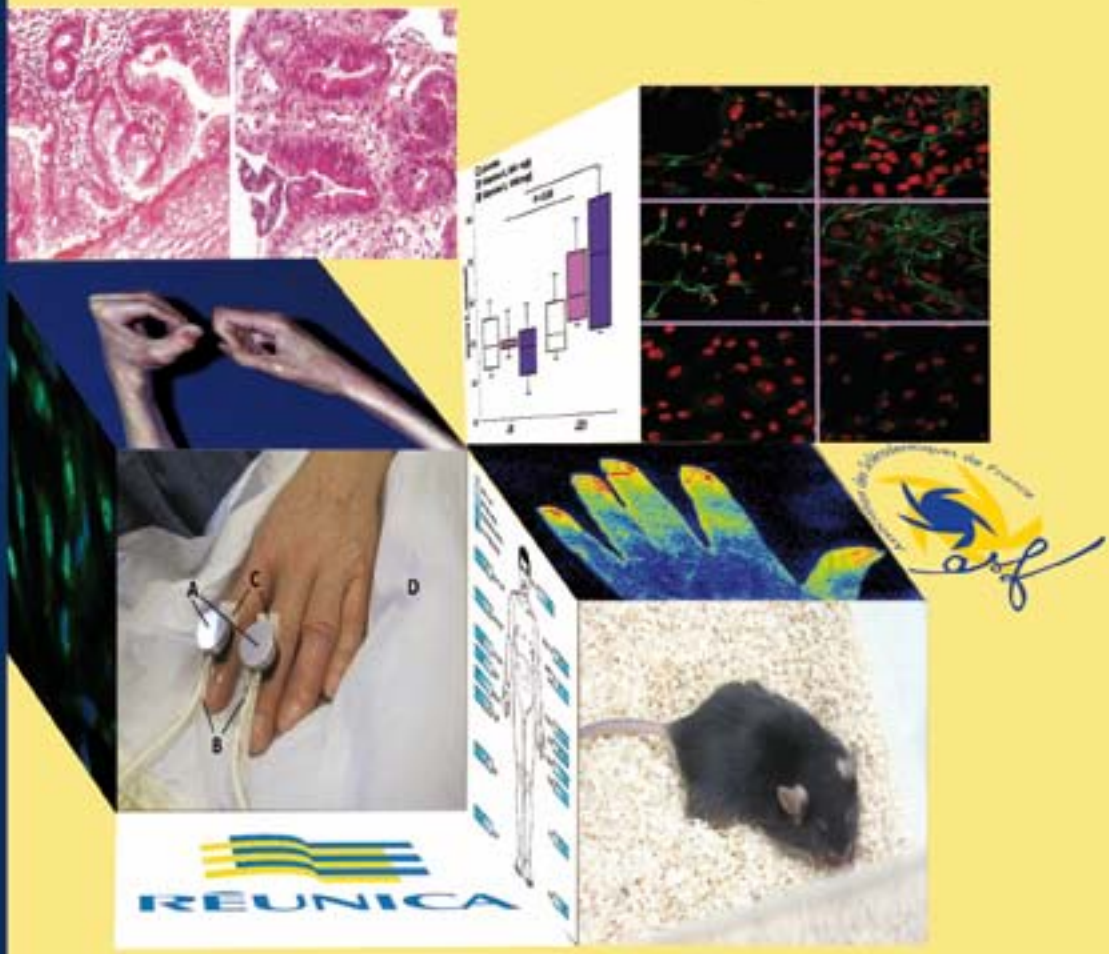
2000 - 2010

Association des Sclérodermiques de France



10 ans de recherche sur la sclérodermie systémique

10 ans de recherche sur la sclérodermie systémique

Editorial de l'ASF

Depuis sa création, un des objectifs de l'Association des Sclérodermiques de France (ASF) est la participation au FINANCEMENT DE LA RECHERCHE…

Cet ouvrage est donc dans la ligne directe de cet objectif et tend à montrer aux patients mais aussi aux médecins, chercheurs et donateurs en tous genres, que ASF a bien fait, tout ce qui est présenté, tous les ans, tant dans les comptes rendus des protocoles financés, que dans la répartition comptable des fonds.

Mais tout ceci n'aurait pu être fait sans l'initiative et la volonté du Professeur Jean Cabane (chef du service de Médecine Interne de l'hôpital Saint-Antoine à Paris). Il a organisé la recherche sur la sclérodermie, il a su donner envie aux chercheurs, fédérer, animer, coordonner et suivre cette recherche, tout au long des années passées. Nous le remercions pour cet engagement aux côtés de l'ASF. Il a aussi su donner envie aux autres et en particulier à la mutuelle AMPLI pour qu'une bourse de recherche annuelle soit également mise en place.

Pour vous, malades et entourage, qui participez au financement de la recherche médicale sur la sclérodermie, il est important de savoir que l'ASF souhaitait montrer aux médecins son intérêt pour la compréhension de la maladie (qui, pourquoi, comment, etc.) et leur prouver l'intérêt à faire de la recherche sur la sclérodermie : les aider à mieux comprendre la maladie, à mieux la diagnostiquer, à mieux orienter et prendre en charge les malades, à faire de la recherche clinique sur des thérapies, utiliser les cohortes de malades. Vous avez régulièrement et généreusement participé à des enquêtes, des prélèvements, des protocoles, des questionnaires … vous allez voir que votre participation a été, est et sera toujours utile !

Proposer aux chercheurs et aux médecins de s'intéresser à la sclérodermie en leur apportant notre aide financière ne pouvait qu'être positif :

TOUTE DÉCOUVERTE EST UTILE A L'ENSEMBLE DES MALADES !

Que ce soit en matière de génétique, d'études pratiques ou cliniques, de médicaments ou de thérapies, de protocoles de soins, de prise en charge globale de la maladie, tout aboutit un jour à quelque chose.

Dans le livre que vous avez entre les mains, beaucoup d'entre vous ne trouveront pas de réponses à leurs questions pratiques ou sur leur maladie (cela, vous l'avez dans les documents et ouvrages réalisés par l'ASF, ces dernières années), car le but de cet ouvrage est de vous présenter ce qui a été financé par les fonds dédiés à la recherche par l'ASF : fonds provenant de vos dons faits au cours des dix dernières années (prises en référence), lors des manifestations organisées dans les régions, des décès de ceux qui ont été touchés par la maladie, des coureurs dans les déserts comme dans les courses régionales, des spectacles divers, des ventes diverses, etc.

Pour vous, médecins, ce livre est là pour vous montrer ce qui a déjà été fait dans la recherche, mais aussi pour vous aider à orienter cette recherche vers de nouveaux protocoles, à nous proposer des idées neuves dans la recherche, car la préparation de cet ouvrage nous a permis, entre autres informations, de nous apercevoir que la recherche sur la sclérodermie localisée et ses différentes formes ou atteintes étaient absentes de la recherche ! C'est important de faire évoluer la recherche et de pouvoir l'orienter.

Tous les ans, l'ASF fait un appel à projets ! Connectez-vous sur le site pour faire votre proposition, elle sera examinée attentivement et soigneusement par des experts, avant toute décision d'attribution de fonds ou non !

Pour vous, donateurs, généreux et solidaires de notre combat, n'ayez pas de réticences, les fonds sont utilisés pour cette recherche, si importante, afin que la maladie ne soit plus RARE, plus ORPHELINE, mais GUÉRIE, un jour peut-être ! Un GRAND MERCI à vous !

En attendant, la vie des malades a déjà été soulagée par des aides pratiques et un peu d'éducation thérapeutique, les atteintes et les séquelles ont été rendues moins difficiles, moins douloureuses, quelques médicaments ont été trouvés, mais la route est encore longue !

Nous comptons sur vous tous :

Malades, médecins, chercheurs, donateurs pour votre participation

Dominique Godard, Présidente de l'ASF

Editorial du Conseil scientifique

Depuis sa création, l'ASF a souhaité soutenir la recherche médicale et y consacrer ses fonds collectés. Il était temps de faire un bilan de 10 années de subventions ; cet ouvrage permet de faire un point sur les connaissances et les orientations actuelles de la recherche française et francophone. La diversité et la complémentarité des approches sont remarquables et beaucoup de travaux ont permis des avancées significatives et des publications dans des revues internationales. Certes, la prise en charge optimale des malades reste à définir et les traitements spécifiques manquent encore cruellement mais les nombreux résultats mis en avant dans cet ouvrage expliquent en partie ces insuffisances. En effet, la lecture et l'analyse de ces résultats permettent de prendre conscience de l'immense complexité de cette maladie multifactorielle et de son extrême hétérogénéité. Il faut noter l'absence de travaux sur les morphées et nous préparons des initiatives en ce sens, car ces maladies, beaucoup plus fréquentes que les sclérodermies systémiques, posent encore beaucoup de questions, ne serait-ce que dans leur classification. Je vous propose une synthèse des travaux menés et des principaux résultats obtenus grâce au soutien actif de l'ASF aux chercheurs dans le domaine. La liste exhaustive des travaux subventionnés est disponible en fin d'ouvrage. Une sélection des travaux a du être effectuée pour bâtir un ouvrage cohérent mais malheureusement quelques auteurs n'ont pas rendu, dans les délais, la synthèse de leur travail.

Le syndrome de Raynaud est un élément clinique majeur et clé de la maladie ; il a fait l'objet de plusieurs travaux. C'est un mode d'entrée fréquent dans la sclérodermie systémique et beaucoup de travaux sont en cours afin d'utiliser ce signe comme marqueur précoce de son évolution. Des outils simples, comme la recherche d'auto-anticorps et la réalisation d'une capillaroscopie, permettent de façon très fine de distinguer syndrome Raynaud associé à une maladie systémique du syndrome de Raynaud idiopathique qui est bénin et pourrait même parfois être réversible. Plusieurs équipes ont travaillé sur la physiopathologie de ce dérèglement vasculaire qui touche la microcirculation et est marqué par des anomalies du tonus vasculaire notamment en réponse à des stress thermiques. Ces phénomènes de séquences dérégulées de fermeture et d'ouverture des vaisseaux conduisent à des épisodes transitoires et répétés de manques d'oxygène ce qui crée un stress oxydatif. Plusieurs travaux ont été menés sur les implications possibles d'antioxydants telles les vitamines C et E sans pouvoir montrer qu'une substitution soit, à ce stade, indiquée. Par contre les inhibiteurs calciques, qui sont le traitement de première ligne du spasme vasculaire, permettent de réduire ce stress oxydatif. Si la microcirculation est une cible essentielle de la maladie, plusieurs travaux ont également suggéré que les vaisseaux de plus gros calibre pourraient être touchés dans la maladie et servir de marqueurs de sévérité. Il semble néanmoins que dans cette atteinte des plus gros vaisseaux, les facteurs de risque cardiovasculaires classiques (dyslipidémie, diabète, tabac…), puissent jouer un rôle. Bien entendu, les règles de prévention du risque cardiovasculaire ne doivent pas être négligées dans la sclérodermie systémique.

Plusieurs travaux épidémiologiques régionaux ou nationaux ont été permis grâce à l'ASF. Ils ont notamment confirmé l'importance des solvants industriels, des produits de nettoyage et des colles synthétiques comme facteurs de risque de survenue de sclérodermie systémique. Il faut rappeler qu'une enquête professionnelle peut être utile dans cette maladie. D'autres approches épidémiologiques ont fait appel au recrutement des familles de cas de patients et de familles contrôles, cette stratégie a notamment permis de confirmer la rareté des formes multiples de sclérodermie systémique au sein des familles d'un membre atteint, mais la fréquence plus grande de différentes maladies auto-immunes au sein de ces familles dont notamment les thyroïdites et les connectivites au sens plus large. Cette agrégation conforte l'hypothèse d'un fond génétique commun à différentes maladies auto-immunes systémiques et spécifiques d'organes.

Plusieurs projets ont porté sur des domaines peu étudiés jusqu'à présent. En effet, si la sclérodermie systémique peut conduire à des complications cardio-pulmonaires graves, assez facilement identifiables, elle induit aussi des complications, certes moins graves, mais qui vont grever la qualité de vie des malades. Il en est ainsi de la douleur ; un travail a montré que plus de la moitié des malades se plaignaient de douleurs. Cependant, dans ce domaine également, ce symptôme relevait de mécanismes multiples avec des douleurs souvent diffuses, en relation avec le syndrome de Raynaud, mais aussi des problèmes abdominaux, articulaires, cutanés et musculaires. Une composante neurologique était aussi souvent identifiée. Ces origines multiples expliquent en partie les difficultés de prise en charge. Comme dans beaucoup de maladies chroniques, une composante, une réaction dépressive, semble fréquente et une série a montré que 19% des malades présentaient des symptômes de dépression majeure et que plus de la moitié avaient un antécédent dépressif avéré depuis le début de leur maladie. Afin d'apprécier le retentissement sur la

qualité de vie, des outils de mesure spécifiques sont nécessaires et des projets soutenus par l'ASF ont permis de valider des échelles de mesure du handicap de la main ou de la bouche. Bien mesurer une atteinte est indispensable pour la comprendre et essayer de l'améliorer.

Dans les études cliniques, l'atteinte de l'œsophage a été particulièrement étudiée. Il a été confirmé que l'œsophagite chronique peut parfois évoluer vers des lésions pré-cancéreuses qu'il faut bien évaluer afin de les traiter tôt, le cas échéant. Il est ainsi souvent proposé qu'une fibroscopie systématique soit réalisée en début de maladie, surtout en cas de symptôme ; si une inflammation sévère est objectivée, le suivi par endoscopie est ensuite bien codifié. **Un essai thérapeutique a évalué l'imatinib** dans une étude randomisée avec comparaison avec un placebo ; il s'agit de la seule méthodologie permettant d'évaluer rigoureusement l'effet d'un traitement. Cette étude s'est avéré négative et conforte d'autres travaux qui suggèrent que ce médicament n'est pas efficace sur la sclérose cutanée. L'iontophorèse est une technique permettant de faire passer une molécule au travers de la peau par l'effet d'un courant électrique. Plusieurs travaux réalisés ou en cours cherchent à étudier l'application possible dans les ulcérations digitales de la maladie et pour la vasculopathie.

Beaucoup de projets de recherche biologique ont été soutenus et il est certain, qu'il faut mieux comprendre les bases de cette maladie pour espérer mieux la prendre en charge et imaginer de nouveaux traitements. La fibrose tissulaire résulte d'un processus complexe, dont une des principales conséquences est le dépôt excessif de composants de la matrice extracellulaire, en particulier de collagènes fibrillaires et également les composants du réseau micro-fibrillaire. Le TGF beta est un facteur de croissance qui joue un rôle central ; cette voie d'activation des fibroblastes producteurs de collagène est mieux comprise avec l'identification de relais biologiques (voie de signalisation). Une fois mis en culture au laboratoire, différentes approches pharmacologiques ont montré que des molécules telles la rapamycine, le mycophénolate mofétyl, l'halofuginone ou le bortezomib pourrait réduire la synthèse de collagène par des fibroblastes. Dans les dérèglements biologiques qui caractérisent la maladie et l'activation des fibroblastes, des phénomènes immunologiques sont également mis en jeu. Des travaux innovants ont montré que des médiateurs nouvellement décrits, dont des cytokines et des chimiokines, pourraient participer aux lésions de la maladie. Différentes populations de cellules immunitaires pourraient être impliquées et, en plus des lymphocytes T, plusieurs travaux ont suggéré une implication des lymphocytes B. Ces cellules sont celles qui synthétisent les anticorps qui sont nécessaires aux défenses anti-infectieuses mais qui deviennent délétères quand ils ciblent des molécules du soi, ils deviennent alors des auto-anticorps. Les cibles des auto-anticorps anti-fibroblastes et anti-cellules endothéliales ont été étudiés. Beaucoup de cellules impliquées peuvent avoir une origine à partir de cellules souches de la moelle osseuse et devenir une fois mobilisées des cellules dites différenciées ; des travaux ont porté sur les précurseurs des fibroblastes (fibrocytes) et des cellules endothéliales (progéniteurs endothéliaux). Leur modulation pourrait être une voie thérapeutique innovante.

La sclérodermie systémique appartient au groupe des familles dites génétiques complexes, polygéniques, qui reposent une combinaison de facteurs de susceptibilité. Ceci explique la faible transmission de la maladie entre générations. Les études génétiques ont identifié des facteurs génétiques surtout dans les voies d'auto-immunité et notamment des facteurs partagés avec d'autres maladies auto-immunes. Ceci peut laisser espérer des progrès thérapeutiques applicables à différentes maladies auto-immunes mais il est aussi probable que des gènes plus spécifiques restent à découvrir. La prédominance féminine reste à étudier et pourrait être à la fois génétique (chromosome X) mais aussi hormonale.

Le conseil scientifique va continuer à aider l'ASF, à soutenir des études ambitieuses, réalisables et permettant des progrès dans la connaissance, si possible avec application directe pour les malades. L'appel d'offre annuel est un moment clé pour la sélection de ces travaux. Des bourses permettant d'intéresser de jeunes chercheurs et de jeunes médecins à la maladie seront aussi offertes pour les meilleurs projets. Le soutien aux plus jeunes est fondamental pour diffuser et faire progresser les connaissances sur la maladie et intéresser de futurs praticiens à ce domaine si vaste et où tant reste à faire. La collaboration étroite avec l'ASF reste le plus grand facteur stimulant pour faire progresser les projets tant cette association fait preuve d'enthousiasme et de dynamisme. Les responsables de l'association doivent être chaleureusement remerciés et assurés que le conseil scientifique fera tout ce qui est possible pour être à la hauteur des espérances.

Le président du Conseil scientifique, Pr Yannick Allanore
Université Paris Descartes. Service de Rhumatologie A et INSERM U1016, Hôpital Cochin, Paris.
Un grand merci à Mme Carole Desbas pour sa précieuse assistance dans la coordination de ce projet.

Sommaire

Editorial de l'ASF....2
Editorial du Conseil scientifique....3

EPIDEMOLOGIE

Epidémiologie du phénomène de Raynaud : étude longitudinale....8
Registre Isère-Sud / Savoie de la sclérodermie systémique....10
Epidémiologie de la Sclérodermie systémique : évaluation du facteur familial. Etude préliminaire....11
Agrégation familiale de connectivites et de thyroïdites auto-immunes....12

ETUDES CLINIQUES

Raynaud primaire versus Raynaud de la sclérodermie systémique....16
Etude comparative des concentrations leucocytaires et sériques en vitamine C chez les patients atteints de sclérodermie, de phénomène de Raynaud et des volontaires sains....18
La rigidité artérielle prédit la progression sévère des sclérodermies systémiques....20
Sclérodermie et artériopathie des membres inférieurs....22
Etude du retentissement psychiatrique et cognitif....23
Prévalence de l'endobrachyoesophage et risque d'adénocarcinome œsophagien à partir d'une cohorte européenne de patients sclérodermiques avec endobrachyoesophage....24
Ulcères digitaux sclérodermiques : enquête de pratique....26
Comparaisons de la fréquence, du type et du retentissement de la douleur au cours de la sclérodermie systémique et de la polyarthrite rhumatoïde....28
Mesure du handicap fonctionnel de la main....30
Echelle de mesure du handicap fonctionnel de la bouche....32

THERAPEUTIQUE ET PHARMACOLOGIE

Influence des inhibiteurs calciques dihydropyridiniques sur le stress oxydant....36
Evaluation de l'efficacité thérapeutique de la metformine dans l'HTAP....39
Vitamine E et stress oxydant....40
Analyse in vitro des propriétés antifibrosantes des immunosuppresseurs Rapamycine et Mycophenolate mofetyl....42
L'inhibition du protéasome....44
L'halofuginone affecte des fonctions fibroblastiques clefspour la réparation tissulaire....46
Monoxyde d'azote (NO) et réponse locale au froid dans le phénomène de Raynaud....48
L'iloprost augmente les cellules Th22 et Th17 tout en diminuant les cellules Th1 via le récepteur IP dans la sclérodermie systémique....50
L'iontophorèse thérapeutique : perspectives dans la prise en charge des ulcérations digitales....52
Etude randomisée multicentrique SCLEROGLIVEC de l'imatinib mésylate STI571 (glivec®) dans l'atteinte cutanée de la sclérodermie....54

Reconstitution immunitaire et re-programmation de la tolérance après traitement par autogreffe de cellules souches hématopoïétiques périphériques chez les patients atteints de sclérodermie systémique sévère....56

PHYSIOPATHOLOGIE

Anticorps anti-endothélium, complément et collectines dans la sclérodermie systémique : résultats de la biothèque de l'ASF....60
Mécanismes moléculaires de la fibrose dermique dans la sclérodermie systémique : Rôle du TGF-ß....61
Les auto-anticorps anti-cellules endothéliales....64
Les anticorps anti-fibroblastes....66
Bases génétiques de l'hypertension artérielle pulmonaire associée à la sclérodermie systémique....68
Fibrocytes alvéolaires dans la fibrose pulmonaire idiopathique et atteinte interstitielle pulmonaire de la sclérodermie systémique....70
Implication du gène STAT4 dans la physiopathologie de la sclérodermie systémique : apport des modèles animaux....72
Progéniteurs endothéliaux circulants....74
FRACTALKINE....76
Etude génome entier : identification de 3 nouveaux locus de susceptibilité....78
Implication de la fibrilline-1 et bases génétiques....80
HLA, microchimérisme et chromosome X....82
Dosage des cytokines BAFF et APRIL....84
Effet du TGF-β sur les lymphocytes T de patients atteints de Sclérodermie systémique : comment GATA-3 est-il impliqué dans la régulation de l'IL-13 par le TGF-β ?....86

Références complémentaires....88

LEXIQUE....89

Protocoles de recherche financés par l'ASF....93

Epidémiologie

Epidémiologie du phénomène de Raynaud : étude longitudinale

Patrick Carpentier, Bernadette Satger, Dominique Poensin, Hildegard R. Maricq
Clinique Universitaire de Médecine Vasculaire (CHU de Grenoble) et
Department of Rheumatology, Medical University of South Carolina, Charleston (SC)

Introduction

Le phénomène de Raynaud est le symptôme qui survient en premier chez la majorité des patients atteints de sclérodermie, et précède souvent les autres atteintes, de plusieurs années. Il peut également être associé à de nombreuses autres causes ou rester isolé, sans maladie associée ; on l'appelle alors phénomène de Raynaud primitif. Une question difficile à trancher et pourtant importante sur le plan pronostique est de savoir, si un phénomène de Raynaud en apparence primitif le restera, ou finira par évoluer vers une sclérodermie après un temps plus ou moins long. Une étude épidémiologique en population générale, portant sur 11 000 personnes dans 5 régions, nous a permis d'approcher cette question grâce au suivi des patients atteints de phénomènes de Raynaud dans l'une de ces régions, la vallée de la Tarentaise, où la structure sociologique de la population permettait un suivi de bonne qualité, avec peu de perdus de vue.

Résultats

296 sujets sélectionnés à partir d'un échantillon randomisé de 2000 sujets issus de la population générale de la Tarentaise ont participé à une enquête étiologique sur les acrosyndromes, parmi lesquels 78 validaient les critères retenus pour le phénomène de Raynaud (RP+) ; aucun ne présentait de signe clinique de sclérodermie, d'anticorps antinucléaires ni d'anomalie capillaroscopique. Quatorze ans plus tard, nous avons pu recueillir les informations nécessaires au suivi de 292 de ces sujets (4 perdus de vue, soit 1,4%). 18 personnes étaient décédées, et les 274 autres ont été contactés avec succès. Une première évaluation par téléphone a permis d'évaluer leur sensibilité au froid et leur éventuel phénomène de Raynaud à partir d'un questionnaire standardisé. En cas de changement significatif vis-à-vis du phénomène de Raynaud, ou de troubles pouvant évoquer une sclérodermie, les sujets étaient invités à un examen médical.

La mortalité s'est avérée similaire chez les sujets RP+ et RP- et aucun décès n'était lié à une pathologie en relation avec le phénomène de Raynaud. Parmi les 72 sujets RP+ et les 7 sujets initialement du groupe RP- validant, lors du suivi, les critères du phénomène de Raynaud, aucun n'a développé de signe clinique de sclérodermie, bien que 3 sujets se soient plaints d'une aggravation des crises de Raynaud. Une disparition complète des attaques de Raynaud depuis plus de deux hivers a été rapportée par 24 sujets, soit 33% des sujets RP+.

Conclusion et perspectives

Ces résultats montrent que dans la population générale, en l'absence de pathologie associée, d'anticorps antinucléaires et d'anomalie capillaroscopique, le phénomène de Raynaud est une pathologie qui reste le plus souvent une pathologie bénigne, et qui semble même fréquemment réversible.

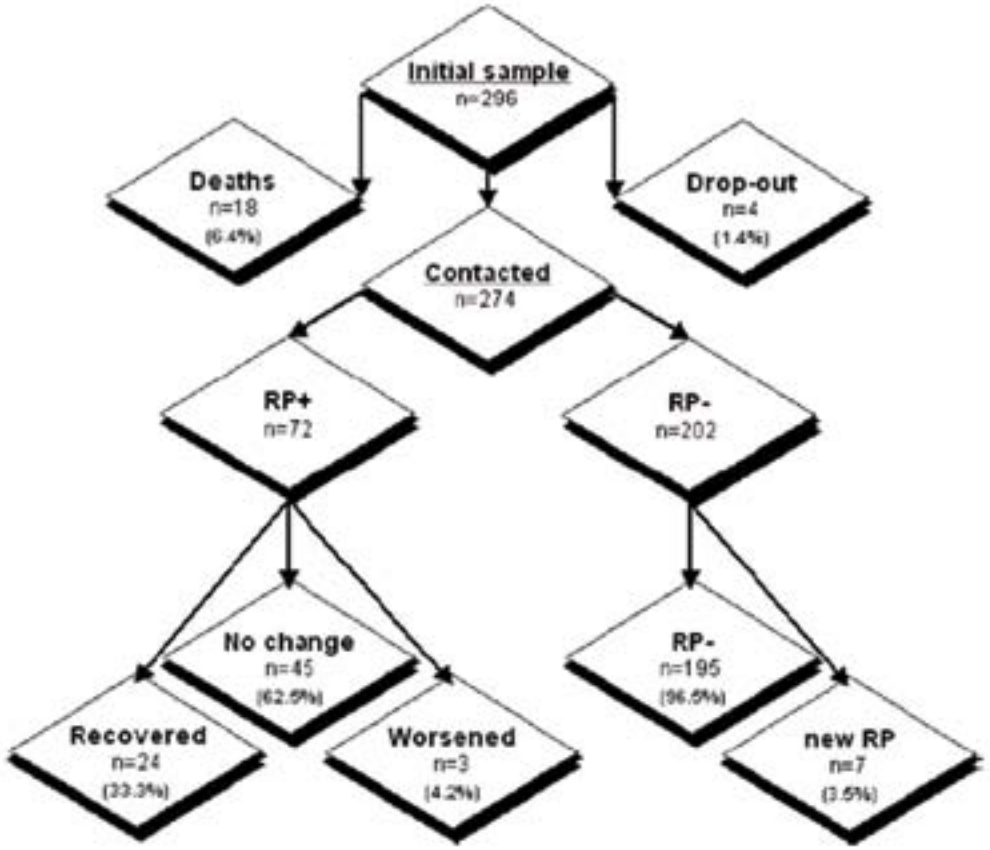


Figure 1. Flow chart of the 296 subjects in the follow-up. RP, Raynaud phenomenon

Publication :
Carpentier PH, Satger B, Poensin D, Maricq HR. Incidence and natural history of Raynaud phenomenon: A long-term follow-up (14 years) of a random sample from the general population. J Vasc Surg 2006;44:1023-8.

Registre Isère-Sud / Savoie de la sclérodermie systémique

Patrick Carpentier, Bernard Imbert, Régis de Gaudemaris, Anne Maître
Clinique Universitaire de Médecine Vasculaire et Institut de Médecine du Travail, CHU de Grenoble

Introduction

La sclérodermie systémique reste une maladie mal connue sur les plans étiologique et pathogénique ; ses contours nosologiques restent eux-mêmes imprécis, et cela rend difficile la prise en charge diagnostique et surtout thérapeutique. Dans ce contexte, les informations épidémiologiques sont difficiles à recueillir mais très précieuses, permettant non seulement de chiffrer la fréquence, c'est-à-dire sa prévalence (nombre de cas par million d'habitants) et son incidence (nombre de nouveau cas chaque année) de la maladie, mais aussi des associations à des facteurs d'environnement qui pourraient constituer des facteurs de risque, objets potentiels de mesures préventives. Dans cette optique, un registre épidémiologique prospectif cherchant à être exhaustif a été mis en place sur l'arrondissement de Grenoble (Isère-Sud) et les trois arrondissements de Savoie à partir des années 1995/96 sur des crédits DRRC puis PHRC. Une rupture de financement en 2002-2003 a mis en péril la continuité du recueil de données qui n'a été possible que grâce à une subvention de l'Association des Sclérodermiques de France.

Résultats

Ce registre a démontré l'existence d'une hétérogénéité géographique de la prévalence et de l'incidence de la sclérodermie systémique et de ses différentes formes limitée, cutanée limitée et cutanée diffuse, avec des foyers localisés, notamment dans l'arrondissement d'Albertville, où prévalence et incidence annuelle sont significativement plus élevés que dans les trois autres arrondissements étudiés. La densité des activités industrielles chimiques et métallurgiques dans cet arrondissement était en faveur de facteurs environnementaux en rapport avec cette activité. Une étude cas-témoin a donc été réalisée pour étudier ces facteurs, et la structure de registre, dont étaient issus les cas a permis de sélectionner des témoins à partir de la population générale, c'est-à-dire en éliminant les principales causes de biais liées à ce type d'étude.

Femmes : 83 cas et 166 témoins		
Toxique	**Odd Ratio**	**IC 95%**
Formol	3.8	1.1 à 12.5
Solvants	*2.4*	*0.95 à 12.6*

Hommes : 10 cas et 40 témoins		
Toxique	**Odd Ratio**	**IC 95%**
Colles	22.0	3.8 à 127.9
Fabrication Plastiques	10.0	1.1 à +∞

Conclusion et perspectives

L'analyse de cette étude cas-témoin a montré l'importance des solvants industriels, des produits de nettoyage et des colles synthétiques comme facteurs de risque de survenue d'une sclérodermie.

Publication :
Maître A, Hours M, Bonneterre V, Arnaud J, Arslan MT, Carpentier P, et al. Systemic sclerosis and occupational risk factors: role of solvents and cleaning products. J Rheumatol 2004;31:2395-401.

Epidémiologie de la Sclérodermie systémique : évaluation du facteur familial. Etude préliminaire

Patrick Carpentier, Bernard Imbert, Christophe Seinturier,
Clinique Universitaire de Médecine Vasculaire, CHU de Grenoble

Introduction

L'étiologie de la sclérodermie systémique reste mal connue et semble plurifactorielle. De nombreux arguments épidémiologiques montrent l'importance des facteurs d'environnement et notamment des expositions professionnelles à la silice cristalline et aux solvants. Il existe cependant une prédisposition individuelle d'origine génétique comme le montrent la fraction relativement faible des sujets exposés aux toxiques qui développe la maladie, l'existence de cas familiaux, la surincidence de sclérodermie chez certains groupes d'indiens Choctaw, et les déséquilibres de liaison avec certains allèles de gènes dont certains s'expriment dans des voies pouvant avoir un lien pathogénique avec certaines lésions de la maladie. Cependant, l'évaluation du surrisque familial reste imprécise, avec un risque relatif variant de 11 à 158 selon les études, les variations étant principalement liées à l'imprécision de l'estimation de la prévalence de la maladie dans la population générale prise comme référence, et qui est approximée à partir de statistiques nationales alors que l'existence de variations géographiques de la prévalence est démontrée.

Résultats

L'évaluation du facteur familial à partir du registre Isère-Savoie de la sclérodermie systémique permet d'éviter certaines difficultés car la taille de la cohorte (250 sujets) permet d'avoir accès à une population suffisante d'environ 1000 parents de premier degré, parce que la prévalence dans la population générale est mesurée précisément dans la même zone géographique, et que l'évaluation des facteurs professionnels a déjà fait l'objet d'une étude approfondie dans notre cohorte de patients.
Cependant, l'étude est très lourde et plus coûteuse qu'initialement prévue, car elle nécessite un entretien téléphonique avec environ 1000 sujets, pour sélectionner ceux atteints de phénomène de Raynaud, et un examen clinique en face à face avec capillaroscopie et recherche d'anticorps antinucléaires chez environ une centaine d'entre eux. L'étude a donc été retardée pour attendre le consensus français sur l'enquête étiologique du phénomène de Raynaud, qui recommande les tests étiologiques dont nous avons besoin chez tous les patients atteints de phénomène de Raynaud, et évitera ainsi leur prise en charge par l'étude. Ce consensus est actuellement en relecture et sera publié dans le second semestre 2012.
Une étude préliminaire a été réalisée pour valider la méthodologie, et plus précisément la valeur du diagnostic (mesure de la sensibilité - paramètre le plus important - et estimation de la spécificité), de l'interrogatoire téléphonique pour le phénomène de Raynaud. Pour ce faire, une enquête a été réalisée auprès de 592 foyers correspondant à des numéros de téléphones de ligne fixe. La moitié d'entre eux correspondaient à des patients atteints de phénomène de Raynaud, vus à la clinique de médecine vasculaire du CHU de Grenoble entre 3 et 8 ans avant l'étude, et l'autre à des numéros programmés au hasard à partir des quatre premiers chiffres de ces patients (appariement géographique). Les interviews ont été réalisées par des enquêteurs professionnels en insu des diagnostics et des noms des patients, en utilisant un dérivé affiné du questionnaire de Maricq. 94,1% des patients et 87,2% des témoins ont pu être contactés. Le phénomène de Raynaud a été détecté par les enquêteurs chez 83% des patients atteints de Raynaud, mais le rappel par le médecin ayant vu le patient en consultation a confirmé que la plupart des faux négatifs apparents correspondait à des patients qui ne présentaient effectivement plus de crises de Raynaud depuis plus d'un an, le taux réel de faux négatifs s'établissant donc à 6% (sensibilité = 0,94). Par ailleurs, la prévalence des sujets avec Raynaud, parmi les témoins, a été trouvée à 11,5% pour les femmes et 6,4% pour les hommes, conforme à ceux rapportés dans nos publications antérieures pour le Grésivaudan.

Conclusion et perspectives

Ainsi, la méthodologie d'enquête téléphonique apparaît très fiable, avec notamment une sensibilité de 0,94, pour permettre la réalisation de notre étude familiale.

Agrégation familiale de connectivites et de thyroïdites auto-immunes

Eugénie Koumakis[1], Philippe Dieudé[2],
Jérôme Avouac[1], André Kahan[1], Yannick Allanore[1]
(1) Service de Rhumatologie A, Hôpital Cochin, Université Paris Descartes
(2) Service de Rhumatologie, Hôpital Bichat-Claude-Bernard

Introduction

La sclérodermie systémique (ScS) est une maladie auto-immune (MAI) multifactorielle complexe. De nombreuses données récentes ont mis en lumière l'existence d'un fond génétique partagé entre différentes MAI. Ainsi, des données épidémiologiques ont montré des agrégations individuelles (plusieurs maladies chez le même individu) et familiales (plusieurs membres atteints) de MAI au cours du lupus systémique et de la polyarthrite rhumatoïde. Notre équipe avait montré des agrégations individuelles de MAI, notamment de syndrome de Gougerot-Sjögren et de thyroïdites auto-immunes, au cours de la ScS. Deux études préliminaires ont également suggéré une fréquence augmentée de lupus et de thyroïdites auto-immunes chez les apparentés au premier degré (enfants et parents d'un cas) de patients atteints de ScS. L'objectif de notre travail était d'évaluer la prévalence de différentes MAI au sein des apparentés au premier degré de patients ScS et de familles contrôles.
L'agrégation familiale permet d'apprécier le risque relatif « familial » ou risque de récurrence d'une maladie, appelé λ, chez les apparentés au premier degré de patients ScS. Il est calculé sur la base du rapport de la prévalence de la maladie chez les apparentés du premier degré sur la prévalence de la maladie dans la population générale ou chez les apparentés d'un groupe contrôle. Cette valeur représente le risque pour un individu, ayant un germain atteint, de développer la maladie.

Patients et méthodes

Un questionnaire standardisé a été envoyé par courrier postal en deux exemplaires à l'ensemble des membres de l'Association des Sclérodermiques de France afin de recruter des patients atteints de ScS et des contrôles. Afin de constituer un groupe contrôle apparié, nous avons demandé à chaque patient de remettre le second questionnaire à un ami, une belle-sœur ou beau-frère, sans lien de sang, de même sexe et de même âge, non atteint de MAI. Les données recueillies portaient sur la présence ou non de 17 MAI chez les cas index (patients ScS et contrôles) ainsi que chez leurs apparentés au premier degré (parents, enfants, frères et sœurs). La prévalence familiale de chaque MAI a été comparée entre les deux groupes en utilisant un test du chi-2 ou un test de Fisher. Une valeur $p<0,05$ a été considérée comme significative. Les analyses ont été réalisées avec le logiciel Medcalc. Les contrôles rapportant un antécédent personnel de MAI ont été exclus de l'analyse. Pour éviter un possible biais lié à un nombre d'apparentés différent dans chaque groupe, nous avons comparé la fréquence de MAI familiale après ajustement au nombre d'apparentés dans les deux groupes. L'agrégation familiale (λR) a été calculée en utilisant la formule λR= Krelative/K, où Krelative correspond à la prévalence de MAI chez les apparentés au premier degré des patients ScS et K à la prévalence chez les apparentés au premier degré des contrôles.

La publication scientifique issue de ce travail :
Familial Autoimmunity in Systemic Sclerosis - Results of a French-based Case-control Family Study. Koumakis E, Dieudé P, Avouac J, Kahan A, Allanore Y. J Rheumatol. 2012;39:532-8

Résultats

Entre décembre 2010 et juin 2011, 373 familles de patients atteints de ScS ont pu être étudiées et comparées à 250 familles contrôles. L'âge et le sexe des patients ScS étaient comparables à ceux du groupe contrôle : âge 61 vs 58 ans, p=0,98 ; 88 vs 84% de femmes, p=0,27. Le nombre moyen de frères et sœurs n'était pas statistiquement différent entre les deux groupes (3,0 vs 2,4 ; p=0,08). Parmi les 373 familles ScS, 121 (32,4%) rapportaient au moins une MAI chez un apparenté du premier degré. Les agrégations familiales les plus fréquemment observées concernaient les thyroïdites auto-immunes (4,9 vs 1,6%, p=0,01, odds ratio (OR) =3,2) et les connectivites (ScS ou lupus systémique ou syndrome de Gougerot-Sjögren) (3,2 vs 0,6%, p=0,01, OR=5,2). Ceci définit un risque de récurrence familiale (λ) de 3,1 pour les thyroïdites auto-immunes et de 5,0 pour les connectivites. Les entérocolopathies inflammatoires, en revanche, étaient moins souvent rapportées dans les familles ScS versus contrôles (0,9 vs 2,8%, p=0,02, OR=0,3). Les agrégations familiales de la polyarthrite rhumatoïde, du diabète de type 1, du psoriasis, du vitiligo, de la sclérose en plaque, des hépatites auto-immunes, de la cirrhose biliaire primitive, de l'anémie de Biermer, de la maladie cœliaque, du rhumatisme psoriasique et de l'arthrite juvénile, ne différaient pas entre les deux populations étudiées. Enfin, l'existence de plusieurs MAI chez les patients ScS était associée à la présence d'une agrégation familiale de MAI en général.

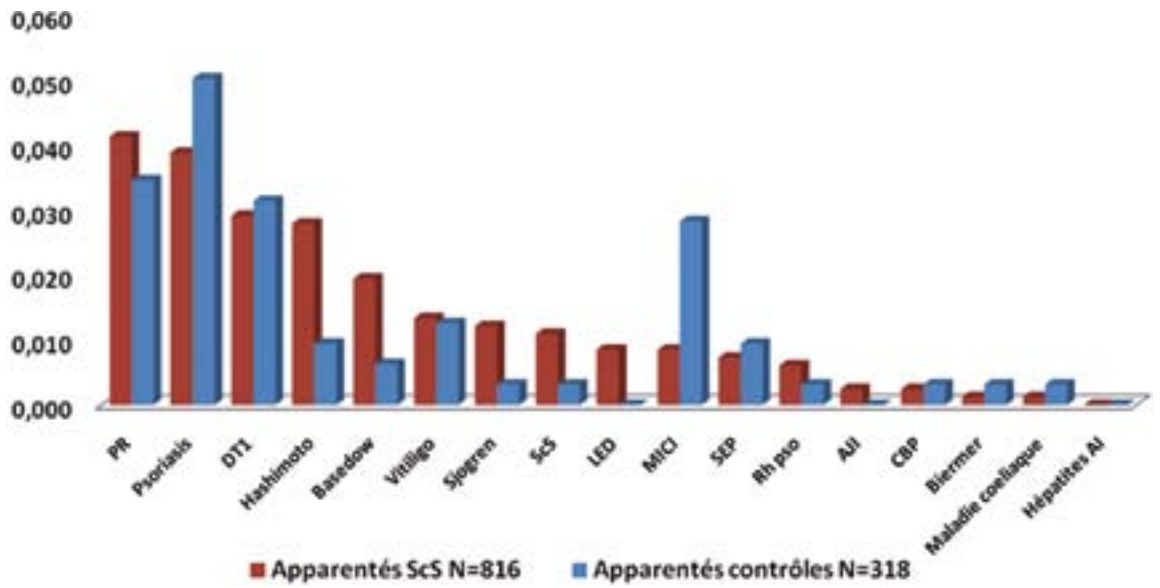


Figure 1. Prévalence ajustée des 17 maladies auto-immunes chez les apparentés au premier degré de 373 ScS (N=816) et 250 contrôles (N=318) (%)

Conclusion et perspectives

La comparaison des apparentés de patients ScS à des familles contrôles montre une augmentation de la prévalence de thyroïdites auto-immunes et de connectivites en général dans les familles avec un cas de ScS. Cette agrégation conforte l'hypothèse d'un fond génétique commun à différentes MAI systémiques et spécifiques d'organes. Elle renforce aussi les perspectives de reclassification des MAI en fonction de leur base génétique et les possibilités de traitements communs à différentes maladies.

Etudes cliniques

Raynaud primaire versus Raynaud de la sclérodermie systémique

Jean-Luc Cracowski, Matthieu Roustit, Sophie Blaise, Patrick Carpentier
Centre d'Investigation Clinique et Service de médecine vasculaire, CHU de Grenoble

Introduction

La sclérodermie est associée de façon précoce à une anomalie des vaisseaux sanguins de petit calibre. Ces vaisseaux, de part leur petite taille, sont qualifiés par le terme générique de « microcirculation ». Leur caractéristique est qu'ils ne sont pas visibles à l'œil nu et l'on considère actuellement que les micro-vaisseaux sont des vaisseaux de moins d'environ 150 µm. Afin de mieux caractériser la dysfonction de la microcirculation dans la sclérodermie, la mise au point de méthodes d'exploration est une étape importante. La plus utilisée, aujourd'hui, dans ce contexte, est la capillaroscopie, qui consiste à examiner les anomalies morphologiques de ces vaisseaux au niveau de l'ongle. D'autres techniques permettent non pas d'étudier la structure des vaisseaux mais de quantifier le flux sanguin qui y circule. C'est le cas par exemple du laser Doppler, qui utilise le recueil de la réflexion de faisceaux de lumière monochromatique sur la peau, en utilisant le décalage de longueur d'onde pour estimer la vitesse des globules rouges. Lorsque le Laser Doppler est associée à certains tests (comme par exemple le chauffage ou le refroidissement local), cette technique étudie la capacité des micro-vaisseaux à réagir et permet de mieux comprendre les mécanismes de ces anomalies dans la sclérodermie.
L'influence d'un chauffage local prolongé (30 à 40 minutes) a été beaucoup étudiée sur l'avant-bras. Il apporte des renseignements importants car on observe dans les 10 premières minutes une vasodilatation réflexe d'origine nerveuse, puis un nadir, puis une nouvelle augmentation du flux pour aboutir à un plateau après 20 à 40 minutes de chauffage. Ce plateau dépend de la capacité des vaisseaux à produire du monoxyde d'azote, un puissant vasodilatateur (qui dilate les vaisseaux). Aucune donnée n'est cependant disponible sur la réactivité des doigts.

Résultats

Dans un premier temps, nous avons comparé la réponse cutanée à la chaleur de l'avant-bras et de la pulpe de 10 sujets sains. Nous avons montré que le pic réflexe initial était plus important sur la pulpe que sur l'avant bras. Ce pic était inhibé par l'anesthésie locale (crème lidocaïne/prilocaïne), ce qui démontrait sur la pulpe que le pic initial de vasodilatation dépendait de l'intégrité des terminaisons nerveuses C afférentes.
Dans un second temps, nous avons comparé cette réponse sur la pulpe de 10 patients présentant un phénomène de Raynaud primaire et 16 patients présentant un phénomène de Raynaud secondaire à une sclérodermie. Dans le phénomène de Raynaud primaire, la réponse à la chaleur était identique à celle des sujets sains, avec en particulier une diminution du pic initial. Dans la sclérodermie, ce pic initial semble absent et la réponse initiale n'est pas modifiée par l'application d'un anesthésique local. On peut donc conclure que la sclérodermie est associée à une atteinte de la régulation neurovasculaire réflexe locale au niveau des doigts.

Conclusion et perspectives

L'étude de la réponse locale à la chaleur pourrait permettre de démasquer précocement une anomalie de réponse neurovasculaire dans la sclérodermie. Cette hypothèse est actuellement testée dans le cadre d'une autre étude.

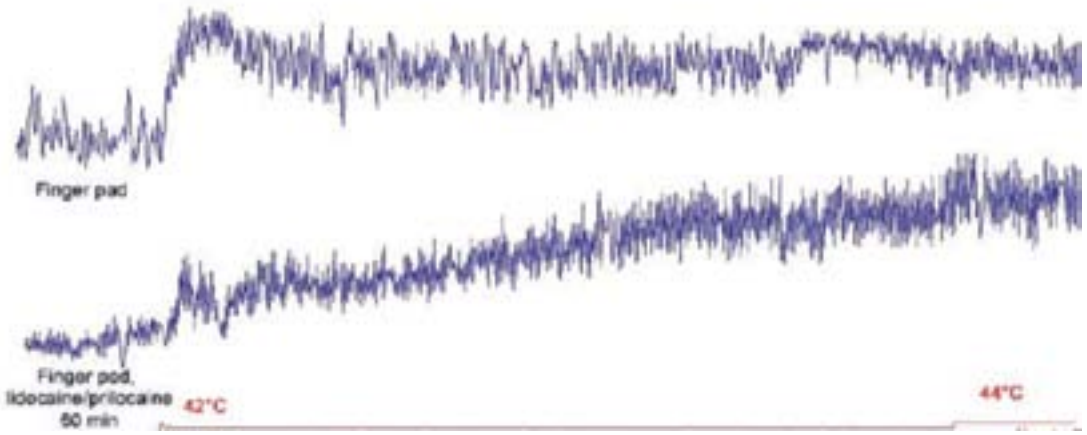


Figure 1 A. Tracés représentatifs de la réponse locale à la chaleur (42°C) chez un sujet sain. En abscisse, le temps est représenté (durée ici de 40 min), en ordonnée, le flux sanguin cutané. En haut, on observe un pic dans les 10 premières minutes, suivi d'un plateau tardif. Lorsque l'on effectue une anesthésie locale (tracé du bas), on diminue très nettement le pic initial.

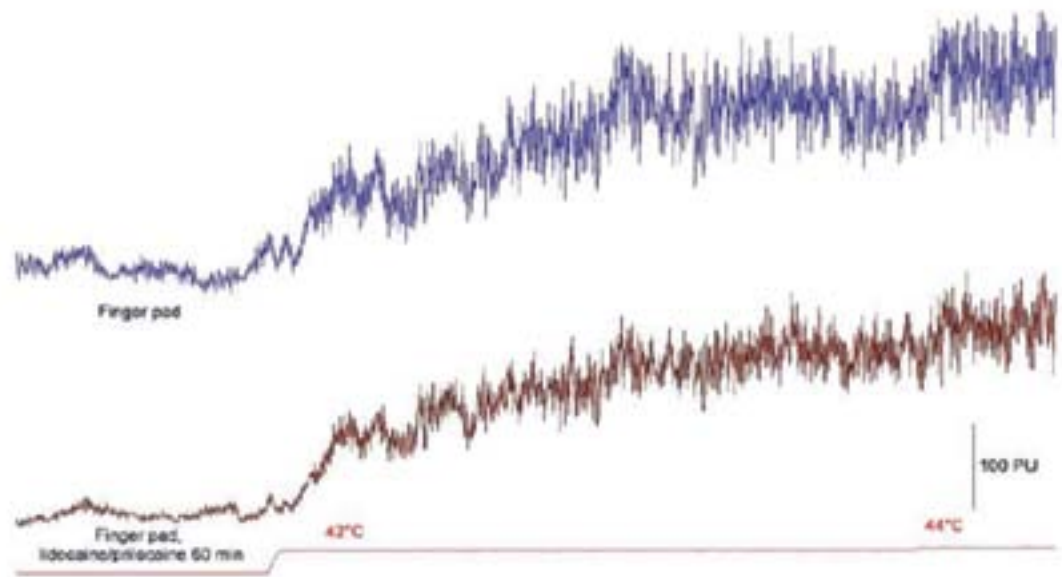


Figure 1 B. Tracé représentatif de la réponse à la chaleur de la pulpe du doigt d'un patient présentant une sclérodermie systémique. Que ce soit avec (haut) ou sans (bas) anesthésie locale, il n'existe pas de premier pic réflexe clairement discernable dans les 10 premières minutes.

Les publications scientifiques issues de ce travail :
-Abnormal digital neurovascular response to local heating in systemic sclerosis. Roustit M, Simmons GH, Carpentier P, Cracowski JL. Rheumatology. 2008;47:860-4.
-Roustit M, Hellmann M, Cracowski C, Blaise S, Cracowski JL. Sildenafil increases digital skin blood flow during all phases of local cooling in primary Raynaud's phenomenon. Clin Pharmacol Ther, sous presse.
-Impaired transient vasodilation and increased vasoconstriction to digital local cooling in primary Raynaud's phenomenon. Roustit M, Blaise S, Millet C, Cracowski JL. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2011;301:H324-30.
-Reproducibility of a local cooling test to assess microvascular function in human skin. Roustit M, Maggi F, Isnard S, Hellmann M, Bakken B, Cracowski JL. Microvasc Res. 2010;79:34-9.

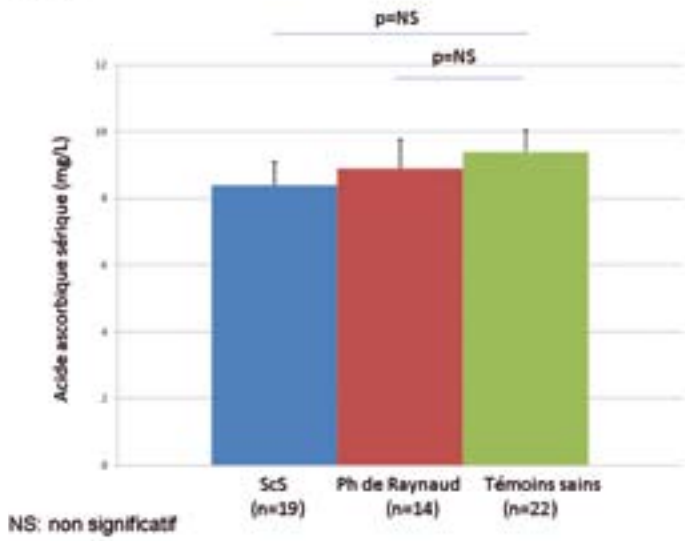
Etude comparative des concentrations leucocytaires et sériques en vitamine C chez les patients atteints de sclérodermie, de phénomène de Raynaud et des volontaires sains

Kiet Phong Tiev[1], Valérie Néguin[1], Gisèle Le Moël[2], Jean Cabane[1]
(1) Service de médecine Interne, Hôpital Saint Antoine, Université Paris VI.
(2) Laboratoire de Biochimie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Université Paris X

Introduction

Au cours de la sclérodermie systémique (ScS), et à moindre degré au cours du phénomène de Raynaud "primitif", les épisodes d'ischémie répétés et déclenchés par le froid provoquent la libération des radicaux libres et altèrent progressivement le réseau micro-vasculaire. L'acide ascorbique, le plus puissant anti-oxydant non enzymatique physiologique, est capable de neutraliser les radicaux libres en empêchant la peroxydation lipidique et l'altération de l'acide désoxyribonucléique (ADN), responsables des lésions cellulaires. La répartition de l'acide ascorbique entre les secteurs plasmatique et intracellulaire est inégale. En effet, le secteur intracellulaire est considéré comme une réserve d'anti-oxydant, alors que le secteur plasmatique est supposé en contact direct avec les radicaux libres libérés dans le sang par différents organes lésés. Cependant, il existe un échange dynamique entre les deux secteurs. Comme les patients atteints de ScS se différencient des patients atteints de phénomène de Raynaud par une atteinte micro-vasculaire organique visible à la capillaroscopie, nous avons comparé ces deux groupes de patients avec les volontaires sains indemnes d'atteinte micro-vasculaire. Nous avons entrepris une étude prospective pour évaluer les taux sériques et les concentrations leucocytaires de vitamine C chez les patients atteints de ScS, de Phénomène de Raynaud et de volontaires sains.

Figure 1



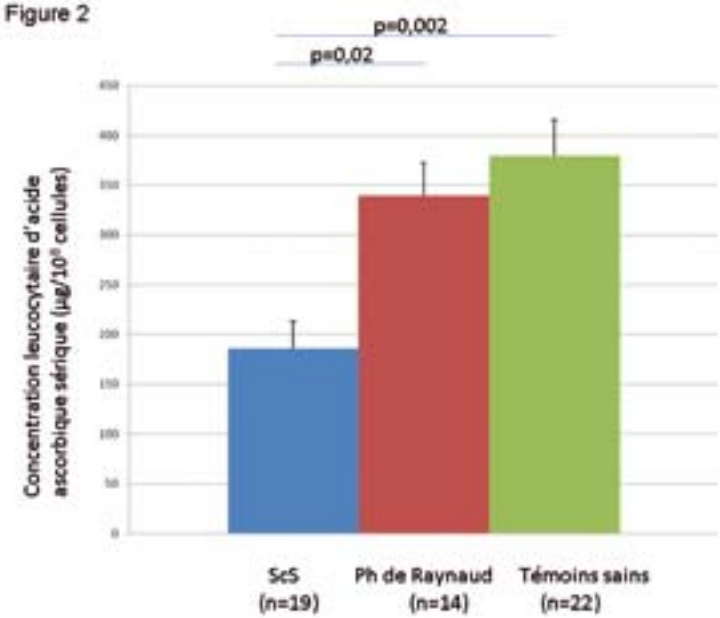
Méthodes

De septembre 2000 à Mars 2002, 19 patients atteints de ScS (18 femmes / 1 homme ; âge moyen= 51,0 ± 10,0 ans ; 9 formes diffuses et 9 formes limitées de ScS), 14 patients atteints de phénomène de Raynaud sans micro-angiopathie organique objectivée à la capillaroscopie et sans auto-anticorps sérique (11 femmes / 3 hommes ; âge moyen=47,0 ± 11,0 ans) et 22 volontaires sains (21 femmes / 1 homme ; âge moyen=46,5 ± 9,0 ans) ont été inclus dans l'étude.
Les dosages sériques et leucocytaires de vitamine C ont été effectués à jeun par la méthode HPLC. Les comparaisons des taux sériques et leucocytaires de Vitamine C ont été effectuées par un test U de Mann Whitney (α=0,05; puissance=80%)

Résultats

Le taux moyen sérique de vitamine C des patients atteints de ScS (8,4 ± 3,0 mg/L) était comparable à celui des patients atteints de phénomène de Raynaud (8,9 ± 3,2 mg/L, p=0.60) et à celui des volontaires sains (9,4 ± 3,0 mg/L, p=0.10, figure 1). Alors que la concentration leucocytaire moyenne de vitamine C des patients atteints de ScS (185,9 ± 119,7 µg/108 leucocytes) était significativement diminuée par rapport à celle de patients atteints de phénomène de Raynaud (339,7 ± 122,7 µg/108 leucocytes, p=0,02) et à celle des volontaires sains (379,5 ± 167,7 µg/108 leucocytes, p=0,002, figure 2).

Figure 2



Conclusion et perspectives

La concentration leucocytaire de vitamine C est fortement diminuée chez les patients atteints de ScS et à un moindre degré chez les patients atteints de phénomène de Raynaud par rapport aux volontaires sains, alors que les taux sériques de vitamine C sont comparables dans les trois groupes. La diminution de la concentration leucocytaire de vitamine C reflète indirectement un niveau élevé du stress oxydant au niveau intracellulaire et pourrait être un meilleur marqueur du pouvoir anti-oxydant que le taux sérique d'acide ascorbique.
La mauvaise absorption alimentaire liée à une atteinte digestive chez des patients atteints de ScS pourrait être responsable en partie de l'efficacité limitée et discutable de l'apport alimentaire d'anti-oxydant. Cependant, il faut considérer la concentration leucocytaire de vitamine C comme un marqueur du pouvoir anti-oxydant qu'il faut tenter de restaurer en utilisant des traitements capables de diminuer le stress oxydant actuellement disponibles. Ce travail pourrait être poursuivi par un essai évaluant l'impact des vasodilatateurs ou de la N-Acetyl Cystéine ou de l'apport direct de vitamine C sur la concentration leucocytaire de vitamine C dans la sclérodermie.

La rigidité artérielle prédit la progression sévère des sclérodermies systémiques

Joël Constans pour les investigateurs d'ERAMS
CHU de Bordeaux

Introduction

La sclérodermie systémique est une maladie de la microcirculation, mais une atteinte des grosses artères a été suggérée par plusieurs études. Notre équipe a montré que les sclérodermiques ont des artères plus rigides que celles de témoins du même âge [1] en utilisant la méthode du QKd. L'étude ERAMS avait pour objet d'étudier la rigidité artérielle comme prédicteur de la progression vers des atteintes sévères au cours de la sclérodermie systémique.

Le QKd

Le QKd consiste à mesurer le temps mis par le sang pour aller du cœur à l'artère humérale au bras à l'aide d'un dispositif porté par le malade pendant 24 heures, et qui couple un enregistrement de l'électrocardiogramme et de la pression artérielle. Plus ce temps (vélocité de l'onde de pouls) est bref plus les artères sont rigides. Le résultat du QKd peut être standardisé par le calcul du QKd 100-60 (QKd normalisé en modélisant une tension artérielle systolique à 100 mm Hg et une fréquence cardiaque à 60/min. Le QKd 100-60 normal est supérieur à 200 millisecondes, un QKd 100-60 <200 msec définissant une artère rigide.

Méthodes de travail

L'étude ERAMS était une étude multicentrique française réalisée dans 14 hôpitaux. Il s'agissait de mesurer la rigidité artérielle à l'inclusion puis tous les ans, pendant 3 ans, en même temps que le bilan classique de sclérodermie était réalisé. Les patients ont été classés au terme de l'étude en non progresseurs (pas d'évidence de progression de la sclérodermie), progresseurs non sévères (aggravation rhumatologique, digestive ou cutanée) ou sévère (complications cardiaques, pulmonaires ou rénales). Cette progression était validée par un comité de validation des évènements. Le QKd et les différents paramètres à l'inclusion ont été comparés pour prédire la progression.

Résultats

Entre 1999 et 2002, l'étude ERAMS a inclus 121 patients dont 16 ont dû être exclus essentiellement pour des raisons de non validité de la mesure du QKd et 6 n'ont pu être suivis pour leur évolution. Finalement, 99 patients ont pu être analysés. Parmi eux 47 avaient un QKd < 200 msec, donc des artères rigides. Les paramètres associés à la progression ultérieure de la sclérodermie étaient l'âge, la durée d'évolution de la sclérodermie, le taux d'hémoglobine, l'atteinte pulmonaire (diminution de la DLCO sur les épreuves fonctionnelles respiratoires), l'atteinte cutanée mesurée par le score de Rodnan, et le QKd 100-60. L'analyse multivariée a montré que les deux seuls paramètres indépendants permettant de prédire la progression sévère étaient le taux d'hémoglobine et le QKd 100-60. Ainsi un QKd 100-60 <200 msec était associé à un risque de progression 20 fois plus élevé vers des complications sévères de la sclérodermie [2] .

Investigateurs d'ERAMS :
Joël Constans, Christine Germain, Philippe Gosse, Jacques Taillard, Kiet Tiev, Isabelle Delevaux, Luc Mouthon, Claude Schmidt, Florence Granel, Pascale Soria, François Lifermann, Gabriel Etienne, Fabrice Bonnet, Karim Zoulim, Dominique Farge-Bancel, Isabelle Marie, Yannick Allanore, Jean Cabane, Alain Amonchot, Isabelle Macquin-Mavier, Marianne Saves, Faiez Zannad et Claude Conri.

Références :
1. Constans, J., et al., Alteration of arterial distensibility in systemic sclerosis. J Intern Med, 1997.241:p.115-8.
2. Constans, J., et al., Arterial stiffness predicts severe progression in systemic sclerosis: the ERAMS study. J Hypertens, 2007.25:p.1900-6.
3. Gosse, P., J. Taillard, and J. Constans, Evolution of ambulatory measurement of blood pressure and parameters of arterial stiffness over a 1-year period in patients with systemic sclerosis: ERAMS study. J Hum Hypertens, 2002.16:p.627-30.

Tableau : Association entre la progression et le QKd 100-60 ajusté sur les autres paramètres (analyse multivariée)

	Odds ratio	Intervalle de confiance à 95%	p
QKd 100-60 (<200m sec vs >200msec)	19,6	1,2-308,2	0,03
Sexe (femme vs homme)	0,2	0-2,3	0,18
Age (par an)	1	0,9-1	0,34
Durée de la sclérodermie (par jour)	1	1-1	0,14
Atteinte cardiaque	4,8	0,1-173,1	0,39
Atteinte pulmonaire	2,1	0,3-15,4	0,47
Ac anti-topo-isomérase I	1,7	0,2-12,7	0,61
Score cutané (par unité)	1	0,9-1,1	0,76
DLCO (par 1% supplémentaire)	1	0,9-1	0,47
Hémoglobine (par g/l)	0,4	0,2-0,9	0,02

L'Odds ratio (OR) indique l'augmentation du risque de progression associé au paramètre. Exemple : un odds ratio à 19,6 veut dire que le malade a 19,6 fois plus de risque de progresser en présence du paramètre. L'intervalle de confiance à 95% indique que la valeur observée peut être crue comme étant dans cet intervalle avec un pourcentage de confiance de 95%. Le p indique la signification statistique (p<0,05 indique que le résultat est statistiquement significatif.

Conclusion et perspectives

La mesure de la rigidité des grosses artères par la méthode du QKd 100-60 permet de prédire la progression des sclérodermies systémiques vers des complications cardiaques, pulmonaires ou rénales à 4 ans. Le QKd 100-60 et le taux d'hémoglobine sont les deux marqueurs utiles de cette prédiction. Le QKd 100-60 pourrait être un marqueur « de substitution » utilisable pour tester des thérapeutiques de fond de la sclérodermie, il peut être utilisé en pratique pour aider à prédire le pronostic d'une sclérodermie au diagnostic, d'autant que le QKd parait être altéré précocement dans les sclérodermies, puisqu'à un an il n'y avait pas de variation significative du QKd chez les sclérodermiques dans l'étude ERAMS[3].

Sclérodermie et artériopathie des membres inférieurs

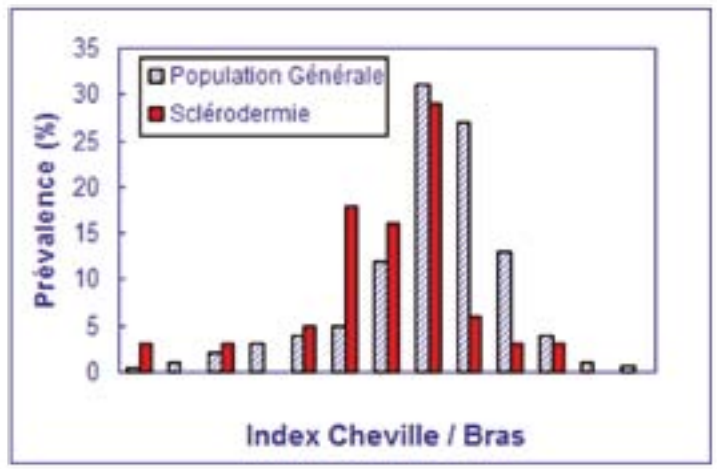
Patrick Carpentier, Christophe Seinturier, Bernard Imbert
Clinique Universitaire de Médecine Vasculaire, CHU de Grenoble

Introduction

L'artériopathie des membres inférieurs pose au moins deux problèmes dans la sclérodermie systémique : d'une part, sa prévalence est sous-estimée, du fait du caractère longtemps asymptomatique des lésions, mais, semble plus élevée que dans la population générale de même âge et de même sexe (17 à 22% selon les études) ; en corollaire, le diagnostic est souvent posé d'emblée au stade des troubles trophiques, avec des lésions artérielles étendues, et ceci, associé au terrain vasomoteur du phénomène de Raynaud et aux lésions de microangiopathie, est sans doute l'explication d'un taux élevé d'échecs des pontages distaux et d'un nombre important d'amputations. L'évaluation systématique de l'index de pression systolique, utilisé dans les enquêtes épidémiologiques sur l'artériopathie athéromateuse des membres inférieurs dans la population générale, pourrait être intéressante pour le dépistage précoce de l'artériopathie sclérodermique, et son caractère quantitatif devrait permettre de dépister notamment les sujets dont l'atteinte artérielle est suffisamment sévère pour entraîner un risque de décompensation et de troubles trophiques et sans doute justifier une prise en charge préventive.

Résultats

A la suite d'une première série réalisée lors de l'assemblée générale de l'ASF en 2001, et qui avait dépisté 8 atteintes artérielles chez une série de 39 sujets (21%), une série hospitalière a été investiguée, portant sur 72 patients sclérodermiques, dont 89% de femmes, âgés de 26 à 81 ans, ne se plaignant d'aucun symptôme évocateur d'artériopathie des membres inférieurs (pas de claudication, ni de troubles trophiques). L'index de pression systolique était mesuré comme le rapport de pression systolique de la meilleure artère de cheville sur la pression humérale. Un index inférieur au seuil de normalité (0,90) a été retrouvé au niveau d'au moins un membre inférieur chez 17 sujets (24%). Dans la plupart des cas cependant (12/17), il s'agissait d'une atteinte modérée (IPS>0.70). Aucune particularité de la maladie sclérodermique (ancienneté, type, score de Rodnan) n'était statistiquement associée à l'artériopathie, alors que le nombre de facteurs de risque d'athérosclérose l'était (P<0.01).



Conclusion et perspectives

Bien qu'une artériopathie sclérodermique spécifique ait été décrite, ces résultats sont plutôt en faveur d'une artériopathie athéromateuse facilitée par la sclérodermie, comme cela a été décrit pour d'autres connectivites. Les 17 patients sont actuellement en cours de suivi sur 5 ans, mais aucun événement n'était survenu à un an.

Etude du retentissement psychiatrique et cognitif

Luc Mouthon, service de médecine interne, Centre de référence maladies systémique et autoimmunes rares : vascularites nécrosantes et sclérodermie systémique, Hôpital Cochin

Introduction

Les objectifs étaient d'évaluer la prévalence des troubles anxieux et dépressifs chez les patients atteints de sclérodermie systémique (ScS), ainsi que l'association de ces troubles avec les différentes manifestations cliniques et d'étudier les capacités cognitives au cours de la sclérodermie systémique.

Méthodes de travail

Entre mai 2002 et mai 2004, 100 patients ayant une ScS ont été évalués consécutivement : 51 au cours de réunions de l'Association des Sclérodermiques de France (ASF) et 49 au cours d'une hospitalisation dans le service de médecine interne de l'hôpital Cochin. Les troubles anxieux et dépressifs étaient évalués par un entretien clinique structuré (le Mini International Neuropsychiatric Interview [MINI]) effectué par un psychiatre et un autoquestionnaire (le Hospital Anxiety and Depression Scale [HADS]). Le même jour, le traitement psychotrope et les caractéristiques cliniques étaient recueillis.
Entre mai 2002 et mai 2005, 27 patients ayant une ScS ont été évalués consécutivement au cours de réunions de l'Association des Sclérodermiques de France ou dans le service de médecine interne de l'hôpital Avicenne et de l'hôpital Cochin (26 femmes et 1 homme, âge moyen 49,2 ans) et 23 patients ayant une polyarthrite rhumatoïde (20 femmes et 3 hommes, âge moyen 51,7 ans). Tous étaient nés en France et avaient suivi leur scolarité en France. L'évaluation cognitive comprenait les fonctions exécutives, le langage et la mémoire. L'anxiété et la dépression étaient évaluées en utilisant l'échelle « hospital anxiety and depression » (HAD).

Référence :
1. Baubet T, Ranque B, Taieb O, Berezne A, Bricou O, Mehallel S, et al. Mood and anxiety disorders in systemic sclerosis patients. Presse Med. 2011;40:e111-9.

Résultats

A l'aide du MINI, 19% (intervalle de confiance à 95%: 12-28%) de l'ensemble des patients sclérodermiques présentaient des symptômes de dépression majeure (MDE), 56% (46-65%) avaient un antécédent de MDE au cours de leur vie et 14% [8-22%] avaient une dysthymie au moment de l'évaluation. Les épisodes de MDE actuels étaient plus fréquents chez les patients hospitalisés que chez les autres (28% vs 10%, p=0.02). Des troubles anxieux spécifiques étaient mis en évidence chez 37 (28-47) patients. Moins de 50% des patients qui avaient des troubles de l'humeur avaient un traitement psychotrope. La présentation clinique des patients sclérodermiques n'était pas différente, qu'ils aient ou non des symptômes dépressifs, à l'exception des signes digestifs (1).
Vingt cinq patients sclérodermiques (92%) et 11 (48%) patients ayant une polyarthrite rhumatoïde avaient au moins une atteinte cognitive. Des déficits cognitifs modérés – sévères étaient identifiés chez les patients sclérodermiques comparativement aux patients ayant une polyarthrite rhumatoïde (77% vs. 48%), respectivement. Les patients sclérodermiques avaient essentiellement des défauts d'exécution et une altération de la mémoire à long terme. Six des 25 (24%) patients sclérodermiques avaient une dépression et 18 (72%) patients ScS avait une atteinte cognitive en l'absence de dépression (article soumis pour publication).

Conclusion et perspectives

La prévalence des troubles anxieux et dépressifs est élevée au cours de la ScS. Cependant, seulement la moitié de ces patients reçoivent des traitements psychotropes adaptés. Les fonctions cognitives sont plus fréquemment altérées au cours de la ScS qu'au cours de la polyarthrite rhumatoïde.

Prévalence de l'endobrachyoesophage et risque d'adénocarcinome œsophagien à partir d'une cohorte européenne de patients sclérodermiques avec endobrachyoesophage

Wipff J*, Coriat R, Masciocchi M, Caramaschi P, Derk CT, Hachulla E, Riccieri V, Mouthon L, Krasowska D, Ananyeva LP, Kahan A, Matucci-Cerinic M, Chaussade S, Allanore Y
*Université Paris Descartes, Service de Rhumatologie A, Hôpital Cochin, 75014 Paris.

Introduction

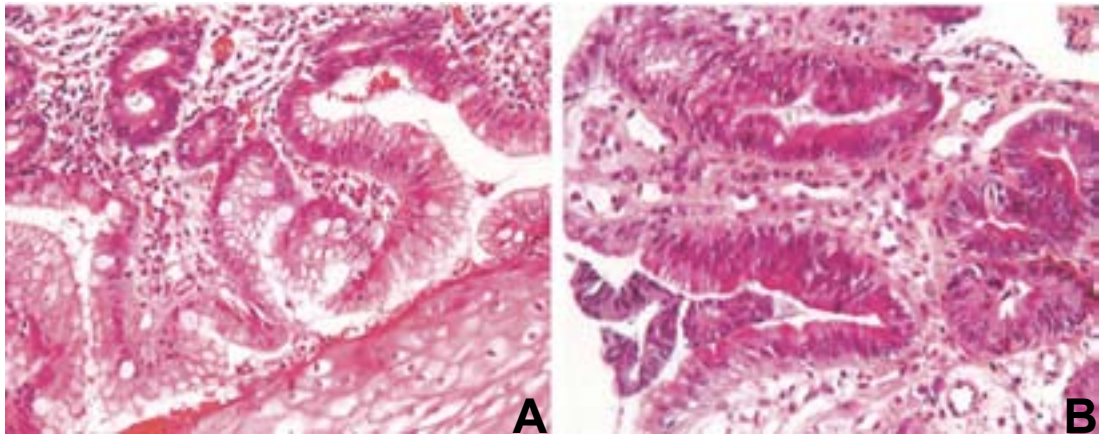
L'œsophage de Barrett ou endobrachyoesophage (EBO) est le principal facteur de risque d'adénocarcinome œsophagien. La sclérodermie systémique (ScS) est associée à une augmentation du risque, d'une part de survenue d'EBO secondaire au reflux chronique de l'atteinte œsophagienne de la maladie et, d'autre part d'adénocarcinome œsophagien. Peu d'études se sont intéressées à la prévalence de l'EBO dans la sclérodermie systémique et leurs résultats sont contradictoires. Nous avons donc voulu déterminer, par endoscopie systématique, la fréquence de l'EBO et de l'adénocarcinome œsophagien dans une grande cohorte de patients ScS et rechercher une association entre l'EBO et un sous-type de la maladie.

Résultats

Tous les patients ScS successivement hospitalisés dans le service de Rhumatologie A de l'hôpital Cochin, pendant une période de 2 ans pour un suivi systématique de leur maladie, ont été inclus. Le diagnostic de ScS était basé sur les critères établis par l'Association Américaine de Rhumatologie. C'était une étude transversale et observationnelle. Tous les patients ont eu une fibroscopie œsophagienne et gastrique avec réalisation de biopsies, uniquement en cas de lésions macroscopiquement visibles.
Le diagnostic histologique d'EBO a été posé chez quatorze patients ScS (12,7%). Des lésions macroscopiques suspectes d'EBO avaient été détectées chez 24 patients, mais la confirmation histologique n'a pu être établie que chez 14 patients. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence quant aux données cliniques, biologiques ou morphologiques entre le groupe des patients avec et celui sans EBO. Notamment, les patients avec et sans EBO ont la même durée d'évolution de la maladie (10 ans), une durée d'évolution du syndrome de Raynaud similaire (13 ans) et un pourcentage de formes cutanées limitées (environ 60%) équivalent.
Aucun adénocarcinome n'a été détecté dans cette population. Par contre, 3 patients (21%) sur les 14 avec un EBO présentaient sur les biopsies une dysplasie associée : 2 avec un bas grade (sur une des 4 biopsies) et une avec un haut grade (1 biopsie avec un haut grade et 2 avec un bas grade).

Dans un deuxième temps, nous avons voulu décrire l'évolution de l'EBO et estimer le risque d'adénocarcinome œsophagien des patients ScS avec EBO dans une étude européenne prospective de 3 ans.
Les patients ScS ont été recrutés à partir de centres appartenant au réseau EUSTAR. Le critère d'inclusion était la découverte récente d'un EBO histologique sur des biopsies œsophagiennes. Les patients étaient ensuite suivis de façon prospective et standardisée avec un contrôle endoscopique suivant les recommandations actuelles selon la présence et le grade d'une éventuelle dysplasie.
50 patients avec ScS et EBO (40 sans et 10 avec dysplasie) ont été inclus et 46 ont complété le suivi (138 patients-année). A baseline, les patients EBO avec dysplasie avaient significativement plus fréquemment des formes cutanées limitées et des anticorps anti-centromère que les patients

sans dysplasie. Par ailleurs, la fréquence de la dysphagie était plus élevée dans le sous groupe avec dysplasie.
Durant les 3 années de suivi, 3/46 patients ont eu un diagnostic de dysplasie de haut grade et 1/46 d'adénocarcinome du cardia. Le seul cas d'adénocarcinome a été détecté dans le sous-groupe de patients avec dysplasie. Trois de ces 4 patients ont eu un traitement spécifique local endoscopique ou chirurgical. Un seul patient n'ayant pas de dysplasie au début de l'étude a développé une dysplasie de haut grade pendant le suivi.



Aspect histologique d' œsophage de Barett, sans dysplasie (A) et avec dysplasie (B)

Conclusion et perspectives

Ces études confirment que l'endobrachyoesophage est une complication classique du reflux gastro-œsophagien de la ScS. L'étude européenne prospective multicentrique montre une augmentation du risque d'adénocarcinome œsophagien dans la ScS et met en avant la nécessité d'un suivi particulier des patients ScS avec EBO à haut risque de développer un adénocarcinome œsophagien c'est-à-dire les patients ayant une dysplasie sur EBO. Les patients ScS avec une forme cutanée limitée et des anticorps anti-centromère ainsi que la présence d'une dysphagie sont à considérer comme des patients plus à risque de développer une dysplasie sur EBO.

Publications scientifiques issues de ce travail :
- Wipff J, Allanore Y, Soussi F et al. Prevalence of Barrett's esophagus. Arthritis Rheum 2005;52:2882-2888.
Le deuxième travail a fait l'objet :
- Julien Wipff, Romain Coriat, Michela Masciocchi et al. Outcomes of Barrett's oesophagus related to systemic sclerosis: a 3-year EULAR Scleroderma Trials and Research prospective follow-up study 2011;50:1440-4.

Ulcères digitaux sclérodermiques : enquête de pratique

Patrick Carpentier et Camille Francès
Clinique Universitaire de Médecine Vasculaire,
CHU de Grenoble et Service de Dermatologie, Hôpital Tenon, Paris

Introduction

Les ulcères digitaux sont fréquents dans la sclérodermie systémique et, bien que de petite taille, très invalidants et difficiles à traiter. Une première enquête déclarative ayant montré que la prise en charge était très différente d'une équipe à l'autre, le Groupe Français de Recherche sur la Sclérodermie a décidé, fin 2004, de réaliser une enquête de pratique sur le sujet.

Résultats

Cette enquête a été réalisée à l'aide d'une fiche d'observation standardisée, qui devait être remplie pour chaque consultant atteint de sclérodermie systémique et présentant un ulcère digital actif entre le 22 septembre et le 13 octobre 2006. Les données recueillies comprenaient 65 items correspondant à la description de la maladie, à celle des ulcères, et aux modalités de prise en charge.

Cinquante-huit observations ont été recueillies par 23 médecins ; elles concernaient des femmes dans 88% des cas, avec un âge médian de 56 ans ; la prévalence médiane des ulcères digitaux, par centre, était de 7%. La maladie sclérodermique évoluait en moyenne depuis 8 ans ; il s'agissait dans 41% des cas de sclérodermies cutanées diffuses, dans 55% de sclérodermies cutanées limitées, et dans 4% de sclérodermies limitées ; le score de Rodnan médian était de 14, et on notait chez 47% des patients une fibrose pulmonaire et chez 17% une hypertension artérielle pulmonaire. Les ulcères étaient multiples dans 73% des cas ; 64% d'entre eux étaient considérés comme principalement ischémiques et leur ancienneté médiane était de 10 semaines (mais 10% n'évoluaient depuis plus d'un an). Les ulcères pulpaires représentaient 62% des cas. Les ulcères étaient plus fréquents à droite (58%) et au niveau de l'index (45%). En ce qui concerne la prise en charge diagnostique, des radiographies des mains avaient été réalisées chez 84% des patients, mais des pressions artérielles digitales chez seulement 7% d'entre eux. Au niveau du traitement systémique, 52% des patients recevaient un calcium-bloqueur, 40% recevaient ou avaient reçu des perfusions d'ilomédine, et 30% étaient sous bosentan (dont un quart pour HTAP) ; 12% étaient sous antibiothérapie. Les soins locaux étaient réalisés par une infirmière dans 76% des cas : près du quart des patients se débrouillaient seuls, et une détersion mécanique n'était réalisée que dans 17% des cas ; les pansements "secs" et les pansements gras représentaient chacun un tiers des traitements locaux. Enfin, une hospitalisation était requise dans 43% des cas et un traitement chirurgical dans 21%.

Conclusion et perspectives

Cette enquête de pratique a donc montré la prévalence élevée des ulcères digitaux parmi les patients français consultant pour sclérodermie systémique, la sévérité de ces ulcères requérant fréquemment hospitalisation et traitements lourds, et des possibilités d'amélioration des traitements locaux. Ces constatations ont amené le groupe à proposer des recommandations qui ont été publiées dans la Presse Médicale.

Publication :
Francès C, Allanore Y, Cabane J, Carpentier P, Dumontier C, Hachulla E, et al. Prise en charge des ulcères digitaux de la sclérodermie systémique: recommandations d'un groupe pluridisciplinaire d'experts. Presse Med 2008;37:271-85.

Association des Sclérodermiques de France

Vous avez un projet de recherche sur la sclérodermie ?

Nous avons des financements !

ASSOCIATION DES SCLERODERMIQUES DE FRANCE
Association reconnue comme établissement d'Utilité Publique
136 rue des Mouises - 45130 BACCON - Standard 0820 620 615
www.association-sclerodermie.fr courriel : info@association-sclerodermie.fr

Comparaisons de la fréquence, du type et du retentissement de la douleur au cours de la sclérodermie systémique et de la polyarthrite rhumatoïde

Serge Perrot, Service de Médecine Interne et Thérapeutique, Hôtel Dieu, Paris
Philippe Dieudé, Service de Rhumatologie, Hôpital Bichat, Paris
Yannick Allanore, Service de Rhumatologie A, Hôpital Cochin, Paris

Introduction

La douleur est le premier symptôme en rhumatologie, quelles que soient les pathologies, inflammatoires, auto-immunes ou dégénératives. Elle altère la qualité de vie des patients atteints de maladies rhumatologiques chroniques, mais ses dimensions peuvent varier selon les pathologies, justifiant des approches différentes. Dans les rhumatismes inflammatoires tels que la polyarthrite rhumatoïde, la douleur fait partie de l'évaluation diagnostique et pronostique de la maladie. Elle est notamment un des items des critères diagnostiques ou encore du DAS 28. Dans la sclérodermie, la douleur est un symptôme moins bien évalué, moins bien connu. Nous avons donc voulu comparer la douleur de la polyarthrite rhumatoïde et de la sclérodermie systémique, dans des cohortes de patients suivis en rhumatologie et médecine interne.

L'objectif de l'étude était de comparer l'intensité et la qualité de la douleur chez les patients suivis pour sclérodermie systémique (ScS) et polyarthrite rhumatoïde (PR) dans 3 centres hospitalo-universitaires.
Des patients consécutifs, pris en charge dans 3 centres de rhumatologie et médecine interne pour ScS ou PR, ont rempli des auto-questionnaires évaluant d'une part la maladie et d'autre part spécifiquement la douleur, ses dimensions, son retentissement et ses traitements.

Résultats

173 patients ont été inclus dans l'étude, à l'automne 2009.

Patients atteints de ScS :
100 patients (85 femmes), âge moyen 58±12 ans, poids 65,4 ± 9,9 kg, taille 160 ±7 cm, sévérité moyenne 6,03 +/-4,4 (score de Medsger), SHAQ : 0,76 +/-0,6.
Nous avons trouvé 55 (55%) patients douloureux (EVA 3,9±2,6) se plaignant de : 26 douleurs diffuses, 25 syndrome de Raynaud, 22 douleurs abdominales, 17 articulaires, 14 douleurs cutanées, 9 douleurs musculaires. Une composante neuropathique (score DN4) est trouvée chez 40 patients (40%).
Les douleurs avaient un retentissement sur l'activité générale : 3,6/10 ; sur l'humeur 2,5/10 ; sur la marche 2,7/10 ; sur les activités domestiques 3,7/10 ; sur les activités sociales 1,6/10 ; sur le sommeil 3,4/10 ; sur le goût de vivre 2,5/10.
Les traitements antalgiques étaient : AINS dans 7 cas, antalgiques de palier 1 dans 20 cas, palier 2 dans 19 cas, palier 3 dans 2 cas, antiépileptiques dans 4 cas, antidépresseurs dans 3 cas, kinésithérapie dans 9 cas.

Patients atteints de PR :
73 PR (68 femmes), âge moyen 44,2 ±14 ans ; poids 72,5 ±12 kg, taille 161±8 cm, DAS28 4,36 ±1,5, HAQ1, 4±0,8

Nous avons trouvé une fréquence et une intensité significativement plus importantes (p<0.01) : 55 (75%) patients douloureux (EVA 5,3±2,1) se plaignant de 42 douleurs articulaires, 14 douleurs diffuses, 2 douleurs musculaires, 1 douleur cutanée, 1 douleur viscérale. Nous avons trouvé une composante neuropathique significativement moins fréquente (p<0.01), chez seulement 24 patients (32,8%).
Nous avons trouvé un retentissement significativement plus important des douleurs (p<0.01), sur l'activité générale : 5,7/10 ; sur l'humeur 4,1/10 ; la marche 4,9/10 ; sur les activités domestiques 5,9 /10 ; sur les relations sociales 3,2/10 ; sur le sommeil 4,2/10, sur le goût de vivre 3,5/10.
Alors que les douleurs étaient plus importantes et fréquentes, les traitements antalgiques étaient significativement moins fréquents : AINS dans 7 cas, antalgiques de palier 1 dans 20 cas, palier 2 dans 24 cas, palier 3 dans 1 cas, antiépileptiques dans 3 cas, antidépresseurs des douleurs neuropathiques dans 4 cas, kinésithérapie dans 9 cas.

	ScS	PR
N	100	73
Sex ratio	85 femmes	68 femmes
Age	58 ± 12 ans	44,2 ± 14 ans
EVA douleur	3,9 ± 2,6	5,3 ± 2,1
Patients douloureux	55 %	75 %
Douleur neurophatique (DNA4+)	40 %	32,8 %

Conclusion et perspectives

Dans la polyarthrite rhumatoïde, les patients ont des douleurs plus intenses, plus fréquentes et plus gênantes que dans la sclérodermie systémique, essentiellement articulaires, mais qui semblent insuffisamment traitées.
Dans la sclérodermie systémique, les douleurs sont plus polymorphes, les patients se plaignant plus souvent de douleurs diffuses, liées au syndrome de Raynaud, de douleurs abdominales et de douleurs avec composante neuropathique, qui pourraient justifier des approches antalgiques spécifiques. La sclérodermie représente une situation clinique où tous les types de douleurs peuvent être rencontrés, et ces douleurs représentent une difficulté non négligeable dans la vie des patients.
Les futures études thérapeutiques réalisées dans la sclérodermie devraient intégrer des questionnaires d'évaluation de la douleur, analysant les douleurs articulaires, viscérales, neuropathiques et vasculaires. Ces symptômes devraient aussi être intégrés dans l'analyse de la qualité de vie des patients sclérodermiques.

Références :
-Edwards RR, Goble L, Kwan A, Kudel I, McGuire L, Heinberg L, Wigley F, Haythornthwaite J. Catastrophizing, pain, and social adjustment in scleroderma: relationships with educational level. Clin J Pain. 2006;22: 639-46.
-Georges C, Chassany O, Toledano C, Mouthon L, Tiev K, Meyer O, Ilie D, Rambeloarisoa J, Marjanovic Z, Cabane J, Sereni D, Pouchot J, Farge D. Impact of pain in health related quality of life of patients with systemic sclerosis. Rheumatology. 2006;45:1298-302.
-Hyphantis TN, Tsifetaki N, Siafaka V, Voulgari PV, Pappa C, Bai M, Palieraki K, Venetsanopoulou A, Mavreas V, Drosos AA. The Impact of Psychological Functioning upon Systemic Sclerosis Patients' Quality of Life. Semin Arthritis Rheum. 2007;21 :
-Malcarne VL, Hansdottir I, McKinney A, Upchurch R, Greenbergs HL, Henstorf GH, Furst DE, Clements PJ, Weisman MH. Medical signs and symptoms associated with disability, pain, and psychosocial adjustment in systemic sclerosis. J. Rheumatol. 2007;34:359-67.

Mesure du handicap fonctionnel de la main

Luc Mouthon, Service de Médecine interne, Centre de référence maladies systémique et autoimmunes rares : vascularites nécrosantes et sclérodermie systémique, Hôpital Cochin

Introduction

La sclérodermie systémique (ScS) est une affection chronique à l'origine d'un handicap important. La main est très fréquemment touchée au cours de la ScS. En effet, les patients atteints de sclérodermie systémique présentent dans la très grande majorité des cas un phénomène de Raynaud invalidant. Ce phénomène de Raynaud peut se compliquer d'ulcérations digitales, qui surviennent chez plus d'un patient sur deux et peuvent être récurrentes, elles représentent un préjudice marqué. De plus, la sclérodermie systémique peut être à l'origine d'une atteinte articulaire responsable de douleurs articulaires, d'arthrites et de déformations.
L'échelle de la main de Cochin a été mise au point par les rééducateurs de l'Hôpital Cochin, en particulier Serge POIRAUDEAU, au cours de la polyarthrite rhumatoïde en 1996 (1). Cette échelle, qui est un auto-questionnaire à 18 questions, a été mise au point auprès de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde. Il permet de mesurer le handicap fonctionnel de la main au cours de la polyarthrite rhumatoïde. L'échelle de la main de Cochin a également été validée au cours de la rhizarthrose (arthrose du pouce) (2).
Si certaines échelles sont disponibles pour mesurer le handicap de la main au cours de la ScS, en particulier le HAMIS, aucune d'entre elles n'était simple d'utilisation. C'est pourquoi nous avons envisagé d'utiliser l'échelle de la main de Cochin pour évaluer le handicap de la main au cours de la ScS.

Méthodes

Nous avons utilisé l'échelle de la main de Cochin (1). Cette échelle est un auto-questionnaire à 18 questions.

1. Dans un premier temps, nous avons testé cette échelle sur une population de 50 patients atteints de ScS, à l'occasion d'un Congrès annuel de l'Association des Sclérodermiques de France. Nous avons également demandé aux patients de remplir des échelles de mesure du handicap global (Health Assessment Questionnaire : HAQ), de la qualité de vie (SF-36), d'anxiété et de dépression (Health Anxiety and depression : HAD).

2. Dans un deuxième temps, nous avons élargi notre étude auprès de patients du service de Médecine Interne de l'Hôpital Cochin et de membres de l'Association des Sclérodermiques de France à l'occasion de réunions annuelles, dans une cohorte de 213 patients sclérodermiques.

3. Dans un troisième temps, nous avons donc mené une autre étude utilisant les mêmes questionnaires auprès des 189 patients suivis dans les services de Médecine Interne de l'Hôpital Cochin et de l'Hôpital de Lille et/ou de membres de l'Association des Sclérodermiques de France au moment d'une réunion annuelle. Dans cette troisième étude, nous avons noté le mécanisme supposé des ulcères digitaux présentés par les patients.

Figure 1. Mains d'un patient sclérodermique. Rétraction des doigts en flexion à l'origine d'un handicap fonctionnel important.

Références :
1. Duruoz MT, Poiraudeau S, Fermanian J, Menkes CJ, Amor B, Dougados M, et al. Development and validation of a rheumatoid hand functional disability scale that assesses functional handicap. J Rheumatol. 1996 ;23:1167-72.
2. Poiraudeau S, Chevalier X, Conrozier T, Flippo RM, Liote F, Noel E, et al. Reliability, validity, and sensitivity to change of the Cochin hand functional disability scale in hand osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage. 2001;9:570-7.

Résultats

1. Notre première étude nous a permis de valider le score de la main de Cochin au cours de la ScS et de mettre en évidence que le handicap de la main, représente 2/3 du handicap global mesuré par le score HAQ au cours de cette maladie (3).

2. Notre deuxième étude, menée sur une cohorte de 213 patients, nous a permis d'identifier que les ulcères digitaux lorsqu'ils étaient présents, étaient associés à une majoration du handicap de la main au cours de la ScS. Malheureusement, dans cette étude, il n'était pas fait de distinction entre les ulcères digitaux développés sur les lésions ou sur les calcinoses, les ulcères digitaux en rapport avec des phénomènes traumatiques, en particulier des phases d'extension des articulations et des ulcères digitaux de mécanisme vasculaire survenant au niveau de la pulpe des doigts (4).

3. Dans notre troisième étude, menée sur un collectif de 189 patients, 60 patients avaient au moins un ulcère digital et 90 % d'entre eux avaient au moins un ulcère digital de mécanisme vasculaire. On retrouvait, là encore, un handicap fonctionnel de la main, significativement altéré au cours de la sclérodermie, comparativement à ce qui était observé chez des patients sclérodermiques n'ayant pas d'ulcère digital au moment de l'évaluation (5).

Pendant les deux dernières semaines, sans appareillage adapté, avez-vous été capable de :	Oui sans difficulté	Possible, avec très peu de difficultés	Possible avec quelques difficultés	Possible avec beaucoup de difficultés	Presque impossible	Impossible
(Entourez la réponse choisie)						
A la cuisine						
• Tenir un bol	0	1	2	3	4	5
• Saisir une bouteille pleine et la lever	0	1	2	3	4	5
• Tenir un plat plein	0	1	2	3	4	5
• Verser le liquide de la bouteille dans un verre	0	1	2	3	4	5
• Dévisser le couvercle d'un pot déjà ouvert						
• Couper de la viande avec un couteau	0	1	2	3	4	5
• Piquer efficacement avec une fourchette	0	1	2	3	4	5
• Peler des fruits	0	1	2	3	4	5
Habillage						
• Boutonner votre chemise	0	1	2	3	4	5
• Ouvrir puis fermer les fermetures Eclair	0	1	2	3	4	5
Toilette						
• Presser un tube de dentifrice plein	0	1	2	3	4	5
• Tenir votre brosse à dent efficacement	0	1	2	3	4	5
Au bureau						
• Ecrire une phrase courte avec un crayon ordinaire	0	1	2	3	4	5
• Ecrire une lettre avec un crayon ou un stylo ordinaire	0	1	2	3	4	5
Divers						
• Tourner une poignée de porte ronde	0	1	2	3	4	5
• Utiliser des ciseaux pour couper un morceau de papier	0	1	2	3	4	5
• Saisir les pièces de monnaie sur une table	0	1	2	3	4	5
• Tourner une clé dans la serrure	0	1	2	3	4	5
						Score total : ___

3. Rannou F, Poiraudeau S, Berezné A, Baubet T, Le-Guern V, Cabane J, et al. Assessing disability and quality of life in systemic sclerosis: construct validities of the Cochin Hand Function Scale, Health Assessment Questionnaire (HAQ), Systemic Sclerosis HAQ, and MOS SF-36. Arthritis Rheum. 2007;57:94-102 [Epub ahead of print].
4. Mouthon L, Mestre-Stanislas C, Berezne A, Rannou F, Guilpain P, Revel M, et al. Impact of digital ulcers on disability and health-related quality of life in systemic sclerosis. Ann Rheum Dis. 2010;69:214-7.
5. Berezne A, Seror R, Morell-Dubois S, de Menthon M, Fois E, Dzeing-Ella A, et al. Impact of systemic sclerosis on occupational and professional activity with attention to patients with digital ulcers. Arthritis Care Res (Hoboken). 2011;63:277-85.

Conclusion et perspectives

L'échelle de la main de Cochin est valide et peut être utilisée pour mesurer le handicap fonctionnel de la main au cours de la ScS. Cette échelle est actuellement utilisée dans plusieurs études prospectives pour démontrer son intérêt et son éventuelle sensibilité au changement. Cette échelle a servi de point de départ pour une nouvelle échelle qui sera disponible dans quelques années et qui est en cours d'évaluation dans un essai thérapeutique. Cette nouvelle échelle est focalisée sur les ulcérations digitales dans la ScS.

Echelle de mesure du handicap fonctionnel de la bouche

Luc Mouthon, Service de Médecine interne, Centre de référence maladies systémique et autoimmunes rares : vascularites nécrosantes et sclérodermie systémique, Hôpital Cochin

Introduction

La sclérodermie systémique (ScS) est une affection chronique à l'origine d'un handicap important. Comme nous l'avons précédemment montré, c'est la main qui est le siège du handicap fonctionnel le plus important au cours de la ScS (1). Après la main, la bouche est une zone très fréquemment touchée au cours de la ScS. Ainsi, alors que les patients sclérodermiques se plaignent au quotidien de multiples désagréments en rapport avec l'atteinte buccale de la ScS (figure 1), il n'existait, avant que nous menions notre travail, aucun instrument de mesure permettant de quantifier le handicap fonctionnel de la bouche au cours de la ScS.

Méthodes

Nous avons adressé à 100 patients suivis dans le service de Médecine Interne de l'Hôpital Cochin et à 10 experts de la ScS et/ou du handicap et/ou dentistes/stomatologistes une lettre leur demandant de nous répondre en faisant la liste des activités qui étaient limitées du fait de l'atteinte buccale de la ScS.
74 patients nous ont répondu ainsi que l'ensemble des experts et nous avons pu, avec l'aide des réponses des patients et des experts, constituer une première liste de 36 items. Cette première liste a été testée sous forme d'un auto-questionnaire en association à d'autres questionnaires de handicap et de qualité de vie lors d'une réunion annuelle de l'Association des Sclérodermiques de France et auprès de patients du service de Médecine Interne de l'Hôpital Cochin.
Les questions redondantes ont été éliminées ainsi que les questions pour lesquelles un nombre très limité de patients semblait concerné. Nous avons obtenu une échelle de 12 items que nous avons baptisée MHISS (Mouth Handicap in Systemic Sclerosis).

Résultats

Nous avons donc obtenu une échelle de 12 items, MHISS (Mouth Handicap in Systemic Sclerosis), qui mesure le handicap de la bouche en rapport avec la ScS et comporte trois axes :

- un premier axe à 5 items correspondant à la sécheresse buccale ;

- un deuxième axe à 5 items correspondant aux défauts d'ouverture buccale ;

- un troisième axe à 2 items correspondant à une composante esthétique.

Cette échelle de bouche est bien corrélée avec l'échelle HAQ qui mesure le handicap global. Le handicap de la bouche représente dans notre étude 36 % du handicap global mesuré par le score HAQ. Cette échelle de handicap de la bouche est peu corrélée à l'anxiété et à la dépression.

Figure 1. Patiente sclérodermique. Telangiectasies et plis radiés péribucaux.

Tableau 1. Echelle MHISS : Mouth Handicap in Systemic Sclerosis Scale.

« Comme vous le savez probablement, votre sclérodermie systémique peut toucher votre visage et votre bouche. Ce questionnaire a pour but d'évaluer à quel point l'atteinte de votre visage et de votre bouche retentit sur votre quotidien. »

		Jamais	Rarement	Régulièrement	Souvent	Toujours
1	Je suis gêné(e) pour ouvrir la bouche	0	1	2	3	4
2	Je dois éviter certaines boissons (gazeuses, alcoolisées, acides)	0	1	2	3	4
3	J'ai des difficultés à mastiquer	0	1	2	3	4
4	Mon dentiste a des difficultés à effectuer les soins	0	1	2	3	4
5	L'état de mes dents s'est dégradé	0	1	2	3	4
6	Mes lèvres et/ou mes joues sont rétractées	0	1	2	3	4
7	Ma bouche est sèche	0	1	2	3	4
8	Je dois boire souvent	0	1	2	3	4
9	Je suis obligé(e) de choisir mon alimentation en fonction de ce que je peux manger et non en fonction de ce que j'ai envie de manger	0	1	2	3	4
10	Je suis gêné(e) pour articuler les mots	0	1	2	3	4
11	L'apparence de mon visage s'est modifiée	0	1	2	3	4
12	J'ai une gêne esthétique	0	1	2	3	4

Conclusion et perspectives

Nous avons mis au point la première échelle de mesure de handicap de la bouche au cours de la ScS (2). Cette échelle permet de cibler trois aspects fonctionnels majeurs :

- le défaut d'ouverture buccale,
- la sécheresse buccale,
- le préjudice esthétique,

Ces trois aspects constituent des priorités au cours de la ScS.

Cette échelle est actuellement utilisée dans des travaux évaluant l'intérêt de la rééducation fonctionnelle au cours de la ScS de façon à valider un bénéfice de ce traitement sur l'atteinte de la bouche et tester sa sensibilité au changement.

Références :
1. Rannou F, Poiraudeau S, Berezné A, Baubet T, Le-Guern V, Cabane J, et al. Assessing disability and quality of life in systemic sclerosis: construct validities of the Cochin Hand Function Scale, Health Assessment Questionnaire (HAQ), Systemic Sclerosis HAQ, and MOS SF-36. . Arthritis Rheum. 2007;57:94-102 .
2. Mouthon L, Rannou F, Berezne A, Pagnoux C, Arene JP, Fois E, et al. Development and validation of a scale for mouth handicap in systemic sclerosis: the Mouth Handicap in Systemic Sclerosis scale. Ann Rheum Dis. 2007;66:1651-5.

Thérapeutique et Pharmacologie

Influence des inhibiteurs calciques dihydropyridiniques sur le stress oxydant

Yannick Allanore[1], Didier Borderie[2], Hervé Lemaréchal[2], Ohvanesse Ekindjian[2], André Kahan[1]
(1) Université Paris Descartes, Rhumatologie A
(2) Biochimie, Hôpital Cochin, Paris.

Introduction

Les phénomènes vasculaires sont fondamentaux dans la sclérodermie systémique. Ils sont particulièrement illustrés par le syndrome de Raynaud qui est une des caractéristiques communes à toutes les formes de la maladie. Ce spasme vasculaire induit des lésions d'ischémie-reperfusion (dérèglement du tonus vasculaire avec changements anarchiques du calibre des vaisseaux responsables) par des successions de manque ou d'excès d'oxygène ce qui produit des radicaux libres. Ces radicaux libres sont des espèces chimiques produites par divers mécanismes physiologiques ; ils sont utiles pour l'organisme normal à doses modérées, mais leur production excessive peut entraîner des phénomènes toxiques pour différentes molécules : protéines, lipides, ADN. La balance et l'équilibre entre la production et l'élimination des radicaux libres constituent le stress oxydant. D'autre part, les cellules mononucléees (monocytes, lymphocytes) qui infiltrent précocement les espaces périvasculaires sont également capables de produire de grandes quantités d'anions superoxyde et de différents autres radicaux libres. Ceux-ci agissent sur les membranes cellulaires cytoplasmiques et la peroxydation lipidique, ils sont suspectés d'entretenir les lésions vasculaires de la maladie et pourraient expliquer en partie le lien entre ces phénomènes vasculaires, les dérèglements fibroblastiques et dysimmunitaires, notamment l'apparition d'autoanticorps, constatés dans cette maladie. Des travaux antérieurs ont déjà montré une production excessive de certains dérivés radiculaires et une augmentation des lipides péroxydés. Les inhibiteurs calciques sont un traitement fondamental dans la ScS pour les atteintes vasculaires périphériques et cardiaques. Des travaux récents suggèrent qu'une partie de leurs effets cardiologiques, notamment anti-athéromateux, pourrait provenir de propriétés antioxydantes, expliquées par la structure dihydropyridinique de certaines molécules.

Résultats

Nous avons mené plusieurs travaux consécutifs afin d'étudier les propriétés anti-oxydantes des anticalciques.
Tout d'abord, nous avons évalué l'état du stress oxydant par des marqueurs plasmatiques chez 40 patients atteints de sclérodermie ayant interrompu leur traitement anti-calcique comparés à 20 témoins sains et étudié ces mêmes marqueurs une fois le traitement anti-calcique repris. Les principaux marqueurs évalués ont été : malondialdehyde (oxydation lipidique), lipides hydroperoxydés, anticorps anti-LDL oxydées, protéines carbonylées (oxydation protéiques), F2-isoprostanes, ainsi que les capacités de défenses antioxydantes (glutathion, superoxyde dismutase, thiols totaux). Certains résultats sont illustrés dans la figure 1, mais nous avons confirmé un haut niveau de stress oxydant chez les sclérodermiques et surtout mis en évidence la diminution des marqueurs sériques du stress oxydant sous traitement par inhibiteurs calciques. Les mesures étaient faites au départ après 3 jours d'arrêt des traitements puis refaites après la troisième prise du médicament.
Nous avons ensuite étendu ces résultats par des mesures de marqueurs d'agression vasculaire et d'angiogenèses couplées à des mesures du stress oxydant. Pour cela, nous avons étudié 40 malades consécutifs avec des mesures sans traitement puis après 14 jours de nifédipine (60 mg/j) et 20 sujets sains de même âge et appariés pour le sexe. Tous ces marqueurs étaient augmentés à l'état basal chez les malades confirmant l'activité vasculaire de la maladie mais les résultats les plus intéressants ont été la découverte d'une relation de corrélation entre les marqueurs d'oxydation protéique (carbonyles) et d'angiogenèse (VEGF) (figure 2) et de la baisse des marqueurs d'agression endothéliale (s-VCAM-1) après traitement par nifédipine sans toutefois d'influence sur l'angiogenèse (figure 3).

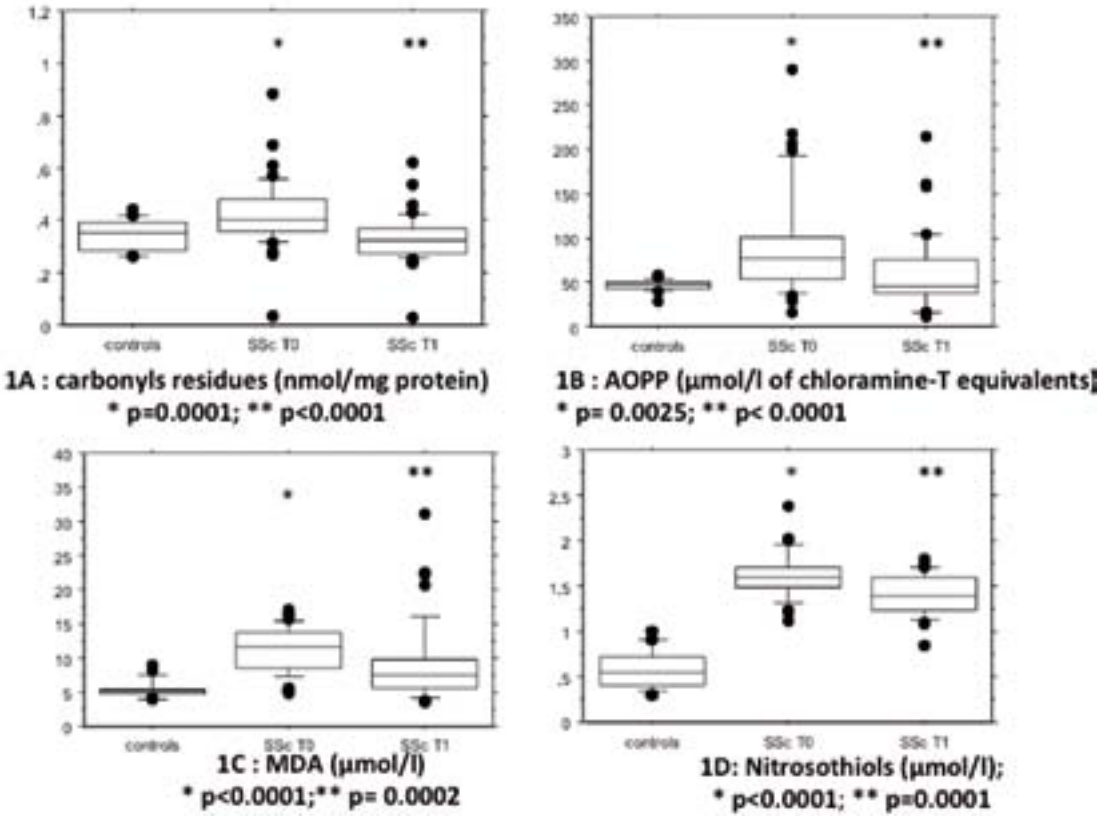


Figure 1 : Variations des marqueurs plasmatiques du stress oxydant à l'état basal (T0) puis après reprise d'un traitement par anti-calciques (3 prises orales)

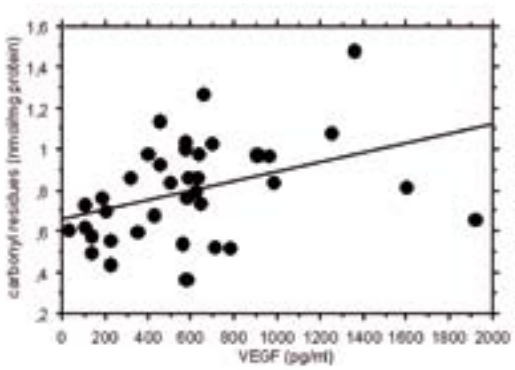


Figure 2 : Corrélation entre les concentrations de carbonyles (marqueurs d'oxydation protéique) et de VEGF (principal facteur pro-angiogénique)

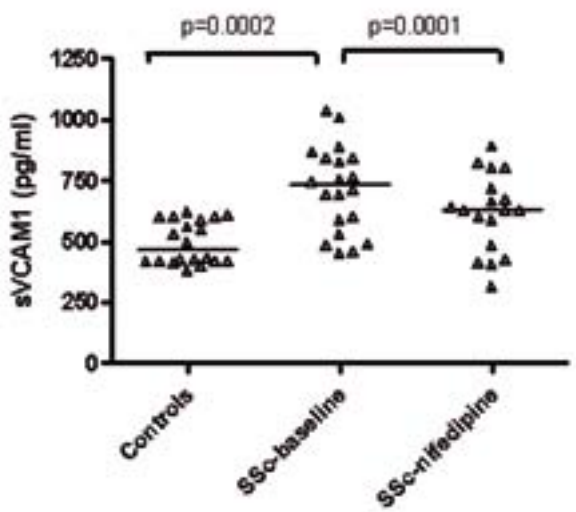


Figure 3 : Baisse significative des concentrations en s-VCAM, marqueurs d'agression endothéliale, après traitement par nifédipine.

Ces résultats montrent une diminution du stress oxydant évalué par des marqueurs plasmatiques au cours de la SSc en cas de traitement par les inhibiteurs calciques dihydropyridiniques. L'objectif suivant a été d'étudier les mécanismes d'action de ces produits car leur effet bénéfique peut provenir de l'amélioration des phénomènes vasculaires spastiques qui est bien établie et/ou d'action cellulaire spécifique à cette classe médicamenteuse. Les monocytes semblent être une cellule candidate : ils produisent de grande quantité de radicaux libres, participent en particulier au stress oxydant impliqué dans l'athérosclérose, et sont présents dans la sclérodermie dans les lésions précoces. Les capacités de production d'anion superoxyde (un dérivé radicalaire) par ces cellules, in vitro, à l'état de base et après stimulation par le PMA, ainsi que les défenses anti-oxydantes (superoxyde dismutase, thiorédoxine réductase) ont été mesurées chez 10 témoins et 12 malades atteints de sclérodermie systémique avant et après traitement par nifédipine pendant 14 jours (60 mg/j). Il a été observé que les monocytes de patients produisaient plus d'anion superoxyde que ceux de témoins mais que le traitement par nifédipine permettait de diminuer cette synthèse. Des tests pharmacologiques ont montré ensuite in vitro que ces effets étaient dose dépendant, maximum pour les anti-calciques de la classe des dihydropyridines et qu'ils étaient médiés par les protéines kinase C (figure 4).

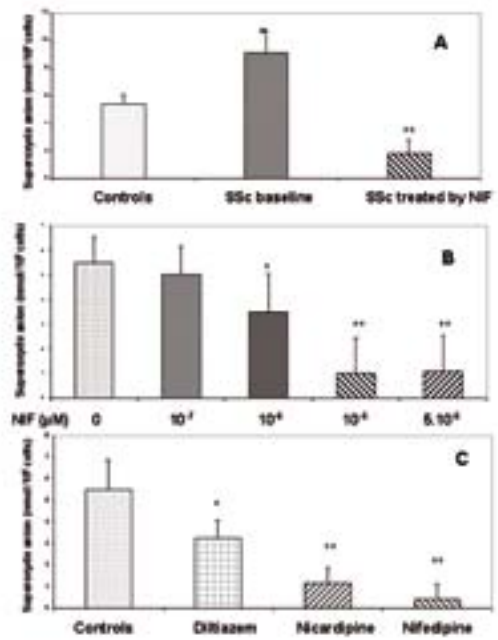


Figure 4 :
*Production d'anion superoxyde par les monocytes après stimulation par le phorbol myristate acetate (PMA; 100 nM) après 15 min. Sujets sains (n = 10), patients avec ScS après arrêt des anti-calciques (valeurs de base) puis après 60 mg/j pendant 14 jours de nifedipine (NIF) (n = 12) (a) ; sujets sains (n = 5) traités ou non par différentes concentrations de nifédipine 30 minutes avant activation par le PMA (b) ; et sujets sains avec ou sans traitements préalable à la stimulation PMA par différents anti-calciques (10 µM) (c). *P < 0.05; **P < 0.01 en comparaison des contrôles.*

Conclusion et perspectives

Ces différentes approches montrent que les inhibiteurs calciques de la classe des dihydropydines réduisent le stress oxydant. Il est probable qu'ils aient une double action en limitant le syndrome de Raynaud et donc les phénomènes d'ischémie reperfusion mais aussi des effets propres cellulaires. Ceci renforce leur place dans l'arsenal thérapeutique de la ScS qui est marquée par un spasme vasculaire et un stress oxydant marqué. Ces résultats confortent la place de ces médicaments comme traitement de première à visée vasculaire dans cette maladie.

Publications réalisées à partir de ces travaux :
- Allanore Y, Borderie D, Lemaréchal H, Ekindjian OG, Kahan A. Acute and sustained effects of dihydropyridine-type calcium channel antagonists on oxidative stress in systemic sclerosis. Am J Med. 2004;116:595-600.
- Allanore Y, Borderie D, Périanin A, Lemaréchal H, Ekindjian OG, Kahan A. Nifedipine protects against overproduction of superoxide anion by monocytes from patients with systemic sclerosis. Arthritis Res Ther. 2005;7:R93-100
- Allanore Y, Borderie D, Lemaréchal H, Ekindjian OG, Kahan A. Nifedipine decreases sVCAM-1 concentrations and oxidative stress in systemic sclerosis but does not affect the concentrations of vascular endothelial growth factor or its soluble receptor 1. Arthritis Res Ther. 2004;6:R309-14.

Evaluation de l'efficacité thérapeutique de la metformine dans l'HTAP

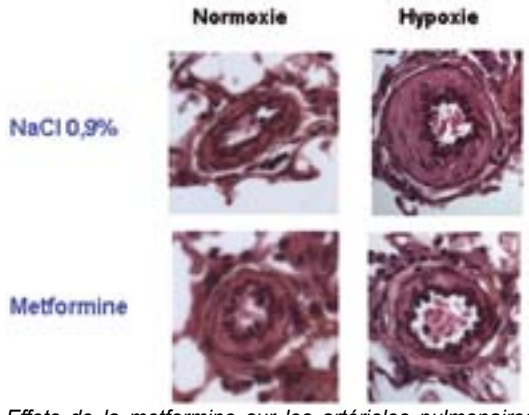
Alain Haloun, Service de Pneumologie, CHU Nantes,
Christian Agard, Service de Médecine Interne, CHU Nantes
Inserm UMR915, « Signalisation de l'hypertension et de la resténose »

Introduction

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une maladie grave sans traitement curatif à ce jour. Elle survient dans environ 8% des cas chez les patients ayant une sclérodermie systémique, et elle en représente alors une complication grave. Contrôler ou guérir l'HTAP est actuellement le défi thérapeutique le plus important dans la sclérodermie systémique, car les traitements actuels (inhibiteur de l'endothéline, inhibiteur de la phosphodiestérase 5, prostanoïdes) ne sont pas suffisamment efficaces. La metformine est un médicament ancien, disponible par voie orale, utilisé dans le diabète de type II, ayant des propriétés de protection vasculaire et relativement bien toléré. Notre équipe a montré récemment que la metformine était efficace dans 2 modèles précliniques d'HTAP chez le rongeur. Une étude ouverte prospective bi-centrique (Nantes, Bordeaux) a donc été décidée en 2010 pour évaluer l'impact thérapeutique de la metformine (500 mg à 3000 mg/j p.o. pendant 4 mois) chez les patients souffrant d'HTAP idiopathique ou associée aux connectivites, dont la sclérodermie systémique. L'objectif principal est de montrer une amélioration de la distance parcourue lors du test de marche de 6 minutes, critère de surveillance habituel sous traitement de l'HTAP, à 4 mois de traitement par metformine par rapport à l'inclusion.

Résultats

Ce protocole a reçu l'avis favorable de l'AFSSAPS, le 26 novembre 2010, et l'avis favorable définitif du CPP Ouest-6, début 2011. A ce jour, 8 mois après la mise en place de l'étude, il n'y a pas eu encore d'inclusion de patients dans ce protocole. Une dizaine de patients suivis à Nantes ont déjà été contactés mais n'ont pas été inclus pour des raisons de refus, ou d'apparition d'un critère d'exclusion à l'étude. Pour des raisons passagères d'effectif médical insuffisant, le centre de Bordeaux n'a pas pu procéder au screening puis à l'inclusion de patients. Les responsables de l'étude restent motivés pour mener à bien ce projet mais étudient l'ensemble des facteurs concourant à un rythme d'inclusion qui s'annonce plus faible que prévu (33 patients sont prévus dans ce protocole, pour une durée totale de l'étude initialement prévue de 2 ans). Une réflexion est engagée sur la modification éventuelle des critères d'inclusion. En effet, à ce jour, seuls les patients stables sous traitement oral par inhibiteur des récepteurs de l'endothéline (bosentan Tracleer®, ou ambrisentan Volibris®) ± inhibiteur de la phosphodiestérase-5 (sildénafil Revatio®, ou tadalafil Adcirca®) étaient ciblés pour recevoir la metformine pendant 4 mois en traitement additionnel. Nous envisageons d'inclure également les patients stables sous trithérapie, ceux qui sont sous prostacycline. Ceci nécessitera un amendement au protocole. Par ailleurs, une fois les inclusions débutées, un contact sera pris avec d'autres centres susceptibles d'inclure des patients, avec la volonté d'inclure davantage de patients sclérodermiques.



Effets de la metformine sur les artérioles pulmonaires chez le rat. Au cours de l'HTAP, les artérioles sont dites «remodelées» (épaissies). La metformine permet d'éviter en partie cet épaississement et améliore ainsi l'HTAP dans ce modèle animal. La metformine mérite donc d'être évaluée en tant que traitement de l'HTAP chez l'homme.

Vitamine E et stress oxydant

Jean-Luc Cracowski, Pr Patrick Carpentier. Centre d'Investigation Clinique et Service de médecine vasculaire, CHU de Grenoble

Introduction

De nombreuses études suggèrent que le stress oxydant est augmenté dans les tissus des patients atteints de sclérodermie systémique. Une des cibles des radicaux libres de l'oxygène est représentée par les lipides constituant les membranes des cellules, dont le plus abondant est l'acide arachidonique. Dans cette situation, des produits de dégradation sont formés, parmi lesquels les isoprostanes. Ces derniers ont l'avantage d'être stables dans les urines, leur dosage est reproductible, et ils sont les meilleurs marqueurs pour quantifier les dommages membranaires liés aux radicaux libres de l'oxygène.

Nous avions préalablement montré que les taux urinaires d'isoprostanes sont élevés dans la sclérodermie par rapport à des sujets sains, mais aussi par rapport à des sujets présentant un phénomène de Raynaud primaire sans sclérodermie. Il existe des médicaments dits « anti-oxydants » tels que la vitamine E et C, mais à ce jour aucune étude ne permet de démontrer leur utilité. Nous avons donc testé l'effet d'un médicament anti-oxydant, la vitamine E, à doses élevées, dans la sclérodermie. Cet effet a été évalué sur le marqueur de stress oxydant (isoprostanes urinaires) et sur la réponse microvasculaire à un froid généralisé (température de la pièce de 15°C).

Résultats

33 patients présentant une sclérodermie systémique, en majorité au stade de sclérodermie cutanée limitée ont accepté de participer. Après tirage au sort, un traitement par placebo (13 sujets), vitamine E 500 mg/j (10 sujets) ou vitamine E 1000 mg/j (10 sujets) leur a été attribué pendant 3 semaines.

Après 3 semaines, les concentrations dans le plasma de la vitamine E étaient logiquement augmentées proportionnellement à la quantité de vitamine E ingérée. Ceci permettait de s'assurer que les patients avaient bien pris le traitement, et qu'il n'existait pas de mauvaise absorption de vitamine E.

Malgré cette augmentation des concentrations de vitamine E dans le plasma, nous n'avons observé, ni une baisse des isoprostanes dans les urines, ni une amélioration de la réponse vasculaire des mains lors de l'exposition à un froid généralisé.

Conclusion et perspectives

La vitamine E ne permet donc pas d'améliorer des paramètres intermédiaires de dommage cellulaire ou fonctionnel dans la sclérodermie lorsqu'elle est donnée sur une durée courte (3 semaines). Il n'y a donc pas d'argument pour aller plus loin dans l'évaluation de ce médicament anti-oxydant. Ce résultat négatif nous a amené à travailler sur d'autres pistes thérapeutiques.

La publication scientifique issue de ce travail :
Cracowski JL, Girolet S, Imbert B, Seinturier C, Stanke-Labesque F, Bessard J, Boignard A, Bessard G, Carpentier PH. Effects of short-term treatment with vitamin E in systemic sclerosis: a double blind, randomized, controlled clinical trial of efficacy based on urinary isoprostane measurement.Free Radic Biol Med. 2005;38:98-103.

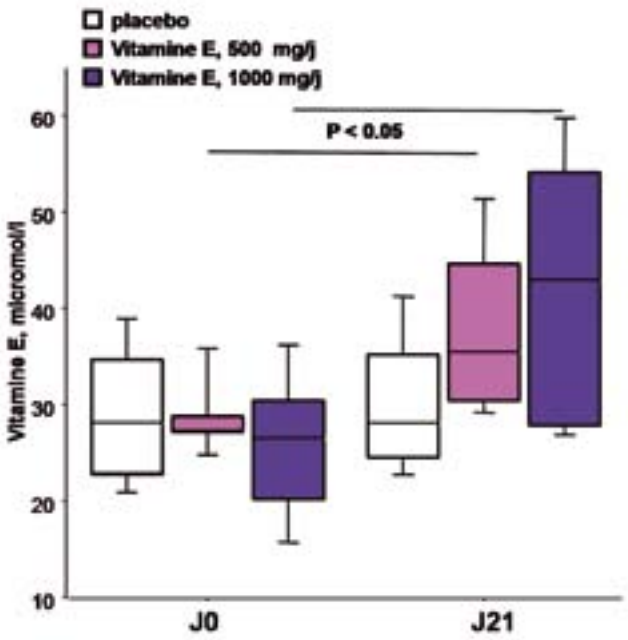


Figure 1A. Evolution des concentrations dans le plasma de vitamine E avant et 21 jours après traitement de patients volontaires présentant une sclérodermie par un placebo, de la vitamine E à 500 mg/j ou 1000 mg/j. On observe l'élévation des concentrations sous traitement

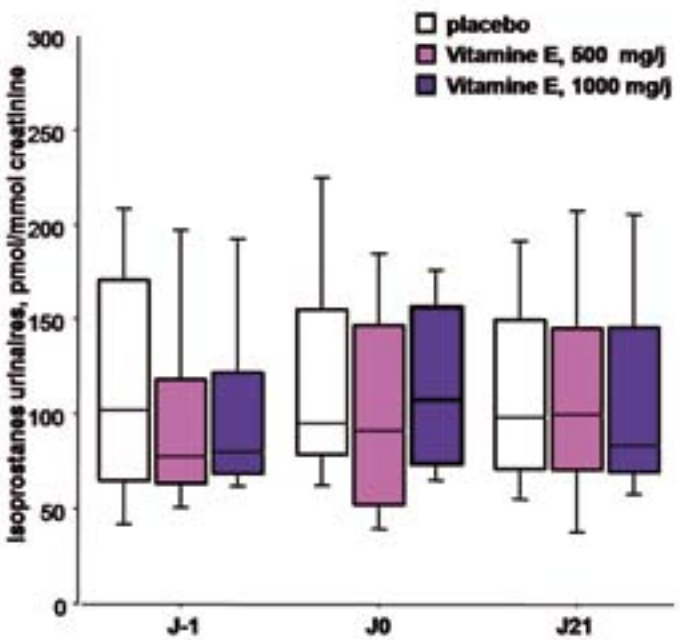


Figure 1B. Evolution des concentrations dans les urines d'isoprostanes avant (J-1 et J0) et 21 jours après traitement de patients volontaires présentant une sclérodermie par un placebo, de la vitamine E à 500 mg/j ou 1000 mg/j. On observe que le médicament n'a aucun effet sur ce marqueur de dommage cellulaire.

Analyse in vitro des propriétés antifibrosantes des immunosuppresseurs Rapamycine et Mycophenolate mofetyl

Nicolas Poulalhon[1], Nina Roos[1], Dominique Farge[2], Alain Mauviel[1] et Franck Verrecchia[1,3]
(1) INSERM U697, Hopital Saint Louis, (2) INSERM U976, Hopital Saint-Louis, (3) INSERM U957, Faculté de Médecine, Nantes, France

Introduction

La ScS est une affection hétérogène au cours de laquelle l'atteinte cutanée prédomine et est en général bien corrélée aux atteintes viscérales. Cette sclérose est mesurée en pratique clinique par le score de Rodnan qui permet d'évaluer la sévérité de l'atteinte cutanée (Valentini et al., 2003, Ann Rheum Dis, 62 :904). L'évolution, bien que lente, du phénomène fibreux au cours de la ScS est dramatique puisqu'elle s'accompagne d'une perte progressive de la vascularisation tissulaire. Peu de traitements ont, à ce jour, fait la preuve de leur totale efficacité pour prévenir la progression de la maladie ou permettre de faire régresser la fibrose. Bien que des études préliminaires aient montré que l'utilisation d'immunossupresseurs comme le cyclophosphamide permet d'améliorer l'atteinte cutanée et de stabiliser la fonction pulmonaire (Akesson et al., 1994, Arthritis Rheum, 37:729; White et al., 2000, Ann Intern Med, 132:947), ces effets semblent assez limités.

L'objectif de ce travail a été d'identifier les effets potentiels antifibrosants d'autres immunosuppresseurs en étudiant in vitro les effets des immunosupresseurs rapamycine et mycophénolate mofétyl (MMF) sur des fonctions fibroblastiques, clefs dans la fibrogénèse : synthèse des collagènes fibrillaires et des enzymes contrôlant la dégradation des collagènes (MMP-1), capacité des fibroblastes à migrer et à contracter des lattices de collagène.

Résultats

L'ensemble des expérimentations effectuées sur des fibroblastes (fibroblastes cutanées obtenus par explant à partir de biopsies cutanées ou une lignée de fibroblastes pulmonaires (WI26) en culture a permis de montrer :

1) La rapamycine et le MMF répriment l'expression et la production des collagènes fibrillaires COL1A1, COL1A2 et COL3A1 évaluées respectivement par PCR quantitative et Western-Blot. La rapamycine agit en diminuant la stabilité des ARN messagés (ARNm) de COL1A, COL1A2 et COL3A1 alors que le MMF réprime la transcription de COL1A1 et COL1A2.

2) La rapamycine augmente la synthèse de la collagénase intersticielle MMP-1 en stimulant la voie de signalisation JNK/AP-1. En effet, l'étude des mécanismes moléculaires responsables de la modulation de l'expression de MMP-1 a permis de montrer que :

a) la rapamycine induit la phosphorylation de c-Jun (facteur de transcription participant à la régulation de l'expression de MMP-1), favorise l'accrochage de c-Jun à l'ADN (sur une séquence consensus AP-1) et active la transactivation d'un promoteur artificiel spécifique d'AP-1 (AP-1-lux).

b) la surexpression d'un vecteur antisens pour c-Jun inhibe la réponse de MMP-1 à la rapamycine

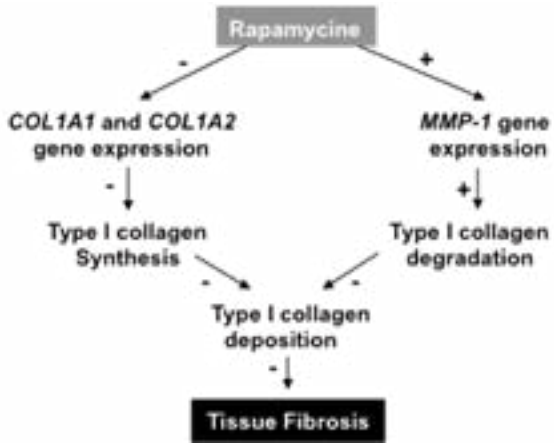


Figure 1: Action de la rapamycine sur l'expression des gènes de la matrice extracellulaire

c) la rapamycine induit la phosphorylation de JNK et ERK sans modifier la phosphorylation de p38,

d) un inhibiteur spécifique de JNK empêche la rapamycine de stimuler la phosphorylation de c-Jun, d'induire l'accrochage de c-Jun à l'ADN (séquence consensus AP-1), et d'activer la transactivation du promoteur artificiel AP-1-lux,

e) un inhibiteur spécifique de JNK et non de ERK inhibe la réponse de MMP-1 à la rapamycine.

3) Outre les effets sur l'expression des composants de la MEC, le MMF inhibe la capacité des fibroblastes à contracter des lattices de collagènes. Cet effet est correlé à une diminution des taux d'ARNm et protéiques de l'α-SMA (Smooth Muscle Actin).

4) De plus, le MMF inhibe la capacité des fibroblastes à migrer.

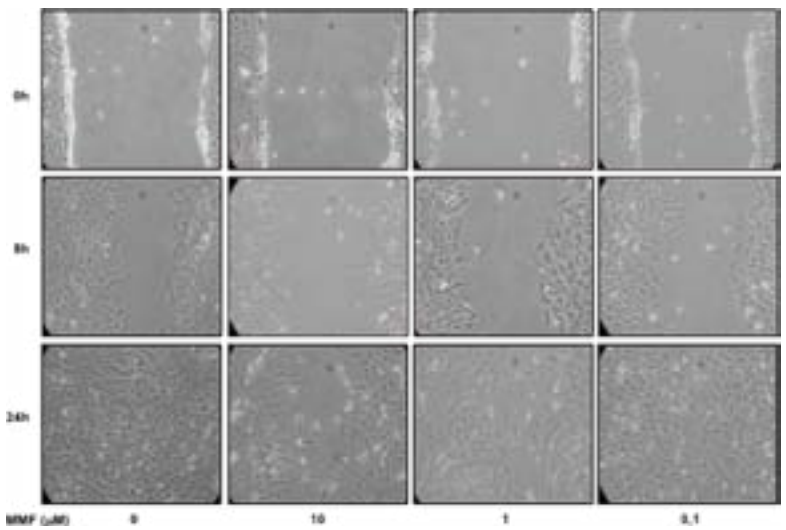


Figure 2: Le MMF inhibe la capacité des fibroblastes à migrer. Schématiquement, une blessure (scratch) est effectuée sur un tapis cellulaire (figure du haut), puis la vitesse des cellules à combler l'espace "vide" est mesurée en fonction du temps, en présence ou absence de MMF à différentes doses.

Conclusion et perspectives

Cette étude constitue la première démonstration du potentiel antifibrosant de divers immuno-suppresseurs comme la rapamycine ou le MMF (Poulalhon et al., 2006 J Biol Chem, 281 : 33045; Roos et al., 2007, J Pharmacol Exp Ther, 321:583). En effet, ces composés agissent à la fois sur la synthèse des collagènes fibrillaires et des enzymes contrôlant la dégradation des collagènes (MMP-1) et sur la capacité des fibroblastes à migrer et à contracter des lattices de collagène. Ces propriétés antifibrosantes indépendantes des propriétés immunosuppressives de ces composés semblent particulièrement importantes dans le contexte de maladies d'origine immune comme la ScS. Il semble cependant indispensable de tester l'effet de ces molécules in vivo sur des modèles de fibrose comme les modèles induits par la bléomycine ou des modèles de souris génétiquement modifiés.

Publications effectuées sur le sujet avec l'aide de l'ASF :
- Roos N, Poulalhon N, Farge D, Madeleine I, Mauviel A and F Verrecchia (2007). In vitro Evidence for a Direct Anti-Fibrotic Role of the Immunosupressive Drug Mycophenolate Mofetil. J Pharmacol Exp Ther 321:583-9.
-Poulalhon N, Farge D, Roos N, Tacheau C, Neuzillet C, Michel L, Mauviel A and F Verrecchia (2006). Modulation of collagen and MMP-1 gene expression in fibroblasts by the immunosuppressive drug rapamycin: a direct role as a anti-fibrotic agent? J Biol Chem 281:33045-52.

L'inhibition du protéasome

Serena Fineschi[1], Jean-Michel Dayer[1], Carlo Chizzolini[1], Walter Reith[2], Pierre André Guerne[3]

(1) Immunology and Allergy, Department of Internal Medicine
(2) Department of Pathology and Immunology
(3) Rheumatology, Department of Internal Medicine ; Geneva University Hospital, Geneva School of Medicine, Geneva, Switzerland

Introduction

La fibrose se développe lorsque l'équilibre entre la déposition de la matrice extracellulaire (ECM) et sa dégradation est perturbé en faveur de la déposition. Le but de notre étude était d'étudier les effets de l'inhibition du protéasome (IP) sur la machinerie biosynthétique des fibroblastes dermiques humains dans le contexte de la fibrose. Nous avons évalué l'effet de l'IP dans les fibroblastes quiescents et les fibroblastes activés par le TGF-β, une cytokine capable d'induire la fibrose. Dans certaines expériences, nous avons utilisé des fibroblastes provenant de personnes touchées par la sclérodermie systémique (ScS). Pour ce faire, nous avons évalué la production de collagène de type I, qui est le constituant principal de l'ECM cutanée, et de MMP-1 qui a la capacité de digérer la triple hélice du collagène de type I. De plus, nous avons évalué les niveaux de l'inhibiteur spécifique des MMP dénommé TIMP-1.

Résultats

Nous avons observé que la production de collagène de type I était fortement réduite dans les fibroblastes dermiques incubés avec plusieurs différents IP. Dans les mêmes cultures, les IP ont induit une augmentation dose-dépendante de la MMP-1 et une diminution de TIMP-1. Les changements observés au niveau des protéines ont été confirmés par les changements au niveau des ARN messagers (ARNm) évalués par PCR quantitative et Northern blot. Ces effets étaient dépendants de la dose des IP et du temps d'incubation. Les doses de PSI nécessaires pour réduire de 50% le collagène de type I ne différait pas significativement entre les fibroblastes de ScS et contrôles, mais celles nécessaires pour augmenter la production de MMP-1 avaient la tendance à être plus élevées pour les fibroblastes ScS que les contrôles (p = 0.066). Plus remarquable, des doses significativement plus élevées de PI étaient nécessaires pour inhiber le collagène de type I que pour augmenter la production de MMP-1 (p = 0.01). La concentration inhibitrice 50 était de 0.36 ± 0,.22 pM pour le collagène de type I, et de 0.10 ± 0.05 pM pour MMP-1, et 1.14 ± 1,00 pM pour le TIMP-1.

Le TGF-β exerce in vitro et in vivo de puissants effets profibrotiques. Dans nos expériences, la production de collagène a doublé en présence de TGF-β. Cependant, les IP ont réduit de cinq fois la production de collagène I, bien en dessous des niveaux de la production spontanée et ont doublé les MMP-1 en présence de TGF-β (fig. 1A). Le TGF-β a multiplié par trois la production de TIMP-1, effet abrogé par l'IP (figure 1A). Des résultats similaires ont été obtenus lorsque les niveaux d'ARNm ont été évalués par RT-PCR quantitative (figure 1B). Ainsi, nos données indiquent que l'inhibition du protéasome abolit l'activité profibrotique du TGF- ß.

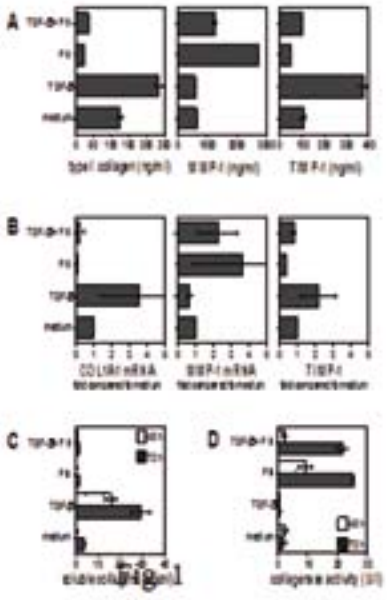
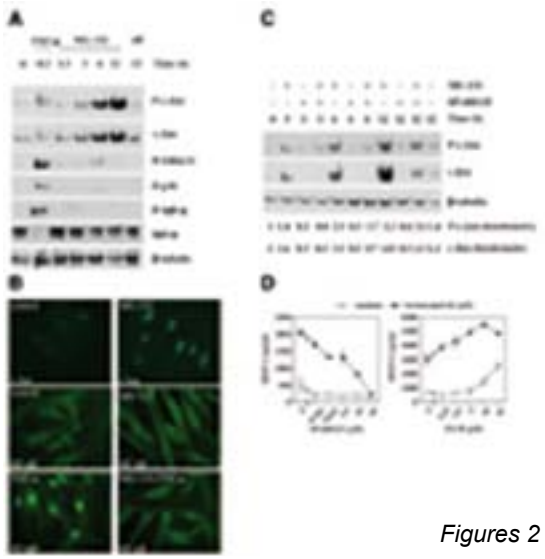


Fig. 1

En outre, les PI ont fortement réduit la production basale et stimulée (TGF-β) des collagènes solubles détectés par le test rouge Sirius (figure 1 C) et a augmenté de dix fois l'activité collagenolytique exercée sur collagène de type I en l'absence ou présence de TGF-β. (figure 1D).
Pour comprendre, au moins en partie, les mécanismes impliqués dans les phénomènes observés, nous avons testé si les PI pouvaient modifier le niveau des MAP kinases et des différents membres de la famille NF-kB. Alors que le TNF-α, utilisé comme contrôle positif, induisait la phosphorylation rapide de c-Jun, ERK, p38 et IkB-α (accompagné par la dégradation de IκBα) (figure 2A), le PI MG-132 induisait spécifiquement et de manière dépendante du temps la phosphorylation de c-Jun (figure 2A). Conformément à ces résultats, l'intensité de fluorescence nucléaire de c-Jun a été considérablement augmentée tandis que celle de NF-kB n'a pas été modifiée (figure 2B). Dans les cultures de contrôle, MG-132 a supprimé la translocation nucléaire de NF-kB induite par le TNF-α (figure 2B). Pour vérifier si l'effet de PI sur l'accumulation de c-Jun était dû à la phosphorylation de c-Jun, nous avons utilisé SP-600 125, un inhibiteur spécifique de c-Jun N-terminal kinase (JNK). SP-600 125 a abrogé la phosphorylation de c-Jun et son accumulation nucléaire (figure 2C). Ainsi, dans les fibroblastes dermiques l'inhibition du protéasome induit l'accumulation dans le noyau de c-Jun, un événement favorisé par l'augmentation de l'activité JNK.
La région du promoteur du gène de la MMP-1 contient un site AP-1. Puisque c-Jun est un membre des protéines formant AP-1, nous avons testé si l'inhibition de JNK pouvait renverser l'augmentation de la production de MMP-1 induite par le PI. Dans les fibroblastes cultivés en présence de PI l'ajout de SP-600 125 a réduit de manière dose-dépendante la production de MMP-1 (Fig. 2D) sans modifications substantielles dans les niveaux de collagène de type I ou de TIMP-1. Dans les expériences de contrôle, nous avons testé si l'inhibition de la translocation nucléaire de NF-kB par le peptide inhibiteur SN50 pouvait induire les mêmes effets, mais cela n'était pas le cas (figure 2D). Ces données soulignent la spécificité de l'effet de la PI sur c-Jun.



Figures 2

Conclusion et perspectives

Une augmentation de la synthèse du collagène non accompagnée par une dégradation adéquate facilite le dépôt d'ECM ce qui conduit à la fibrose. La régulation négative du collagène de type I et de TIMP-1 et l'activation de la MMP-1 par les PI a le potentiel d'inverser la production excessive de ECM et la fibrose.
Le TGF-β joue un rôle pivot en augmentant le niveau de transcription de plusieurs gènes dont le collagène de type I dans les fibroblastes. Nos résultats montrent que les IP exercent une régulation négative sur la transcription du gène du collagène sur les fibroblastes au repos et stimulés par le TGF-β, et tout aussi efficacement dans les fibroblastes normaux et sclérodermiques. Nos données indiquent un rôle de c-Jun dans la production de MMP-1 induit par PI. En effet, PI induit la phosphorylation de c-Jun et l'accumulation nucléaire de c-Jun, tandis que l'inhibition pharmacologique de JNK inverse cet effet et abroge la production accrue de MMP-1. Malgré les différences attendues en puissance des quatre IP utilisés (bortezomib> MG-132 ≈ PSI> lactacystine) leur capacité à réduire le collagène de type I et TIMP-1 tout en augmentent MMP-1, suggère fortement que les phénomènes observés étaient dus à un effet de classe et indiquent que le blocage du protéasome est une stratégie à explorer pour le traitement de maladies caractérisées par une production excessive d'ECM.

L'halofuginone affecte des fonctions fibroblastiques clefs pour la réparation tissulaire

Charlotte Tacheau[1], Dominique Farge[2], Laurence Michel[2], Alain Mauviel[1] et Franck Verrecchia[1,3]
(1) INSERM U697, Hopital Saint Louis, Paris, France
(2) INSERM U976, Hopital Saint-Louis, Paris, France
(3) INSERM U957, Faculté de Médecine, Nantes, France

Introduction

La fibrose tissulaire résulte d'un processus complexe, dont une des principales conséquences est le dépôt excessif de composants de la matrice extracellulaire (MEC), en particulier de collagènes fibrillaires. Dans la peau, les fibres de collagène sont essentiellement constituées de collagène de type I qui représente 80% du poids sec du derme. Les fibres de collagène de type I résultent de l'assemblage de trois sous-unités : deux chaines codées par le même gène, le gène de collagène α1, et une chaine codée par un autre gène, le gène de collagène α2. De nombreuses études ont démontré que le dépôt excessif des fibres de collagène de type I observé lors du développement de fibroses tissulaires comme la sclérodermie systémique (ScS) était essentiellement dû à des dérégulations de la transcription des gènes en ARN messagers des sous-unités α1 et α2 du collagène de type I (respectivement COL1A1 et COL1A2) qui conduisent à une augmentation de l'expression et de la synthèse du collagène. Cette accumulation de collagène peut également résulter d'une diminution de sa dégradation par diminution de l'activité des collagènases (protéines capables de dégrader le collagène).
L'halofuginone, un alcaloïde issu de la plante Dichroa febrifuga, posséde la capacité d'inhiber la synthèse de collagène dans différents modèles animaux de fibroses cutanées ou pulmonaires comme les modèles induits par la bléomycine (Pines and Nagler, 1998; Pines et al., 2003). In vitro, l'halofuginone inhibe la synthèse de collagène de type I dans différents types cellulaires (Granot et al., 1993; McGaha et al., 2002; Pines et al., 2003). Ainsi, l'objectif de ce travail a été d'étudier les effets de l'halofuginone sur des fonctions fibroblastiques clefs dans la réparation tissulaire : prolifération cellulaire, synthèse de collagène, et capacité des fibroblastes à contracter la matrice extracellulaire.

Résultats

L'ensemble des expérimentations effectuées ont permis de montrer :

1) A des concentrations supérieures à 10-7M, l'halofuginone inhibe la prolifération des cellules par arrêt du cycle cellulaire et affecte la viabilité de fibroblastes.

2) A ces fortes concentrations, on observe une inhibition de l'expression et de la production du collagène de type I via une action transcriptionnelle sur les gènes COL1A1 et COL1A2 (RT-PCR, Western-Blot) (figure 1).

3) A des concentrations inférieures à 10-7M, qui n'affectent pas le cycle cellulaire et la viabilité cellulaire, on observe une activation des voies de signalisation ERK, p38 et JNK (Western-Blot).

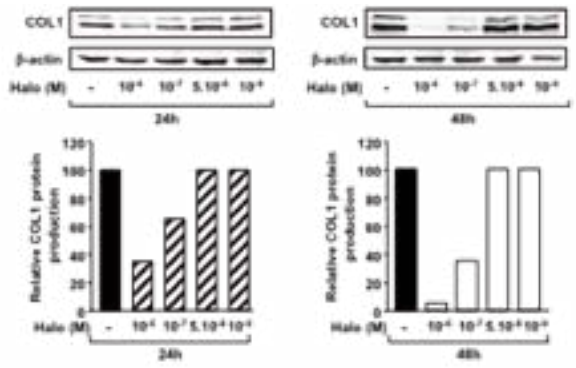


Figure 1: L'halofuginone inhibe la production de collagène de type 1
A l'aide d'un anticorps spécifique des sous unités alpha1 et alpha2 du collagène de type I, on observe une diminution de la quantité de protéine après 24h et 48h de traitement des fibroblastes avec 10-6 et 10-7M d'halofuginone

4) A ces faibles concentrations, l'halofuginone diminue la capacité des fibroblastes à contracter des lattices de collagène, et inhibe la capacité du TGF-ß à induire la contraction des lattices de collagène. Un inhibiteur chimique de ERK, PD98059, inhibe l'effet de l'halofuginone sur la capacité des fibroblastes à contracter des lattices de collagène suggérant le rôle crucial de la voie de signalisation ERK dans ce phénomène (figure 2).

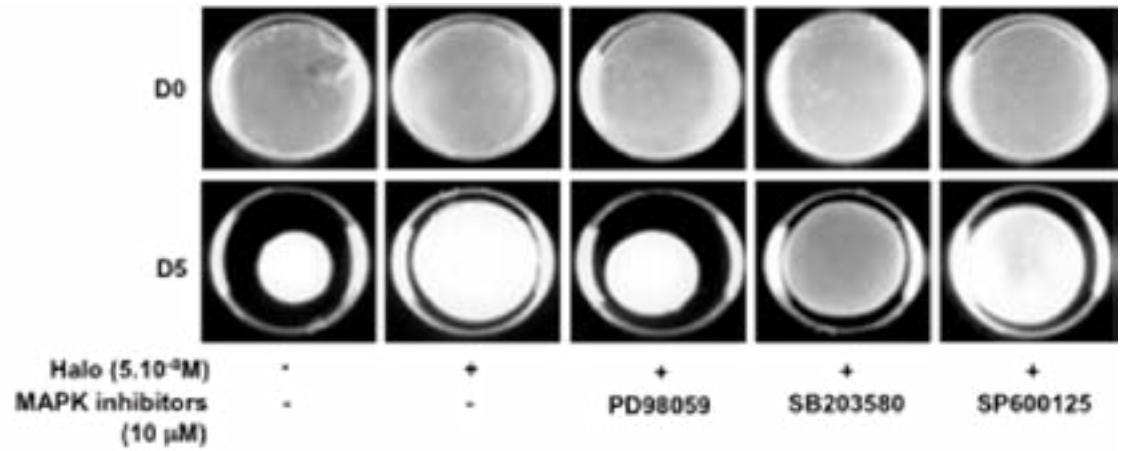


Figure 2 : L'halofuginone inhibe la capacité des fibroblastes à contracter des lattices de collagène via la voie de signalisation ERK
Des fibroblastes sont mis en culture dans du collagène. On observe une diminution du diamètre de la lattice de collagène après 5 jours de culture (day 5, 1e colonne) qui témoigne de la capacité des fibroblastes à contracter le matrice de collagène. La présence de 5.10-8M d'halofuginone inhibe fortement cet effet (2e colonne). Un inhibiteur chimique de ERK inhibe l'effet de l'halofuginone (3e colonne) alors que des inhibiteurs de p38 et JNK sont sans effet sur les propriétés de l'halofuginone (4e et 5e colonnes)

Conclusion et perspectives

L'halofuginone affecte ainsi des fonctions fibroblastiques clefs dans la réparation tissulaire et la fibrogénèse comme la prolifération cellulaire, la synthèse de collagène, et la capacité des fibroblastes à contracter la matrice extracellulaire. Nos travaux, très fondamentaux, ont permis en particulier, de décortiquer les mécanismes moléculaires de l'action de ce composé sur la capacité des fibroblastes à contracter la matrice extracellulaire. Il convient maintenant d'étudier les effets in vivo de ce composé dans des études précliniques (modèles murins) et de tester la toléance de ce composé chez l'homme avant d'envisager la moindre utilisation en clinique.

Publication effectuée sur le sujet avec l'aide de l'ASF :
- Tacheau C, Michel L, Farge D, Poulalhon N, Mauviel A and F Verrecchia (2007). Involvement of ERK signaling in halofuginone driven inhibition of fibroblast ability to contract collagen lattices. Eur J Pharmacol 573:65-9.

Monoxyde d'azote (NO) et réponse locale au froid dans le phénomène de Raynaud

Jean-Luc Cracowski, Matthieu Roustit, Dr Sophie Blaise. Centre d'Investigation Clinique et Service de médecine vasculaire, CHU de Grenoble

Introduction

Lors d'une exposition au froid, le flux sanguin dans les vaisseaux de la peau diminue. Ce phénomène permet au corps de préserver la chaleur indispensable au fonctionnement de ses organes. La réponse des vaisseaux au froid est complexe et implique à la fois :

• une vasoconstriction (diminution du diamètre des vaisseaux) d'origine nerveuse végétative (système sympathique) et une réponse locale. Cette réponse locale comprend la stimulation d'enzymes (appelées Rho-kinases), qui sont responsables de la sortie sur les membranes des cellules des récepteurs adrénergiques α2c.

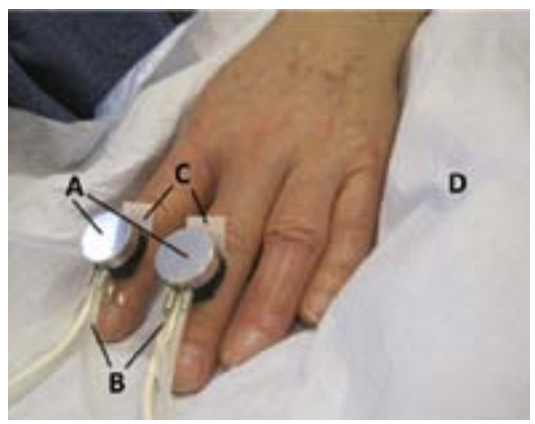
• une diminution de la vasodilatation, liée à une diminution de la disponibilité du monoxyde d'azote (NO), un puissant vasodilatateur.

Dans le phénomène de Raynaud primaire ou secondaire à la sclérodermie, il semble que toutes ces réponses soient altérées au niveau de la microcirculation. Afin de pouvoir mieux étudier ces phénomènes et évaluer des médicaments, nous avons :

1) conçu une sonde permettant de refroidir la peau tout en enregistrant le débit sanguin dans la microcirculation de la peau ;

2) utilisé, ensuite, cette sonde pour comparer la réponse locale au froid de sujets présentant un phénomène de Raynaud primaire par rapport à des sujets contrôles ;

3) enfin, testé l'effet sur la réponse locale au froid d'une prise unique de 50 ou 100 mg de sildénafil, un médicament agissant en augmentant la disponibilité du NO.



Résultats

1. Mise au point de la sonde permettant de refroidir localement tout en enregistrant le flux sanguin cutané.

En collaboration avec l'entreprise suédoise Perimed, nous avons réalisé un dispositif couplant une fibre optique avec un élément Peltier. L'élément Peltier permet de refroidir sur une face, l'autre face générant de la chaleur, évacuée par un dispositif en silicone. Nous avons pu montrer que cette sonde permettait bien d'enregistrer l'évolution du flux sanguin de la peau refroidie à 24°C ou à 15 °C de façon reproductible techniquement (les températures générées par la sonde étaient fiables) et physiologiquement (les réponses observées en terme de flux sanguin étaient similaires à 7 jours, étude chez 22 volontaires sains).

A l'aide de cette sonde, nous avons pu décrire la réponse normale du flux de la peau lors d'un froid local : on observe une vasoconstriction immédiate très rapide, suivie dans les 10 minutes d'une vasodilatation « paradoxale » (ce rebond est en effet observé alors même que l'application de froid est constante), puis d'une vasoconstriction prolongée.

2. Comparaison de la réponse locale au froid de sujets présentant un phénomène de Raynaud primaire par rapport à des sujets contrôles.

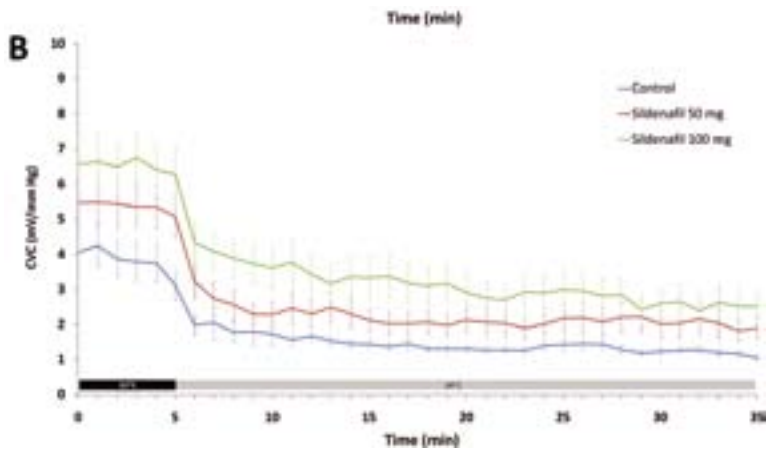
Sondes laser monopoint (A) couplées à un élément Peltier et reliées à un système de refroidissement par des tubes en silicone (B). Les sondes sont fixées par des adhésifs double face (C). La main repose sur un coussin à vide pour limiter les artéfacts de mouvement.

Nous avons comparé 21 patients présentant un phénomène de Raynaud primaire (sans sclérodermie) à 20 sujets contrôles. Pour chaque sujet, la réponse locale au froid a été étudiée sur la pulpe, le dos du doigt et l'avant-bras. L'étude a été répétée en présence d'un anesthésique local pour bloquer localement l'activité des nerfs (empêcher à la fois la stimulation des récepteurs sensibles au froid et l'activité du système nerveux végétatif sympathique). La vasoconstriction au froid des doigts était exagérée chez les patients présentant un phénomène de Raynaud alors que l'examen de l'avant-bras était normal. L'examen détaillé de la réponse permettait de voir que les patients avec phénomène de Raynaud présentaient une phase initiale de vasoconstriction identique, mais qu'ils ne présentaient pas de vasodilatation paradoxale, et que le plateau de vasoconstriction était plus prononcé. Ceci suggère que lors de la stimulation locale au froid, indépendamment du système sympathique, les voies des rho-kinases et/ou la voie du NO sont localement anormales.

3. Effet sur la réponse locale au froid d'une prise unique de 50 ou 100 mg de sildénafil (Viagra®), un médicament agissant en potentialisant l'action du NO.

Comme la baisse de la disponibilité du NO est une des raisons expliquant la réponse vasoconstrictrice au froid, nous avons testé l'hypothèse qu'un médicament augmentant les concentrations de NO en inhibant sa dégradation pourrait être utile dans la prise en charge du phénomène de Raynaud.

Nous avons donc exposé 15 patients présentant un phénomène de Raynaud primaire à un refroidissement local du dos de deux doigts affectés par le phénomène de Raynaud. Ce test a été réalisé à 7 jours d'intervalle sans médicament, et 1 heure après la prise orale de sildénafil 50 mg et 100 mg. Nous avons montré que la prise de 100 mg de sildénafil augmente le flux cutané dans l'heure qui suit sa prise, à la fois à température ambiante et pendant un test de refroidissement local de la peau à 24°C ou 15°C, sans induire d'effets indésirables.



Effet sur le flux vasculaire du dos du doigt d'une dose unique de sildénafil (50 mg en rouge ; 100 mg en vert) comparée à l'absence de médicament (tracé bleu). Le tracé est indiqué lors du maintien de la température de la sonde à 33°C pendant 5 mn, puis pendant le refroidissement de la sonde pendant 30 mn. On observe que sous sildénafil 100 mg, le flux de base est plus élevé, mais qu'il reste nettement au dessus des autres groupes pendant le refroidissement local.

Conclusions et perspectives

Une étude française teste actuellement la prise de sildénafil au long cours dans les ulcérations digitales de la sclérodermie. Notre travail donne des arguments scientifiques en faveur d'un effet du sildénafil sur le flux cutané digital. Nous envisageons de tester à plus grande échelle la prise orale de sildénafil à la demande avant l'exposition au froid.

Les publications scientifiques issues de ce travail :
- Roustit M, Hellmann M, Cracowski C, Blaise S, Cracowski JL. Sildenafil increases digital skin blood flow during all phases of local cooling in primary Raynaud's phenomenon. Clin Pharmacol Ther, sous presse.
- Roustit M, Blaise S, Millet C, Cracowski JL. Impaired transient vasodilation and increased vasoconstriction to digital local cooling in primary Raynaud's phenomenon. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2011;301:H324-30.
- Roustit M, Maggi F, Isnard S, Hellmann M, Bakken B, Cracowski JL. Reproducibility of a local cooling test to assess microvascular function in human skin. Microvasc Res. 2010;79:34-9.

L'iloprost augmente les cellules Th22 et Th17 tout en diminuant les cellules Th1 via le récepteur IP dans la sclérodermie systémique

Marie-Elise Truchetet[1], Nicolò C. Brembilla[1], Elisa Montanari[1], Yannick Allanore[2] and Carlo Chizzolini[1]
(1) Immunology and Allergy, University Hospital and School of Medicine, Geneva,
(2) Service de Rhumatologie A, Hôpital Cochin, Université Paris Descartes, Paris

Introduction

La pathogenèse de la sclérodermie systémique (ScS) reste mal comprise, mais implique l'interaction d'au moins trois types de cellules : les fibroblastes, les cellules endothéliales et les cellules du système immunitaire, notamment les lymphocytes T (LT). Ces derniers infiltrent les tissus atteints par la ScS, et en particulier la peau. Puisque les fibroblastes adjacents à l'infiltrat inflammatoire synthétisent très activement le collagène, il est possible que les cellules inflammatoires et tout particulièrement les LT produisent des substances qui activent les fibroblastes.

Les LT helper (Th) sont subdivisées en Th1, Th2, Th17 et Th22, selon leurs capacités de production de cytokines et l'expression des facteurs de transcription. L'effet inhibiteur des cytokines Th1 et stimulateur des cytokines Th2 sur la production de la matrice extracellulaire de la part des fibroblastes est bien connu, beaucoup moins étudié est celui des Th17 et Th22.

L'iloprost est un analogue synthétique de la prostaglandine I2 (PGI2), largement utilisé comme vasodilatateur dans la ScS. Il se lie avec une haute affinité au récepteur IP. En dehors de ses effets vasodilatateurs, l'iloprost est connu pour inhiber la production de TNF-α.

Nous avons récemment démontré que la prostaglandine E2 (PGE2), un important médiateur de l'inflammation à laquelle l'iloprost est structurellement lié, favorise l'expansion des cellules Th17 chez l'homme. Cette étude a été menée pour étudier l'effet de l'iloprost sur les lymphocytes T helper.

Résultats

Nous avons inclus prospectivement 30 individus sclérodermiques, se présentant dans le service de Rhumatologie A de l'Hôpital Cochin à Paris et qui n'avaient pas reçu de médicaments immunosuppresseurs au moment de la prise de sang. Vingt-neuf donneurs sains ont été recrutés comme contrôles dans le centre de transfusion sanguine des Hôpitaux Universitaires de Genève.

Nous avons constaté que l'iloprost augmente la production par les lymphocytes de sang périphérique de l'interleukine (IL) IL-17A et IL-22 tout en inhibant celle de l'interféron-gamma (IFN-γ). Ces effets ont été démontrés tout aussi bien chez les personnes avec ScS que les donneurs sains et apparaissaient à des doses d'iloprost comparables à celles utilisées in vivo dans le traitement des ulcères digitaux. Par cytométrie de flux et analyse multiparamétrique, nous avons pu démontrer que l'iloprost favorise l'expansion des cellules Th17 et Th22, tout en diminuant les cellules Th1 (Figure 1). En réalisant des co-cultures de lymphocytes T helper avec des monocytes autologues, nous avons pu constater que l'iloprost agit en partie directement sur les lymphocytes T helper et en partie indirectement en modifiant le comportement des monocytes. Ces derniers, sous l'influence de l'iloprost, produisent des cytokines qui augmentent l'expansion des Th17 et diminuent celles des Th1. Finalement, le récepteur IP exprimé à la surface des lymphocytes et des monocytes semble médier la plus grande partie des effets que nous avons observés.

Cette étude est la première à démontrer que l'iloprost favorise, tout au moins in vitro, la réponse des lymphocytes Th17 et Th22 et inhibe celle des Th1 humains. D'autre part, nos travaux précédents, en élargissant les données présentes en littérature, indiquent que les Th17 et les Th22 sont augmentés dans la ScS. La contribution des lymphocytes Th17 et Th22 au développement de la sclérodermie reste un sujet de débat. Des études chez l'homme et la souris suggèrent que l'iloprost peut améliorer l'épaisseur de la peau et aurait des effets bénéfiques sur le cours de la sclérodermie, en plus de son activité vasodilatatrice. Si l'iloprost exerce un effet bénéfique sur la sclérodermie, indépendamment de ses propriétés vasodilatatrices, il est donc légitime d'émettre l'hypothèse que les Th17 et Th22 pourraient contrebalancer plutôt favorablement la progression de la maladie, puisque leur nombre est augmenté par l'iloprost.

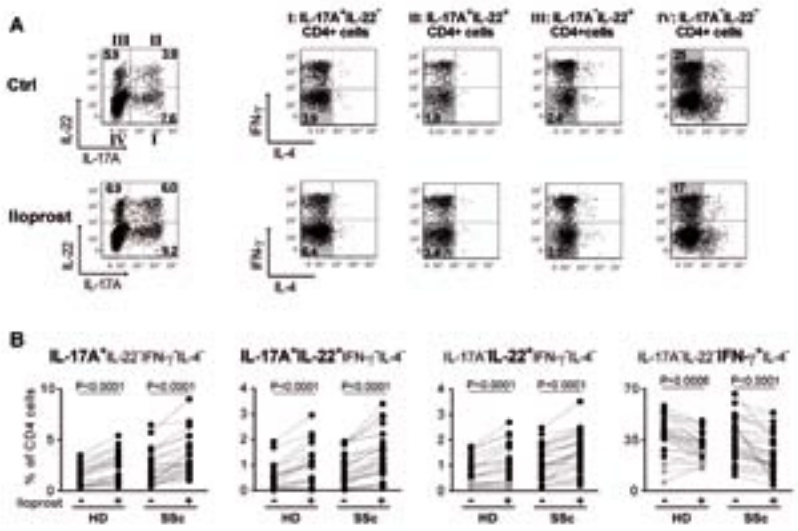


Figure 1. L'iloprost favorise le développement des cellules Th17 et Th22 tout en inhibant les cellules Th1 chez les donneurs sains (HD) et les individus ScS. Les cellules mononucléées du sang ont été cultivées en présence ou pas de 10 ng / ml de l'iloprost. Au jour 7 de culture, la capacité des lymphocytes Th a été évaluée par cytométrie de flux. A. Cytokines intracellulaires des CD4+ d'un individu ScS représentatif. Chaque quadrant identifié par un chiffre romain est ensuite analysé pour l'expression d'IFN-γ vs IL-4. Les cellules CD4 + exprimant l'IL-17A seule (IL-17A + IL-22-IFN-γ-IL-4), l'IL-17A et l'IL-22 (IL-17A + IL-22 + IFN-γ-IL-4 -), l'IL-22 seule (IL-17A-IL-22 + IFN-γ-IL-4) et l'IFN-γ seul (IL-17A-IL-22-IFN-γ + IL-4-) sont grisées. B. La fréquence des cellules CD4 + exprimant l'IL-17A seule, l'IL-17A et l'IL-22, l'IL-22 seule + et l'IFN-γ dans tous les donneurs sains (HD) et les sclérodermiques testés (SSc).

Conclusion et perspectives

En conclusion, l'iloprost augmente les lymphocytes Th17 et Th22 tout en inhibant les cellules Th1 aux doses utilisées pour traiter les manifestations vasculaires chez les patients sclérodermiques, ce qui souligne les propriétés immuno-modulatrices intéressantes de ce médicament. L'ensemble de nos résultats apporte la preuve d'un nouveau rôle immunologique de l'iloprost distinct de son action directe sur les cellules endothéliales et les fibroblastes. La capacité de l'iloprost à moduler la production de cytokines par les lymphocytes T devrait être prise en compte pour mieux adapter les traitements actuels et pourraient être exploitée pour développer de nouvelles approches thérapeutiques. Dans cette perspective, il sera important d'éclaircir le rôle propre des lymphocytes Th17 et Th22 dans la ScS en particulier leur participation inductrice ou protectrice à la fibrose.

Références et publications : pages 88

L'iontophorèse thérapeutique : perspectives dans la prise en charge des ulcérations digitales

Jean-Luc Cracowski, Sophie Blaise, Dr Matthieu Roustit. Centre d'Investigation Clinique et Service de médecine vasculaire, CHU de Grenoble

Introduction

L'iontophorèse est une technique permettant de faire passer une molécule au travers de la peau par l'effet d'un courant électrique. Ainsi, une molécule chargée négativement pourra migrer si l'on applique un courant avec l'électrode négative placée au-dessus. Cette technique de diffusion d'un médicament dans la peau est déjà utilisée pour quelques applications comme l'anesthésie locale. La prise en charge des ulcérations digitales de la sclérodermie fait appel à des médicaments mal tolérés (iloprost ou Ilomédine®) lorsqu'ils sont administrés par voie injectable. Par ailleurs, la diminution du nombre de capillaires dans les doigts présentant des ulcérations rend la diffusion du médicament dans la cible médiocre. Par conséquent, nous avons testé si les médicaments analogues de la prostacycline (famille à laquelle appartient l'iloprost) pouvaient diffuser dans la peau sous l'influence d'un champ électrique. Pour des raisons de sécurité, les études ont d'abord été réalisées chez le rat puis chez le volontaire sain.

Résultats

Nous avons testé le tréprostinil, l'iloprost et l'époprosténol sur le train arrière de rat dépilé. Nous avons observé une augmentation importante du flux sanguin de la peau des rats traités par ces médicaments lorsque le courant appliqué était de polarité négative, sans observer d'effet pour la polarité positive, ou en l'absence de courant. Quand l'époprosténol était utilisé en solution de pH neutre, aucun effet n'était observé. Cette augmentation était soutenue dans le temps (effet persistant au-delà de 80 minutes) pour le tréprostinil et l'iloprost. Nous avons donc montré qu'il était possible de faire migrer par un courant électrique cathodal (négatif) dans la peau du rat deux médicaments potentiellement utiles dans la sclérodermie : le tréprostinil et l'iloprost, sans effets indésirables locaux ou généraux.

A l'aide de ces données, nous avons eu l'autorisation de tester l'effet sur 24 heures de l'iontophorèse cathodale du tréprostinil et de l'iloprost sur l'avant-bras de 20 volontaires

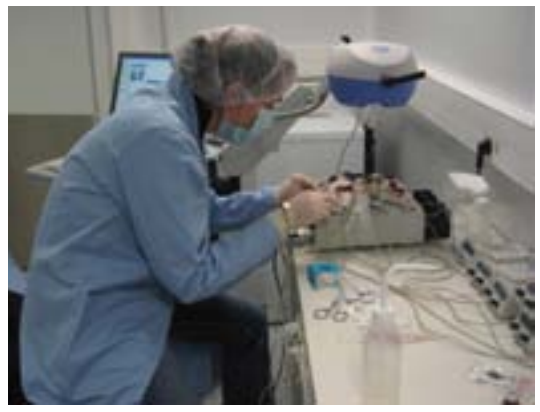


Figure 1. A gauche, Sophie Blaise place des électrodes. A droite, détail de l'expérience où les électrodes remplies de médicament connectées à la cathode (A) sont reliées à un générateur de courant (B). Le flux sanguin cutané est enregistré en continu à l'aide d'un laser Doppler Imageur (E) tandis que les résistances électriques cutanées sont calculées (F).

sains. Nous avons interrompu l'application d'iloprost du fait de la survenue d'une irritation cutanée persistante chez la première volontaire exposée. Par contre, l'application de tréprostinil a été très bien tolérée. Nous avons observé une augmentation du flux sanguin cutané avec un pic à une heure, mais un effet persistant jusqu'à 8 heures après l'application. L'application de tréprostinil sans courant n'entraînait pas d'effet. Nous avons donc observé chez des volontaires sains une augmentation de flux sanguin cutané ample et prolongée dans le temps après iontophorèse cathodale (négative) de tréprostinil, sans effets indésirables locaux ou généraux. Par contre, l'iloprost n'est pas utilisable.

Figure 2. Expérience chez un volontaire sain. 4 chambres d'iontophorèse (A) connectées à un générateur de courant (B) étaient placées sur l'avant-bras. Le flux sanguin cutané était enregistré à l'aide d'un laser Doppler Imageur (C), tandis que la pression artérielle était enregistrée en continu par un photoplétysmographe (D). En haut à droite, détail, avec cathode active (A) et anode passive (E), on distingue également en rouge le faisceau Laser permettant de calculer le flux.

Conclusion et perspectives

En décembre 2011, l'étude TIPPS a débuté. Cette étude a pour objectif de tester si l'iontophorèse cathodale de tréprostinil entraîne une augmentation de flux sanguin cutané sur la face pulpaire et dorsale des doigts de volontaires sains. Elle vise aussi à doser le tréprostinil dans la peau en utilisant des microcathéters de microdialyse.
Si cette phase est concluante et ne révèle pas de toxicité locale, le premier essai d'administration de tréprostinil en iontophorèse cathodale chez des volontaires sclérodermiques sera réalisé mi 2012.

Les publications scientifiques issues de ce travail :
- Etude sur le rat : Cathodal iontophoresis of treprostinil and iloprost induces a sustained increase in cutaneous flux in rats. Blaise S, Roustit M, Millet C, Ribuot C, Boutonnat J, Cracowski JL. British Journal of Pharmacology. 2011;162:557-65.
- Premières études chez des volontaires sains : Cathodal iontophoresis of treprostinil induces a sustained increase in cutaneous blood flux in healthy volunteers. Blaise S, Roustit M, Hellmann M, Millet M, Cracowski JL. Journal of Clinical Pharmacology 2011, sous presse.

Etude randomisée multicentrique SCLEROGLIVEC de l'imatinib mésylate STI571 (glivec®) dans l'atteinte cutanée de la sclérodermie

Sorilla Prey et A.Taïeb, Service de Dermatologie et Dermatologie Pédiatrique, Centre de Référence pour les maladies rares de la peau (CRMRP), CHU de Bordeaux, et Inserm U1035, Université Bordeaux Segalen

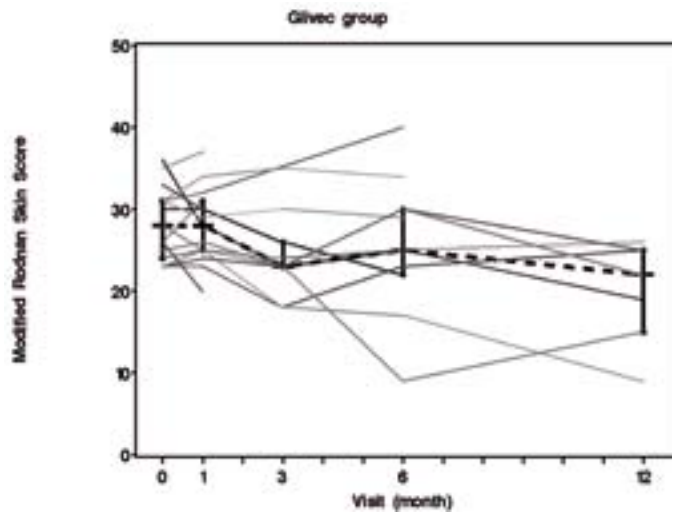
Introduction

Le traitement de l'atteinte cutanée des sclérodermies cutanées et/ou systémiques offre des possibilités très limitées. Les modifications de la texture cutanée ont également un retentissement sur le fonctionnement articulaire. Ces atteintes cutanées invalidantes s'observent au cours de sclérodermies purement cutanées (morphées, sclérodermies monoméliques) et des sclérodermies systémiques. L'imatinib (glivec®) était déjà utilisé pour des cancers (leucémie myéloïde chronique, tumeurs stromales gastro-intestinales). L'idée de l'utiliser dans la sclérodermie est venue après avoir constaté dans notre laboratoire, son effet d'inhibiteur sur les fibroblastes normaux et sclérodermiques, fait confirmé dans d'autres laboratoires en particulier pour la diminution de synthèse de collagène. Il y a des cibles moléculaires du Glivec sur les fibroblastes qui peuvent expliquer cet effet, en particulier le récepteur au platelet-derived growth factor (PDGF), facteur de croissance puissant pour les cellules mésenchymateuses, qui favorise la prolifération des fibroblastes, et stimule la synthèse de la matrice extracellulaire. En effet, au cours de la sclérodermie systémique, le récepteur beta au PDGF est surexprimé dans la peau atteinte. D'autres études ont montré une action de l'imatinib sur les modèles expérimentaux de fibrose et un impact associé sur la voie du transforming growth factor (TGF)ß qui peut être inhibée également par l'imatinib.
L'objectif de l'essai clinique était de comparer l'effet de l'imatimib à un placebo sur le pourcentage de variation du score d'induration cutanée (score modifié de Rodnan mRSC) entre l'inclusion et six mois, ainsi que la diminution de l'épaisseur du derme, la qualité de vie des patients et la tolérance du traitement. Cet essai clinique de phase II, comparatif, randomisé, en double insu, contre placebo, multicentrique, a comparé à son placebo l'imatimib administré per os à 400 mg par jour pendant 6 mois à des patients atteints de sclérodermie systémique avec induration cutanée sévère ou de sclérodermie cutanée grave, avec un suivi ultérieur de 6 mois.
Au départ, cette étude a obtenu un financement public (PHRC 2006) interrégional Grand Sud Ouest, mais très vite, l'intérêt manifesté par de nombreux cliniciens, a fait que cet essai est devenu national. L'ASF a donné 6000 euros pour permettre cet élargissement, et le laboratoire Novartis a fourni le médicament et le placebo, et une aide pour un attaché de recherche clinique.

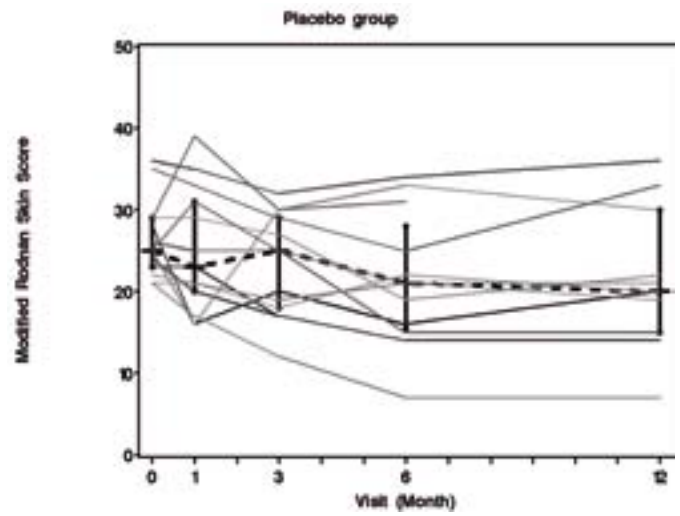
Résultats

28 patients ont été inclus dans l'étude, 11 hommes et 17 femmes, de 48,9 ans d'âge moyen (extrêmes 30-71). 25 avaient une sclérodermie systémique et 3 une sclérodermie cutanée diffuse. Les deux groupes étaient statistiquement comparables. A 6 mois, la variation du mRSS n'était pas significativement différente entre les 2 groupes (variation médiane imatinib: +0.10 ; placebo : -0.16, p = 0.098). De même, les différences pour l'épaisseur cutanée, la qualité de vie, et la capacité de diffusion pour le monoxyde de carbone n'étaient pas significativement différentes entre les 2 groupes. Les effets secondaires ont obligé plus de patients à l'arrêt du traitement à l'étude dans le bras imatinib. Au total, cette étude n'a pas pu montrer l'intérêt de l'imatinib dans ce schéma de prescription sur l'atteinte cutanée. Les résultats sur la variable pulmonaire sont à considérer comme préliminaires, ces données étant un objectif secondaire et surajouté de l'étude avant levée d'insu.

Figures : Evolution du score mRSS aux différentes visites de suivi



A : patients traités par imatinib mesylate



B: patients traités par placebo

Conclusion et perspectives

Ce travail est malheureusement globalement décevant dans ces résultats pour nos patients, mais il était important de réaliser une étude de ce type, les études dites « ouvertes » sans comparateurs comportant de nombreux biais. De nouvelles thérapeutiques ciblées actives sur la fibrose avec moins d'effets indésirables sont attendues avec impatience.

Travail soumis à publication

Reconstitution immunitaire et re-programmation de la tolérance après traitement par autogreffe de cellules souches hématopoïétiques périphériques chez les patients atteints de sclérodermie systémique sévère

Laurence Michel, IvanMada Elena
Hôpital Saint-Louis

Introduction

L'utilisation d'un traitement par intensification thérapeutique et autogreffe de cellules souches hématopoïétiques périphériques (CSHP) constitue une approche thérapeutique prometteuse dans les formes sévères de Sclérodermie Systémique (ScS). Une première analyse de la reconstitution immunologique et hématopoïétique après greffe de CSHP a montré que les pourcentages des lymphocytes B et T restent perturbés un an après la greffe, indiquant une persistance de mécanismes pathologiques dans le système immunitaire [Farge et al., Br J Hematol 2002; Arthritis Rheum 2005]. Un travail récent montre que la fréquence des cellules $CD4^+CD25^+$ et Treg $CD25^{++}FoxP3^+CD127^-$ est augmentée chez les patients comparés aux sujets sains, mais les cellules Treg sont défectueuses dans leur capacité à réprimer la prolifération des cellules T $CD4^+$ effectrices [Radstake et al, PlosOne, 2009]. L'objectif de notre projet était de déterminer quel est le statut de la reconstitution immunologique, tout particulièrement la re-programmation de la tolérance, après autogreffe de CSHP chez les patients sclérodermiques.

Résultats

Pour ce faire, nous avons utilisé des prélèvements de sang sur anti-coagulant et des biopsies cutanées obtenus chez des patients atteints de forme grave de ScS (ScS sévère diffuse définie par une durée de la maladie <4 ans depuis le développement des premiers signes d'épaississement de la peau et un Score de Rodnan modifié >15, ou par une durée de la maladie <2 ans mais un score de Rodnan modifié >20 plus une VS >25 mm ou un taux d'hémoglobine <11 g / dl. Un immunomarquage des lymphocytes T, notamment naïfs $CD4^+CD45RA^+$ et mémoires $CD4^+CD45RO^+$, et des populations de lymphocytes régulateurs, dont $CD4^+CD25^+Foxp3^+$, est pratiqué sur les prélèvements correspondant à M0, puis tous les 6 mois jusqu'à M24 après autogreffe de CSHP (n=8). Des biopsies cutanées ont été pratiquées pour une analyse transcriptomique des sous-populations lymphocytaires (n=3). Le sang de donneurs sains (EFS, n=8) et des biopsies de plasties mammaires provenant de chirurgie reconstructive (n=7) ont été utilisés comme contrôles.

Nos résultats montrent une diminution significative des taux de cellules T $CD4^+$ ($p<0.039$) et de lymphocytes T mémoires $CD4^+CD45RO$ ($p<0.042$) 6 mois après la greffe. Cette diminution est suivie par une augmentation progressive significative jusqu'à 24 mois (augmentation moyenne de +0.2% / mois ($p<0.001$) pour les cellules $CD4^+CD45RO^+$ et de +0,09% / mois pour les cellules $CD4^+CD45RA^+$ ($p<0.09$) par rapport aux valeurs absolues détectées à M6).

Le taux de cellules T régulatrices $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ dans le sang des patients atteints de ScS, avant tout traitement, est significativement inférieur (30 à 60 %) à celui observé chez les sujets sains ($p<0.05$). Ce pourcentage augmente de 2,5 fois dans les mois qui suivent la greffe pour atteindre un taux moyen similaire à celui des sujets normaux à M24. (Figure 1)

Dans la peau, si les taux des transcrits lymphocytaires CD4 et FoxP3 détectés par QPCR sont équivalents à ceux détectés dans la peau normale, le taux du transcrit CD25 est supérieur dans la peau ScS comparée à la peau normale ($p<0.05$). Après greffe, une diminution significative des transcrits CD4 et CD25 par rapport à M0 est observée à M12 ($p<0.05$), diminution suivie d'un retour aux taux de la peau normale à M24. Le taux de FoxP3 varie peu. Les capacités fonctionnelles des cellules T régulatrices sanguines sont altérées chez les patients ScS avant tout traitement (Figure 2) (soumis à publication). Les capacités fonctionnelles des cellules T régulatrices cutanées restent toutefois à déterminer.

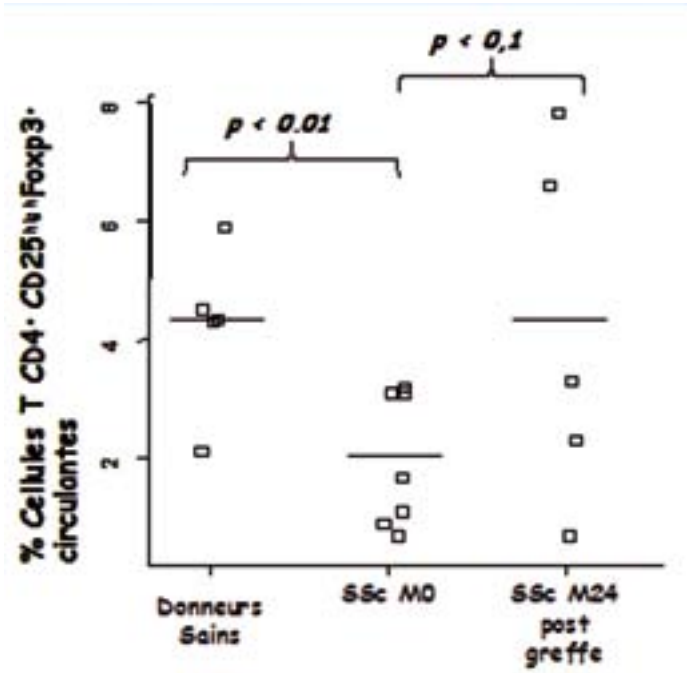


Figure 1 : reprogrammation de lymphocites T régulateurs après autogreffe de CH.
Taux significativement inférieur du % des T régulateurs naturels chez les patients ScS (n=8).
Augmentation de ce taux au cours des 24 mois post greffe

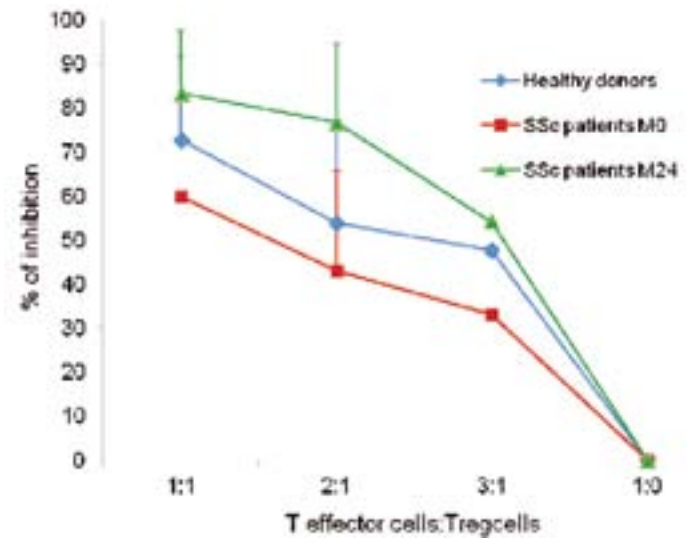


Figure 2 : fonction suppressive des cellules T CD4+ C D24high h C D127 low de patients ScS (avant greffe M0, post greffe M24) et de donneurs sains

Conclusion et perspectives

Pour conclure, nos données montrent une reconstitution immunologique après traitement par autogreffe de CSHP avec une augmentation des populations T régulatrices dans le sang.

Physiopathologie

Anticorps anti-endothélium, complément et collectines dans la sclérodermie systémique : résultats de la biothèque de l'ASF

Martial Koenig, Christian Drouet, Denise Ponard, Françoise Sarrot-Reynaud, Christian Massot, Patrick Carpentier, Pôle Pluridisciplinaire de Médecine (Cliniques Universitaires de Médecine Vasculaire et de Médecine Interne), CHU de Grenoble

Introduction

L'atteinte vasculaire et la fibrose sont les deux principales caractéristiques des lésions tissulaires dans la sclérodermie systémique ; leur origine et leur lien pathogénique éventuel sont discutés. L'atteinte endothéliale est constante et précoce, caractérisée par des altérations morphologiques et fonctionnelles précédant et participant à l'apparition des lésions de fibrose. Le fonctionnement et l'intégrité de l'endothélium peuvent être modulés in vivo par de nombreux facteurs humoraux circulants ou présents au niveau de la matrice extracellulaire, dont fait partie le système du complément. La mise en jeu de façon anormale du système du complément au cours de la sclérodermie systémique pourrait favoriser l'apparition des lésions vasculaires et de fibrose.

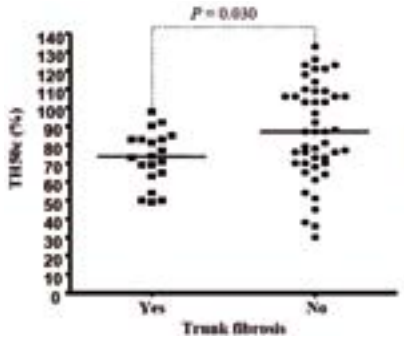
L'étude a été réalisée grâce à la biothèque de l'Association des Sclérodermiques de France, à partir d'un échantillon de 67 prélèvements pour lesquels étaient déjà disponibles des données concernant les marqueurs d'activation endothéliale. Elle avait pour objets :

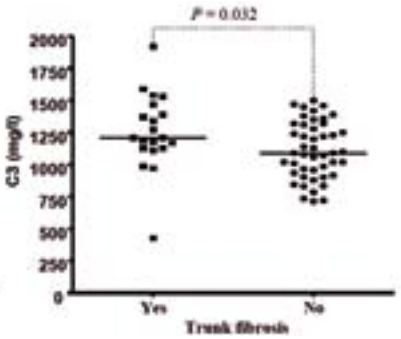
1. l'évaluation de la prévalence des anticorps anti-endothélium et des anomalies pondérales et fonctionnelles du complément et de la Mannose Binding Lectin (MBL) chez des patients sclérodermiques, en fonction de la forme clinique, de l'étendue de la fibrose cutanée ou d'anomalies sérologiques.
2. la recherche de liaison statistique entre ces anomalies et les marqueurs d'activation endothéliale.

Résultats

Les résultats ont mis en évidence :

- Une hypocomplémentémie chez 33,3 % des patients, plus importante en cas de fibrose étendue au tronc et en présence d'un anticorps anti-topoisomérase 1.
- Une corrélation entre les taux de C1q et de P-Sélectine.
- La présence d'anticorps anti-C1q chez 12 % des patients, associés à une élévation significative des taux de facteur von Willebrand.
- La présence de valeurs élevées de C3 chez 52 % des patients associées à la présence d'une fibrose étendue au niveau du tronc et à une élévation significative des taux de facteur von Willebrand et de P-Sélectine.
- Une altération de la voie des lectines avec une diminution de l'activité fonctionnelle de la MBL chez 62,1 % des patients, une diminution de l'activité spécifique de la MBL chez 81,8 % des patients.
- Un lien statistique significatif entre l'existence d'anticorps anti-endothélium et les taux de thrombomoduline et de facteur von Willebrand





Conclusion et perspectives

Ces résultats sont en faveur de mécanismes dysimmuns faisant intervenir des anticorps anti-endothélium et du complément dans la survenue des lésions vasculaires et de fibrose au cours de la sclérodermie systémique.

Mécanismes moléculaires de la fibrose dermique dans la sclérodermie systémique : Rôle du TGF-ß

Verrecchia Franck[1,3], Laboureau Julien[1], Verola Olivier[1], Michel Laurence[2], Mauviel Alain[1] et Dominique Farge[2]
(1) INSERM U697, Hôpital Saint Louis, Paris
(2) INSERM U976, Hôpital Saint-Louis, Paris
(3) INSERM U957, Faculté de Médecine, Nantes

Introduction

La sclérodermie systémique (ScS) est une maladie hétérogène au cours de laquelle l'atteinte cutanée prédomine et est en général bien corrélée aux atteintes viscérales. Cette sclérose est mesurée en pratique clinique par le score de Rodnan qui permet d'évaluer la sévérité de l'atteinte cutanée *(Valentini et al., 2003, Ann Rheum Dis, 62 :904).*
Sur le plan mécanistique, la fibrose tissulaire observée chez les patients atteints de ScS résulte d'un déséquilibre des phénomènes impliqués dans les processus de réparation tissulaire. En particulier, on assiste à une activation chronique des fibroblastes (cellules principalement responsables de la synthèse de la matrice extracellulaire ou tissu conjonctif), conduisant à une prolifération cellulaire excessive et à une accumulation incontrôlée de matrice extracellulaire *(Verrecchia et al., 2006, Autoimmunity Rev, 5:563)*. Ces processus sont associés à une production locale élevée de facteurs de croissance comme le TGF-ß (figure 1), dont l'action continue sur les cellules fibroblastiques est synonyme d'accumulation progressive de matrice extracellulaire, qui conduit au développement d'une fibrose *(Abraham and Varga, 2005, Trends Immunol 26:587).* En effet le TGF-ß est capable à la fois d'augmenter la production de MEC en stimulant, par exemple la production de collagène et aussi en diminuant la dégradation de cette MEC en diminuant par exemple la production d'une enzyme de dégradation comme MMP-1.
L'objectif principal de ce travail a été d'analyser les mécanismes précoces d'activation fibroblastique mis en jeu au cours de la SSc conduisant au développement de fibrose tissulaire avec une attention particulière sur le rôle du TGF-ß.

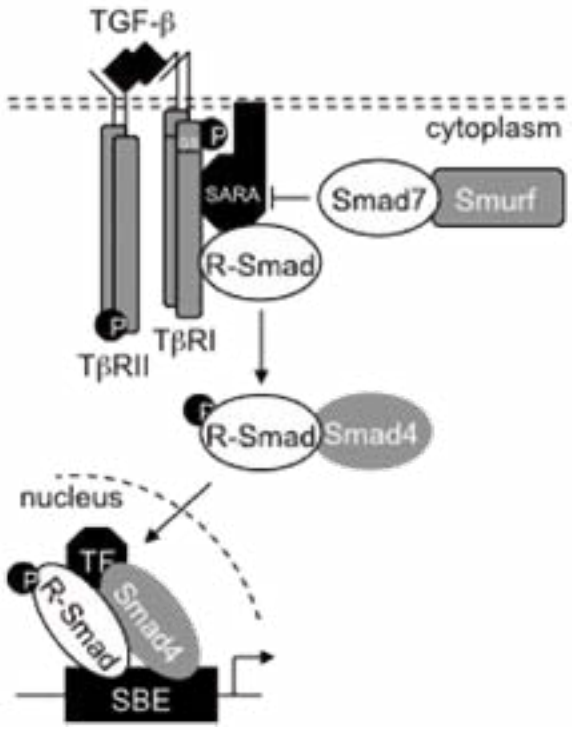


Figure 1: Voie de signalisation du TGF-ß par les Smads

Résultats

1) Par analyse histologique (marquage au Rouge Sirius ou Hématoxiline Safran Eosine), nous avons évalué l'étendue de l'atteinte cutanée en notant de 1 à 3 le degré de fibrose dans chacune des couches du derme (derme papillaire, derme réticulaire, et derme profond). L'analyse en double-aveugle de 45 biopsies ScS par microscopie optique a permis de classer les biopsies en 3 catégories histologiques distinctes :
- grade 1 = fibrose faible ;
- grade 2 = fibrose modérée ;
- grade 3 = fibrose sévère (figure 2).

On a montré une corrélation directe entre l'évaluation clinique par mesure du score de Rodnan et le degré de fibrose histologique (analyse statistique par régression linéaire ($p<0,0001$)). On observe ainsi que l'organisation histologique des composants de la matrice extracellulaire dans le derme est directement corrélée à la sévérité de la maladie évaluée par le score de Rodnan.

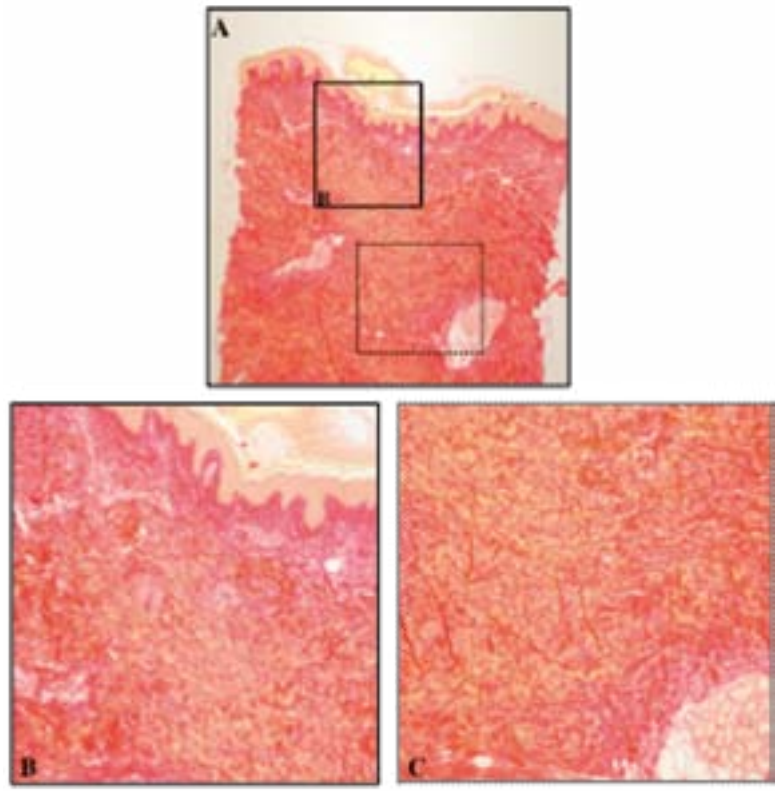


Figure 2: Coupe de peau issue d'un patient sclérodermique atteint de fibrose sévère (grade 3) marquée au rouge sirius (en jaune orangé les dépôts de collagènes fibrillaires)

2) Mécanismes précoces d'activation fibroblastique mis en jeu au cours de la ScS : Rôle clef du TGF-ß.
Ce travail a été réalisé par immunohistochimie à partir de 45 biopsies cutanées de patients atteints de ScS comparées avec des biopsies de patients sains, et sur des fibroblastes en culture obtenus par explant à partir des biopsies.
Les travaux effectués ont permis démontrer que :
- L'expression de Smad3 et non celle de Smad4 ou de Smad7 est modifiée dans la peau de patients ScS.
- Dans des fibroblastes ScS en culture primaire, le niveau de phosphorylation de la protéine Smad3 augmente en parallèle avec la sévérité de la maladie évaluée par mesure du score de Rodnan (Figure 3).
- Le niveau d'activation de la voie du TGF-ß est directement corrélé avec l'expression de gènes cibles de Smad3 en réponse au TGF-beta, les gènes COL1A2 et PAI-1.

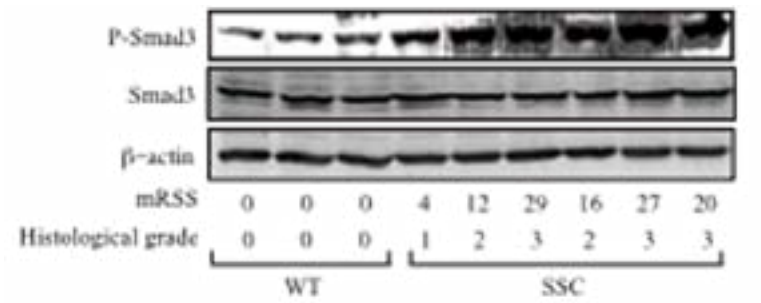


Figure 3 : Augmentation de l'activation de la voie de signalisation du TGF-ß évaluée par mesure du niveau de phosphorylation de Smad3 (acteur intracellulaire de la voie du TGF-ß). Des fibroblastes obtenus par explant à partir de biopsies cutanée de volontaires sains ou de patients ScS sont mis en culture. La sévérité de l'atteinte cutanée est évaluée par mesure du score de Rodnan (mRSS) et par histologie (histological grade). Le taux de phosphorylation de Smad3 est évalué à l'aide d'un anticorps spécifique de la forme phosphorylée de Smad3 (1e ligne). L'évaluation de la quantité de Smad3 est également évaluée à l'aide d'un anticorps spécifique de la forme non phosphorylée (2e ligne)

Conclusion et perspectives

Nous avons donc établi une nouvelle classification histologique permettant d'évaluer le degré de sévérité de la maladie par une analyse histologique simple à partir d'une biopsie cutanée. Afin de définir si cette méthode d'évaluation de la sévérité de la maladie peut être envisagée en routine par des services cliniques à des fins de diagnostic et de suivi thérapeutique, notre étude doit être aujourd'hui évaluée sur un plus grand nombre de patients. Par ailleurs, cette étude constitue la première démonstration de la corrélation entre la sévérité de la maladie, le niveau d'activation de la voie de signalisation du TGF-β et l'expression des gènes de la MEC impliqués dans le développement de la fibrose au cours de la ScS.

Publications effectuées sur le sujet avec l'aide de l'ASF :
- Verrecchia F and D Farge (2007). HSCT : A step foward in treatment of SSc. Blood 110:1088-9.
- Verrecchia F and A Mauviel (2007). TGF-ß and fibrosis. World J Gastroenterol 12:3056-62.
- Verrecchia F, Laboureau J, Verola O, Roos N, Porcher R, Bruneval P, Ertault M, Kiev T, Michel L, Mauviel A and D Farge (2007). Skin involvement in scleroderma : where histological ans clinical scores meet. Rheumatology 46:833-41.

Les auto-anticorps anti-cellules endothéliales

Mathieu C. Tamby et Luc Mouthon, INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, 2 CNRS UMR 8104, Paris ; Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, pôle de Médecine Interne et centre de référence pour les vascularites nécrosantes et la sclérodermie systémique, hôpital Cochin, Paris

Introduction

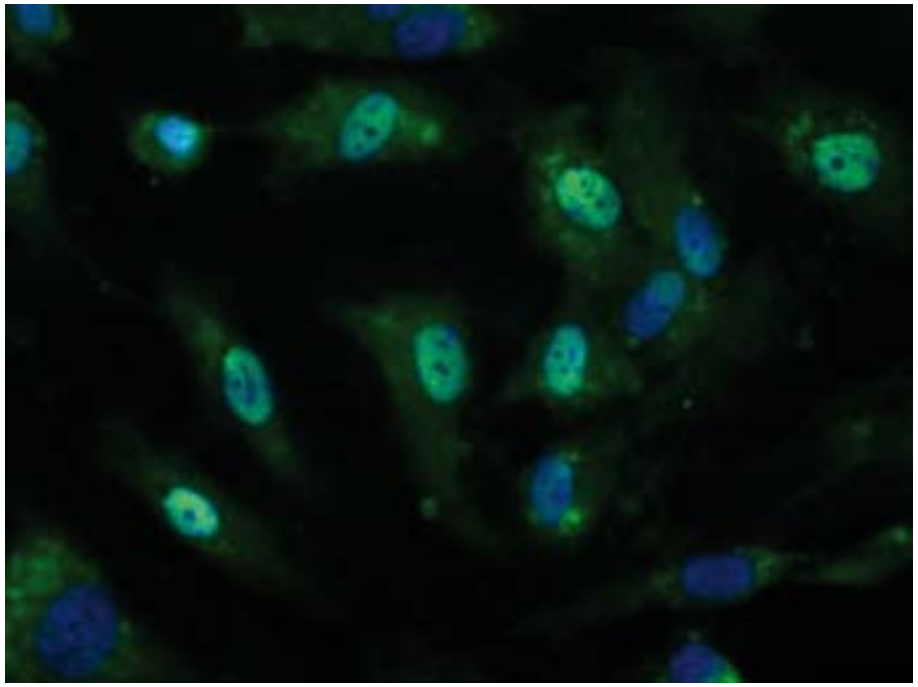
La sclérodermie systémique (ScS) est avant tout une maladie vasculaire qui associe un phénomène de Raynaud, éventuellement des manifestations viscérales vasculaires comme la crise rénale et l'hypertension artérielle pulmonaire. Au cours de la ScS, les cellules endothéliales sont activées, expriment des quantités accrues de molécules d'adhésion et produisent des molécules qui perturbent le tonus vasculaire et meurent de façon trop précoce. La majorité des malades atteints de ScS ont des anticorps anti-nucléaires qui aident au diagnostic de ScS et peuvent être associés à certaines formes cliniques de la maladie : les anticorps anti-topoisomérase I, présents dans 25 à 65% des formes diffuses, les anticorps anti-centromère, présents dans 30 à 60% des formes cutanées limitées et les anticorps anti-ARN-polymérase III identifiés chez 4 à 20% des malades et associés aux formes cutanées diffuses et à la survenue d'une crise rénale. D'autres auto-anticorps non spécifiques ont été identifiés comme les anticorps anti-cellules endothéliales, retrouvés dans environ 50% des cas de ScS et possiblement associés à la survenue de complications vasculaires. Certains travaux ont montré que ces anticorps pourraient être une des causes de la maladie. Les cibles antigéniques de ces auto-anticorps n'étaient pas identifiées.

Résultats

Dans le but d'identifier les cibles des anticorps anti-cellules endothéliales au cours de la ScS, nous avons tout d'abord utilisé une technique d'immunoblot quantitatif utilisant comme sources d'antigènes des extraits protéiques réalisés à partir de cellules endothéliales de veines ombilicales humaines normales (HUVEC) (modèle de cellules endothéliales de macrocirculation (de gros vaisseaux), des cellules endothéliales de microcirculation (de petits vaisseaux) de peau (HMVEC-d) et de poumon (HMVEC-l)). Nous avons pu mettre en évidence qu'une bande de réactivité à 100 kDa était exprimée par l'ensemble des patients ayant des anticorps anti-topoisomerase 1, correspondant à l'ADN topoisomérase I humaine présente dans les extraits de cellules endothéliales (Garcia de la Pena-Lefebvre P, 2004). Les IgG des patients atteints de ScS cutanée limitée avec anticorps anti-centromère reconnaissent 2 bandes protéiques de 75 et 85 kDa au sein d'extraits de cellules endothéliales de macro et de microcirculation correspondant à la protéine de centromère CENP-B (Servettaz A, 2006). Ainsi, nous avions montré que l'ADN topoisomérase I et CENP-B étaient des cibles des anticorps anti-cellules endothéliales au cours de la ScS.

Publications :
- Garcia de la Pena-Lefebvre P, Chanseaud Y, Tamby MC, et al. IgG reactivity with a 100-kDa tissue and endothelial cell antigen identified as topoisomerase 1 distinguishes between limited and diffuse systemic sclerosis patients. Clin Immunol. 2004;111:241-251.
- Servettaz, A., Tamby, M. C., Guilpain, P., Reinbolt, J., Garcia de la Pena-Lefebvre, P., Allanore, Y., Kahan, A., Meyer, O., Guillevin, L. and Mouthon, L., Anti-endothelial cell antibodies from patients with limited cutaneous systemic sclerosis bind to centromeric protein B (CENP-B), Clin Immunol, 2006,120, 212-9.
- Dib H, Tamby MC, Bussone G, Regent A, Berezné A, Lafine C, Broussard C, Simonneau G, Guillevin L, Witko-Sarsat V, Humbert M, Mouthon L. Targets of anti-endothelial cell antibodies in pulmonary hypertension and scleroderma. Eur Respir J. 2011 Oct 20

Afin d'identifier les autres cibles des anticorps anti-cellules endothéliales, nous avons utilisé une technique d'immunoblot en 2 dimensions sur des extraits d'HUVEC et identifié les cibles antigèniques par spectrométrie de masse. Six taches protéiques ont été reconnues par les IgG de plus de 75% des patients sclérodermiques et non par celles des sujets sains, parmi lesquelles la peroxiredoxine 1 et 2, la phosphoglycérate mutase 1 et la heat shock cognate 71 kDa protein (Dib H, 2011).



Immunofluorescence indirecte sur cellules endothéliales de veine ombilicale humaine (HUVEC) des IgG sériques (fluorescence verte) d'un patient sclérodermique représentatif. Le serum a été testé à une dilution de 1:200 dilution. Le colorant bleu marque les noyaux cellulaires. Grossissement x 63.

Conclusion et perspectives

L'ensemble de ces travaux nous a permis d'identifier de nouvelles cibles des anticorps anti-cellules endothéliales au cours de la ScS. Des expériences complémentaires utilisant des systèmes d'augmentation et de diminution d'expression des protéines candidates sont en cours pour étudier le rôle de ces auto-anticorps. L'identification de ces cibles antigéniques devrait nous permettre de mettre au point un ou plusieurs tests biologiques spécifiques d'un antigène permettant d'aider au diagnostic ou à définir le pronostic de la ScS.

Les anticorps anti-fibroblastes

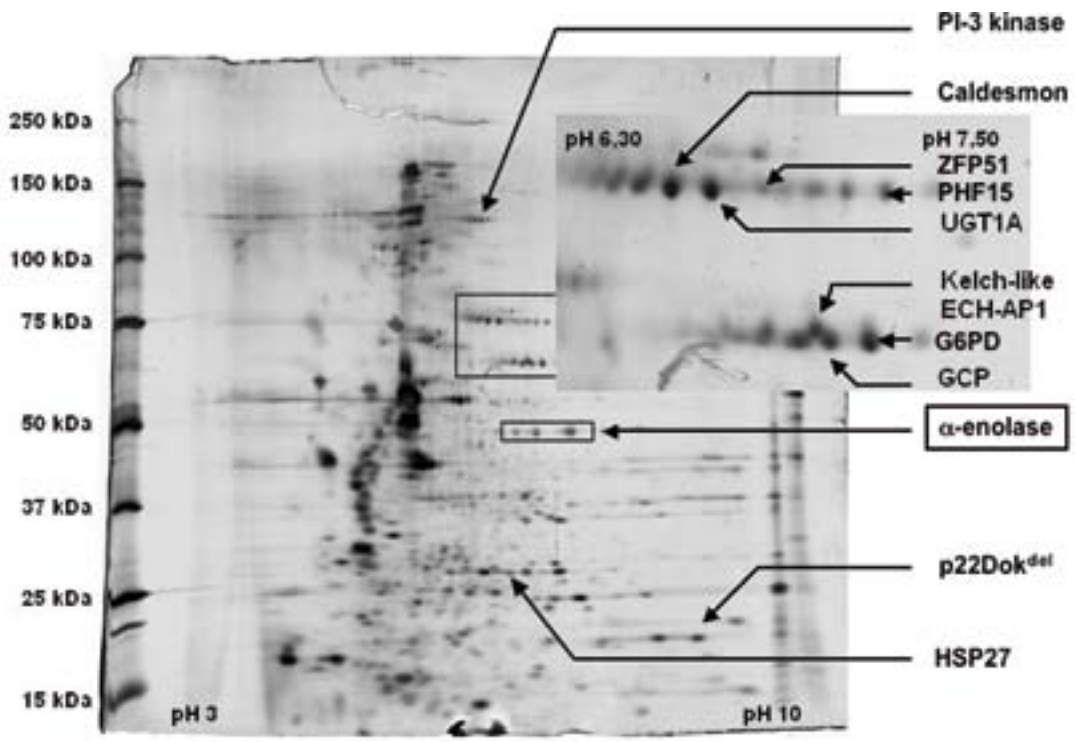
Mathieu Tamby[1,2,3] et Luc Mouthon[1,2,3,4]
(1) INSERM U1016, Institut Cochin, Paris
(2) CNRS UMR 8104, Paris
(3) Université Paris Descartes, Paris
(4) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, pôle de Médecine Interne et centre de référence pour les vascularites nécrosantes et la sclérodermie systémique, hôpital Cochin, Paris

Introduction

La sclérodermie systémique (ScS) est une maladie au cours de laquelle surviennent des manifestations vasculaires et des phénomènes de fibrose. Les fibroblastes jouent un rôle important dans cette maladie. Ainsi, ils produisent des composants de la matrice extra-cellulaire (collagène, protéoglycanes, fibronectine, laminine et fibrilline) en excès. Les fibroblastes produisent des médiateurs solubles appelés chemokines, et contribuent aux phénomènes inflammatoires qui précèdent ou accompagnent la fibrose ainsi qu'à la migration des cellules mononuclées à travers l'endothélium.
Depuis 1982, plusieurs auteurs ont identifié des anticorps dirigés contre les fibroblastes chez les malades atteints de ScS et mis en évidence la capacité de ces anticorps d'activer ces fibroblastes. Toutefois, les cibles de ces auto-anticorps n'étaient pas identifiées.

Résultats

Afin d'étudier la présence des anticorps anti-fibroblastes chez les malades sclérodermiques et d'identifier leurs cibles, nous avons analysé, en immunoblot, les réactivités des anticorps de patients sclérodermiques et de sujets sains dirigés contre des fibroblastes de peau humaine normale. Nous avons trouvé que les réactivités IgG anti-fibroblastes des patients sclérodermiques étaient différentes de celles des sujets sains. Les IgG de l'ensemble des patients sclérodermiques reconnaissaient des bandes de 60 et 40 kDa au sein de l'extrait protéique de fibroblastes (Tamby MC 2006). Un antigène de 90 kDa était reconnu spécifiquement par les IgG des patients ayant une forme diffuse. Il s'agissait de la topoisomerase 1 (Tamby M C 2008).
Afin d'identifier d'autres cibles des anticorps anti-fibroblastes, nous avons utilisé une technique d'immunoblot en 2 dimensions sur des extraits de fibroblastes dermiques humains normaux et identifié les cibles antigéniques par spectrométrie de masse.
Les IgG sériques des patients sclérodermiques reconnaissaient spécifiquement 67 taches protéiques parmi lesquelles la glucose-6-phosphate déhydrogenase, l'HSP27, l'α-enolase et la tropomyosine 2 (Terrier B 2008).
Ensuite, à l'aide d'une technique ELISA, nous avons pu montrer que des anticorps anti-α-enolase étaient retrouvés chez 34 % des malades sclérodermiques et que la présence de ces anticorps était fortement corrélée à la survenue d'une fibrose pulmonaire et à une diminution de la survie (Terrier B 2010).



Légende: Extrait protéique de fibroblastes dermiques humains normaux séparé sur gel d'électrophorèse bi-dimensionnelle et coloré au nitrate d'argent. Les taches protéiques reconnues spécifiquement par les patients atteints de sclérodermie systémique sont indiquées par des flèches: GCP, glutamate carboxy-peptidase; G6PD, glucose-6-phosphate-deshydrogenase; HSP27, heatshock protein 27; Kelch-like ECH, Kelchlike ECH-associated protein 1; PHF15, protein Jade-2; PI3 kinase, phosphatidylinositol 3 kinase; UGT1A, UDPglucuronosyltransferase 1–2; ZFP51, zinc finger protein 51.

Conclusion et perspectives

Nous avons identifié les cibles des anticorps anti-fibroblastes dans la ScS. Les anticorps anti-α-enolase sont associés à la survenue d'une fibrose pulmonaire et à une diminution de la survie. Des études fonctionnelles devraient permettre de comprendre le rôle des anticorps anti-fibroblastes au cours de la ScS.

Publications :
- Tamby MC, Humbert M, Guilpain P, Servettaz A, Dupin N, Christner JJ, Simonneau G, Fermanian J, Weill B, Guillevin L, Mouthon L. Antibodies to fibroblasts in idiopathic and scleroderma-associated pulmonary hypertension. Eur Respir J. 2006;28:799-807.
- Terrier B, Tamby MC, Camoin L, Guilpain P, Broussard C, Bussone G, Yaïci A, Hotellier F, Simonneau G, Guillevin L, Humbert M, Mouthon L. Identification of target antigens of antifibroblast antibodies in pulmonary arterial hypertension. Am J Respir Crit Care Med. 2008 ;177:1128-34.
- Tamby MC, Servettaz A, Tamas N, Reinbolt J, Caux F, Meyer O, Allanore Y, Kahan A, Guillevin L, Mouthon L. IgG from patients with systemic sclerosis bind to DNA antitopoisomerase 1 in normal human fibroblasts extracts. Biologics. 2008;2:583-91.
- Terrier B, Tamby MC, Camoin L, Guilpain P, Bérezné A, Tamas N, Broussard C, Hotellier F, Humbert M, Simonneau G, Guillevin L, Mouthon L. Antifibroblast antibodies from systemic sclerosis patients bind to {alpha}-enolase and are associated with interstitial lung disease. Ann Rheum Dis. 2010;69:428-33.

Bases génétiques de l'hypertension artérielle pulmonaire associée à la sclérodermie systémique

Eugénie Koumakis, Julien Wipff, Catherine Boileau, Yannick Allanore.
Université Paris Descartes, Rhumatologie A, INSERM U1016, Hôpital Cochin et INSERM U781 (Hôpital Necker), Paris.
Avec la participation du groupe Européen EUSTAR et du consortium GENESYS

Introduction

La sclérodermie systémique est une maladie à haut-tropisme vasculaire dont une des principales complications est l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP). Malgré l'apport de nouveaux traitements, cette complication reste très sévère et met en jeu le pronostic vital. A côté de l'HTAP de la sclérodermie, il existe des formes d'HTAP idiopathiques (pas de maladie associée à la maladie pulmonaire) dont certaines formes sont familiales. La compréhension des bases génétiques des formes idiopathiques d'HTAP a beaucoup progressé ces dernières années : le rôle crucial de mutations de gènes codant pour des récepteurs au TGF-beta, dont BMPR2 au premier plan, a bien été montré. Les récepteurs au TGF beta ont fait l'objet d'études très préliminaires dans la ScS en générale et en particulier dans la ScS associée à une HTAP. Dans un premier travail, nous avions identifié un polymorphisme d'insertion du gène de l'endogline (récepteur accessoire au TGF-béta) comme associé au risque d'HTAP de la sclérodermie (figure 1). Notre objectif était de continuer à étudier les séquences d'ADN des récepteurs au TGF-béta afin de chercher si des mutations ou des polymorphismes pouvaient être associés à l'HTAP de la sclérodermie systémique. Ceci aurait un grand intérêt, car cela pourrait aider à la compréhension mais surtout aider à mieux identifier au sein des malades avec sclérodermie, lesquels sont à haut-risque d'HTAP.

Résultats

Nous avons réalisé un séquençage direct (analyse détaillée de la séquence nucléotidique, c'est-à-dire base par base, de la structure de l'ADN) pour les gènes BMPR2, ALK1, TGFR2 et ENG (endogline) qui sont tous des récepteurs au TGF-beta. Ceci a été effectué chez 10 malades avec ScS et HTAP, 9 malades avec ScS sans HTAP et 7 témoins sains.
En plus de ce séquençage, 22 marqueurs polymorphiques (c'est-à-dire des marqueurs de variations de l'ADN localisés dans la région du gène et pouvant être des indicateurs de changement de structure) répartis sur ces gènes ont été analysés à partir de 824 malades français (dont 54 avec HTAP) et 939 témoins sains. Les résultats obtenus après cette première étape, ont ensuite été étudiés dans une autre cohorte de malades issue de la collaboration du groupe Eustar et comportant 1516 malades (dont 219 avec HTAP) et 3129 témoins.
Après séquençage direct, aucune mutation n'a été identifiée dans les 4 gènes étudiés. Cependant, 2 polymorphismes répertoriés ont été observés seulement chez des malades ayant non seulement une sclérodermie mais aussi une HTAP associée : ENG rs35400405 (codon 14 exon 1) and ALK1 rs2277382 (promoteur du gène). Ensuite le génotypage des 22 polymorphismes incluant les 2 précités n'a pas révélé d'association avec la maladie mais un

Publications :
- Wipff J, Kahan A, Hachulla E, Sibilia J, Cabane J, Meyer O, Mouthon L, Guillevin L, Junien C, Boileau C, Allanore Y. Association between an endoglin gene polymorphism and systemic sclerosis related pulmonary arterial hypertension. Rheumatology.2007;46:622-5
- Wipff J, Dieudé P, Guedj M, Ruiz B, Riemekasten G, Cracowski J, Matucci-Cerinic M, Melchers I, Humbert M, Hachulla E, Airo P, Diot E, Hunzelmann N, Caramaschi P, Sibilia J, Valentini G, Tiev K, Girerd B, Mouthon L, Riccieri V, Carpentier P, Distler J, Amoura Z, Tarner I, Degano B, Avouac J, Meyer O, Kahan A, Boileau C, Allanore Y. Association of KCNA5 gene polymorphism with systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension in the European Caucasian population. Arthritis Rheum. 2010;62:3093-100.
- E. Koumakis, J. Wipff, M. Matucci-Cerini, G. Riemekasten, P. Airo, D. Cusi, H.E. Wichmann, U. Müller- Ladner, P. Vlachoyiannopoulos, G. Chiocchia, Y. Allanore and EUSTAR network and GENESYS consortium. TGFB receptor polymorphisms in systemic sclerosis related pulmonary arterial hypertension: results from a multicenter eustar study of european caucasian patients. Soumis à publication.

polymorphisme, ALK1 rs2277382, a été trouvé associé à l'HTAP associée à la sclérodermie (Padj=0.0066; OR=2.13, 95%CI [1.24-3.65]). Ce dernier polymorphisme a donc été étudié dans la cohorte EUSTAR pour chercher une confirmation, mais sans qu'aucune association ne soit confirmée (ni avec l'HTAP de la ScS, ni avec la maladie par elle-même). L'analyse ensuite des cohortes combinées (plus de 2000 malades dont presque 300 HTAP et de 4000 témoins) n'a pas montré d'association.

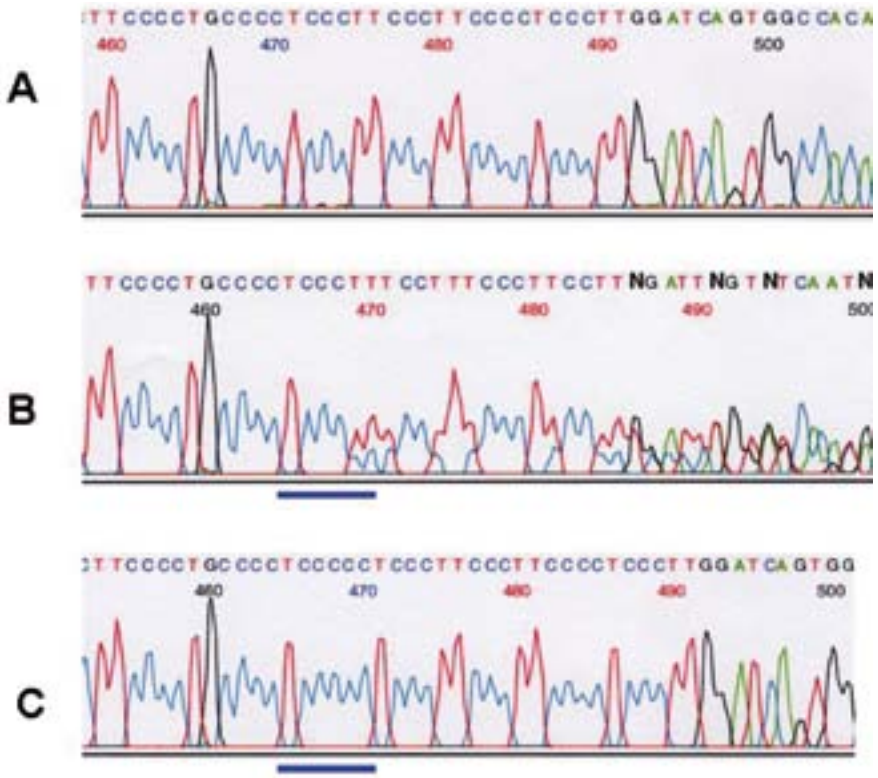


Figure 1 : séquençage du gène de l'endogline mettant en évidence dans l'intron 7 du gène une insertion de 6 bases nucléotidiques. L'insertion est absente dans le profil A, présente à l'état hétérozygote (1 seul brin d'ADN) dans le profil B et à l'état homozygote dans le profil C (2 brins d'ADN).

Conclusion et perspectives

Ce travail basé sur un grand nombre d'échantillons de malades et de témoins et sur une double approche génétique complémentaire (séquençage direct et étude de polymorphismes connus) n'a pas permis d'identifier de variations génétiques des gènes des récepteurs au TGF-beta comme étant associées à l'HTAP de la sclérodermie, ni à la maladie globalement. Ceci tend à écarter une composante génétique pour ces 4 gènes mais des travaux complémentaires seront nécessaires. Cela pourrait suggérer que l'HTAP de la sclérodermie repose sur des bases différentes de celles des HTAP idiopathiques, comme cela a déjà été suggéré par nos précédents travaux sur le gène KCNA5.

Fibrocytes alvéolaires dans la fibrose pulmonaire idiopathique et atteinte interstitielle pulmonaire de la sclérodermie systémique

R Borie, C Quesnel, S Phin, MP Debray, J Marchal-Somme, K Tiev, M Bonay, P Soler, M Dehoux, B Crestani, travaux conduits dans l'unité Inserm 700, Faculté Bichat, Paris.

Introduction

Les fibrocytes (figure 1) sont des précurseurs circulants des fibroblastes. Le rôle des fibrocytes dans la physiopathologie des maladies pulmonaires fibrosantes est débattu. Le nombre des fibrocytes sanguins est augmenté chez les patients atteints de Fibrose Pulmonaire idioapthique (FPI), et ces fibrocytes peuvent être détectés dans le tissu pulmonaire fibreux, mais on ne dispose d'aucune donnée concernant la détection des fibrocytes dans le lavage alvéolaire (LBA). L'objectif de ce travail était de déterminer si les fibrocytes sont présents dans l'espace alvéolaire au cours des fibroses pulmonaires, idioapthiques ou associées à la sclérodermie, si les fibrocytes possèdent une valeur pronostique dans ce contexte, et si la détection des fibrocytes est associée avec la capacité de cultiver des fibroblastes à partir du LBA.

Résultats

Nous avons détecté et quantifié les fibrocytes dans le LBA par FACS (cellules CD45+, Collagène1+) chez 26 patients atteints de FPI (3 exacerbations), 9 patients atteints de sclérodermie avec atteinte pulmonaire interstitielle (ScS), et 11 témoins. Les cellules du LBA étaient cultivées afin d'isoler des fibroblastes.

Nous avons détecté des fibrocytes chez 14/26 FPI (54%), 5/9 patients ScS, et jamais chez les témoins. Le compte de fibrocytes (médiane, écart) était de 2,5% [0,4-19,7] et 3,0% [2,7-3,7] des cellules du LBA, correspondant à 5240 fibrocytes/ml [370-29500] dans les FPI et 9700 fibrocytes/ml [4815-13650] dans la sclérodermie. Dans le groupe FPI, le nombre de fibrocytes était corrélé au nombre de cellules monucléées dans le LBA et inversement corrélé avec la sévérité de la fibrose appréciée par la PaO2, la DLCO, et le score de

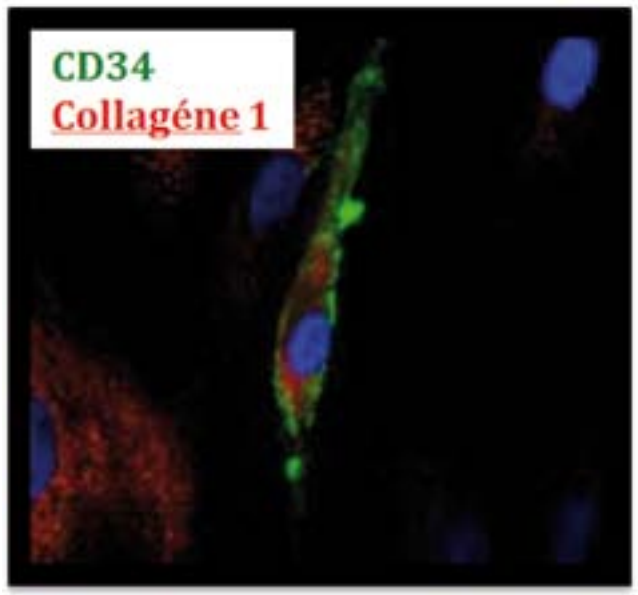


Figure 1
Un fibrocyte obtenu à partir de la culture d'un liquide de lavage alvéolaire. Cette cellule allongée, en forme de navette, est marquée en rouge par un anticorps anti-collagène 1 et en vert par un anti-corps anti-CD45. Le CD45 est un des marqueurs qui permettent d'identifier les cellules hématopoiétiques.
(Figure modifiée à partir de Quesnel C. et collaborateurs, Eur Respir J 2010; 35:1312-21)

fibrose sur le scanner thoracique, mais pas avec la survie. Les fibroblastes étaient cultivés à partir du LBA chez 12/26 patients FPI (46%), 5/9 patients atteints de sclérodermie (65%) jamais chez les témoins. Une culture positive de fibroblastes n'était pas associée avec la détection de fibrocytes dans le LBA , ni avec la sévérité de la fibrose.

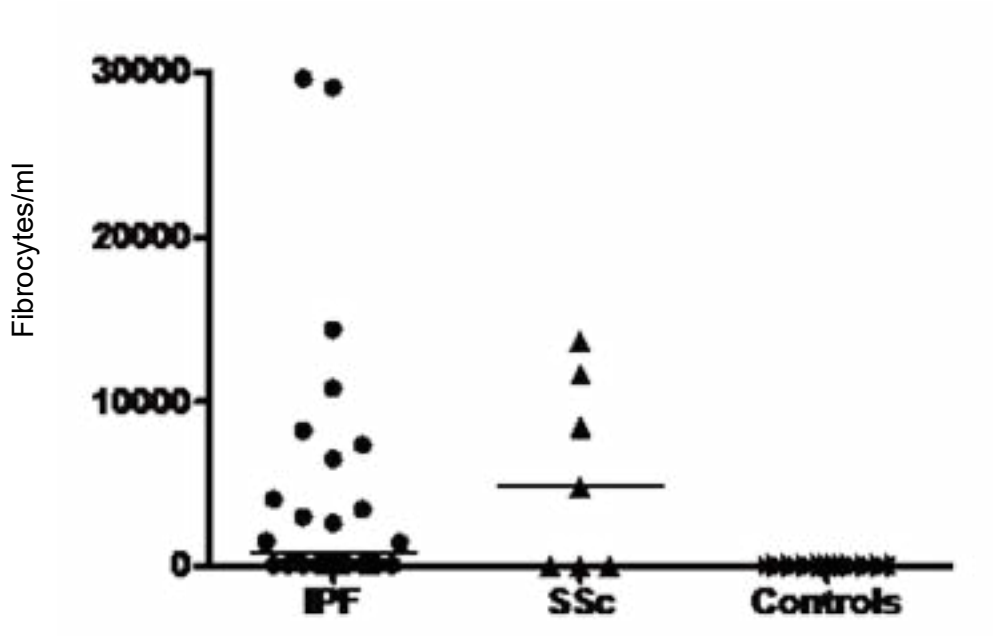


Figure 2
Nombre de Fibrocytes /ml de LBA chez les patients atteints de Fibrose pulmonaire idioapthique (IPF), de sclérodermie systémique avec atteinte pulmonaire (SSc) et chez des témoins (controls).

Conclusion et perspectives

Les fibrocytes peuvent être détectés dans le LBA chez 50% environ des patients présentant une fibrose pulmonaire idiopathique ou associée à la sclérodermie. Le nombre de fibrocytes est associé avec une fibrose moins sévère mais leur valeur pronostique est incertaine. La détection des fibrocytes n'est pas associée avec la capacité à cultiver des fibroblastes à partir du LBA.

Implication du gène STAT4 dans la physiopathologie de la sclérodermie systémique : apport des modèles animaux

J. Avouac[1], Y. Allanore[1], J. Distler[2]
(1) INSERM U1016, Université Paris Descartes, Rhumatologie A, Hôpital Cochin,
(2) Department for Internal Medicine 3 and Institute for Clinical Immunology, Friedrich-Alexander-University Erlangen-Nuremberg, Germany

Introduction

La sclérodermie systémique (ScS) est une maladie orpheline du groupe des connectivites touchant le réseau microvasculaire, le système immunitaire et le tissu conjonctif. Cette maladie est caractérisée par une morbi-mortalité élevée et peut conduire à un handicap majeur de par ses atteintes multiples. Jusqu'à présent, aucun médicament n'a prouvé son efficacité pour lutter contre le processus fibrotique systémique de cette maladie. La ScS n'est pas de transmission mendélienne, mais il est admis que des facteurs génétiques et environnementaux contribuent à son développement et à son expression clinique. Les approches génétiques par stratégies gène candidat mais aussi par approche pan génomique, ont notamment révélé le rôle potentiel de la voie de l'interféron de type 1 et mis en avant le facteur de transcription STAT4. L'objectif de ce travail était de démontrer le rôle clé de STAT4 à partir de modèles animaux de ScS et d'étudier la possibilité de contrecarrer ces processus.

Résultats

Le rôle de STAT4 a tout d'abord été étudié dans le modèle de souris exposé à la bléomycine qui est un modèle qui ressemble aux formes précoces et inflammatoires de sclérodermie (injections sous-cutanée répétées de cet agent). Des souris invalidées pour le gène STAT4 (stat4$^{-/-}$) ou leur équivalent portant ce gène (dites souris sauvages, ou « wildtype » stat4$^{+/+}$) ont reçu des injections sous-cutanées de bléomycine ou de sérum salé pendant 6 semaines. L'infiltrat inflammatoire leucocytaire dans la peau des souris stat4$^{-/-}$ et stat4$^{+/+}$ a été quantifié sur des coupes histologiques. Des marquages des sous-populations de cellules inflammatoires CD3, CD22 et CD68 ont été réalisés. Les concentrations en cytokines dans le sérum et dans des lysats de peau ont été mesurées. Ensuite, les effets de l'invalidation de STAT4 ont été étudiés dans un modèle plus tardif de fibrose dermique et moins inflammatoire qu'est la souris tight-skin (tsk-1).

Les souris stat4$^{-/-}$ étaient protégées contre la fibrose dermique induite par la blémycine avec une réduction de l'épaississement du derme de 65±3% (figure 1), du contenu en hydroxyproline qui reflète la teneur en collagène de 68±5% et du compte en myofibroblastes (cellules clés pour la production de collagène) de 71±6% (figure 2).

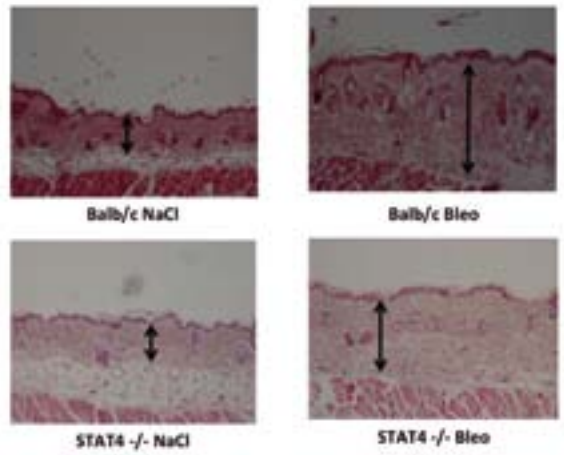


Figure 1 : Réduction de l'épaisseur dermique chez les souris invalidées pour stat4 et qui reçoivent des injections de bléomycine (le NaCl produit contrôle n'a pas d'effet, la bléomycine chez des souris témoins balb/c induit une nette augmentation de l'épaisseur du derme et les souris stat4 $^{-/-}$ sont partiellement protégées

L'infiltrat inflammatoire était aussi réduit, surtout le nombre de lymphocytes T : baisse du nombre de leucocytes de 62±4% et du nombre de lymphocytes T de 63±5% (à la fois CD4 et CD8). Par contre, le nombre de monocytes était similaire chez les souris stat4$^{-/-}$ et stat4$^{+/+}$. Les souris stat4$^{-/-}$ avaient une baisse dans le derme de la concentrations en cytokines : interleukine 6 baisse de 50±4%, TNFα de 71±5%, interferon-gamma de 58±3% et interleukine 2 de 63±4%. Les variations étaient similaires dans le sérum.

Par contre, l'invalidation de STAT4 n'a pas modifié l'expression de fibrose dermique qui caractérise les souris tsk-1 mice. De même, il n'existait pas de différence concernant l'épaisseur de l'hypoderme, ni le contenu en hydroxyproline, ni la présence de myofibroblastes entre les souris stat4$^{-/-}$/tsk-1 et stat4$^{+/+}$/tsk-1.

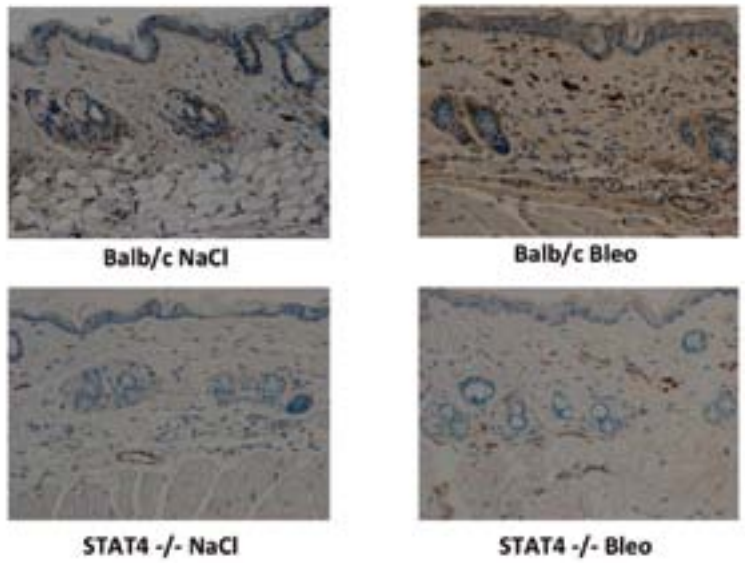


Figure 2 : Réduction du nombre de myofibroblastes chez les souris invalidées pour stat4 et qui reçoivent des injections de bléomycine (le NaCl produit contrôle n'a pas d'effet sur le nombre de cellules marquées – aspect brun chamois de cellules un peu allongées –, la bléomycine chez des souris témoins balb/c induit une nette augmentation du nombre des cellules marquées et les souris stat4$^{-/-}$ sont partiellement protégées

Conclusion et perspectives

Ce travail est le premier à conforter le rôle d'un gène identifié lors des approches génétiques. Des polymorphismes de STAT4 dont le rôle sur le gène n'était pas très clair ont ainsi été identifiés par différentes équipes de façon très reproductibles. Ce facteur transcriptionnel joue un rôle dans l'activation lymphocytaire. Les travaux chez ces souris démontrent qu'un blocage de cette voie limite fortement l'induction de fibrose via l'inflammation induite par la bléomycine. Par contre, il n'influence pas un modèle plus pur de fibrose (modèle tardif de la maladie). Ceci renforce le concept d'un lien entre inflammation et fibrose dans la sclérodermie systémique et les possibilités de limiter ce processus en cas d'intervention thérapeutique précoce.

Références :
1] Dieudé P, Guedj M, Wipff J, Ruiz B, Hachulla E, Diot E, Granel B, Sibilia J, Tiev K, Mouthon L, Cracowski JL, Carpentier PH, Amoura Z, Fajardy I, Avouac J, Meyer O, Kahan A, Boileau C, Allanore Y. STAT4 is a genetic risk factor for Systemic Sclerosis having additive effects with IRF5 on disease susceptibility and related pulmonary fibrosis. Arthritis Rheum 2009;60:2472-9.
2] Dieudé P, Wipff J, Guedj M, Ruiz B, Melchers I, Hachulla E, Riemekasten G, Diot E, Hunzelmann N, Sibilia J, Tiev K, Mouthon L, Cracowski JL, Carpentier PH, Distler J, Amoura Z, Tarner I, Avouac J, Meyer O, Kahan A, Boileau C, Allanore Y. BANK1 is a genetic risk factor for diffuse cutaneous Systemic Sclerosis having additive effects with IRF5 and STAT4. Arthritis Rheum 2009;60:3447-54
3] Avouac J, Fürnrohr BG, Tomcik M, Palumbo K, Zerr P, Horn A, Dees C, Akhmetshina A, Beyer C, Distler O, Schett G, Allanore Y, Distler JH. Inactivation of the transcription factor STAT-4 prevents inflammation-driven fibrosis in animal models of systemic sclerosis. Arthritis Rheum. 2011;63:800-9

Progéniteurs endothéliaux circulants

Jérôme Avouac et Yannick Allanore. Université Paris Descartes, Rhumatologie A et INSERM U1016, Hôpital Cochin, Paris.

Introduction

La sclérodermie systémique est marquée par des atteintes vasculaires prononcées. Ce sont les vaisseaux de petits calibres qui sont atteints avec souvent des insuffisances et déficits vasculaires qui conduisent à des atteintes sévères des tissus qui sont mal irrigués par le sang et provoquent par exemple les ulcères digitaux. En réponse à une agression vasculaire et des lésions de vaisseaux, l'angiogénèse est un processus complexe qui se définit comme la formation de nouveaux vaisseaux à partir de vaisseaux préexistants (figure 1). Cependant, il existe également une autre possibilité pour essayer de suppléer la défaillance vasculaire qui est dénommée la vasculogenèse. Elle se définit comme la formation *de novo* de vaisseaux sanguins par regroupement de cellules dérivés de la moelle osseuse (figure 1). Cependant, ces cellules sont difficiles à isoler et à quantifier, car elles sont relativement rares dans la circulation. Les objectifs de nos projets étaient d'une part, de travailler sur une définition permettant de quantifier ces cellules et d'autre part, d'arriver à les isoler pour les cultiver et étudier leurs voies de régulation.

Résultats

La définition exacte des cellules vasculaires endothéliales trouvées dans la circulation reste l'objet de débats et de discussions. Nous nous sommes focalisés sur un type de cellule paraissant vraiment avoir un potentiel de formation de vaisseaux et pouvant s'intégrer dans la maladie étudiée : les progéniteurs endothéliaux circulants à croissance tardive. Nous avons tout d'abord, comptabilisé dans le sang total de patients et de témoins des cellules ayant les caractéristiques de cellules vasculaires, immatures définies par des combinaisons de marqueurs de surface (molécules exprimées à la surface des cellules permettant de les identifier, notamment par marquage, avec des anticorps. La combinaison choisie a été les cellules Lin-/7AAD-/CD34+/CD133+/VEFR2 qui sont mesurées par cytométrie de flux dans les heures suivant la prise de sang. Nous avons ainsi montré que ces cellules sont augmentées globalement dans la sclérodermie systémique mais qu'en cas de complication vasculaire telles des ulcères, leur nombre diminue. Ceci suggère qu'en cas d'agression vasculaire, les cellules sont adressées sur le site de lésion et sont moins

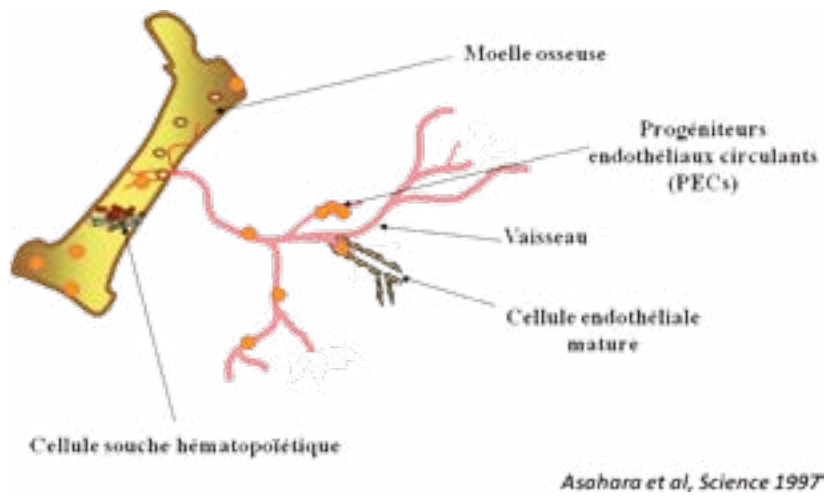


Figure 1 : Schématisation de l'angiogenèse (réparation du vaisseau à partir de cellules endothéliales locales) et de la vasculogénèse à partir des progéniteurs endothéliaux circulants (formation de néo-vaisseaux à partir de cellules mobilisée depuis la moelle osseuse)

détectables dans la circulation. Ces travaux nous ont permis de contribuer à des recommandations européennes sur ce sujet. De plus, nous avons ensuite, étudié la valeur de cette quantification non plus pour trouver les complications « associées » mais pour établir si cette valeur pouvait permettre de « prédire » le risque clinique vasculaire. Pour cela, nous avons suivi régulièrement une centaine de malades pendant 3 ans et étudié quelles variables de départ pouvait prédéfinir les groupes de malades qui allaient développer des ulcères digitaux. Il s'avère que d'avoir au départ, les paramètres d'une faible quantité de progéniteurs circulants donne un risque augmenté de 2,5 fois d'avoir des ulcères et un autre marqueur vasculaire est encore plus significatif avec un risque augmenté de 8 fois en cas d'augmentation de PlGF dans le sérum (placenta growth factor).

En parallèle, nous avons mis au point une technique pour isoler ces cellules, les cultiver et les placer dans des conditions de stress proches de la maladie comme l'exposition à un manque d'oxygène (hypoxie, figure 2). Ces cellules sont apparues fonctionnelles et possédant les propriétés attendues de cellules endothéliales par comparaison à des cellules de référence (HUVECS) ou des cellules de témoins sains. Par contre, nous avons observé en hypoxie une perturbation de régulation de la voie VEGF qui pourrait contribuer à une activation excessive. Ensuite, l'utilisation de puces permettant d'étudier l'ensemble des gènes exprimés par les cellules nous a permis de montrer que dans la sclérodermie systémique, ces cellules ont un profil inflammatoire, pro-adhésif et qu'un marqueur de différenciation (maturation) de cellules vasculaires semblait perturbé. Ceci nous a permis de définir ce qui est appelé une signature endothéliale de la maladie.

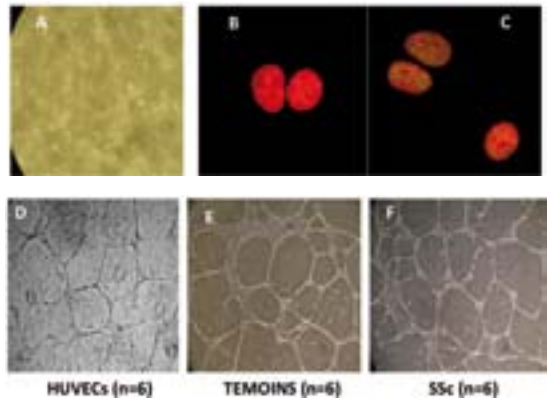


Figure 2 : Etude in vitro des cellules endothéliales dérivées des progéniteurs avec isolement de colonies (A), stress par l'hypoxie (A : sans hypoxie et B : translocation du facteur d'hypoxie qui apparait en vert dans les noyaux) puis formation de tubes capillaires par les cellules de référence (D : Huvecs) et de la même façon pour des cellules endothéliales issues de témoins sains et de malades sclérodermiques (F).

Conclusion et perspectives

Ces travaux nous ont permis de mieux cerner une population cellulaire vasculaire qui pourrait être impliquée dans les mécanismes de la maladie. Il reste à définir leur régulation dans la moelle osseuse (présence, maturation, mobilisation) et à confirmer leurs propriétés fonctionnelles (capacité à réellement former des néo-vaisseaux). En effet, dans ce cas des stratégies de stimulation ou d'utilisation comme « médicament » pourraient être envisagées. Ainsi, par exemple, les statines ou l'érythropoïétine pourraient augmenter leur passage dans la circulation, permettant des réparations vasculaires mais on pourrait aussi imaginer de les recueillir, les faire se multiplier et les ré-injecter proche de sites agressés (ulcères digitaux). Par ailleurs, l'identification de marqueurs du risque vasculaire peut laisser envisager de traiter plus précocement ou plus activement des malades étant considérés comme très à risque vasculaire.

Publications :
- Avouac J, Juin F, Wipff J, Couraud P, Chiocchia G, Kahan A, Boileau C, Uzan G, Allanore Y. Circulating endothelial progenitor cells in systemic sclerosis: association with disease severity. Ann Rheum Dis. 2008;67:808-14
- Wipff J, Avouac J, Borderie D, Zerkak D, Lemarechal H, Kahan A, Boileau C, Allanore Y. Disturbed angiogenesis in systemic sclerosis: high levels of soluble endoglin. Rheumatology (Oxford). 2008;47:972-5
- Avouac J, Wipff J, Goldman O, Ruiz B, Couraud PO, Chiocchia G, Kahan A, Boileau C, Uzan G, Allanore Y. Angiogenesis in systemic sclerosis: impaired expression of VEGFR1 in endothelial progenitor derived cells under hypoxic conditions. Arthritis Rheum 2008;58:3550-3561
- Avouac J, Clemessy M, Distler JH, Gasc JM, Ruiz B, Vacher-Lavenu MC, Wipff J, Kahan A, Boileau C, Corvol P, Allanore Y. Enhanced expression of ephrins and thrombospondins in the dermis of patients with early diffuse systemic sclerosis: potential contribution to perturbed angiogenesis and fibrosis. Rheumatology (Oxford). 2011;50:1494-504
- Distler J, Allanore Y, Avouac J, Giacomelli R, Guiducci S, Moritz F, Akhmetshina A, Walker U, Gabrielli A, Müller-Ladner U, Tyndall A, Matucci-Cerinic M, Distler O. EUSTAR statement and recommendations on endothelial precursor cells. Ann Rheum Dis. 2009;68:163-8
- Avouac J, Cagnard N, Distler JH, Schoindre Y, Ruiz B, Couraud PO, Uzan G, Boileau C, Chiocchia G, Allanore Y. Insights into the pathogenesis of systemic sclerosis based on gene expression profile of progenitor-derived endothelial cells. Arthritis Rheum. 2011;63:3552-62
- Avouac J, Meune C, Ruiz B, Couraud PO, Uzan G, Boileau C, Kahan A, Chiocchia G, Allanore Y. Angiogenic biomarkers predict the occurrence of digital ulcers in systemic sclerosis. Ann Rheum Dis. 2012;71:394-9

FRACTALKINE

Jean Cabane
Médecine Interne, Hôpital Saint Antoine, Université Paris 6, Paris

Introduction

Au sein des chemokines, famille de molécules de communication entre les cellules du corps, la fractalkine (FKN, aussi appelée CX3CL1) est un composé intéressant car impliqué dans les échanges entre plaquettes et globules blancs du système lymphatique (lymphocytes), cellules endothéliales et fibroblastes. On sait qu'elle intervient pour la création des plaques d'athérome en facilitant la survenue de macrophages spumeux dans la paroi artérielle lorsqu'il y a eu dépôt de cholestérol. De plus, on sait que le récepteur à la FKN est impliqué dans la cicatrisation cutanée en stimulant l'accumulation de macrophages et fibroblastes dans les plaies, et le recrutement de cellules monocytes/macrohages à partir de la moelle osseuse pour venir cicatriser la peau lésée en relargant sur place des médiateurs profibrotiques et angiogéniques.

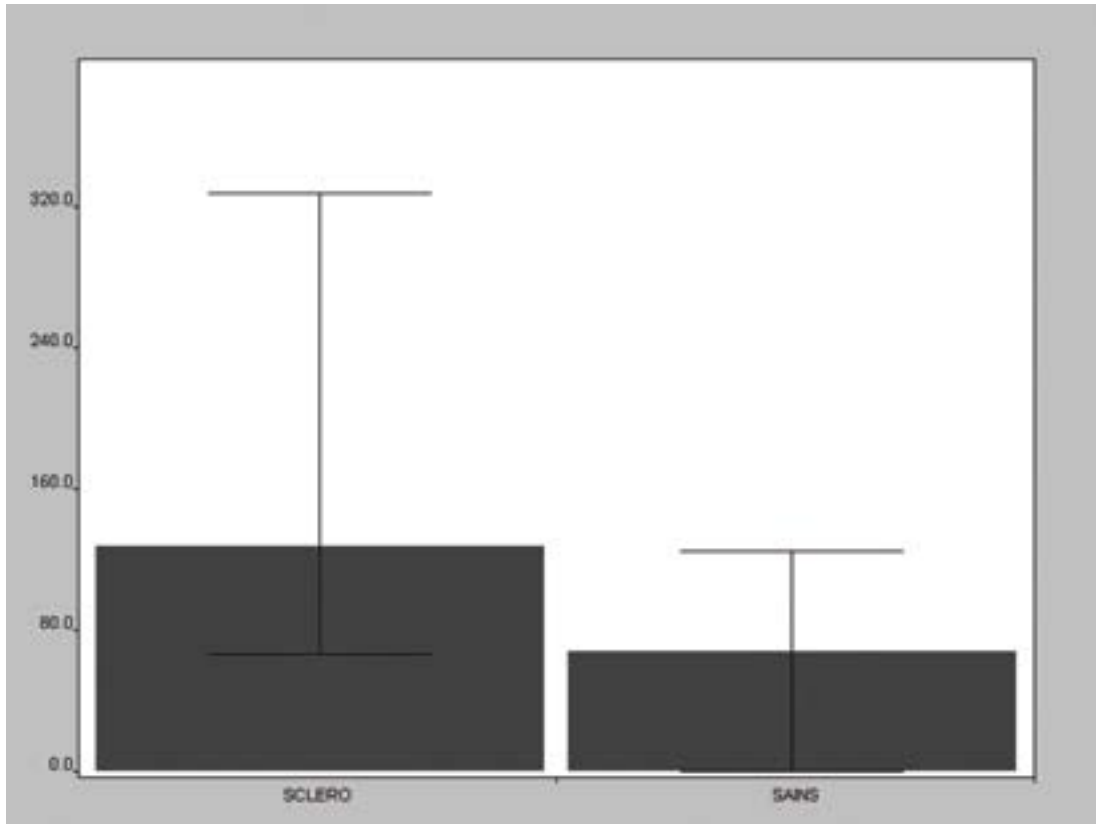
On a démontré que la FKN joue un rôle profibrotique dans la cirrhose du foie en produisant notamment du TIMP-1, un inhibiteur de protéase qui facilite la sclérose du foie. La FKN joue aussi un rôle dans l'inflammation et le récepteur à la FKN est fortement exprimé dans l'intestin et les macrophages ainsi que les cellules dendritiques qui sont les « starters » de la réaction immune dans tout le corps mais notamment dans la peau. La FKN participe aussi aux mécanismes d'angiogénèse (la construction de nouveaux vaisseaux sanguins) et aux réactions du corps après une interruption du flux sanguin suivie d'une reprise de celui-ci (l'ischémie-reperfusion). Enfin la FKN a été suspectée comme faisant partie des molécules concourant à l'hypertension artérielle pulmonaire.

Il était donc d'un grand intérêt de tester si les taux sanguins de FKN étaient anormaux dans la sclérodermie systémique, en particulier compte tenu de son potentiel thérapeutique, notamment dans l'ischémie critique et dans la modulation de la douleur.

Résultats

Une étude pilote a été lancée avec la collaboration de feu le Professeur Dominique EMILIE (Institut Paris-Sud des Cytokines, laboratoire d'immunologie, hôpital Antoine Béclère, Clamart). Trente-quatre patients souffrant de sclérodermie systémique à différents stades de la maladie et trente-deux témoins de même âge et sexe ont donné du sang pour le dosage de la FKN par ELISA. Les prélèvements ont été centrifugés et congelés puis transportés à Clamart pour dosage. L'étude prévue des récepteurs de la FKN sur les leucocytes n'a pas pu être réalisée. Le travail a été fini en 2003.

Des taux incroyablement élevés ont été trouvés chez certains sclérodermiques, notamment ceux ayant une forme diffuse à la phase initiale très active de la maladie. Mais des taux faibles voire nuls ont aussi été enregistrés, démontrant que même si la molécule est intéressante, notre compréhension de la maladie est encore imparfaite et nous ne comprenons pas pourquoi certains malades sont en progression plus que d'autres. De plus, la FKN est une molécule de relation locale entre cellules (ce qu'on appelle un autacoïde) et pas une hormone qui circule dans le sang pour aller donner des informations à tout le corps. Donc le bon endroit pour son dosage serait au voisinage ou dans les lésions mêmes de sclérodermie plutôt que dans une prise de sang veineux standard au pli du coude.



Comparaison des concentrations dans le sérum de fractalkine entre les 2 groupes étudiés

Conclusion et perspectives

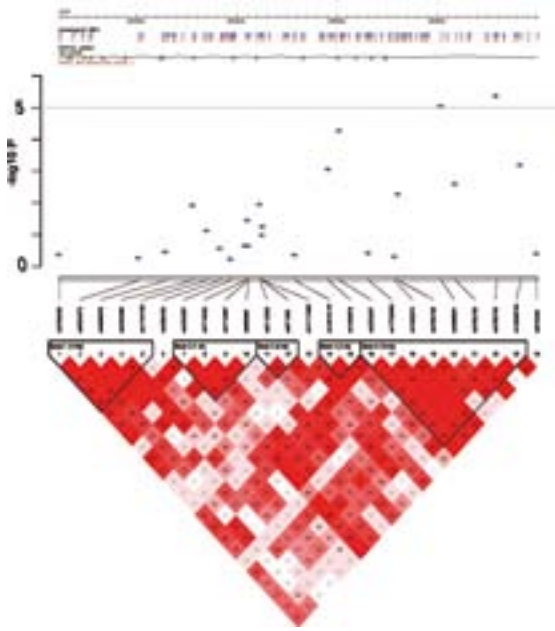
Cette étude préliminaire a confirmé que la FKN est une molécule intéressante au sein de la grande famille des chemokines. Mais une dispersion trop grande des résultats en a limité la portée et à la même époque, l'attention s'est reportée sur une autre molécule d'intérêt qui offrait plus de chances – en particulier, l'hypertension artérielle pulmonaire – de déboucher sur des traitements, l'endothéline (on sait le succès qu'a obtenu le bosentan). L'ASF peut être fière d'avoir soutenu cette étude novatrice qui pourrait être le point de départ ultérieur de nouvelles recherches, surtout si des traitements influençant la voie de la FKN apparaissent sur le marché.

Etude génome entier : identification de 3 nouveaux locus de susceptibilité

Yannick Allanore pour le consortium GENESYS
Université Paris Descartes, Rhumatologie A et INSERM U1016,
Hôpital Cochin, Paris.

Introduction

Différents arguments sont en faveur d'une composante génétique à la sclérodermie systémique (ScS). Tout d'abord, la fréquence de la maladie est augmentée au sein des familles ayant un individu atteint. Ensuite, les rares cas de jumeaux ont montré une concordance forte pour les jumeaux monozygotes pour certains paramètres surtout immunologiques dont la présence d'anticorps anti-noyaux. Ces résultats suggèrent que la prédisposition génétique seule ne suffit pas pour développer la ScS mais qu'une susceptibilité pourrait faire intervenir notamment le profil d'auto-anticorps. Une susceptibilité à l'auto-immunité plus globale est également illustrée par l'existence au sein des familles avec un cas de ScS, d'autres membres pouvant avoir des maladies proches telles les thyroïdites, le lupus ou le syndrome de Gougerot Sjogren. La susceptibilité génétique dans la ScS répond à la définition des maladies dites génétiques complexes, c'est-à-dire basées sur une combinaison de polymorphismes de nombreux gènes et des interactions avec des agents extérieurs (environnement). Les variations génétiques, chacune prise isolément, ont ainsi, peu de conséquences mais c'est une combinatoire qui va favoriser la maladie et ses différentes formes. Ces polymorphismes, ou variants, sont une variation de la séquence de l'ADN qui peut exister dans la population générale mais qui pourra être anormalement distribuée chez les malades (fréquence augmentée voire parfois diminuée). Grâce aux travaux réalisés initialement dans d'autres maladies auto-immunes et à la contribution de gènes participant à plusieurs maladies auto-immunes, le puzzle de ces anomalies génétiques commence à se résoudre. Les progrès dans la connaissance de la composition du génome et les outils pour l'étudier ont ainsi permis des analyses de plus en plus fines. Une des étapes clés a été la possibilité d'utiliser des puces à ADN permettant de détecter en même temps, pour un même échantillon d'ADN, des milliers de marqueurs génétiques reflétant ces polymorphismes distribués sur l'ensemble du génome dans de grandes cohortes de malades et de témoins. Cette approche s'appelle une approche génome entier et a le grand avantage de ne pas être biaisée par le choix a priori d'une région ou d'un gène spécifique à étudier mais de couvrir tout le génome.



La figure 1 montre la carte génétique de la région du gène TNIP1 avec en rouge les blocs de polymorphismes (ils sont transmis en bloc et non pas isolément), en bleu ces polymorphismes avec une échelle de puissance d'association (qui augmente en ordonnée) et en haut la séquence du gène TNIP1.

Résultats

Nous avons réalisé, dans le cadre d'une subvention de l'Agence Nationale pour la Recherche, une étude génome-entier qui a porté sur 564 cas de malades avec ScS et 1776 contrôles, tous français caucasiens, chez lesquels environ 500 000 marqueurs répartis sur tout le génome ont été testés. Les marqueurs les plus fortement associés à la maladie étaient ensuite testés individuellement dans une 2e série de 1682 cas de ScS (venant de toute l'Europe) et 3926 individus contrôles. C'est ce que l'on appelle une réplication, qui est indispensable pour valider une association génétique.

Les principaux résultats montrent une association avec la région HLA qui est associée à toutes les maladies auto-immunes. Par contre, ce travail a identifié un polymorphisme du gène PSORS1C1 qui est connu pour contribuer au lupus et au psoriasis, un polymorphisme du gène RHOB (qui est impliqué dans la survie cellulaire) et enfin plusieurs polymorphismes du gène TNIP1 (figure 1). Le gène TNIP est connu pour être associé à d'autres maladies auto-immunes dont le lupus et il a un rôle important pour contrôler un facteur inflammatoire dénommé NFkB. Quand TNIP1 est présent, il doit bloquer en partie NFkB pour tenter de limiter le processus inflammatoire. Etant donné nos résultats génétiques pointant ce gène, nous avons étudié son expression à partir de tissu de peau de patients et de contrôles et aussi à partir de culture de cellules de malades et de témoins. Nos résultats convergent pour montrer un défaut d'expression de ce gène et de la protéine qui en découle dans la ScS (Figure 2). De plus, afin de savoir si ces variations pouvaient affecter la synthèse de collagène qui est un des éléments clés de la maladie nous avons pu montrer que dans des puits de culture sa présence ou son absence modulaient la synthèse de collagène par les fibroblastes.

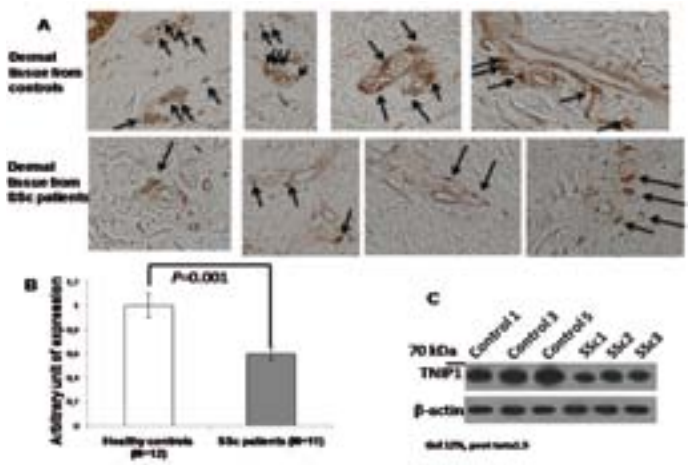


Figure 2 : Un marquage (aspect brun chamois) de la peau montre que dans le derme, TNIP1 est plus exprimé chez les contrôles que chez les malades avec ScS (flèches noires) (A) et que la production du gène (B) et de la protéine (C) sont également diminuées dans la ScS lorsqu'on étudie des fibroblastes en cultures.

Conclusion et perspectives

Ces résultats ont identifié 3 nouveaux gènes associés à la maladie à partir d'une grande étude génétique européenne. Un des gènes a été étudié plus en détail et semble pouvoir avoir un rôle spécifique dans la maladie faisant le lien entre des voies inflammatoires et de fibrose. Par ailleurs, ce travail a aussi confirmé d'autres gènes précédemment identifié ou les résultats d'une autre approche génome entier issue d'une collaboration américano-européenne. Ces travaux de génétiques permettent de positionner certains gènes ou certaines voies biologiques dans la problématique de la maladie mais il faudra maintenant des travaux complémentaires pour étudier les effets de leur modulation notamment à l'aide de modèles animaux. Par ailleurs, les avancées technologiques vont maintenant rendre possible l'étude non plus simplement de marqueurs génétiques répartis sur le génome mais l'étude base par base de génome entier permettant une analyse en profondeur des variations génétiques associées aux maladies.

Publication :
Allanore Y, Saad M, Dieudé P, Avouac J, Distler JH, Amouyel P, Matucci-Cerinic M, Riemekasten G, Airo P, Melchers I, Hachulla E, Cusi D, Wichmann HE, Wipff J, Lambert JC, Hunzelmann N, Tiev K, Caramaschi P, Diot E, Kowal-Bielecka O, Valentini G, Mouthon L, Czirják L, Damjanov N, Salvi E, Conti C, Müller M, Müller-Ladner U, Riccieri V, Ruiz B, Cracowski JL, Letenneur L, Dupuy AM, Meyer O, Kahan A, Munnich A, Boileau C, Martinez M. Genome-wide scan identifies TNIP1, PSORS1C1, and RHOB as novel risk loci for systemic sclerosis. PLoS Genet. 2011;7:e1002091.

Implication de la fibrilline-1 et bases génétiques

Julien Wipff, Catherine Boileau, Yannick Allanore,
Université Paris Descartes,
Service de Rhumatologie A, Hôpital Cochin, 75014 Paris.

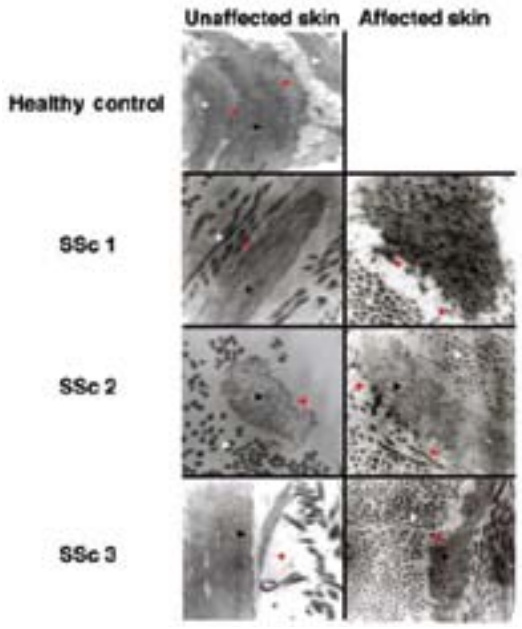
Introduction

La sclérodermie systémique (ScS) appartient au groupe des connectivites. La ScS est une affection généralisée du tissu conjonctif qui se caractérise par un dépôt excessif de composants de la matrice extracellulaire contribuant à la sclérose des organes et des microvaisseaux. L'association d'un fond génétique et d'un ou des évènements secondaires environnementaux induisent des perturbations aboutissant à des anomalies des vaisseaux, une dysimmunité et l'établissement d'une fibrose. Le fibroblaste est la principale cellule impliquée dans cette production excessive de MEC. Au cours de la ScS, les fibroblastes ont un phénotype a priori normal mais semblent activés. Cette activation pourrait passer par plusieurs médiateurs différents dont le TGFbeta aboutissant à une activation de la transcription des gènes de la matrice.
Des données récentes montrent que des anomalies de la Fibrilline-1 (FBN-1) et du TGFbeta peuvent aboutir à une production anormale qualitativement ou quantitativement de matrice extracellulaire. Ces anomalies peuvent s'inclure dans un groupe de maladies partageant une dysrégulation, primitive ou non, de l'activation du TGFbeta avec comme modulateur le réseau microfibrillaire et la FBN-1 : ce nouveau concept est appelé « signalopathies TGFbeta ». La sclérodermie systémique est une maladie multifactorielle fibrosante dans laquelle un rôle du TGFbeta et de la FBN-1 a été évoqué faisant de cette maladie un candidat de « signalopathie TGFbeta ».
L'étude de la FBN-1 a reposé sur une approche moléculaire puis cellulaire et/ou biochimique.

Figure 1 : images de microscopie électronique de la matrice extracellulaires issus de biopsies de témoins sains et de patients avec sclérodermie faites soit sur une zone de peau indurée ou non. Le réseau microfibrillaire (flèches rouges) sous-tend les fibres élastiques (flèches noires) à distance des fibres de collagène (flèche blanche).

Résultats

Une étude cas-témoins du gène FBN1 à partir d'une cohorte de patients ScS caucasiens européens n'a pas montré d'association.
Au total, 362 patients ScS et 162 témoins caucasiens français ont été inclus dans cette première étude. Une cohorte de réplication, comprenant 266 patients et 153 témoins tous d'origine caucasienne européenne, a été utilisée par collaboration avec trois équipes italiennes (Dr Airo à Brescia, Dr Matucci-Cerinic à Florence et Dr Caramaschi à Vérone). Chaque cohorte a été dans un premier temps génotypée pour 5 microsatellites et un SNP puis dans un deuxième temps pour 5 SNPs couvrant au maximum l'ensemble de l'information génétique du gène FBN1 selon les données d'Hapmap. Les résultats ont tenu compte du nombre de tests effectués avec une correction par la méthode de Bonferroni. Aucune association entre un allèle d'un des polymorphismes étudiés et la ScS n'a



pu être mise en évidence, que ce soit dans la cohorte française ou italienne.
Par ailleurs, le réseau microfibrillaire dermique des patients ScS a été étudié et notamment l'expression dermique et la production de FBN-1 par les fibroblastes à partir de biopsies de peau de patients avec ScS. Une analyse de ce réseau a été effectuée par microscopie électronique chez 5 patients ScS et 2 contrôles. Dans un deuxième temps, les fibroblastes issus de ces biopsies ont été mis en culture : le réseau microfibrillaire a été étudié par immunofluorescence et la production de FBN-1 par Western Blot et PCR en temps réel sans et avec stimulation par TGFbeta.

Les résultats de notre étude montrent :
1) une diminution in vivo de la présence de réseau microfibrillaire au contact des fibres élastiques dans le derme cliniquement atteint ou non des patients ScS comparés aux témoins sains

2) une absence de différence de synthèse ou de sécrétion de FBN-1 in vitro par les fibroblastes sans ou avec activation par le TGFbeta.
De futures études fonctionnelles sont nécessaires afin de confirmer l'intérêt physiopathologique, pronostique ou thérapeutique de ces voies biologiques.

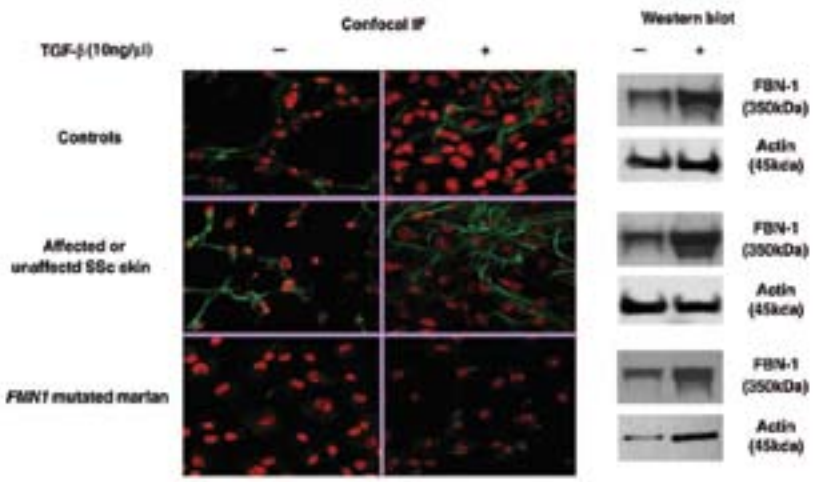


Figure 2 : a) images en microscopie confocal à fluorescence de la matrice extracellulaire après cultures in vitro de fibroblastes issus de biopsies de témoins sains, de patients avec sclérodermie ou patients Marfan. Les fibroblastes ont été activés ou non par du TGF beta.
b) images de Western Blot montrant la quantité de protéine Fibrilline-1 après cultures de fibroblastes activées ou non par le TGF-beta avec comme protéine témoin (non influençable par le TGFbeta), l'actine.

Conclusion et perspectives

Au total, nous n'avons pas mis en évidence d'anomalies moléculaires du gène FBN1, ni de différences d'expression protéique in vitro de FBN-1 par des fibroblastes ScS comparées aux témoins sains expliquant la diminution in vivo du réseau microfibrillaire constatée au cours de la ScS à partir de biopsies cutanées. Celle-ci est présente dans la peau saine et lésée, ce qui suggère une régulation post-traductionnelle anormale, soit par un défaut primitif de FBN-1, soit secondaire à une anomalie inhérente à la ScS d'un facteur impliqué dans la régulation de FBN-1 et/ou des microfibrilles comme les enzymes protéolytiques de type MMP.

Publications scientifiques issues de ce travail :
- Wipff J, Giraud M, Sibilia J, Mouthon L, Meyer O, Tiev K, Airo P, Caramaschi P, Guiducci S, Garchon HJ, Matucci-Cerinic M, Kahan A, Avouac J, Boileau C, Allanore Y. Polymorphic markers of the fibrillin-1 gene and systemic sclerosis in European Caucasian patients. J Rheumatol. 2008;35:643-9.
Le deuxième travail a fait l'objet :
- Wipff J, Allanore Y, Boileau C. FBN-1/TGF-beta relationships and fibrillopathies. Med Sci. 2009;25:161-7.
- Wipff J, Avouac J, Le Charpentier, Varret M, Houtteman A, Ruiz B, Vacher Lavenue, Kahan A, Boileau C, Allanore Y. Dermal tissular and cellular expression of fibrillin-1 in diffuse cutaneous systemic sclerosis. Rheumatology 2010;49:657-61

HLA, microchimérisme et chromosome X

Nathalie C. Lambert, Justyna M. Rak, Doua F. Azzouz, Sami B. Kanaan
INSERM UMR639, Marseille

Introduction

Les maladies auto-immunes touchent, en général, plus souvent, les femmes que les hommes et leur progression peut également varier selon le sexe. Cette différence s'explique de diverses manières : par l'influence des hormones, l'environnement, l'exposition professionnelle, mais pas seulement.
L'objectif de nos recherches est d'étudier et de comprendre les raisons d'une telle différence, dans la sclérodermie systémique (ScS). Nous avons orienté nos travaux sur l'influence des gènes des antigènes leucocytaires humains (HLA), le rôle du microchimérisme (Mc), et enfin celui du chromosome X et de certains de ses gènes.
Les gènes HLA codent pour des protéines impliquées dans la reconnaissance du soi et du non soi, d'où leur importance dans le cadre des maladies qui se défendent contre soi (maladies auto-immunes). On retrouve fréquemment chez les patients, et ce en comparaison aux sujets sains, un même motif de séquence sur certains allèles HLA, dits allèles de susceptibilité à la maladie. Ce motif de séquence est situé dans la « poche à peptides », lieu de présentation des peptides au récepteur des cellules T, cellules de l'immunité (Figure 1).
Le microchimérisme (Mc) se définit par la présence en faible quantité (micro) de cellules génétiquement différentes chez un individu. Il peut s'acquérir de façon naturelle via la grossesse. En effet, pendant la grossesse, le placenta n'est pas totalement hermétique et les cellules de la mère et du fœtus traversent la paroi placentaire. Mais plus étonnant encore, ces cellules persistent plusieurs décennies après l'accouchement créant ainsi un Mc fœtal chez la mère et un Mc maternel chez l'enfant puis l'adulte.
Il y a maintenant plus de dix ans que les premières études sur le Mc et sa possible implication dans la ScS ont commencé. Une étude pionnière a montré que les femmes atteintes de ScS sont plus souvent positives pour le Mc fœtal comparées aux contrôles (fréquence) et que les quantités dans le sang total périphérique sont plus élevées que chez les sujets sains.

Toutefois, d'autres groupes de recherche n'ont montré que des différences marginales voire aucune différence entre patients et contrôles. Les divergences, souvent dues aux méthodes utilisées, aux groupes ethniques analysés, ont progressivement divisé les avis quant au rôle du Mc dans la ScS ou d'autres maladies auto-immunes.
Le chromosome X est un chromosome sur lequel beaucoup de gènes de l'immunité sont présents. Les femmes ont deux de ces chromosomes alors que les hommes en ont un seul et un chromosome Y. Il a été récemment mis en évidence chez les souris atteintes de lupus (autre maladie auto-immune), que les mâles qui avaient la forme la plus sévère de lupus avaient une translocation de gènes du chromosome X sur le chromosome Y. Parmi ces gènes, un en particulier favorise cette aggravation de la maladie : le Toll Like Receptor 7 (TLR7). Une telle translocation génétique est possible chez les rares hommes atteints de ScS. Nous pouvons la tester en calculant le nombre de copies des gènes TLR7 et TLR8 (voisins sur le chromosome X). En effet les hommes qui auraient cette translocation auraient deux copies de TLR7 et/ou TLR8 (une sur le X, une sur le Y).

Résultats

Etude des gènes HLA
Pour la première fois dans une cohorte française de patients ScS, nous avons décrit les associations HLA sur un total de 282 patientes ScS et 468 sujets en bonne santé. Les allèles associés à la ScS ont un motif commun FLEDR entre les acides aminés 67 et 71 de ces allèles (figure 1). La présence de ce motif est essentiellement liée à celle des auto-anticorps anti-topoisomérase, mais n'est pas exclusive. Une étude de plus grande ampleur pourrait permettre de distinguer les génotypes HLA à risque et aider au diagnostic de la maladie. De plus, la connaissance exacte des motifs de prédisposition pourrait permettre des interactions thérapeutiques pour bloquer

la présentation des peptides dans la poche à peptides comme cela a été récemment montré dans le diabète. Ces associations alléliques n'excluent pas la présence d'un autre gène important sur l'haplotype HLA concerné.

Etude du microchimérisme

Nous avons montré que les femmes ayant une sclérodermie maintenaient le Mc dans des compartiments sanguins différents selon que leur ScS est cutanée limitée ou diffuse (publié dans Rheumatology, 2009). En effet, les femmes atteintes de ScS limitée ont plus souvent du Mc dans le sang total mais pas dans le compartiment des cellules mononucléées (lymphocytes, monocytes). Les cellules concernées dans le sang total hors cellules mononucléées seraient, d'après nos premières observations, les granulocytes. Le contraire était observé pour les femmes atteintes de ScS diffuse (figure 2). Ces résultats suggèrent un mécanisme différent selon le type de ScS et expliquent les résultats divergents concernant le Mc dans différentes études en fonction des patients étudiés et des types cellulaires analysés.

La capacité des cellules microchimériques à devenir des lymphocytes, des granulocytes ou autres types cellulaires suggère qu'elles sont au départ des cellules souches capables de se différencier en différents types cellulaires.

Ces cellules pourraient dans certains cas se transformer en cellules fonctionnelles quand un organe est endommagé ou au contraire être la cible de cellules immunes de l'hôte et enclencher une réaction immunitaire. Les deux possibilités ne sont pas forcément exclusives et on peut aisément imaginer que, selon certains facteurs de risque, ces cellules soient néfastes, neutres ou bénéfiques. Quel que soit leur rôle, la présence commune chez l'individu sain suggère que de simples thérapies visant à les éliminer ne sont pas nécessairement appropriées. C'est la compréhension de leur fonction et celle des éléments qui favorisent leur présence et leur persistance qui permettra d'éventuelles thérapies.

Figure 1- Représentation du motif FLEDR de susceptibilité à la ScS dans son contexte.
Le motif FLEDR présent sur les molécules HLA va influencer le type de peptide qui se fixe dans la poche à peptide et qui est présenté aux cellules T.

Etude du chromosome X

Contrairement à notre hypothèse, les hommes ScS n'ont pas un nombre plus élevé de copies de TLR7 ou 8. Par contre, les hommes atteints de polyarthrite rhumatoïde, testés en parallèle dans l'étude, ont un nombre plus élevé de copies de TLR8 dans leurs PBMC comparés aux sujets mâles contrôles.

Bien que les résultats soient négatifs dans la ScS, ils apportent certaines clefs dans la polyarthrite. Cette étude est intéressante car des stratégies de traitement à base d'antagonistes de TLR, déjà commencées dans l'auto-immunité, prendraient tous leur sens dans la polyarthrite.

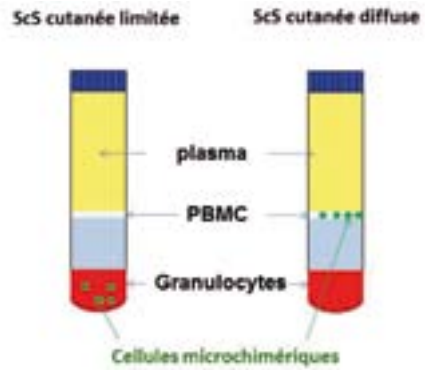


Figure 2- Représentation du Mc dans les échantillons sanguins des femmes atteintes de ScS cutanée limitée ou diffuse. Les cellules microchimériques sont maintenues dans des compartiments différents selon le type de ScS.

Conclusion et perspectives

Bien que les différences hormonales ou les différences immunitaires entre les deux sexes soient des éléments importants pouvant expliquer en partie la prédisposition des femmes aux maladies auto-immunes, d'autres mécanismes sont également relevants comme nous l'avons montré. Au travers de nos études, nous espérons mieux comprendre le fossé entre hommes et femmes et pensons que cela donnera lieu à la découverte de nouvelles thérapies.

Dosage des cytokines BAFF et APRIL

Emmanuel Chatelus, Jacques-Eric Gottenberg, Jean Sibilia.
Service de Rhumatologie, Centre National de référence Maladies auto-immunes systémiques rares, CHU de Hautepierre, Strasbourg

Introduction

Le lymphocyte B a un rôle important dans la physiopathologie des maladies auto-immunes telles que polyarthrite rhumatoïde, le syndrome de Gougerot-Sjögren et le lupus érythémateux systémique. Les taux sériques de 2 cytokines jouant un rôle essentiel dans le développement et la survie des lymphocytes B, BAFF (B-cell-activating factor belonging to the TNF family) et APRIL (a proliferation-inducing ligand) sont augmentés dans ces maladies. La physiopathologie de la sclérodermie systémique (ScS) est complexe et imparfaitement connue, mais le lymphocyte B pourrait également y jouer un rôle important.

Résultats

L'objectif était de déterminer les taux sériques de BAFF et d'APRIL chez les patients atteints de ScS,de rechercher une corrélation entre BAFF et APRIL et d'identifier les différentes caractéristiques cliniques et immunologiques de la maladie. 150 patients atteints de ScS (126 femmes, 24 hommes, ScS cutanée limitée 56%, ScS cutanée diffuse 44%) avec un âge médian de 55 ans et une durée moyenne de la maladie de 9 ans ont été consécutivement inclus dans 2 services de Rhumatologie français (CHU de Strasbourg et de Paris Cochin, Rhumatologie A). Les taux sériques de BAFF et d'APRIL ont été déterminés par méthode ELISA chez les 150 patients atteints de ScS et chez 80 sujets sains.

Les taux sériques de BAFF et d'APRIL étaient significativement augmentés chez les patients atteints de ScS par rapport aux sujets sains. Les taux sériques de BAFF et d'APRIL étaient augmentés à la fois chez les patients atteints de ScS cutanée limitée et de ScS cutanée diffuse (figures 1A et 1B).

Les patients ayant des taux sériques de BAFF élevés, avaient une incidence plus élevée d'atteinte interstitielle pulmonaire que les patients ayant un taux normal de BAFF (63% vs 37% ;

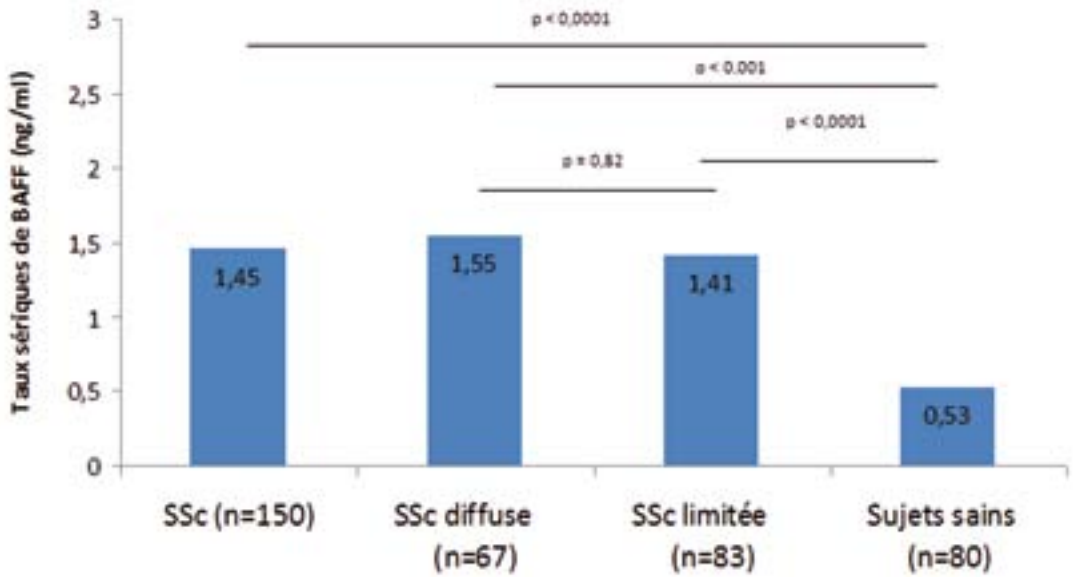


Figure 1A: Taux sériques de BAFF chez les patients sclérodermiques et chez les sujets sains

p< 0.005). Les taux de BAFF étaient corrélés aux marqueurs d'activation lymphocytaire B suivants : taux d'IgG, de béta2-microglobuline et de chaînes légères d'immunoglobulines kappa et lambda. Aucune autre corrélation n'a été mise en évidence entre les taux sériques de BAFF et d'APRIL et les autres caractéristiques de la maladie. Seulement 11 % des patients atteints de ScS avaient une augmentation concomitante des taux sériques de BAFF et d'APRIL.

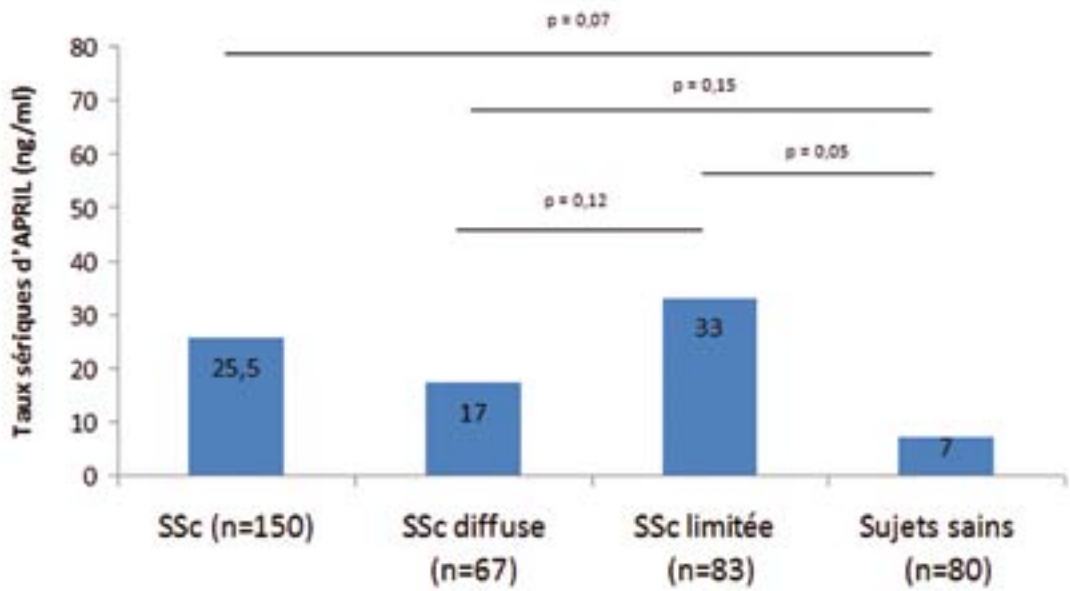


Figure 1B: Taux sériques d'APRIL chez les patients sclérodermiques et chez les sujets sains

Conclusion et perspectives

Les taux sériques de BAFF et d'APRIL sont significativement augmentés chez les patients atteints de ScS. Des traitements ciblant les cytokines BAFF et APRIL sont actuellement en cours de développement dans les maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux systémique ou la polyarthrite rhumatoïde. L'inhibition de BAFF et APRIL pourrait également être une nouvelle cible thérapeutique dans la ScS.

La publication scientifique issue de ce travail :
E. Chatelus, C. Sordet, G. Alsaleh, J. Avouac, Y. Allanore, J. Morel, J-E. Gottenberg, J. Sibilia. Serum APRIL and BAFF levels are increased and associated with distinct clinical and immunological manifestations of systemic sclerosis : rédaction de l'article en cours

Effet du TGF-β sur les lymphocytes T de patients atteints de Sclérodermie systémique : comment GATA-3 est-il impliqué dans la régulation de l'IL-13 par le TGF-β ?

Laurence Michel, Julie Barault, Hôpital Saint-Louis

Introduction

Aspects cliniques

La ScS progressive est une affection hétérogène caractérisée par des dépôts excessifs de collagène fibrillaire, en particulier de collagène de type I, dans la peau et les différents organes. Son étiopathogénie exacte reste méconnue, mais de nombreux arguments plaident pour un mécanisme auto-immun initial, avec infiltration de lymphocytes T activés de phénotype variable selon l'organe atteint, synthèse d'auto-anticorps spécifiques par les lymphocytes B et libération de cytokines, chimiokines et facteurs de croissance localement ; des caractéristiques qui témoignent de l'activation très précoce de la réponse immune. Cette activation trouverait son origine dans une prédisposition génétique, probablement multigénique, associée à un stimulus environnemental. Trois types d'événements presque simultanés résultent alors de la mise en jeu de la réponse auto-immune cytolytique, à prédominance T, associée à la libération de cytokines : - des lésions vasculaires endothéliales avec atteinte diffuse de la microcirculation, - une activation fibroblastique, - la production excessive de collagène, responsables de la fibrose progressive de la peau et des organes profonds. De surcroît, le collagène de type I et IV, tout comme les fibroblastes eux-mêmes, activent aussi directement la réponse immune.

Aspects moléculaires TGF-β, IL-13 et fibrose

Sur le plan mécanistique, la fibrose tissulaire, localisée ou diffuse, observée chez les patients atteints de ScS résulte d'un déséquilibre des phénomènes impliqués dans les processus de réparation tissulaire normale, avec une activation chronique des fibroblastes, conduisant à une prolifération cellulaire excessive et à une accumulation incontrôlée de collagène fibrillaire. Ces processus sont associés à une production locale élevée de facteurs de croissance comme le transforming growth factor-beta (TGF-β), dont l'action continue sur les cellules conjonctives est synonyme d'accumulation progressive de matrice extracellulaire, qui conduit au développement d'une fibrose.

L'IL-13 est une cytokine sécrétée principalement par les lymphocytes T helper de type 2 (Th2). Cette cytokine et son récepteur (IL-13R) ont été associés à certaines fibroses, comme la fibrose péribronchique de l'asthme, la fibrose hépatique de l'infection bilharzienne expérimentale et la fibrose pulmonaire. Expérimentalement, l'IL-13 induit in vitro la sécrétion du collagène de type I par les fibroblastes dermiques par activation directe du promoteur du gène du collagène de type I. En effet, la région promotrice de COL1A2 contient un site de liaison à STAT6. L'IL-13 participe également à la régulation du processus de fibrose en augmentant la production d'inhibiteurs tissulaires des métalloprotéases (TIMP) et en inhibant certaines métalloprotéases tissulaires (MMP). Dans le contexte de la sclérodermie, des taux sériques élevés d'IL-13 ont été observés chez les patients atteints de ScS. Ces taux sériques sont d'ailleurs corrélés positivement avec la sévérité des anomalies observées en capillaroscopie.

GATA-3

GATA3 appartient à la famille des facteurs de transcription GATA formés de deux motifs doigt de zinc. Ce facteur de transcription joue un rôle important dans le développement des lymphocytes T au niveau du thymus et la polarisation des lymphocytes T helper de type 2 (Th2). L'expression de la protéine GATA-3 est induite par l'IL-4 (via la voie STAT-6) et à son tour GATA-3 stimule la sécrétion de cytokines de type Th2, telles que l'IL-4 et l'IL-13, tandis qu'il inhibe celle des cytokines de type Th1. GATA-3 est aussi capable de stimuler sa propre expression via une boucle de rétro-contrôle, permettant ainsi de maintenir le développement des Th2 en absence d'IL-4.

Résultats

Nous avons observé que l'expression de GATA-3 dans le noyau des Jurkat était diminuée en présence de TGF-β et qu'elle était restaurée en présence de l'inhibiteur d'ALK5 (inhibiteur du récepteur au TGF-β). Nous avons aussi observé que la voie des Smad était impliquée dans l'inhibition de GATA-3 par le TGF-β dans les cellules Jurkat (article soumis pour publication).

Par ailleurs, il a été démontré que GATA-3 était capable d'activer le promoteur de l'IL-13 dans les cellules Jurkat. Il a été démontré que facteur de transcription GATA-3 se fixait sur les régions régulatrices du promoteur de l'IL-13. Nous avons confirmé cette observation par des expériences de siRNA GATA-3 dans les Jurkat et nous poursuivons cette étude sur les lymphocytes T issus de patients atteints de ScS.
En effet, nous observons que le TGF-ß augmente la production d'IL-13 au niveau protéique et de son ARNm dans les lymphocytes T de patients atteints de ScS, à l'inverse de son action inhibitrice de la synthèse d'IL-13 sur les lymphocytes T de sujets sains (figure 1). Les effets du TGF-ß sur la translocation, la synthèse et la fixation de GATA-3 au niveau du promoteur de l'IL-13, ainsi que les mécanismes moléculaires responsables de ces effets restent encore à déterminer.

Notre travail actuel vise à affirmer l'implication de GATA-3 dans la régulation de l'IL-13 par le TGF-β dans la lignée Jurkat et dans les lymphocytes T de patients atteints de sclérodermie vs de volontaires sains, à analyser les effets du TGF-β sur la fixation du facteur de transcription GATA-3 au niveau des régions régulatrices de l'IL-13 en identifiant la(les) région(s) régulatrice(s) du promoteur de l'IL-13 impliquées, et à identifier les mécanismes moléculaires responsables des effets du TGF-ß sur la fixation de GATA-3 au niveau du promoteur de l'IL-13.

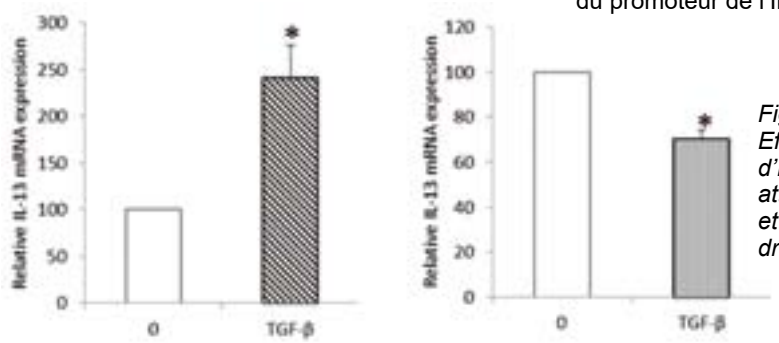


Figure 1
Effet du TGF-ß sur la production d'IL-13 par les PBLs de patients atteints de ScS (panel gauche) et de volontaires sains (panel droit)

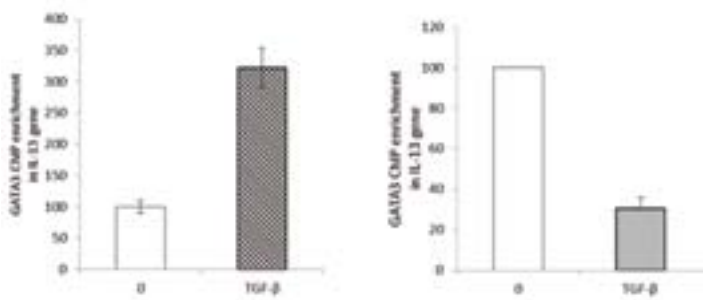


Figure 2
Interaction TGF-ß et GATA-3 dans les PBLs de patients atteints de ScS (panel gauche) et de volontaires sains (panel droit)

Conclusion et perspectives

Ce travail est en cours mais il est raisonnable de penser qu'il fera avancer la connaissance indispensable au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques appliquées aux processus fibrotiques lors de la ScS. L'identification des voies de signalisation et la compréhension de la machinerie transcriptionnelle impliquées dans les mécanismes moléculaires inhibant les effets profibrosants du TGF-ß représentent en effet un énorme potentiel clinique.

Références complémentaires

L'iloprost augmente les cellules Th22 et Th17 tout en diminuant les cellules Th1 via le récepteur IP dans la sclérodermie systémique

Publications du groupe « Fibrose et inflammation » qui ont été financés, en partie, par l'ASF.
- Fineschi S., W. Reith, P.A. Guerne, J.M. Dayer, C. Chizzolini. Proteasome blockade exerts an anti-fibrotic activity by coordinately downregulating type I collagen and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) and upregulating metalloproteinase-1 (MMP-1) production by human fibroblasts. FASEB J. 2006. 20:562-564
- Fineschi S., M. Bongiovanni, Y. Donati, S. Djaafar, F. Naso, L. Goffin, C. Barazzone-Argiroffo, J.C. Pache, J. M. Dayer, C. Chizzolini. In vivo investigations on anti-fibrotic potential of proteasome inhibiton in lung and skin fibrosis. Am J Resp Cell Mol Biol. 2008;39:458-465.
- Fineschi S., L. Goffin , R. Rezzonico, F. Cozzi, J-M. Dayer, P.L. Meroni, C. Chizzolini. Antifibroblast antibodies in systemic sclerosis induce fibroblasts to produce profibrotic chemokines, with partial exploitation of toll-like receptor 4. Arthritis Rheum. 2008;58:3913-3923.
- Chizzolini C., NC Brembilla, E Montanari, ME Truchetet. Fibrosis and immune dysregualtion in systemic sclerosis. Autoimmun Rev. 2010;10:276-281
- Truchetet ME, NC Brembilla, E Montanari, Y Allanore and C Chizzolini. Increased frequency of circulating Th22 in addition to Th17 and Th2 lymphocytes in systemic sclerosis: association with interstitial lung disease. Arthritis Res Ther. 2011,13:R166. PMID:21996293
Communications à des réunions scientifiques du groupe « Fibrose et inflammation » publiées sous forme d'abstract, qui ont été financés, en partie, par l'ASF.
- Fineschi S., M.T. Kaufmann , J.M. Dayer, C. Chizzolini. Anti-fibrotic activity of proteasome-blokade is mediated by a co-ordinate downregulation of type I collagen and TIMP-1 synthesis and upregualtion of MMP-1 in dermal fibroblasts. SSAI/SGAI annual meeting 2005. Bern, March 3-4. [Abstract] Swiss Med. Wkly. 2005. 35(s144):S22
- Fineschi S, D. Burger, C. Chizzolini. Anti-fibroblast antibodies (AFA) from systemic sclerosis (SSc) individuals induce chemokine production in dermal fibrobalsts. SSAI/SGAI annual meeting 2006. Zurich, March 30-31. [Abstract] Swiss Med. Wkly. 2005.136(s149):S49
- Fineschi S, F. Cozzi, D. Burger, JM. Dayer, PL. Meroni, C. Chizzolini. Anti-fibroblast antibodies (AFA) detected by cell-based elisa in systemic sclerosis (SSc) sera preferentially induce pro-fibrotic chemokine production in human dermal fibroblasts. ACR. Boston, MA November 6-11, 2007 [Abstract] Arthritis Rheum. 2007.56(s 76)poster #65
- Goffin L, Q. Seguin-Estevez, M. Alvarez, W. Reith, C. Chizzolini. Proteasome inhibitor bortezomib overrides TGF-beta effect in human fibroblasts imposing its anti-fibrotic action. SSAI/SGAI annual meeting 2008. Fribourg April 18-19 [Abstract] Swiss Med. Wkly. 2008. 138 (s163) : S50
- Goffin L, Q. Seguin-Estevez, M. Alvarez, W. Reith, C. Chizzolini. Molecular analysis of the antifibrotic activity of proteasome inhibition. ACR. San Francisco, CA October 24-29, 2008 [Abstract] Arthritis Rheum. 2008.58(s 837)poster #1823
- Brembilla NC, ME Truchetet, E Montanari, Y Allanore, C. Chizzolini. Enhanced IL-17A and IL-22 production by peripheral blood mononuclear cells distinguish systemic sclerosis from healthy individuals. ACR Atlanta, GA, November 6-11, 2010 [Abstract] Arthritis Rheum. 2010.62(s 834)poster #1992
- Truchetet ME, Allanore Y, Chizzolini C, and Brembilla NC. Iloprost enhances Th17 and Th22 while decreasing Th1 cells expansion in healthy and systemic sclerosis mononuclear cells. ACR Chicago, IL, November 4-11, 2011 [Abstract] Arthritis Rheum. 2011.63(s 276)

LEXIQUE

Acide arachidonique : il s'agit d'un acide gras polyinsaturé, un des principaux constituants des phospholipides des membranes cellulaires.

Adénocarcinome oesophagien : cancer de l'œsophage.

Angiogenèse : processus décrivant la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins (néovascularisation) à partir de vaisseaux préexistants.

Anion superoxyde : $O_2^{\bullet -}$ espèce radicalaire, molécule dérivée de l'oxygène hautement réactive.

Anti-oxydant : molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques et capable de neutraliser les radicaux libres en empêchant la peroxydation lipidique et l'altération de l'ADN des cellules.

Athéromateuse : siège d'athérome qui correspond à un remaniement de la paroi des artères.

Capillaires : vaisseaux sanguins de toute petite taille (4 à 8 µm) permettant les échanges nutritionnels dans les tissus.

Capillaroscopie : examen optique des capillaires, avec un grossissement variable (de 50 à 200 fois). Cet examen peut se réaliser sur la peau et l'on verra alors la « tête » des capillaires, ou sur la racine de l'ongle où les capillaires sont perpendiculaires, donc mieux visibles.

Cathode/Cathodal : polarité négative d'une électrode.

Connectivite (ou collagénose) : groupe de maladies auto-immunes dont fait partie la sclérodermie systémique. D'autres connectivites comme le Lupus systémique, le syndrome de Goujerot-Sjöegren, ou le syndrome de Sharp peuvent se compliquer d'HTAP.

Cytokines : molécules servant de messagers entre les cellules de notre organisme. Certaines cytokines interviennent dans l'inflammation et l'immunité, d'autres jouent un rôle dans la division et la différenciation cellulaire.

Cytométrie : technique permettant de faire défiler des particules, molécules ou cellules à grande vitesse dans le faisceau d'un laser, ce qui permet de les dénombrer.

Diabète de type II : diabète non insulino-dépendant, ne nécessitant pas initialement d'administration d'insuline, et souvent associé à un surpoids.

Digital(e) : qui concerne les doigts.

Dihydropyridinique : classe pharmacologique des inhibiteurs calciques (noyau chimique dihydropyridine).

DLCO : mesure de la capacité d'échange du monoxyde de carbone par le poumon, reflet des échanges gazeux. La mesure de la DLCO est faite au cours d'épreuves fonctionnelles respiratoires.

Dysfonction : anomalie de fonction d'un organe ou tissu. Terme employé par opposition à la fonction normale.

Dysphagie : sensation de blocage des aliments dans leur descente dans l'œsophage

Dysplasie : présence de cellules anormales dans un tissu, pour l'oesophage, stade pré-cancéreux entre l'EBO et le cancer si la dysplasie est dite de haut grade.

Dysthymie : troubles de l'humeur.

Endoscopie haute ou fibroscopie : examen permettant de visualiser l'intérieur de l'œsophage et de l'estomac en introduisant un tube (fibroscope).

Endothéline : protéine produite par l'organisme, qui a des effets puissants sur la contraction des petites artères pulmonaires, et qui intervient dans l'apparition de l'HTAP.

Entérocolopathie : : maladie digestive de l'intestin.

Etude génétique cas-témoins : étude génétique comparant la fréquence d'une variation dans le génome d'une population cible (sclérodermie ici) à une population contrôle (sans la maladie).

Fibrilline-1 (FBN-1) : composant protéique principal du réseau microfibrillaire

Fibroblastes : cellules qui peuplent le tissu interstitiel, et contribuent à la synthèse du tissu de soutien des différents organes. Les fibroblastes contribuent à l'accumulation de collagène et au développement de la fibrose.

Hematopoïétique : renvoie à la moelle osseuse et aux cellules du sang.

Idiopathique : sans cause connue.

Immunoblot : détection à l'aide d'un anticorps marqué d'une protéine à partir d'un liquide biologique.

Immunohistochimie : détection à l'aide d'un anticorps marqué d'une protéine à partir d'un tissu biologique.

Infection bilharzienne : infection par la bilharziose.

Interféron : cytokine qui interfère avec la réplication virale et qui a en plus de nombreuses fonctions sur le système immunitaire

Interleukine : cytokine produite en particulier par les leucocytes.

Iontophorèse : il s'agit d'une technique utilisant un courant de faible intensité pour faire diffuser un médicament au travers d'une membrane, le plus souvent la peau. C'est en théorie une injection sans aiguille.

Ischémie : diminution de l'apport sanguin artériel à un organe et par voie de conséquence, diminution de l'apport en oxygène.

Isoprostanes : lipides dérivés de la transformation de l'acide arachidonique après attaque par des radicaux libres de l'oxygène.

Laser Doppler Imageur : technique d'imagerie du flux d'une surface en 2 dimensions.

Lavage alvéolaire : cet examen consiste à injecter dans les espaces alvéolaires du poumon, du sérum physiologique qui sera réaspiré et analysé. L'examen se fait au cours d'une endoscopie bronchique, avec une simple anesthésie locale, et permet d'approcher les modifications qui surviennent à la surface des alvéoles.

Lidocaïne/prilocaïne : médicaments bloquant les canaux sodiques. Employés à proximité d'un nerf, ils vont empêcher la propagation de l'influx nerveux. Leur effet anesthésiant se manifeste en particulier par l'inhibition de la sensation de douleur.

Lysat de peau : tissu de peau soumis à une lyse chimique afin d'en détacher les composants.

Matrice extracellulaire : élément de soutien des tissus situé entre les cellules. Elle forme un ciment entre les cellules pour donner une structure aux organes.

Mésenchymateuse (cellule) : désigne une origine embryonnaire.

Méthode ELISA : ELISA est l'acronyme anglais de enzyme-linked immunosorbent assay, littéralement « dosage d'immunoadsorption par enzyme liée ». Il s'agit d'une technique de dosage biochimique fréquemment utilisée en immunologie afin de détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon.

Micro-angiopathie organique : Atteinte des capillaires visible à la loupe (capillaroscopie) au niveau de la peau située à la racine de l'ongle. Cette atteinte micro-vasculaire est un critère qui permet de différencier un phénomène de Raynaud « primitif » d'un phénomène de Raynaud « secondaire », c'est-à-dire associée à une maladie comme la sclérodermie ou d'autres maladies auto-immunes.

Microcirculation : ensemble des petits vaisseaux amenant le sang dans les tissus, composés d'artères et de veines.

Microsatellites et SNP : variations dans un gène, qui sont, soit une répétition continue de motifs composés de quelques nucléotides (microsatellites), soit une variation portant sur un seul nucléotide (SNP) qui servent de marqueurs génétiques pour repérer des régions génétiques, leur impact sur la fonction biologique portée par le gène est variable.

MMP (Matrix metalloproteinase) : enzymes produites par le fibroblastes et autres cellules qui ont la capacité de digérer les composants de la matrice extracellulaire, notamment le collagène. Elles sont impliquées dans des processus de réparation, de fibrose et de destruction.

Monochromatique : lumière dont la couleur n'est formée que d'une fréquence.

Monoxyde d'azote : appelé couramment par son acronyme NO, c'est une petite molécule produite principalement dans les vaisseaux ayant une action de vasodilatation et de diminution de l'agrégation des plaquettes.

Murins : appartenant à la souris.

Nadir : valeur la plus basse d'une mesure au cours du temps (souvent utilisé en hématologie).

Neurogène : qui est originaire du système nerveux

Œsophage de Barrett ou endobrachyoesophage (EBO) : anomalies du revêtement de l'œsophage suite à un reflux chronique.

Oxydation : Réaction chimique au cours de laquelle se produit un transfert d'électrons. L'espèce chimique qui capte les électrons est appelée « oxydant » ; celle qui les cède, « réducteur ». Ces réactions jouent un rôle fondamental en biologie, dans la transformation de l'oxygène au sein des cellules des espèces vivantes.

PaO2 : pression partielle d'oxygène dans le sang artériel. La PaO2 se mesure en kilopascal ou en mmHg.

Peroxydation : forme d'oxydation.

Phénomène de Raynaud : présence de doigts blancs au froid. Il s'agit souvent d'une maladie bénigne isolée (phénomène de Raynaud primaire). Il peut également être présent en cas de sclérodermie.

Phosphodiestérase-5 : substance qui favorise également la contraction de ces artères.

Phospholipides : assemblage de lipides, d'acides gras, constituants notamment de la paroi des vaisseaux.

Placebo : substance neutre que l'on substitue à un médicament pour contrôler ou susciter les effets psychologiques accompagnant la médication (dans cette étude, le placebo ressemblait aux capsules de vitamine E).

Plasma : liquide jaune dans lequel les globules rouges sont suspendus. Il constitue 55 % du volume du sang, et est très souvent utilisé pour doser les molécules du corps humain ou les médicaments.

Profibrotique : favorisant le processus de fibrose

Prostacycline : lipide produit par les cellules tapissant la paroi des vaisseaux (cellules endothéliales) possédant une action de vasodilatation et diminuant la possibilité d'agrégation des plaquettes. On synthétise actuellement des analogues de cette molécule comme médicaments (comme le tréprostinil et l'iloprost).

Prostanoïdes : famille de molécules qui entraînent une dilatation des vaisseaux pulmonaires, pouvant donc améliorer les symptômes et l'évolution de l'HTAP.

Protéasome : organelle contenu dans le cytoplasme des cellules nucléées et permet la dégradation des protéines contenues en excès ou qui sont défectueuses.

Réseau microfibrillaire : élément de la matrice extracellulaire constituant un maillage de cette matrice.

Stress oxydant : définit l'état lié à un déséquilibre entre la production de radicaux libres de l'oxygène (phénomène normal dans une cellule) et la défense contre ces radicaux. Les radicaux oxygénés en excès vont pouvoir interagir avec les membranes cellulaires, les protéines et l'ADN pour induire des dégâts.

Stress oxydatif : ensemble des agressions des constituants de la cellule lié aux espèces réactives oxygénées et azotées qui sont des molécules oxydantes capables d'altérer les molécules de lipides, de protéines et de l'ADN de la cellule.

Système du complément : groupe de protéines du sérum, faisant partie des défenses immunitaires.

TGFbeta : petite molécule sécrétée entre autre par les fibroblastes qui active la production de la matrice extra-cellulaire.

TIMP (Tissue inhibitor of MMP) : inhibiteur tissulaire des MMP. Il agit comme inhibiteur des MMP et en corrige l'excès d'activité.

Vasculogenèse : processus décrivant la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de cellules souches.

Protocoles de recherche financés par l'ASF

Année 2010

Projets	Responsables de la recherche	Centre de recherche	TOTAL (euros)
Immuno-genetic risk factors in men with Scleroderma	Nathalie LAMBERT	Inserm - Marseille	150 000
Agrégation familiale de connectivites et de thyroïdites auto-immunes	Eugénie KOUMAKIS, Yannick ALLANORE	Hôpital Cochin - Hôpital Bichat - Paris	
Reconstitution immunitaire et re-programmation de la tolérance après traitement par autogreffe de cellules souches hématopoïétiques périphériques chez les patients atteints de sclérodermie systémique sévère.	Laurence MICHEL, Elena IVANMADA	Hôpital Saint Louis-Paris	
Etude du rôle du « Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase-3 » dans la sclérodermie	Anne SOLANILLA	Bordeaux	
Effet de la iontophorèse thérapeutique cutanée d'iloprost et de tréprostinil sur la conductance vasculaire cutanée chez les volontaires sains. Etude INFLUX-IT-VS	Jean-Luc CRACOWSKI	Grenoble	
Evaluation de l'efficacité thérapeutique de la metformine dans l'HTAP	Christian AGARD	Nantes	
Etude comparative phénotypique et fonctionnelle des cellules dendritiques humaines au cours de la sclérodermie systémique	Julien VINIT	Dijon	
Functional characteristics of T cells in SSc individuals and impact of in vivo Iloprost	Marie-Élise TRUCHETET, Carlo CHIZZOLINI	Suisse	

Année 2009

Projets	Responsables de la recherche	Centre de recherche	TOTAL (euros)
Recrutement de familles nucléaires pour la recherche de facteurs génétiques de susceptibilité à la ScS	Yannick ALLANORE	Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie) Hôpital Necker Paris	106 500
GENESYS (Etude d'association par tour du génome chez les malades Caucasiens Européens atteints de sclérodermie systémique)	Yannick ALLANORE	Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie) Hôpital Necker Paris	
Effet de la iontophorèse thérapeutique cutanée de sitaxentan sur le flux sanguin cutané chez les volontaires sains. Etude INFLUX-SIT-VS	Jean -Luc CRACOWSKI	CHU Grenoble	
ASTIS (intensification thérapeutique et autogreffe (ISA) de cellules souches hématopoïétiques périphériques (CSHP) comparée aux bolus intraveineux mensuels de cyclophosphamide dans le traitement de la sclérodermie systémique sévère)	Dominique FARGE	Hôpital St Louis Paris	
Mécanisme pathologique de la capacité d'induction des sérum des patients atteints de ScS	Kiet Phong Tieu	Hôpital St Antoine Paris	
Régulation de l'expression de l'interleukin-13 par le TGF-b au cours de la sclérodermie systémique	Laurence MICHEL Julie BARAUT	Hôpital St Louis Paris	
Evaluation de la douleur de la sclérodermie et de la poytarthrite rhumatoïde	Serge PERRIOT Yannick ALLANORE Philippe DIEUDE	Hôpitaux Hôtel Dieu, Cochin, Bichat Paris	

Année 2008

Projets	Responsables de la recherche	Centre de recherche	TOTAL (euros)
Identification et caractérisation des cibles antigéniques des anticorps anti-cellules musculaires lisses vasculaires chez les malades ayant une sclérodermie systémique	Luc MOUTHON	Hôpital Cochin Paris (Médecine Interne)	120 000
Sclérodermie systémique : Recherche de facteurs génétiques de susceptibilité aux complications vasculaires et à l'auto-immunité	Yannick ALLANORE	Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie) Hôpital Necker Paris	
Microchimérisme et antigènes leucocytaires humains (HLA) dans la sclérodermie : une autre voie thérapeutique	Nathalie LAMBERT	INSERM Marseille	
Etude de l'effet inhibiteur du monoxyde d'azote sur la vasoconstriction au froid dans le phénomène de Raynaud primaire (titre court : MARTHE-StiP)	Jean-Luc CRACOWSKI	CHU Grenoble	
Effet de la iontophorèse thérapeutique digitale avec le Sildenafil et le Bosentan sur le flux sanguin cutané pulpaire digital chez les volontaires sains	Jean-Luc CRACOWSKI	CHU Grenoble	
Caractérisation de la réponse au TGF-β des cellules souches mésenchymateuses au cours de la sclérodermie systémique sévère	Jérôme LARGHERO	Hôpital St Louis Paris	
Endothelial disturbances in systemic sclerosis : a cellular approach based on endothelial cells derived from circulating endothelial progenitors	Yannick ALLANORE	Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie) Hôpital Necker Paris	

Année 2007

Projets	Responsables de la recherche	Centre de recherche	TOTAL (euros)
Essai clinique de phase II, comparatif, randomisé, en double insu, de l'imatinib mésylate STI571 (Glivec®) versus placebo chez des malades atteints de sclérodermie cutanée grave et de sclérodermie systémique avec atteinte cutanée grave	Alain TAIEB	Hôpital St André Bordeaux	
Analyse in vitro des effets de l'halofuginone sur des fonctions fibroblastiques clefs dans la fibrogénèse	Franck VERRECCHIA	Hôpital St Louis Paris	

Interactions entre plaquettes sanguines et endothélium vasculaire dans la sclérodermie	Joël CONSTANS Anne SOLANILLA	Hôpital St André Bordeaux	91 600
Progéniteurs endothéliaux circulants : Aspects fonctionnels au cours de la Sclérodermie Systémique	Yannick ALLANORE Jérôme AVOUAC	Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie) Hôpital Necker Paris	
Sclérodermie systémique : Recherche de facteurs génétiques de susceptibilité aux complications vasculaires et à l'auto immunité	Yannick ALLANORE	Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie) Hôpital Necker Paris	
Caractérisation des cibles antigéniques des anticorps anti-nucléaires chez les malades sclérodermiques n'ayant pas d'autoanticorps spécifiques de la maladie	Luc MOUTHON Guillaume BUSSONE	Hôpital Cochin Paris (Médecine Interne)	
Dosage sérique des marqueurs d'activation lymphocytaire B dans la sclérodermie systémique	Jean SIBILIA Emmanuel CHATELUS	Hôpital Hautepierre Strasbourg	

Année 2006

Projets	Responsables de la recherche	Centre de recherche	TOTAL (euros)
Identification et caractérisation des fibrocytes alvéolaires dans l'atteinte pulmonaire de la sclérodermie	Bruno CRESTANI	Hôpital Bichat Paris	96 600
Exploring in vivo the anti-fibrotic potential of proteasome blockade	Carlo CHIZZOLINI Serena FINESCHI	Hôpital Universitaire Cantonal Genève	
Identification d'autoanticorps anti-cellules endothéliales au cours des crises rénales sclérodermiques	Luc MOUTHON Mathieu TAMBY	Hôpital Cochin Paris (Médecine Interne)	
Interactions entre plaquettes sanguines et endothélium vasculaire dans la sclérodermie	Joël CONSTANS Anne SOLANILLA	CHU Amiens et Bordeaux	
Implication de la fibrilline 1 et du réseau microfibrillaire dans la sclérodermie systémique : approches moléculaires et cellulaires	Yannick ALLANORE Julien WIPFF	Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie) Hôpital Necker Paris	
Caractérisation des progéniteurs endothéliaux circulants au cours de la sclérodermie systémique	Yannick ALLANORE Jérôme AVOUAC	Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie) Hôpital Necker Paris	
Projet d'étude de prévalence de la sclérodermie systémique en Lorraine	Jean Dominique de KORWIN Daniela CIRSTEA	CHU Nancy	

Année 2005

Projets	Responsables de la recherche	Centre de recherche	TOTAL (euros)
Susceptibilité génétique à la fibrose des sclérodermies systémiques	Brigitte GRANEL	INSERM Marseille	168 295
ASTIS (intensification thérapeutique et autogreffe (ISA) de cellules souches hématopoïtiques périphériques (CSHP) comparée aux bolus intraveineux mensuels de cyclophosphamide dans le traitement de la sclérodermie systémique sévère)	Dominique FARGE	Hôpital St Louis Paris	
Identification d'autoanticorps anti-cellules endothéliales, anti-fibroblastes et anti-cellules musculaires lisses et caractérisation de leurs cibles antigéniques au cours de l'hypertension artérielle pulmonaire associée à la sclérodermie systémique	Luc MOUTHON	Hôpital Cochin Paris (Médecine Interne)	
Etude des relations entre la sclérodermie systémique et le polymorphisme du gène FCGR3A	Elisabeth DIOT	CHU Tours	
Etude de l'implication de facteurs génétiques dont les gènes codant pour la fibrilline 1 et la microfibrillar associaded protein 1 dans la sclérodermie systémique	Yannick ALLANORE	Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie) Hôpital Necker Paris	
Quantification des cellules endothéliales et des progéniteurs circulants au cours de la sclérodermie systémique	Yannick ALLANORE	Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie)	
Thermal hyperhemic response as a tool to assess microvascular	Jean-Luc CRACOWSKI	CHU Grenoble	
Réponse des fibroblastes dermiques à la Ramycine et au Cyclophosphamide : effet sur le promoteur du gène COL1A2 et interférences avec la voie des SMADS	Franck VERRECCHIA	Hôpital St Louis Paris	

Année 2004

Projets	Responsables de la recherche	Centre de recherche	TOTAL (euros)
Analyse du répertoire des auto-anticorps chez les patients atteints de sclérodermie systémique traités par greffe de cellules souches périphériques	Luc MOUTHON Dominique Farge	Hôpital Cochin Paris (Médecine Interne)	88 133
Phénotype de la sclérodermie systémique	Jean-Luc CRACOWSKI	CHU Grenoble	
Poursuite du registre Isère/Savoie de la sclérodermie systémique	Patrick CARPENTIER	CHU Grenoble	
Epidémiologie de la sclérodermie systémique, évaluation du facteur familial	Patrick CARPENTIER	CHU Grenoble	
Caractérisation épitopique de la réactivité anti-topoisomérase 1 et analyse des caractéristiques cliniques et du pronostic des malades sclérodermiques porteurs d'anticorps anti-Scl 100	Luc MOUTHON	Hôpital Cochin Paris (Médecine Interne)	
Analyse des Ac anti-fibroblastes et caractérisation de leurs cibles dans la sclérodermie systémique	Luc MOUTHON Mathieu TAMBY	Hôpital Cochin Paris (Médecine Interne)	
Diminution du stress oxydant par les inhibiteurs calciques dihydropyridiques : effet sur les monocytes circulants	Yannick ALLANORE	Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie)	
Caractérisation clinico-biologique de la réponse observée après autogreffe de moelle au cours de la sclérodermie systémique sévère	Julien LABOUREAU Dominique FARGE	Hôpital St Louis Paris	

Année 2003

Projets	Responsables de la recherche	Centre de recherche	TOTAL (euros)
Rôle du complément et des collectines	Martial KOENIG Patrick CARPENTIER	CHU Grenoble	77 849
Rôle préventif du Bosentan sur la fibrose cardiaque et pulmonaire des souris TSK1	Isabelle MARIE	CHU Rouen	
Influence des inhibiteurs calciques dihydropyridiniques sur le stress oxydant	Yannick ALLANORE	Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie)	
Etude de la reconstitution lymphocitaire T dans le cadre du traitement intensif	Antoine TOUBERT	Hôpital St Louis Paris	
Analyse anatomo pathologique et étude en microscopie électronique	Frank VERRECCHIA Alain MAUVIEL Julien LABOUREAU	Hôpital St Louis Paris	
Sclérodermie systémique et cellules dendritiques	Kiet Phong Tiev	Hôpital St Antoine Paris	

Année 2002

Projets	Responsables de la recherche	Centre de recherche	TOTAL (euros)
Manifestations psychiatriques et anomalies cognitives	Luc MOUTHON Thierry BAUBET	Hôpital Avicenne Paris	39 184
Dopage des anti-topoisomérases Scl-70 des patients atteints de sclérodermie systémique soumis à intensification thérapeutique	Djaouida BENGOUFFA	INSERM St Louis Paris	
Effet de l'administration de la vitamine E par voie orale sur l'excrétion urinaire des F2 isoprostanes	Patrick CARPENTIER	CHU Grenoble	
Etude clinique prospective des malades ayant une sclérodermie systémique grave par une stratégie thérapeutique associant Azathioprine et Cyclophosphamide	Luc MOUTHON	Hôpital Avicenne Paris	
Analyse des cibles antigéniques des AC anti-cell endothéliales pulmonaires au cours de la sclérodermie avec HTAP	Luc MOUTHON	Hôpital Avicenne Paris	

Année 2001

Projets	Responsables de la recherche	Centre de recherche	TOTAL (euros)
Dosage de fraitalkines circulantes	Dominique EMILIE Kiet Phong Tiev	Hôpital A. Beclère Clamart Hôpital St Antoine Paris	68 100
Etude des chemokines sériques	Kiet Phong Tiev	Hôpital St Antoine Paris	
Epidémiologie du phénomène de Raynaud	Patrick CARPENTIER	CHU Grenoble	
Statut de vitamine C des patients atteints de phénomène de Raynaud, de sclérodermiques et de volontaires sains	Kiet Phong Tiev	Hôpital St Antoine Paris	
Etude du répertoire des lymphocytesT-CD4 des malades atteints de sclérodermie	Kiet Phong Tiev	Hôpital St Antoine Paris	
Etudes des cellules mononuclées circulantes	Yannick ALLANORE	Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie)	
Interaction des cellules mononuclées et endothélium activé au cours de la sclérodermie systémique	David LAUNAY	Hôpital Claude Huriez Lille	
Caractérisation d'auto-antigènes cibles au cours de la sclérodermie	Luc MOUTHON	Hôpital Avicenne Paris	
ERAMS (Etude de la Rigidité Artérielle dans la Maladie Sclérodermique)	Joël CONSTANS	Hôpital St André Bordeaux	
Etude comparative en microscopie confocale de peau de patients sclérodermiques et de sujets sains	Germain TRUGNAN	Hôpital St Antoine Paris	

Année 2000

Projets	Responsables de la recherche	Centre de recherche	TOTAL (euros)
Atteinte endothéliale dans le modèle animal	Isabelle MARIE	Genève	18 300

BOURSES ASF/ACTELION = 123 000 euros - PART ASF = 20 000 euros

Sujet	Boursier	Responsable	Année
Mécanisme moléculaires impliqués dans le développement des lésions fibrotiques cutanées au cours de la SC	Julien LABOUREAU	Alain Mauviel Hôpital St Louis Paris	2003
Phénotype vasculaire de la ScS. Etude comparative versus syndrome de raynaud primaire	Aude BOIGNARD	Jean-Luc Cracowski Grenoble	2004
Identification d'autoAc anti-cell.endothéliales, anti-fibroblastes et anti-cell. Musc Lisses et caractérisation de leurs cibles antigéniques au cours de l'HTAP associée à la ScS	Amélie SERVETTAZ	Luc Mouthon Hôpital Cochin Paris (Médecine Interne)	2005
Progéniteurs endothéliaux circulants : aspects fonctionnels au cours de la ScS	Jérôme AVOUAC	Yannick Allanore Hôpital Cochin Paris (Rhumatologie) Hôpital Necker Paris	2006/2007
TOTAL DES FONDS ATTRIBUES A LA RECHERCHE 1 042 552,00 euros		ASF	1 042 552
		BOURSES	123 000

RÉUNICA, acteur majeur de la protection sociale, développe, dans le cadre de ses métiers (retraite complémentaire et assurance de personnes), une politique d'Action sociale construite sur la prévention, la proximité et l'innovation.

C'est au titre de son action sociale, et dans une logique de prévention santé, que Réunica appuie des projets d'intérêt général qui soutiennent des recherches médicales.

Apporter son soutien à des travaux de recherche médicale susceptibles d'aboutir à des découvertes prometteuses… Telle est l'ambition affichée par REUNICA dans le cadre de son partenariat avec l'association des sclérodermiques de France.

Maquette : Laurence Schuller / lauxelle@orange.fr

Achevé d'imprimer en avril 2012
sur les presses de la Nouvelle Imprimerie Laballery
58500 Clamecy

Imprimé en France

La Nouvelle Imprimerie Laballery est titulaire de la marque Imprim'Vert