung edema. *Front Physiol* [En ligne]. Frontiers; 2023;13:2729. Disponible: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2022.1069466/full>
19. Trinh NTN, Privé A, Kheir L, Bourret JC, Hijazi T, Amraei MG, et al. Involvement of KATP and KvLQT1 K⁺ channels in EGF-stimulated alveolar epithelial cell repair processes. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. oct 2007;293(4):L870-882.
20. Johnson MD, Bao HF, Helms MN, Chen XJ, Tigue Z, Jain L, et al. Functional ion channels in pulmonary alveolar type I cells support a role for type I cells in lung ion transport. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 28 mars 2006;103(13):4964-9.

21. Wong MH, Johnson MD. Differential Response of Primary Alveolar Type I and Type II Cells to LPS Stimulation. PLOS ONE [En ligne]. Public Library of Science; 31 janv 2013;8(1):e55545. Disponible: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055545>
22. Thorley AJ, Grandolfo D, Lim E, Goldstraw P, Young A, Tetley TD. Innate Immune Responses to Bacterial Ligands in the Peripheral Human Lung – Role of Alveolar Epithelial TLR Expression and Signalling. PLOS ONE [En ligne]. Public Library of Science; 15 juill 2011;6(7):e21827. Disponible: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021827>
23. Mason RJ, Dobbs LG. Alveolar Epithelium and Pulmonary Surfactant. Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine [En ligne]. 2016 [cité le 22 août 2023];134-149.e5. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7152382/>
24. Chua F, Laurent GJ. Fibroblasts. Dans: Laurent GJ, Shapiro SD, rédacteurs. Encyclopedia of Respiratory Medicine [En ligne]. Oxford : Academic Press; 2006. p. 213-9. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0123708796001563>
25. Fraser RS. Histology and gross anatomy of the respiratory tract. Dans: Physiologic basis of respiratory disease. BC Decker, Incorporated; 2005. p. 1-14. (Pmph USA Ltd Series).
26. Ushakumary MG, Riccetti M, Perl AT. Resident interstitial lung fibroblasts and their role in alveolar stem cell niche development, homeostasis, injury, and regeneration. Stem Cells Transl Med [En ligne]. 24 févr 2021 [cité le 27 févr 2023];10(7):1021-32. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8235143/>
27. Phan SH. Biology of Fibroblasts and Myofibroblasts. Proc Am Thorac Soc [En ligne]. 15 avr 2008 [cité le 4 mars 2023];5(3):334-7. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2645244/>
28. Orfanos SE, Mavrommati I, Korovesi I, Roussos C. Pulmonary endothelium in acute lung injury: from basic science to the critically ill. Dans: Pinsky MR, Brochard L, Mancebo J, Antonelli M, rédacteurs. Applied Physiology in Intensive Care Medicine 2: Physiological Reviews and Editorials [En ligne]. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg; 2012. p. 85-97. Disponible: https://doi.org/10.1007/978-3-642-28233-1_9
29. Shi T, Denney L, An H, Ho LP, Zheng Y. Alveolar and lung interstitial macrophages: Definitions, functions, and roles in lung fibrosis. Journal of Leukocyte Biology [En ligne]. John Wiley & Sons, Ltd; 1 juill 2021 [cité le 4 mars 2023];110(1):107-14. Disponible: <https://doi.org/10.1002/JLB.3RU0720-418R>
30. Allard B, Panariti A, Martin JG. Alveolar Macrophages in the Resolution of Inflammation, Tissue Repair, and Tolerance to Infection. Frontiers in Immunology [En ligne]. 2018;9. Disponible: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.01777>
31. Bissonnette EY, Lauzon-Joset JF, Debley JS, Ziegler SF. Cross-Talk Between Alveolar Macrophages and Lung Epithelial Cells is Essential to Maintain Lung Homeostasis. Frontiers

- in Immunology [En ligne]. 2020 [cité le 21 févr 2023];11. Disponible: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.583042>
32. Huang X, Xiu H, Zhang S, Zhang G. The Role of Macrophages in the Pathogenesis of ALI/ARDS. Mediators of Inflammation [En ligne]. Hindawi; 13 mai 2018 [cité le 29 avr 2021];2018:e1264913. Disponible: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2018/1264913/>
 33. Joshi N, Walter JM, Misharin AV. Alveolar Macrophages. Cellular Immunology [En ligne]. 1 août 2018;330:86-90. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008874918300054>
 34. Liegeois M, Legrand C, Desmet CJ, Marichal T, Bureau F. The interstitial macrophage: A long-neglected piece in the puzzle of lung immunity. Cellular Immunology [En ligne]. 1 août 2018;330:91-6. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008874918300418>
 35. Schyns J, Bureau F, Marichal T. Lung Interstitial Macrophages: Past, Present, and Future. J Immunol Res [En ligne]. 30 avr 2018 [cité le 27 févr 2023];2018:5160794. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5952507/>
 36. Matthay MA, Zemans RL, Zimmerman GA, Arabi YM, Beitler JR, Mercat A, et al. Acute respiratory distress syndrome. Nat Rev Dis Primers [En ligne]. Nature Publishing Group; 14 mars 2019 [cité le 26 avr 2021];5(1):18. Disponible: <https://www.nature.com/articles/s41572-019-0069-0>
 37. Girault A, Brochiero E. Evidence of K⁺ channel function in epithelial cell migration, proliferation, and repair. Am J Physiol Cell Physiol . 2013/11/06 éd. [En ligne]. American Physiological Society; 15 févr 2014;306(4):C307-19. Disponible: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24196531>
 38. Crosby LM, Waters CM. Epithelial repair mechanisms in the lung. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology [En ligne]. American Physiological Society; juin 2010 [cité le 21 août 2023];298(6):L715-31. Disponible: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajplung.00361.2009>
 39. Chambers RC. Abnormal wound healing responses in pulmonary fibrosis: focus on coagulation signalling. European Respiratory Review [En ligne]. European Respiratory Society; 1 déc 2008 [cité le 21 août 2023];17(109):130-7. Disponible: <https://err.ersjournals.com/content/17/109/130>
 40. Thannickal VJ, Toews GB, White ES, Lynch III JP, Martinez FJ. Mechanisms of Pulmonary Fibrosis. Annual Review of Medicine [En ligne]. 2004 [cité le 21 août 2023];55(1):395-417. Disponible: <https://doi.org/10.1146/annurev.med.55.091902.103810>
 41. Kubly J, Owen JA, Punt J, Stranford SA, Jones PP, Sautès-Fridman C. Immunologie. 2014.

42. Moldoveanu B, Otmishi P, Jani P, Walker J, Sarmiento X, Guardiola J, et al. Inflammatory mechanisms in the lung. *Journal of Inflammation Research* [En ligne]. Dove Medical Press; 9 août 2009;2:1-11. Disponible: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2147/jir.S4385>
43. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* [En ligne]. sept 2008 [cité le 3 nov 2021];295(3):L379-99. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2536793/>
44. Kirby AC, Coles MC, Kaye PM. Alveolar Macrophages Transport Pathogens to Lung Draining Lymph Nodes. *The Journal of Immunology* [En ligne]. 1 août 2009 [cité le 1 juin 2023];183(3):1983-9. Disponible: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901089>
45. Braciale TJ, Sun J, Kim TS. Regulating the adaptive immune response to respiratory virus infection. *Nat Rev Immunol* [En ligne]. Nature Publishing Group; avr 2012 [cité le 1 juin 2023];12(4):295-305. Disponible: <https://www.nature.com/articles/nri3166>
46. Riches DWH, Martin TR. Overview of Innate Lung Immunity and Inflammation. Dans: Alper S, Janssen WJ, rédacteurs. *Lung Innate Immunity and Inflammation: Methods and Protocols* [En ligne]. New York, NY : Springer; 2018 [cité le 31 mai 2023]. p. 17-30. (Methods in Molecular Biology). Disponible: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8570-8_2
47. Yang SC, Tsai YF, Pan YL, Hwang TL. Understanding the role of neutrophils in acute respiratory distress syndrome. *Biomedical Journal* [En ligne]. 1 août 2021 [cité le 21 juill 2022];44(4):439-46. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2319417020301499>
48. Mantovani A, Garlanda C. Humoral Innate Immunity and Acute-Phase Proteins. *New England Journal of Medicine* [En ligne]. Massachusetts Medical Society; 2 févr 2023 [cité le 28 juin 2023];388(5):439-52. Disponible: <https://doi.org/10.1056/NEJMra2206346>
49. Pandya PH, Wilkes DS. Complement system in lung disease. *Am J Respir Cell Mol Biol*. oct 2014;51(4):467-73.
50. Huber-Lang M, Younkin EM, Sarma JV, Riedemann N, McGuire SR, Lu KT, et al. Generation of C5a by Phagocytic Cells. *The American Journal of Pathology* [En ligne]. 1 nov 2002 [cité le 25 juill 2023];161(5):1849-59. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002944010644616>
51. Chiu C, Openshaw PJ. Antiviral B cell and T cell immunity in the lungs. *Nat Immunol* [En ligne]. Nature Publishing Group; janv 2015 [cité le 1 juin 2023];16(1):18-26. Disponible: <https://www.nature.com/articles/ni.3056>
52. Burgoyne RA, Fisher AJ, Borthwick LA. The Role of Epithelial Damage in the Pulmonary Immune Response. *Cells*. 15 oct 2021;10(10):2763.

53. Monjezi M, Jamaati H, Noorbakhsh F. Attenuation of ventilator-induced lung injury through suppressing the pro-inflammatory signaling pathways: A review on preclinical studies. *Molecular Immunology* [En ligne]. 1 juill 2021 [cité le 6 juin 2023];135:127-36. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0161589021001243>
54. Chen GY, Nuñez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev Immunol* [En ligne]. Nature Publishing Group; déc 2010 [cité le 15 juin 2023];10(12):826-37. Disponible: <https://www.nature.com/articles/nri2873>
55. Gabay C, Lamacchia C, Palmer G. IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Nat Rev Rheumatol* [En ligne]. Nature Publishing Group; avr 2010 [cité le 14 juin 2023];6(4):232-41. Disponible: <https://www.nature.com/articles/nrrheum.2010.4>
56. Weber A, Wasiliew P, Kracht M. Interleukin-1 (IL-1) pathway. *Sci Signal*. 19 janv 2010;3(105):cm1.
57. Voronov E, Dotan S, Krelin Y, Song X, Elkabets M, Carmi Y, et al. Unique Versus Redundant Functions of IL-1 α and IL-1 β in the Tumor Microenvironment. *Frontiers in Immunology* [En ligne]. 2013 [cité le 15 juin 2023];4. Disponible: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2013.00177>
58. Kelley N, Jeltema D, Duan Y, He Y. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. *Int J Mol Sci* [En ligne]. 6 juill 2019 [cité le 15 juin 2023];20(13):3328. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6651423/>
59. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev* [En ligne]. janv 2018 [cité le 15 juin 2023];281(1):8-27. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5756628/>
60. Saki N, Javan M, Moghimian-Boroujeni B, Kast RE. Interesting effects of interleukins and immune cells on acute respiratory distress syndrome. *Clin Exp Med* [En ligne]. 18 juin 2023 [cité le 28 juin 2023]; Disponible: <https://doi.org/10.1007/s10238-023-01118-w>
61. Manicone AM. Role of the pulmonary epithelium and inflammatory signals in acute lung injury. *Expert Rev Clin Immunol* [En ligne]. 1 janv 2009 [cité le 25 avr 2021];5(1):63-75. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2745180/>
62. Butt Y, Kurdowska A, Allen TC. Acute Lung Injury: A Clinical and Molecular Review. *Arch Pathol Lab Med* [En ligne]. 1 avr 2016 [cité le 2 sept 2023];140(4):345-50. Disponible: <https://doi.org/10.5858/arpa.2015-0519-RA>
63. Bhatia M, Moochhala S. Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome. *The Journal of Pathology* [En ligne]. 2004 [cité le 28 juin 2023];202(2):145-56. Disponible: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/path.1491>

64. Suter PM, Suter S, Girardin E, Roux-Lombard P, Grau GE, Dayer JM. High bronchoalveolar levels of tumor necrosis factor and its inhibitors, interleukin-1, interferon, and elastase, in patients with adult respiratory distress syndrome after trauma, shock, or sepsis. *Am Rev Respir Dis*. mai 1992;145(5):1016-22.
65. Ganter MT, Roux J, Miyazawa B, Howard M, Frank JA, Su G, et al. Interleukin-1 β Causes Acute Lung Injury via α v β 5 and α v β 6 Integrin–Dependent Mechanisms. *Circ Res* [En ligne]. 11 avr 2008 [cité le 5 juill 2023];102(7):804-12. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2739091/>
66. Dinarello CA, Ikejima T, Warner SJ, Orencole SF, Lonnemann G, Cannon JG, et al. Interleukin 1 induces interleukin 1. I. Induction of circulating interleukin 1 in rabbits in vivo and in human mononuclear cells in vitro - PubMed. *J Immunol* [En ligne]. 15 sept 1987 [cité le 15 août 2023];139(6):1902-10. Disponible: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3497982/>
67. Lukens J, Gross J, Kanneganti TD. IL-1 family cytokines trigger sterile inflammatory disease. *Frontiers in Immunology* [En ligne]. 2012 [cité le 15 juin 2023];3. Disponible: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2012.00315>
68. Franchi L, Eigenbrod T, Núñez G. TNF- α Mediate Sensitization to ATP and Silica via the NLRP3 Inflammasome in the Absence of Microbial Stimulation. *J Immunol* [En ligne]. 15 juill 2009 [cité le 11 oct 2023];183(2):792-6. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2754237/>
69. Boraschi D, Italiani P, Weil S, Martin MU. The family of the interleukin-1 receptors. *Immunological Reviews* [En ligne]. 2018 [cité le 21 juin 2023];281(1):197-232. Disponible: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/imr.12606>
70. Millar MW, Fazal F, Rahman A. Therapeutic Targeting of NF- κ B in Acute Lung Injury: A Double-Edged Sword. *Cells*. 21 oct 2022;11(20):3317.
71. Kircheis R, Haasbach E, Lueftenegger D, Heyken WT, Ocker M, Planz O. NF- κ B Pathway as a Potential Target for Treatment of Critical Stage COVID-19 Patients. *Frontiers in Immunology* [En ligne]. 2020 [cité le 27 août 2023];11. Disponible: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.598444>
72. Reddy SPM, Mossman BT. Role and regulation of activator protein-1 in toxicant-induced responses of the lung. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* [En ligne]. American Physiological Society; déc 2002 [cité le 23 août 2023];283(6):L1161-78. Disponible: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajplung.00140.2002>
73. Feng Y, Fang Z, Liu B, Zheng X. p38MAPK plays a pivotal role in the development of acute respiratory distress syndrome. *Clinics* [En ligne]. 1 janv 2019 [cité le 23 août 2023];74:e509. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1807593222006202>

74. Migliorini P, Italiani P, Pratesi F, Puxeddu I, Boraschi D. The IL-1 family cytokines and receptors in autoimmune diseases. *Autoimmunity Reviews*. 1 sept 2020;19(9):102617.
75. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [En ligne]. oct 2014 [cité le 6 juin 2023];6(10):a016295. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4176007/>
76. Kaur S, Bansal Y, Kumar R, Bansal G. A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorg Med Chem*. 1 mars 2020;28(5):115327.
77. Prins JR, Gomez-Lopez N, Robertson SA. Interleukin-6 in pregnancy and gestational disorders. *J Reprod Immunol* [En ligne]. 1 sept 2012;95(1):1-14. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165037812005852>
78. Kimura A, Kishimoto T. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. *Eur J Immunol*. juill 2010;40(7):1830-5.
79. Thomas R, Qiao S, Yang X. Th17/Treg Imbalance: Implications in Lung Inflammatory Diseases. *International Journal of Molecular Sciences* [En ligne]. Multidisciplinary Digital Publishing Institute; janv 2023 [cité le 5 juill 2023];24(5):4865. Disponible: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/5/4865>
80. Ritzmann F, Lunding LP, Bals R, Wegmann M, Beisswenger C. IL-17 Cytokines and Chronic Lung Diseases. *Cells*. 6 juill 2022;11(14):2132.
81. Luo W, Hu J, Xu W, Dong J. Distinct spatial and temporal roles for Th1, Th2, and Th17 cells in asthma. *Front Immunol*. 2022;13:974066.
82. Mihara M, Hashizume M, Yoshida H, Suzuki M, Shiina M. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond)*. févr 2012;122(4):143-59.
83. Rincon M, Irvin CG. Role of IL-6 in Asthma and Other Inflammatory Pulmonary Diseases. *Int J Biol Sci* [En ligne]. 25 oct 2012 [cité le 6 juin 2023];8(9):1281-90. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3491451/>
84. Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *International Immunology* [En ligne]. 1 mars 2021 [cité le 14 juin 2023];33(3):127-48. Disponible: <https://doi.org/10.1093/intimm/dxaa078>
85. Calabrese LH, Rose-John S. IL-6 biology: implications for clinical targeting in rheumatic disease. *Nat Rev Rheumatol* [En ligne]. Nature Publishing Group; déc 2014 [cité le 25 juill 2023];10(12):720-7. Disponible: <https://www.nature.com/articles/nrrheum.2014.127>
86. An J, Gu Q, Cao L, Yang H, Deng P, Hu C, et al. Serum IL-6 as a vital predictor of severe lung cancer. *Annals of Palliative Medicine* [En ligne]. AME Publishing Company; janv 2021 [cité

- le 25 août 2023];10(1):20209-20209. Disponible: <https://apm.amegroups.org/article/view/61171>
87. Ke W, Zhang L, Dai Y. The role of IL-6 in immunotherapy of non-small cell lung cancer (NSCLC) with immune-related adverse events (irAEs). *Thoracic Cancer* [En ligne]. 2020 [cité le 25 août 2023];11(4):835-9. Disponible: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1759-7714.13341>
 88. Dutta P, Sabri N, Li J, Li WX. Role of STAT3 in lung cancer - PMC. *JAKSTAT* [En ligne]. 20 janv 2015 [cité le 25 août 2023];3(4):e999503. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4580090/>
 89. Han J, Liu Y, Yang S, Wu X, Li H, Wang Q. MEK inhibitors for the treatment of non-small cell lung cancer. *J Hematol Oncol*. 5 janv 2021;14(1):1.
 90. Ishola AA, Chien CS, Yang YP, Chien Y, Yarmishyn AA, Tsai PH, et al. Oncogenic circRNA C190 Promotes Non-Small Cell Lung Cancer via Modulation of the EGFR/ERK Pathway. *Cancer Res*. 1 janv 2022;82(1):75-89.
 91. Wei CH, Wu G, Cai Q, Gao XC, Tong F, Zhou R, et al. Correction to: MicroRNA-330-3p promotes cell invasion and metastasis in non-small cell lung cancer through GRIA3 by activating MAPK/ERK signaling pathway. *J Hematol Oncol*. 9 janv 2018;11(1):6.
 92. Downward J. Targeting RAS and PI3K in lung cancer. *Nat Med* [En ligne]. Nature Publishing Group; déc 2008 [cité le 25 août 2023];14(12):1315-6. Disponible: <https://www.nature.com/articles/nm1208-1315>
 93. Gao H, Ward PA. STAT3 and suppressor of cytokine signaling 3: potential targets in lung inflammatory responses. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* [En ligne]. Taylor & Francis; 1 juill 2007 [cité le 23 août 2023];11(7):869-80. Disponible: <https://doi.org/10.1517/14728222.11.7.869>
 94. Montero P, Milara J, Roger I, Cortijo J. Role of JAK/STAT in Interstitial Lung Diseases; Molecular and Cellular Mechanisms. *Int J Mol Sci* [En ligne]. 9 juin 2021 [cité le 23 août 2023];22(12):6211. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8226626/>
 95. Ikegami M, Falcone A, Whitsett JA. STAT-3 regulates surfactant phospholipid homeostasis in normal lung and during endotoxin-mediated lung injury. *Journal of Applied Physiology* [En ligne]. American Physiological Society; 1 juin 2008 [cité le 10 mai 2023];104(6):1753-60. Disponible: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00875.2007>
 96. Zhang Y, Gao Z, Jiang F, Yan H, Yang B, He Q, et al. JAK-STAT signaling as an ARDS therapeutic target: Status and future trends. *Biochemical Pharmacology* [En ligne]. 1 févr 2023 [cité le 7 juill 2023];208:115382. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006295222004774>

97. Wee P, Wang Z. Epidermal Growth Factor Receptor Cell Proliferation Signaling Pathways. *Cancers (Basel)*. 17 mai 2017;9(5):52.
98. Boucherat O, Landry-Truchon K, Aoidi R, Houde N, Nadeau V, Charron J, et al. Lung development requires an active ERK/MAPK pathway in the lung mesenchyme. *Developmental Dynamics* [En ligne]. 2017 [cité le 25 août 2023];246(1):72-82. Disponible: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/dvdy.24464>
99. Kral JB, Kuttke M, Schrottmaier WC, Birnecker B, Warszawska J, Wernig C, et al. Sustained PI3K Activation exacerbates BLM-induced Lung Fibrosis via activation of pro-inflammatory and pro-fibrotic pathways. *Sci Rep* [En ligne]. 14 mars 2016 [cité le 25 août 2023];6:23034. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4789787/>
100. Hu X, Xu Q, Wan H, Hu Y, Xing S, Yang H, et al. PI3K-Akt-mTOR/PFKFB3 pathway mediated lung fibroblast aerobic glycolysis and collagen synthesis in lipopolysaccharide-induced pulmonary fibrosis. *Lab Invest*. juin 2020;100(6):801-11.
101. Wang J, Hu K, Cai X, Yang B, He Q, Wang J, et al. Targeting PI3K/AKT signaling for treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Acta Pharm Sin B* [En ligne]. janv 2022 [cité le 25 août 2023];12(1):18-32. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8799876/>
102. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA*. 20 juin 2012;307(23):2526-33.
103. Riviello ED, Kiviri W, Twagirumugabe T, Mueller A, Banner-Goodspeed VM, Officer L, et al. Hospital Incidence and Outcomes of the Acute Respiratory Distress Syndrome Using the Kigali Modification of the Berlin Definition. *Am J Respir Crit Care Med* [En ligne]. American Thoracic Society - AJRCCM; janv 2016 [cité le 25 juill 2023];193(1):52-9. Disponible: <https://www.atsjournals.org/doi/10.1164/rccm.201503-0584OC>
104. Matthay MA, Arabi Y, Arroliga AC, Bernard G, Bersten AD, Brochard LJ, et al. A New Global Definition of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* [En ligne]. American Thoracic Society - AJRCCM; 24 juill 2023 [cité le 11 oct 2023]; Disponible: <https://www.atsjournals.org/doi/10.1164/rccm.202303-0558WS>
105. Griffiths MJD, McAuley DF, Perkins GD, Barrett N, Blackwood B, Boyle A, et al. Guidelines on the management of acute respiratory distress syndrome. *BMJ Open Respir Res*. 2019;6(1):e000420.
106. Tom J, Bao M, Tsai L, Qamra A, Summers D, Carrasco-Triguero M, et al. Prognostic and Predictive Biomarkers in Patients With Coronavirus Disease 2019 Treated With Tocilizumab in a Randomized Controlled Trial*. *Crit Care Med* [En ligne]. mars 2022 [cité le 1 mai 2023];50(3):398-409. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8855771/>

107. Bos LDJ, Ware LB. Acute respiratory distress syndrome: causes, pathophysiology, and phenotypes. *The Lancet* [En ligne]. 1 oct 2022;400(10358):1145-56. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673622014854>
108. Bellani G, Laffey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, et al. Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries. *JAMA*. 23 févr 2016;315(8):788-800.
109. Monahan LJ. Acute respiratory distress syndrome. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. déc 2013;43(10):278-84.
110. Boucher PE, Taplin J, Clement F. The Cost of ARDS: A Systematic Review. *Chest* [En ligne]. 1 mars 2022;161(3):684-96. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0012369221038290>
111. World Health Organization [WHO] [En ligne]. World Health Organization. Weekly epidemiological update on COVID-19 - 22 February 2023; [cité le 22 févr 2023]. Disponible: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19--22-february-2023>
112. Hu Y, Sun J, Dai Z, Deng H, Li X, Huang Q, et al. Prevalence and severity of corona virus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol* [En ligne]. 1 juin 2020;127:104371. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138665322030113X>
113. Mahmood S, Garza J, Anwar A, Saragadam S, Del Nogal GP, Sharif M, et al. 246: The contribution of COVID-19 to ARDS-related mortality in the united states. *Crit Care Med* [En ligne]. 2023;51(1):108. Disponible: https://journals.lww.com/ccmjournal/Fulltext/2023/01001/246__THE_CONTRIBUTION_OF_COVID_19_TO_ARDS_RELATED.213.aspx
114. Cutler DM, Summers LH. The COVID-19 Pandemic and the \$16 Trillion Virus. *JAMA* [En ligne]. 20 oct 2020 [cité le 20 mars 2023];324(15):1495-6. Disponible: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.19759>
115. Truman BI, Chang MH, Moonesinghe R. Provisional COVID-19 Age-Adjusted Death Rates, by Race and Ethnicity — United States, 2020–2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [En ligne]. 29 avr 2022 [cité le 22 févr 2023];71(17):601-5. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9098236/>
116. Bosch NA, Lee MM, LeSieur MN, Law AC, Walkey AJ. Death due to irreversible hypoxemic respiratory failure in ARDSnet clinical trials. *J Crit Care*. 2022;67:85-7.
117. Ketcham SW, Sedhai YR, Miller HC, Bolig TC, Ludwig A, Co I, et al. Causes and characteristics of death in patients with acute hypoxemic respiratory failure and acute respiratory distress

- syndrome: a retrospective cohort study. *Crit Care* [En ligne]. 3 juill 2020;24(1):391. Disponible: <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03108-w>
118. Herridge MS, Tansey CM, Matté A, Tomlinson G, Diaz-Granados N, Cooper A, et al. Functional Disability 5 Years after Acute Respiratory Distress Syndrome. *N Engl J Med* [En ligne]. Massachusetts Medical Society; 7 avr 2011 [cité le 9 mai 2023];364(14):1293-304. Disponible: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1011802>
 119. Davydow DS, Desai SV, Needham DM, Bienvenu OJ. Psychiatric Morbidity in Survivors of the Acute Respiratory Distress Syndrome: A Systematic Review. *Psychosomatic Medicine* [En ligne]. 2008;70(4). Disponible: https://journals.lww.com/psychosomaticmedicine/Fulltext/2008/05000/Psychiatric_Morbidity_in_Survivors_of_the_Acute.19.aspx
 120. Needham DM, Dinglas VD, Bienvenu OJ, Colantuoni E, Wozniak AW, Rice TW, et al. One year outcomes in patients with acute lung injury randomised to initial trophic or full enteral feeding: prospective follow-up of EDEN randomised trial. *BMJ* [En ligne]. 19 mars 2013;346:f1532. Disponible: <http://www.bmj.com/content/346/bmj.f1532.abstract>
 121. Gorman EA, O’Kane CM, McAuley DF. Acute respiratory distress syndrome in adults: diagnosis, outcomes, long-term sequelae, and management. *The Lancet* [En ligne]. 1 oct 2022;400(10358):1157-70. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673622014398>
 122. Sinha P, Bos LD. Pathophysiology of the Acute Respiratory Distress Syndrome: Insights from Clinical Studies. *Critical Care Clinics* [En ligne]. 1 oct 2021 [cité le 7 juill 2023];37(4):795-815. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0749070421000439>
 123. Huppert LA, Matthay MA, Ware LB. Pathogenesis of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Semin Respir Crit Care Med* [En ligne]. févr 2019 [cité le 7 juill 2023];40(1):31-9. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7060969/>
 124. Short KR, Kasper J, van der Aa S, Andeweg AC, Zaaraoui-Boutahar F, Goeijenbier M, et al. Influenza virus damages the alveolar barrier by disrupting epithelial cell tight junctions. *Eur Respir J*. mars 2016;47(3):954-66.
 125. Galani V, Tatsaki E, Bai M, Kitsoulis P, Lekka M, Nakos G, et al. The role of apoptosis in the pathophysiology of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS): An up-to-date cell-specific review. *Pathology - Research and Practice* [En ligne]. 15 mars 2010 [cité le 10 mai 2023];206(3):145-50. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0344033809002982>
 126. Tamada N, Tojo K, Yazawa T, Goto T. Necrosis Rather Than Apoptosis is the Dominant form of Alveolar Epithelial Cell Death in Lipopolysaccharide-Induced Experimental Acute Respiratory Distress Syndrome Model. *Shock* [En ligne]. 2020;54(1). Disponible:

https://journals.lww.com/shockjournal/Fulltext/2020/07000/Necrosis_Rather_Than_Apoptosis_is_the_Dominant.19.aspx

127. Ingenito EP, Mora R, Cullivan M, Marzan Y, Haley K, Mark L, et al. Decreased Surfactant Protein-B Expression and Surfactant Dysfunction in a Murine Model of Acute Lung Injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* [En ligne]. American Thoracic Society - AJRCMB; 1 juill 2001 [cité le 10 mai 2023];25(1):35-44. Disponible: <https://doi.org/10.1165/ajrcmb.25.1.4021>
128. Ware LB, Matthay MA. Alveolar Fluid Clearance Is Impaired in the Majority of Patients with Acute Lung Injury and the Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* [En ligne]. American Thoracic Society - AJRCCM; mai 2001 [cité le 10 mai 2023];163(6):1376-83. Disponible: <https://www.atsjournals.org/doi/full/10.1164/ajrccm.163.6.2004035>
129. Huppert LA, Matthay MA. Alveolar Fluid Clearance in Pathologically Relevant Conditions: In Vitro and In Vivo Models of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Front Immunol* [En ligne]. 7 avr 2017 [cité le 10 mai 2023];8:371. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5383664/>
130. Yu Z xin, Ji M sen, Yan J, Cai Y, Liu J, Yang H feng, et al. The ratio of Th17/Treg cells as a risk indicator in early acute respiratory distress syndrome. *Crit Care* [En ligne]. 2015 [cité le 5 juill 2023];19(1):82. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4355972/>
131. Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 4 mai 2000;342(18):1334-49.
132. Chesnutt AN, Matthay MA, Tibayan FA, Clark JG. Early detection of type III procollagen peptide in acute lung injury: pathogenetic and prognostic significance. *Am J Respir Crit Care Med* [En ligne]. American Thoracic Society New York, NY; 1997;156(3):840-5. Disponible: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9310002/>
133. Fernandez IE, Eickelberg O. The Impact of TGF- β on Lung Fibrosis. *Proc Am Thorac Soc* [En ligne]. American Thoracic Society - PATS; 15 juill 2012 [cité le 19 févr 2021];9(3):111-6. Disponible: <https://doi.org/10.1513/pats.201203-023AW>
134. Saito A, Horie M, Nagase T. TGF- β Signaling in Lung Health and Disease. *Int J Mol Sci* [En ligne]. 20 août 2018 [cité le 12 mai 2023];19(8):2460. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6121238/>
135. Shimabukuro D, Sawa T, Gropper MA. Injury and repair in lung and airways. *Critical care medicine*. 2003;31 8 Suppl:S524-31.
136. Schenk M, Fabri M, Krutzik SR, Lee DJ, Vu DM, Sieling PA, et al. Interleukin-1 β triggers the differentiation of macrophages with enhanced capacity to present mycobacterial antigen

- to T cells. *Immunology* [En ligne]. John Wiley & Sons, Ltd; 1 févr 2014 [cité le 5 juill 2023];141(2):174-80. Disponible: <https://doi.org/10.1111/imm.12167>
137. Roux J, Kawakatsu H, Gartland B, Pespeni M, Sheppard D, Matthay MA, et al. Interleukin-1 β Decreases Expression of the Epithelial Sodium Channel α -Subunit in Alveolar Epithelial Cells via a p38 MAPK-dependent Signaling Pathway*. *Journal of Biological Chemistry* [En ligne]. 13 mai 2005 [cité le 29 juin 2023];280(19):18579-89. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925820674993>
 138. He X, Qian Y, Li Z, Fan EK, Li Y, Wu L, et al. TLR4-Upregulated IL-1 β and IL-1RI Promote Alveolar Macrophage Pyroptosis and Lung Inflammation through an Autocrine Mechanism. *Sci Rep* [En ligne]. 16 août 2016 [cité le 7 juill 2023];6:31663. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4985817/>
 139. Manson JC, Symons JA, Di Giovine FS, Poole S, Duff GW. Autoregulation of interleukin 1 production. *Eur J Immunol*. févr 1989;19(2):261-5.
 140. Chen Q, Zhang E, Wang C, Zhang P, Huang L. PARP-1 Inhibition Repressed Imbalance of Th17 and Treg Cells in Preterm Rats with Intrauterine Infection-Induced Acute Respiratory Distress Syndrome by Reducing the Expression Level of IL-6. *Journal of Healthcare Engineering* [En ligne]. Hindawi; 12 févr 2022 [cité le 5 juill 2023];2022:e1255674. Disponible: <https://www.hindawi.com/journals/jhe/2022/1255674/>
 141. Chung Y, Chang SH, Martinez GJ, Yang XO, Nurieva R, Kang HS, et al. Critical regulation of early Th17 cell differentiation by interleukin-1 signaling. *Immunity*. 17 avr 2009;30(4):576-87.
 142. Mustafa SB, Hernandez TF, Johnson-Pais TL, Kumar PA, Petershack JA, Henson BM, et al. IL-1 promotes α -epithelial Sodium Channel (α -ENaC) expression in murine lung epithelial cells: involvement of NF- κ B. *J Cell Commun Signal*. sept 2020;14(3):303-14.
 143. Geiser T, Atabai K, Jarreau PH, Ware LB, Pugin J, Matthay MA. Pulmonary edema fluid from patients with acute lung injury augments in vitro alveolar epithelial repair by an IL-1 β -dependent mechanism. *Am J Respir Crit Care Med*. mai 2001;163(6):1384-8.
 144. Kobayashi T, Tanaka K, Fujita T, Umezawa H, Amano H, Yoshioka K, et al. Bidirectional role of IL-6 signal in pathogenesis of lung fibrosis. *Respiratory Research* [En ligne]. 20 août 2015 [cité le 2 août 2023];16(1):99. Disponible: <https://doi.org/10.1186/s12931-015-0261-z>
 145. Bhargava R, Janssen W, Altmann C, Andrés-Hernando A, Okamura K, Vandivier RW, et al. Intratracheal IL-6 Protects against Lung Inflammation in Direct, but Not Indirect, Causes of Acute Lung Injury in Mice. *PLOS ONE* [En ligne]. Public Library of Science; 8 mai 2013 [cité le 11 mai 2023];8(5):e61405. Disponible: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0061405>

146. Voiriot G, Razazi K, Amsellem V, Tran Van Nhieu J, Abid S, Adnot S, et al. Interleukin-6 displays lung anti-inflammatory properties and exerts protective hemodynamic effects in a double-hit murine acute lung injury. *Respir Res.* 19 avr 2017;18(1):64.
147. Wolters PJ, Wray C, Sutherland RE, Kim SS, Koff J, Mao Y, et al. Neutrophil-derived IL-6 limits alveolar barrier disruption in experimental ventilator-induced lung injury. *J Immunol.* 15 juin 2009;182(12):8056-62.
148. Forcina L, Franceschi C, Musarò A. The hormetic and hermetic role of IL-6. *Ageing Res Rev.* sept 2022;80:101697.
149. Selickman J, Vrettou CS, Mentzelopoulos SD, Marini JJ. COVID-19-Related ARDS: Key Mechanistic Features and Treatments. *Journal of Clinical Medicine* [En ligne]. Multidisciplinary Digital Publishing Institute; janv 2022 [cité le 24 mai 2023];11(16):4896. Disponible: <https://www.mdpi.com/2077-0383/11/16/4896>
150. Empson S, Rogers AJ, Wilson JG. COVID-19 Acute Respiratory Distress Syndrome: One Pathogen, Multiple Phenotypes. *Critical Care Clinics* [En ligne]. Elsevier; 1 juill 2022 [cité le 24 mai 2023];38(3):505-19. Disponible: [https://www.criticalcare.theclinics.com/article/S0749-0704\(22\)00008-2/fulltext](https://www.criticalcare.theclinics.com/article/S0749-0704(22)00008-2/fulltext)
151. Pu D, Zhai X, Zhou Y, Xie Y, Tang L, Yin L, et al. A narrative review of COVID-19-related acute respiratory distress syndrome (CARDS): « typical » or « atypical » ARDS? *Ann Transl Med.* août 2022;10(16):908.
152. Aslan A, Aslan C, Zolbanin NM, Jafari R. Acute respiratory distress syndrome in COVID-19: possible mechanisms and therapeutic management. *Pneumonia* [En ligne]. 6 déc 2021;13(1):14. Disponible: <https://doi.org/10.1186/s41479-021-00092-9>
153. Matthay MA, Leligdowicz A, Liu KD. Biological Mechanisms of COVID-19 Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* [En ligne]. American Thoracic Society - AJRCCM; 1 déc 2020 [cité le 10 févr 2023];202(11):1489-91. Disponible: <https://doi.org/10.1164/rccm.202009-3629ED>
154. Silva MJA, Ribeiro LR, Gouveia MIM, Marcelino B dos R, dos Santos CS, Lima KVB, et al. Hyperinflammatory Response in COVID-19: A Systematic Review. *Viruses* [En ligne]. 16 févr 2023 [cité le 26 mai 2023];15(2):553. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9962879/>
155. Leisman DE, Ronner L, Pinotti R, Taylor MD, Sinha P, Calfee CS, et al. Cytokine elevation in severe and critical COVID-19: a rapid systematic review, meta-analysis, and comparison with other inflammatory syndromes. *The Lancet Respiratory Medicine* [En ligne]. 1 déc 2020 [cité le 26 mai 2023];8(12):1233-44. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213260020304045>

156. Wilson JG, Simpson LJ, Ferreira AM, Rustagi A, Roque J, Asuni A, et al. Cytokine profile in plasma of severe COVID-19 does not differ from ARDS and sepsis. *JCI Insight* [En ligne]. American Society for Clinical Investigation; 3 sept 2020 [cité le 26 mai 2023];5(17). Disponible: <https://insight.jci.org/articles/view/140289>
157. Kox M, Waalders NJB, Kooistra EJ, Gerretsen J, Pickkers P. Cytokine Levels in Critically Ill Patients With COVID-19 and Other Conditions. *JAMA* [En ligne]. 20 oct 2020 [cité le 26 mai 2023];324(15):1565-7. Disponible: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.17052>
158. Sinha P, Calfee CS, Cherian S, Brealey D, Cutler S, King C, et al. Prevalence of phenotypes of acute respiratory distress syndrome in critically ill patients with COVID-19: a prospective observational study. *Lancet Respir Med*. déc 2020;8(12):1209-18.
159. Battaglini D, Fazzini B, Silva PL, Cruz FF, Ball L, Robba C, et al. Challenges in ARDS Definition, Management, and Identification of Effective Personalized Therapies. *J Clin Med* [En ligne]. 9 févr 2023 [cité le 7 juill 2023];12(4):1381. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9967510/>
160. Fernando SM, Ferreyro BL, Urner M, Munshi L, Fan E. Diagnostic et traitement du syndrome de détresse respiratoire aiguë. *CMAJ* [En ligne]. *CMAJ*; 21 juin 2021 [cité le 8 juin 2023];193(25):E978-86. Disponible: <https://www.cmaj.ca/content/193/25/E978>
161. Ng WH, Tang PCH, Mahalingam S, Liu X. Repurposing of drugs targeting the cytokine storm induced by SARS-CoV-2. *British Journal of Pharmacology* [En ligne]. John Wiley & Sons, Ltd; 1 janv 2023 [cité le 2 mars 2023];180(2):133-43. Disponible: <https://doi.org/10.1111/bph.15987>
162. Peck TJ, Hibbert KA. Recent advances in the understanding and management of ARDS. *F1000Res* [En ligne]. 22 nov 2019 [cité le 2 mars 2023];8:F1000 Faculty Rev-1959. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6880255/>
163. van de Veerdonk FL, Giamarellos-Bourboulis E, Pickkers P, Derde L, Leavis H, van Crevel R, et al. A guide to immunotherapy for COVID-19. *Nature Medicine* [En ligne]. 1 janv 2022;28(1):39-50. Disponible: <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01643-9>
164. Kuperminc E, Heming N, Carlos M, Annane D. Corticosteroids in ARDS. *J Clin Med* [En ligne]. 8 mai 2023 [cité le 7 juill 2023];12(9):3340. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10179626/>
165. Therapeutics and COVID-19: living guideline [En ligne]. World Health Organization. Therapeutics and COVID-19: living guideline; 13 janv 2023 [cité le 11 juill 2023]. Disponible: <https://app.magicapp.org/#/guideline/nBkO1E>
166. canada.ca [En ligne]. Health Canada. Regulatory Decision Summary - Actemra; 2022 [cité le 5 mai 2023]. Disponible: <https://covid-vaccine.canada.ca/info/regulatory-decision-summary-detail.html?linkID=RDS01008>

167. FDA [En ligne]. FDA. Coronavirus (COVID-19) | Drugs; 3 oct 2023 [cité le 21 mars 2023]. Disponible: <https://www.fda.gov/drugs/emergency-preparedness-drugs/coronavirus-covid-19-drugs>
168. Fan E, Brodie D, Slutsky AS. Acute Respiratory Distress Syndrome: Advances in Diagnosis and Treatment. *JAMA* [En ligne]. 20 févr 2018 [cité le 18 janv 2022];319(7):698-710. Disponible: <https://doi.org/10.1001/jama.2017.21907>
169. Rawal G, Yadav S, Kumar R. Acute Respiratory Distress Syndrome: An Update and Review. *J Transl Int Med* [En ligne]. Sciendo; 26 juin 2018;6(2):74-7. Disponible: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29984201>
170. De Flora S, Balansky R, La Maestra S. Rationale for the use of N-acetylcysteine in both prevention and adjuvant therapy of COVID-19. *FASEB J* [En ligne]. oct 2020 [cité le 23 mai 2023];34(10):13185-93. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7436914/>
171. Standiford TJ, Ward PA. Therapeutic targeting of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Transl Res*. janv 2016;167(1):183-91.
172. Meyer NJ, Gattinoni L, Calfee CS. Acute respiratory distress syndrome. *Lancet*. 14 août 2021;398(10300):622-37.
173. Ram Kumar Pandian S, Arunachalam S, Deepak V, Kunjiappan S, Sundar K. Targeting complement cascade: an alternative strategy for COVID-19. *3 Biotech* [En ligne]. 19 oct 2020 [cité le 24 mai 2023];10(11):479. Disponible: <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02464-2>
174. Ghata A, Dam P, Tasdemir D, Kati A, Sellami H, Sezgin GC, et al. Exogenous pulmonary surfactant: A review focused on adjunctive therapy for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 including SP-A and SP-D as added clinical marker. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* [En ligne]. 1 févr 2021;51:101413. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359029420301205>
175. Liu C, Xiao K, Xie L. Advances in the use of exosomes for the treatment of ALI/ARDS. *Front Immunol*. 2022;13:971189.
176. Schmid B, Kredel M, Ullrich R, Krenn K, Lucas R, Markstaller K, et al. Safety and preliminary efficacy of sequential multiple ascending doses of solnatide to treat pulmonary permeability edema in patients with moderate-to-severe ARDS—a randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Trials* [En ligne]. 20 sept 2021 [cité le 7 juill 2023];22(1):643. Disponible: <https://doi.org/10.1186/s13063-021-05588-9>
177. Lemmens-Gruber R, Tzotzos S. The Epithelial Sodium Channel-An Underestimated Drug Target. *Int J Mol Sci*. 24 avr 2023;24(9):7775.

178. Barnes PJ. How corticosteroids control inflammation: Quintiles Prize Lecture 2005. *Br J Pharmacol* [En ligne]. juin 2006 [cité le 11 juill 2023];148(3):245-54. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1751559/>
179. Aubin Vega M, Chupin C, Pascariu M, Privé A, Dagenais A, Berthiaume Y, et al. Dexamethasone fails to improve bleomycin-induced acute lung injury in mice. *Physiol Rep* [En ligne]. John Wiley & Sons, Ltd; 13 nov 2019 [cité le 6 juill 2021];7(21):e14253. Disponible: <https://doi.org/10.14814/phy2.14253>
180. Bein T, Briegel J, Annane D. Steroids are part of rescue therapy in ARDS patients with refractory hypoxemia: yes. *Intensive Care Med*. mai 2016;42(5):918-20.
181. Bihari S, Bailey M, Bersten AD. Steroids in ARDS: to be or not to be. *Intensive Care Med*. mai 2016;42(5):931-3.
182. Seam N, Suffredini AF. Steroids are part of rescue therapy in ARDS patients with refractory hypoxemia: we are not sure. *Intensive Care Med*. mai 2016;42(5):924-7.
183. Thompson BT, Ranieri VM. Steroids are part of rescue therapy in ARDS patients with refractory hypoxemia: no. *Intensive Care Med*. mai 2016;42(5):921-3.
184. Sweeney RM, McAuley DF. Prolonged glucocorticoid treatment in acute respiratory distress syndrome - Authors' reply. *Lancet*. 15 avr 2017;389(10078):1516-7.
185. Bos LD, Martin-Loeches I, Schultz MJ. ARDS: challenges in patient care and frontiers in research. *Eur Respir Rev*. 31 mars 2018;27(147):170107.
186. Zeng J, Xie X, Feng XL, Xu L, Han JB, Yu D, et al. Specific inhibition of the NLRP3 inflammasome suppresses immune overactivation and alleviates COVID-19 like pathology in mice. *eBioMedicine* [En ligne]. Elsevier; 1 janv 2022 [cité le 26 juill 2023];75. Disponible: [https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964\(21\)00597-1/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964(21)00597-1/fulltext)
187. Caricchio R, Abbate A, Gordeev I, Meng J, Hsue PY, Neogi T, et al. Effect of Canakinumab vs Placebo on Survival Without Invasive Mechanical Ventilation in Patients Hospitalized With Severe COVID-19: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* [En ligne]. 20 juill 2021 [cité le 11 juill 2023];326(3):230-9. Disponible: <https://doi.org/10.1001/jama.2021.9508>
188. Ao G, Wang Y, Li A, Tran C, Yang Q. The effect of canakinumab on clinical outcomes in patients with COVID-19: A meta-analysis. *J Infect* [En ligne]. juin 2022 [cité le 11 juill 2023];84(6):834-72. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8920470/>
189. Vlaar APJ, Witzenrath M, Paassen P van, Heunks LMA, Mourvillier B, Bruin S de, et al. Anti-C5a antibody (vilobelimab) therapy for critically ill, invasively mechanically ventilated patients with COVID-19 (PANAMO): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet Respiratory Medicine* [En ligne]. Elsevier; 1 déc 2022

- [cité le 11 juill 2023];10(12):1137-46. Disponible: [https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600\(22\)00297-1/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600(22)00297-1/fulltext)
190. Swedish Orphan Biovitrum AB. KINERET Instruction for Use [En ligne]. SE-112 76 Stockholm, Sweden : Sobi; déc 2020. Disponible: <https://www.kineretrx.com/ra/resources>
 191. Iglesias-Julián E, López-Veloso M, de-la-Torre-Ferrera N, Barraza-Vengoechea JC, Delgado-López PD, Colazo-Burlato M, et al. High dose subcutaneous Anakinra to treat acute respiratory distress syndrome secondary to cytokine storm syndrome among severely ill COVID-19 patients. *J Autoimmun* [En ligne]. 1 déc 2020;115:102537. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896841120301633>
 192. Felsenstein S, Herbert JA, McNamara PS, Hedrich CM. COVID-19: Immunology and treatment options. *Clin Immunol*. juin 2020;215:108448.
 193. Kyriazopoulou E, Huet T, Cavalli G, Gori A, Kyprianou M, Pickkers P, et al. Effect of anakinra on mortality in patients with COVID-19: a systematic review and patient-level meta-analysis. *Lancet Rheumatol* [En ligne]. 1 oct 2021;3(10):e690-7. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2665991321002162>
 194. Shang W, Zhang Y, Wang G, Han D. Anakinra was not associated with lower mortality in hospitalised COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Rev Med Virol* [En ligne]. John Wiley & Sons, Ltd; 4 janv 2023 [cité le 2 mars 2023];33(2):e2418. Disponible: <https://doi.org/10.1002/rmv.2418>
 195. Genetech Inc. ACTEMRA - Prescribing Information and Med Guide [En ligne]. South San Francisco : Chugai Seiyaku Kabushiki Kaisha Corp; juin 2022 p. 72. Disponible: <https://www.actemrahcp.com/coronavirus/practice-resources.html>
 196. Peng J, Fu M, Mei H, Zheng H, Liang G, She X, et al. Efficacy and secondary infection risk of tocilizumab, sarilumab and anakinra in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol* [En ligne]. John Wiley & Sons, Ltd; 1 mai 2022 [cité le 2 mars 2023];32(3):e2295. Disponible: <https://doi.org/10.1002/rmv.2295>
 197. RECOVERY Collaborative Group. Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): preliminary results of a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet* [En ligne]. 1 mai 2021;397(10285):1637-45. Disponible: <http://medrxiv.org/content/early/2021/02/11/2021.02.11.21249258.abstract>
 198. Plocque A, Mitri C, Lefèvre C, Tabary O, Touqui L, Philippart F. Should We Interfere with the Interleukin-6 Receptor During COVID-19: What Do We Know So Far? *Drugs* [En ligne]. 2023 [cité le 22 août 2023];83(1):1-36. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9743129/>

199. Gu T, Zhao S, Jin G, Song M, Zhi Y, Zhao R, et al. Cytokine Signature Induced by SARS-CoV-2 Spike Protein in a Mouse Model. *Front Immunol* [En ligne]. 28 janv 2021 [cité le 18 sept 2021];11:621441. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7876321/>
200. Sarioğlu N, Sunay FB, Yay A, Korkut O, Erel F, Hişmioğulları AA, et al. Antiinflammatory effects of adalimumab, tocilizumab, and steroid on lipopolysaccharide-induced lung injury. *Turk J Med Sci* [En ligne]. 21 oct 2021 [cité le 8 mars 2022];51(5):2741-51. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8742495/>
201. Terzi F, Demirci B, Çınar İ, Alhilal M, Erol HS. Effects of tocilizumab and dexamethasone on the downregulation of proinflammatory cytokines and upregulation of antioxidants in the lungs in oleic acid-induced ARDS. *Respir Res* [En ligne]. 17 sept 2022;23(1):249. Disponible: <https://doi.org/10.1186/s12931-022-02172-w>
202. Zhu J, Lin X, Yan C, Yang S, Xu Z. Tocilizumab attenuates acute lung injury in rats with sepsis by regulating S100A12/NLRP3. *Am J Transl Res* [En ligne]. 15 janv 2023 [cité le 14 mars 2023];15(1):99-113. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9908452/>
203. Engeroff P, Belbézier A, Monsel A, Klatzmann D. Anakinra reduces lung inflammation in experimental acute lung injury. *Immun Inflamm Dis*. févr 2022;10(2):123-9.
204. Wang X, Chen S, Zhao L, Shi X. Protective effect of combination of anakinra and MCC950 against acute lung injury is achieved through suppression of the NF-κB-mediated-MAPK and NLRP3-caspase pathways. *Int Immunopharmacol*. août 2021;97:107506.
205. Jones G, Ding C. Tocilizumab: A Review of Its Safety and Efficacy in Rheumatoid Arthritis. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord* [En ligne]. 19 déc 2010 [cité le 13 juill 2023];3:81-9. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3018893/>
206. Khan FA, Stewart I, Fabbri L, Moss S, Robinson K, Smyth AR, et al. Systematic review and meta-analysis of anakinra, sarilumab, siltuximab and tocilizumab for COVID-19. *Thorax*. sept 2021;76(9):907-19.
207. Gandini L, Fior G, Schibler A, Obonyo NG, Li Bassi G, Suen JY, et al. Interleukin-6 inhibitors in non-COVID-19 ARDS: analyzing the past to step into the post-COVID-19 era. *Critical Care* [En ligne]. 25 mars 2023;27(1):124. Disponible: <https://doi.org/10.1186/s13054-023-04394-w>
208. Handley G, Hand J. Adverse Effects of Immunosuppression: Infections. Dans: Eisen HJ, rédacteur. *Pharmacology of Immunosuppression* [En ligne]. Cham : Springer International Publishing; 2022 [cité le 8 juin 2023]. p. 287-314. (Handbook of Experimental Pharmacology). Disponible: https://doi.org/10.1007/164_2021_550
209. Aziz M, Haghbin H, Abu Sitta E, Nawras Y, Fatima R, Sharma S, et al. Efficacy of tocilizumab in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Medical Virology* [En ligne].

- John Wiley & Sons, Ltd; 1 mars 2021 [cité le 2 mars 2023];93(3):1620-30. Disponible: <https://doi.org/10.1002/jmv.26509>
210. Dahms K, Mikolajewska A, Ansems K, Metzendorf MI, Benstoem C, Stegemann M. Anakinra for the treatment of COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Medical Research* [En ligne]. 25 févr 2023 [cité le 8 juin 2023];28(1):100. Disponible: <https://doi.org/10.1186/s40001-023-01072-z>
211. Salliot C, Dougados M, Gossec L. Risk of serious infections during rituximab, abatacept and anakinra treatments for rheumatoid arthritis: meta-analyses of randomised placebo-controlled trials. *Ann Rheum Dis* [En ligne]. janv 2009 [cité le 8 juin 2023];68(1):25-32. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2596305/>
212. Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* déc 2009;1(6):a001651.
213. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther* [En ligne]. 14 juill 2017 [cité le 14 juill 2023];2:17023. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5661633/>
214. Fosgerau K, Hoffmann T. Peptide therapeutics: current status and future directions. *Drug Discovery Today* [En ligne]. 1 janv 2015 [cité le 14 juill 2023];20(1):122-8. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359644614003997>
215. Wang L, Wang N, Zhang W, Cheng X, Yan Z, Shao G, et al. Therapeutic peptides: current applications and future directions. *Sig Transduct Target Ther* [En ligne]. Nature Publishing Group; 14 févr 2022 [cité le 19 juill 2023];7(1):1-27. Disponible: <https://www.nature.com/articles/s41392-022-00904-4>
216. Wang X, Ni D, Liu Y, Lu S. Rational Design of Peptide-Based Inhibitors Disrupting Protein-Protein Interactions. *Frontiers in Chemistry* [En ligne]. 2021 [cité le 19 juill 2023];9. Disponible: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fchem.2021.682675>
217. Mannes M, Martin C, Menet C, Ballet S. Wandering beyond small molecules: peptides as allosteric protein modulators. *Trends in Pharmacological Sciences* [En ligne]. 1 mai 2022 [cité le 19 juill 2023];43(5):406-23. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165614721002145>
218. Quiniou C, Sapieha P, Lahaie I, Hou X, Brault S, Beauchamp M, et al. Development of a Novel Noncompetitive Antagonist of IL-1 Receptor. *J Immunol* [En ligne]. 15 mai 2008;180(10):6977-87. Disponible: <http://www.jimmunol.org/content/180/10/6977.abstract>
219. Nadeau-Vallée M, Quiniou C, Palacios J, Hou X, Erfani A, Madaan A, et al. Novel Noncompetitive IL-1 Receptor-Biased Ligand Prevents Infection- and Inflammation-

- Induced Preterm Birth. *J Immunol* [En ligne]. 24 août 2015;195(7):3402-15. Disponible: <http://www.jimmunol.org/content/early/2015/08/21/jimmunol.1500758.abstract>
220. Sayah DN, Zhou TE, Omri S, Mazzaferri J, Quiniou C, Wirth M, et al. Novel Anti-Interleukin-1 β Therapy Preserves Retinal Integrity: A Longitudinal Investigation Using OCT Imaging and Automated Retinal Segmentation in Small Rodents. *Front Pharmacol*. 2020;11:296.
221. Habelrih T, Tremblay DÉ, Di Battista E, Hou X, Reuben A, Ferri B, et al. Pharmacodynamic characterization of rytvela, a novel allosteric anti-inflammatory therapeutic, to prevent preterm birth and improve fetal and neonatal outcomes. *Am J Obstet Gynecol* [En ligne]. 2023;228(4):467.e1-467.e16. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002937822008122>
222. Nadeau-Vallée M, Chin PY, Belarbi L, Brien MÈ, Pundir S, Berryer MH, et al. Antenatal Suppression of IL-1 Protects against Inflammation-Induced Fetal Injury and Improves Neonatal and Developmental Outcomes in Mice. *J Immunol* [En ligne]. 1 mars 2017;198(5):2047-62. Disponible: <http://www.jimmunol.org/content/198/5/2047.abstract>
223. Prairie E. Caractérisation d'un nouveau composé thérapeutique agissant comme antagoniste allostérique du récepteur de l'Interleukine-6 en vue de la prévention des naissances prématurées et permettant de protéger l'intégrité fœtale, en ligne]. Montréal : Université de Montréal; 2022 [cité le 23 nov 2022]. Disponible: <https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/handle/1866/27199>
224. Aeffner F, Bolon B, Davis I. Mouse Models of Acute Respiratory Distress Syndrome: A Review of Analytical Approaches, Pathologic Features, and Common Measurements. *Toxicologic Pathology*. 1 août 2015;43.
225. Reinert T, Baldotto CS da R, Nunes FAP, Scheliga AA de S. Bleomycin-Induced Lung Injury. *J Cancer Res* [En ligne]. Hindawi; 8 oct 2013 [cité le 8 déc 2021];2013:e480608. Disponible: <https://www.hindawi.com/journals/jcr/2013/480608/>
226. Burger RM, Peisach J, Horwitz SB. Activated bleomycin. A transient complex of drug, iron, and oxygen that degrades DNA. *J Biol Chem* [En ligne]. 25 nov 1981 [cité le 17 juill 2023];256(22):11636-44. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925819684528>
227. Zhan P, Lu X, Li Z, Wang WJ, Peng K, Liang NN, et al. Mitoquinone alleviates bleomycin-induced acute lung injury via inhibiting mitochondrial ROS-dependent pulmonary epithelial ferroptosis. *Int Immunopharmacol* [En ligne]. 1 déc 2022 [cité le 17 juill 2023];113(Pt A):109359. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576922008438>

228. Kitzerow O, Zucker IH, Lisco SJ, Wang HJ. Timeline of Multi-Organ Plasma Extravasation After Bleomycin-Induced Acute Lung Injury. *Front Physiol* [En ligne]. 2022;13:777072. Disponible: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2022.777072>
229. Frank JA, Pittet JF, Wray C, Matthay MA. Protection from experimental ventilator-induced acute lung injury by IL-1 receptor blockade. *Thorax*. févr 2008;63(2):147-53.
230. Jones HD, Crother TR, Gonzalez-Villalobos RA, Jupelli M, Chen S, Dagvadorj J, et al. The NLRP3 inflammasome is required for the development of hypoxemia in LPS/mechanical ventilation acute lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol*. févr 2014;50(2):270-80.
231. Sorrell-Raschi L. Chapter 208 - Blood Gas and Oximetry Monitoring. Dans: Silverstein DC, Hopper K, rédacteurs. *Small Animal Critical Care Medicine* [En ligne]. Saint Louis : W.B. Saunders; 2009. p. 878-82. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781416025917102085>
232. Malatesha G, Singh NK, Bharija A, Rehani B, Goel A. Comparison of arterial and venous pH, bicarbonate, Pco2 and Po2 in initial emergency department assessment. *Emerg Med J* [En ligne]. août 2007 [cité le 27 avr 2023];24(8):569-71. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2660085/>
233. Schwarzkopf TM, Horn T, Lang D, Klein J. Blood gases and energy metabolites in mouse blood before and after cerebral ischemia: the effects of anesthetics. *Exp Biol Med* (Maywood). janv 2013;238(1):84-9.
234. Horn T, Klein J. Lactate levels in the brain are elevated upon exposure to volatile anesthetics: A microdialysis study. *Neurochem Int* [En ligne]. 1 déc 2010;57(8):940-7. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0197018610003049>
235. Barbayianni I, Ninou I, Tzouveleakis A, Aidinis V. Bleomycin Revisited: A Direct Comparison of the Intratracheal Micro-Spraying and the Oropharyngeal Aspiration Routes of Bleomycin Administration in Mice. *Frontiers in Medicine* [En ligne]. 2018 [cité le 3 nov 2021];5:269. Disponible: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmed.2018.00269>
236. Ruscitti F, Ravanetti F, Essers J, Ridwan Y, Belenkov S, Vos W, et al. Longitudinal assessment of bleomycin-induced lung fibrosis by Micro-CT correlates with histological evaluation in mice. *Multidisciplinary Respiratory Medicine* [En ligne]. 10 avr 2017 [cité le 26 août 2023];12(1):8. Disponible: <https://doi.org/10.1186/s40248-017-0089-0>
237. Gasse P, Mary C, Guenon I, Noulin N, Charron S, Schnyder-Candrian S, et al. IL-1R1/MyD88 signaling and the inflammasome are essential in pulmonary inflammation and fibrosis in mice. *J Clin Invest*. déc 2007;117(12):3786-99.
238. Lindauer ML, Wong J, Iwakura Y, Magun BE. Pulmonary inflammation triggered by ricin toxin requires macrophages and IL-1 signaling. *J Immunol*. 15 juill 2009;183(2):1419-26.

239. Ortiz LA, Dutreil M, Fattman C, Pandey AC, Torres G, Go K, et al. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the antiinflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 26 juin 2007;104(26):11002-7.
240. Travis EL, Wang M, Allard JD, Peltz G. Bleomycin hydrolase protects mice from bleomycin induced death and is involved in bleomycin induced lung fibrosis. *Cancer Research*. 1 avr 2004;64(7_Supplement):1182-3.
241. Walkin L, Herrick SE, Summers A, Brenchley PE, Hoff CM, Korstanje R, et al. The role of mouse strain differences in the susceptibility to fibrosis: a systematic review. *Fibrogenesis Tissue Repair* [En ligne]. 25 sept 2013 [cité le 26 août 2023];6:18. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3849643/>
242. Haston C, Tomko T, Godin N, Kerckhoff L, Hallett M. Murine candidate bleomycin induced pulmonary fibrosis susceptibility genes identified by gene expression and sequence analysis of linkage regions. *J Med Genet* [En ligne]. juin 2005 [cité le 26 août 2023];42(6):464-73. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1736068/>
243. Swedish Orphan Biovitrum. Fact sheet for healthcare providers: emergency use authorization for KINERET [En ligne]. 2022 p. 13. Disponible: <https://www.fda.gov/media/163075/download>
244. Erdem KTO, Bedir Z, Kuyrukliyildiz U, Tas HG, Suleyman Z, Bulut S, et al. Effect of tocilizumab on ischemia-reperfusion-induced oxido-inflammatory renal damage and dysfunction in rats. *Exp Anim* [En ligne]. 2022 [cité le 2 août 2023];71(4):491-9. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9671765/>
245. Kizaki K, Yamashita F, Hayashi T, Funakoshi N. Infliximab equivalently suppresses oxidative stress compared to tocilizumab among well-controlled patients with rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. oct 2018;21(10):1815-21.
246. Matsuoka Y, Nakayama H, Yoshida R, Hirosue A, Nagata M, Tanaka T, et al. IL-6 controls resistance to radiation by suppressing oxidative stress via the Nrf2-antioxidant pathway in oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*. 8 nov 2016;115(10):1234-44.
247. Waxman AB, Kolliputi N. IL-6 protects against hyperoxia-induced mitochondrial damage via Bcl-2-induced Bak interactions with mitofusins. *Am J Respir Cell Mol Biol*. oct 2009;41(4):385-96.
248. Allawzi A, Elajaili H, Redente EF, Nozik-Grayck E. Oxidative Toxicology of Bleomycin: Role of the Extracellular Redox Environment. *Curr Opin Toxicol* [En ligne]. févr 2019 [cité le 12 août 2023];13:68-73. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6615752/>
249. Teixeira KC, Soares FS, Rocha LGC, Silveira PCL, Silva LA, Valença SS, et al. Attenuation of bleomycin-induced lung injury and oxidative stress by N-acetylcysteine plus deferoxamine. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* [En ligne]. 1 avr 2008 [cité le 12 août

2023];21(2):309-16.

Disponible:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1094553907000703>

250. Mansour HH, Omran MM, Hasan HF, El kiki SM. Modulation of bleomycin-induced oxidative stress and pulmonary fibrosis by N-acetylcysteine in rats via AMPK/SIRT1/NF- κ B. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* [En ligne]. 2020 [cité le 12 août 2023];47(12):1943-52. Disponible: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1440-1681.13378>
251. Burgy O, Bellaye PS, Causse S, Beltramo G, Wettstein G, Boutanquoi PM, et al. Pleural inhibition of the caspase-1/IL-1 β pathway diminishes profibrotic lung toxicity of bleomycin. *Respiratory Research* [En ligne]. 29 nov 2016 [cité le 12 août 2023];17(1):162. Disponible: <https://doi.org/10.1186/s12931-016-0475-8>
252. Piguet PF, Vesin C, Grau GE, Thompson RC. Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1ra) prevents or cures pulmonary fibrosis elicited in mice by bleomycin or silica. *Cytokine* [En ligne]. 1 janv 1993 [cité le 2 août 2023];5(1):57-61. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/10434669390024Y>
253. Park MJ, Moon SJ, Lee EJ, Jung KA, Kim EK, Kim DS, et al. IL-1-IL-17 Signaling Axis Contributes to Fibrosis and Inflammation in Two Different Murine Models of Systemic Sclerosis. *Frontiers in Immunology* [En ligne]. 2018 [cité le 12 août 2023];9. Disponible: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.01611>
254. He B, Zhao GR, Liu XM. [The effect of IL-1 receptor antagonist on bleomycin-induced pulmonary fibrosis]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. févr 1994;17(1):21-3, 61.
255. Birnhuber A, Crnkovic S, Biasin V, Marsh LM, Odler B, Sahu-Osen A, et al. IL-1 receptor blockade skews inflammation towards Th2 in a mouse model of systemic sclerosis. *European Respiratory Journal* [En ligne]. European Respiratory Society; 1 sept 2019 [cité le 2 août 2023];54(3). Disponible: <https://erj.ersjournals.com/content/54/3/1900154>
256. Hoffmann-La Roche Limited. ACTEMRA Product Monograph. Hoffmann-La Roche Limited 7070 Mississauga Road Mississauga, Ontario, Canada L5N 5M8; 2022 p. 153.
257. Nishimoto N, Yoshizaki K, Maeda K, Kuritani T, Deguchi H, Sato B, et al. Toxicity, pharmacokinetics, and dose-finding study of repetitive treatment with the humanized anti-interleukin 6 receptor antibody MRA in rheumatoid arthritis. Phase I/II clinical study. *The Journal of Rheumatology* [En ligne]. The Journal of Rheumatology; 1 juill 2003 [cité le 23 oct 2023];30(7):1426-35. Disponible: <https://www.jrheum.org/content/30/7/1426>
258. Gorman EA, Rynne J, Gardiner HJ, Rostron AJ, Bannard-Smith J, Bentley AM, et al. Repair of Acute Respiratory Distress Syndrome in COVID-19 by Stromal Cells (REALIST-COVID Trial): A Multicenter, Randomized, Controlled Clinical Trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 août 2023;208(3):256-69.

259. Trinh NTN, Privé A, Maillé E, Noël J, Brochiero E. EGF and K⁺ channel activity control normal and cystic fibrosis bronchial epithelia repair. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. nov 2008;295(5):L866-880.
260. Sinha P, Calfee CS. Phenotypes in ARDS: Moving Towards Precision Medicine. *Curr Opin Crit Care* [En ligne]. févr 2019 [cité le 12 août 2023];25(1):12-20. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6814152/>
261. Wick KD, Aggarwal NR, Curley MAQ, Fowler AA, Jaber S, Kostrubiec M, et al. Opportunities for improved clinical trial designs in acute respiratory distress syndrome. *The Lancet Respiratory Medicine* [En ligne]. Elsevier; 1 sept 2022 [cité le 11 juill 2023];10(9):916-24. Disponible: [https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600\(22\)00294-6/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600(22)00294-6/fulltext)
262. Bos LDJ, Laffey JG, Ware LB, Heijnen NFL, Sinha P, Patel B, et al. Towards a biological definition of ARDS: are treatable traits the solution? *Intensive Care Medicine Experimental* [En ligne]. 11 mars 2022;10(1):8. Disponible: <https://doi.org/10.1186/s40635-022-00435-w>
263. Matthay MA, Arabi YM, Siegel ER, Ware LB, Bos LDJ, Sinha P, et al. Phenotypes and personalized medicine in the acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med*. déc 2020;46(12):2136-52.
264. Ware LB, Matthay MA, Mebazaa A. Designing an ARDS trial for 2020 and beyond: focus on enrichment strategies. *Intensive Care Medicine* [En ligne]. 1 déc 2020;46(12):2153-6. Disponible: <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06232-x>
265. Wilson JG, Calfee CS. ARDS Subphenotypes: Understanding a Heterogeneous Syndrome. *Critical Care* [En ligne]. 24 mars 2020;24(1):102. Disponible: <https://doi.org/10.1186/s13054-020-2778-x>