

LES VAISSEAUX ET ANOMALIES DE L'ANGIOGENÈSE DANS LES MALADIES INFLAMMATOIRES

1^{ère} partie Les données fondamentales » 03

1. Schéma synthétique de la structure et de l'organisation fonctionnelle d'une paroi vasculaire » 03
2. Origine des vaisseaux : l'angiogenèse » 04
 - Définition » 04
 - Comment naissent les vaisseaux ? » 05
3. Organisation et activité fonctionnelle des cellules endothéliales » 06
 - Structure des cellules endothéliales » 06
 - Principales fonctions de l'endothélium » 06

2^e partie Comment j'explore ? » 11

1. Comment j'explore la circulation ? » 11
 - En pratique, de la routine à la recherche : étude morphologique et fonctionnelle » 11

3^e partie Les anomalies vasculaires dans les maladies inflammatoires ? » 12

1. Modifications de l'endothélium au cours de l'inflammation » 12
2. Adhésion leucocyte - cellule endothéliale » 12
 - Différents temps de la margination des leucocytes » 12
 - Familles des molécules d'adhésion » 13
 - Cinétique d'expression des molécules d'adhésion endothéliales » 15
 - Rôle des chimiokines dans la migration des globules blancs marginés vers le foyer inflammatoire » 16
3. Comment j'explore l'endothélium ? » 17
 - Dosages plasmatiques » 17
 - Études immunohistologiques » 18
 - Mesure des cellules endothéliales circulantes » 18
4. Exemples de maladies inflammatoires » 18
 - Athérosclérose et maladies inflammatoires » 18
 - Micro-angiopathies acquises : exemple des vascularites primitives » 22

4^e partie **Quels traitements pour réguler les anomalies vasculaires dans les maladies inflammatoires ?** » 27

- 1. Traitements vasodilatateurs** » 27
 - Inhibiteurs calciques » 27
 - Inhibiteurs spécifiques du récepteur de l'angiotensine » 27
 - Inhibiteurs de l'enzyme de conversion » 27
 - Prostacycline PGI₂ et dérivés » 27
 - Inhibiteurs des récepteurs de l'endothéline 1 » 27
 - Inhibiteurs de la phosphodiesterase 5 » 27
 - Monoxyde d'azote (NO) » 27
 - Antagonistes des alpha-adrénorécepteurs » 28
 - Inhibiteurs de la sérotonine » 28
- 2. Quel est l'effet des anti-TNF α ?** » 28
 - TNF α et paroi vasculaire » 28
 - Anti-TNF α et modification du risque cardiovasculaire » 28
- 3. Quelles sont les nouvelles molécules susceptibles de modifier l'angiogenèse et éventuellement de prévenir l'athéromatose dans les maladies inflammatoires ?** » 29
 - Statines » 29
 - Inhibiteurs de l'angiogenèse » 30
 - Inhibiteurs des intégrines et sélectines » 31
- 4. Inhibiteurs de chimiokines et leurs récepteurs** » 32
 - Anti-TNF α » 32
 - Essais cliniques concernant la PR » 32
- 5. Nouvelles molécules** » 32
 - Chaperonine 10 » 32
 - Agonistes des PPAR α et PPAR γ » 32
 - Inhibiteurs de MIF » 33

5^e partie **Synthèse** » 34

- 1. Les points forts** » 34
- 2. Les grandes questions** » 35

6^e partie **Lexique** » 36

7^e partie **Pour « en savoir plus »** » 38

LES VAISSEAUX ET ANOMALIES DE L'ANGIOGENÈSE DANS LES MALADIES INFLAMMATOIRES

Olivier Meyer, CHU Bichat, Paris

Eric Hachulla, Service de Médecine Interne, Hôpital Claude Huriez, Lille

Tissu vivant, le vaisseau artériel, veineux ou capillaire est doué de 2 grandes fonctions : l'une de coopération entre ses différentes structures (endothélium, sous-endothélium, collagènes et microfibrilles, limitantes élastiques ...), l'autre de relation croisée avec le sang qui circule (éléments figurés et protéines plasmatiques dont les protéines de la coagulation et de la fibrinolyse qui assurent l'hémostase).

Le réseau vasculaire est organisé de façon à apporter aux constituants des différents organes les nutriments qui leur sont nécessaires et d'assurer l'élimination des déchets. Ceci est rendu possible grâce à la perméabilité de l'endothélium vasculaire et à la porosité des membranes basales. Le vaisseau doit, suivant sa localisation, permettre de contrôler la diffusion de substances depuis le sang vers les tissus et vice versa, et avoir une élasticité suffisante pour répondre aux déformations imposées par le flux sanguin pulsatile. Bien que les différents territoires vasculaires (artères, capillaires, veines) aient chacun des aspects spécifiques, ils présentent des caractéristiques morphologiques, biochimiques et fonctionnelles communes.

L'hémostase est l'ensemble des mécanismes cellulaires et moléculaires qui contrôle le passage du sang de l'état liquide à l'état solide. C'est un processus physiologique qui permet de limiter les pertes sanguines provoquées par toute effraction vasculaire, mais aussi une réaction de défense de l'organisme en cas d'agression.

Pour des raisons didactiques, il a été proposé de séparer ce chapitre en deux parties, l'une consacrée au contenu (vaisseaux) et l'autre au contenu (hémostase). Néanmoins, ces deux chapitres sont complémentaires pour bien comprendre leurs implications dans les maladies inflammatoires.

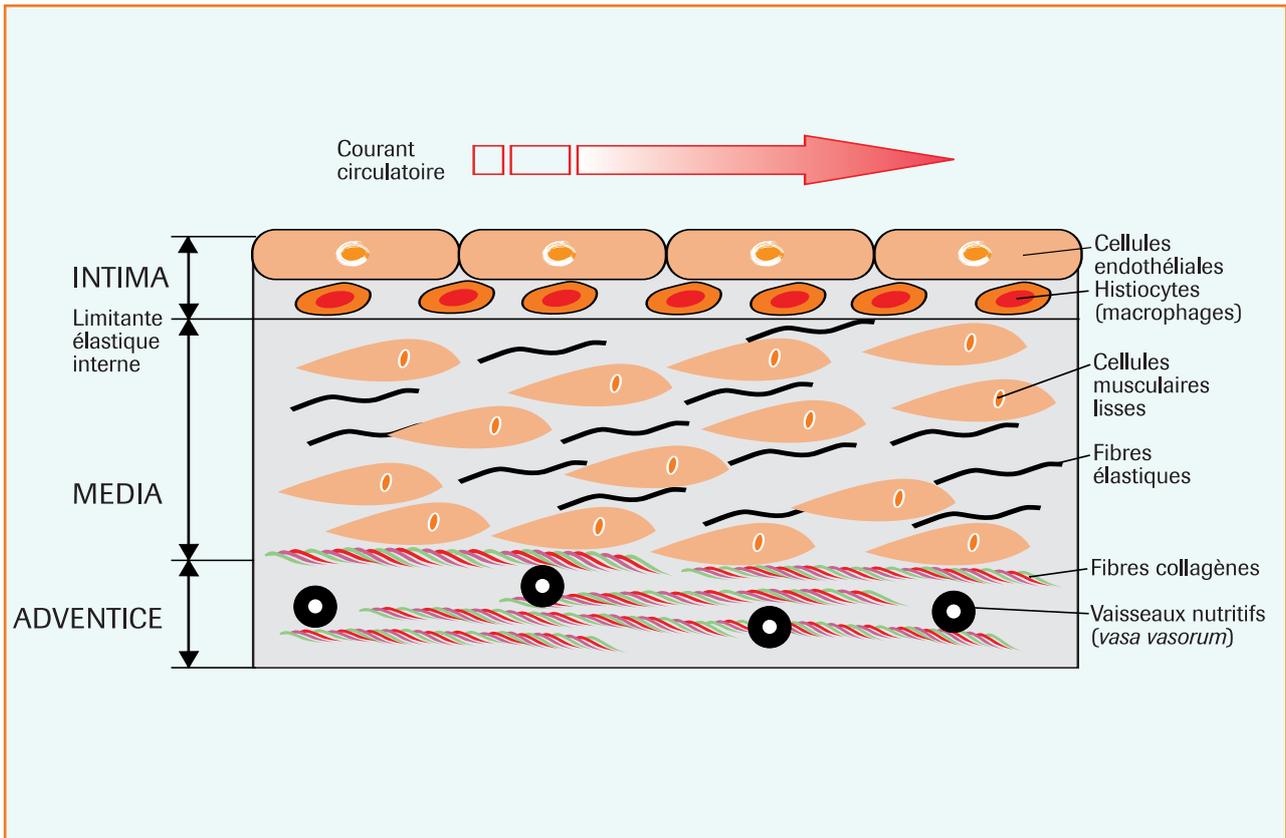
1^{ère} partie Les données fondamentales

1. Schéma synthétique de la structure et de l'organisation fonctionnelle d'une paroi vasculaire

La paroi d'une artère normale est constituée de 3 tuniques **FIGURE 1** : la plus interne est l'intima formée d'une seule couche de cellules endothéliales en dedans et de l'endartère en dehors, conjonctivo-élastique et pouvant contenir des cellules histiocytaïres. La média, séparée de l'intima par une limitante élastique interne, est constituée de cellules musculaires lisses et de fibres élastiques. L'adventice à l'extérieur réunit des fibres collagène, des filets nerveux et des vaisseaux nutritifs ou vasa vasorum. L'importance de ces tuniques varie selon le type d'artères : artères musculaires qui assurent la vascularisation viscérale, artères élastiques (grosses artères proches du cœur). Ce sont ces dernières qui peuvent être le siège de l'athérome. Les petites artères et les artérioles sont dépourvues de lame élastique externe. Elles présentent au contraire une lame élastique interne continue.

Les capillaires et les veinules postcapillaires ont pour rôle principal l'échange entre les tissus. Ils présentent donc une paroi très fine, même si on peut distinguer 3 couches : l'endothélium, la membrane basale et les tissus conjonctifs péri-capillaires. La membrane basale entoure des cellules appelées péricytes, dérivées des cellules musculaires lisses qui jouent un rôle dans la régulation du flux sanguin au niveau du lit capillaire. Veines et veinules sont organisées comme les artères et les artérioles en 3 couches : intima, média et adventice, mais le tissu élastique veineux (sauf dans les veines de gros calibre) n'est pas organisé en lames bien individualisées rendant difficile la distinction entre intima et média.

FIGURE 1 - Structure d'une artère normale



Les vaisseaux n'ont pas qu'une fonction de vecteur passif, ils représentent un organe en tant que tel, et sont notamment capables de modifier de façon active leur diamètre, sous l'influence de différents facteurs physiques ou métaboliques. La surface luminale des cellules endothéliales normales n'est pas thrombogène, grâce à une charge négative, l'exposition de phospholipides neutres vis-à-vis des plaquettes, la synthèse et la sécrétion de molécules inhibitrices des plaquettes (prostacycline, monoxyde d'azote), d'inhibiteurs de la coagulation (thrombomoduline, protéine S, tissue factor pathway inhibitor (TFPI), glycosaminoglycanes) et d'activateurs de la fibrinolyse (tissue plasminogen activator ou t-PA), urokinase plasminogen activator ou u-PA).

2. Origine des vaisseaux : l'angiogenèse

■ Définition

L'angiogenèse est le processus de formation de nouveaux vaisseaux. Il s'agit d'un processus physiologique qui intervient dans des domaines aussi importants que le développement embryonnaire, la reproduction, la réparation tissulaire. Un excès d'angiogenèse est à l'origine de différents processus pathologiques, tels que l'inflammation ou le développement tumoral pour les excès d'angiogenèse ; un défaut d'angiogenèse est responsable de différents processus ischémiques.

■ Comment naissent les vaisseaux ?

Le programme de néoangiogenèse débute par une activation des cellules endothéliales par différents stimuli angiogéniques : la cellule endothéliale sécrète des protéases qui dégradent la membrane basale et la matrice extracellulaire. Les cellules endothéliales peuvent alors migrer de façon linéaire dans le conjonctif en formant des bourgeons puis des rameaux. Elles prolifèrent et synthétisent de nouvelles membranes basales en se groupant sous forme de tubes capillaires. Plusieurs rameaux vont s'anastomoser et former des boucles capillaires. Les cellules de l'environnement et plus particulièrement les cellules issues de cellules souches hématopoïétiques (neutrophiles, monocytes/macrophages, cellules dendritiques, lymphocytes, plaquettes et mastocytes) contribuent au phénomène d'angiogenèse en produisant des médiateurs (facteurs de croissance, cytokines, chimiokines, enzymes, mais aussi macromolécules de la matrice extracellulaire)

TABLEAU 1. La vasculogenèse se développe également à partir de cellules souches endothéliales issues de la moelle osseuse, mobilisées par différents facteurs de croissance.

TABLEAU 1 – Principaux médiateurs de l'angiogenèse

1. Facteurs de croissance	bFGF, aFGF, VEGF, ECGF, PD-ECGF, PDGF, HGF, IGF-1, TGFβ, PIGF, angiopoïétine (Ang-1)
2. Cytokines	TNFα, IL1, IL6, IL8, IL15, G-CSF, GM-CSF, stromal-cell-derived factor 1
3. Chimiokines contenant un motif « ELR » ou sans motif « ELR »	IL8 (=CXCL8), ENA-78 (=CXCL5), Groα (=CXCL1), Groβ (=CXCL2), CTAP-III (=CXCL7), SDF-1 (=CXCL12), Groβ (=CXCL2), MCP-1 (=CCL2), fractalkine (=CX3CL1)
4. Macromolécule de matrice extracellulaire	Collagène I, fibronectine, laminine, tenascine, héparine, héparane sulfate
5. Enzymes protéolytiques	MMP, activateurs du plasminogène
6. Molécules d'adhésion (CAM)	Intégrines β1 et β3, E-sélectine, VCAM-1, PECAM-1, CD34, sialyl Lewis ^x , endogline
7. Divers	Angiogénine, angiotropine, PAF, histamine, substance P, érythropoïétine, lipides (PG), adénosine, fibrinogène

ELR : motif glutamine-leucine-arginine

En l'absence de flux suffisant, de concentrations suffisantes des facteurs angiogéniques et/ou en présence d'inhibiteurs de l'angiogenèse **TABLEAU 2**, tels que TSP1, IFN, Ang-2... on observe une régression des bourgeons vasculaires.

TABLEAU 2 – Principaux inhibiteurs de l'angiogenèse

1. Facteurs de croissance	TGFβ (selon la dose)
2. Cytokines	IL7, IL4, IL6, IL12, IFNα, IFNγ, LIF
3. Chimiokines CXC (sans motif « ELR »)	IP10 (=CXCL10), PF-4 (=CXCL4), Mig (=CXCL9), I-TAC (=CXCL11)
4. Facteurs fixant l'héparine	Thrombospondine-1, PF-4, constatine, tumstatine
5. Inhibiteurs de protéases	TIMP-1, TIMP-2, PAI-1, PAI-2
6. Inhibiteurs tissulaires	Cartilage, cristallin, vitré
7. Divers	Angiostatine (fragment du fibrinogène), endostatine (fragment du collagène IV), SPARC (secreted protein acidic and rich cysteine), opioïdes, rétinoïdes

IP10 = interferon inducible protein-10

TIMP = tissue inhibitor of metalloproteases

3. Organisation et activité fonctionnelle des cellules endothéliales

■ Structure des cellules endothéliales

L'endothélium est formé d'une monocouche aplatie (3 μm au niveau du noyau, 0,2 μm à son extrémité) et uniforme des cellules polygonales allongées, longues de 25 à 50 μm, large de 10 à 15 μm, orientées dans le sens du flux sanguin. Ces cellules sont en contact étroit les unes avec les autres au niveau de leur jonction, ne laissant qu'une fente étroite entre deux membranes plasmiques de cellules adjacentes. Ces jonctions sont importantes pour les échanges entre le sang et les tissus. On trouve deux autres types d'endothélium : l'endothélium discontinu des capillaires fenêtrés et les capillaires sinusoides où les cellules endothéliales sont alignées avec des cellules de type réticulo-endothélial.

La surface vasculaire des cellules endothéliales (5000 m²) est recouverte d'une enveloppe cellulaire au glycocalyx riche en carbohydrates sous forme de protéoglycanes (héparane sulfate en particulier).

Les cellules endothéliales se distinguent de toutes les autres cellules (excepté les mégacaryocytes) par l'existence d'une structure cytoplasmique sous la forme de bâtonnets de 3 μm de long et 0,1 μm de large entourés par une structure membranaire appelée corps de Weibel-Palade. Il s'agit du lieu de stockage du facteur Willebrand. Ces corps de Weibel-Palade sont très nombreux dans l'endothélium des artères pulmonaires et absents de celui de l'aorte.

■ Principales fonctions de l'endothélium

■ *Barrière sélective*

Différentes voies de passage sont possibles à travers la couche des cellules endothéliales dépendant de la taille des molécules. Les jonctions entre cellules endothéliales sont plus lâches au niveau des veinules : c'est là que se font les échanges trans-endothéliaux de l'eau, des gaz et des substances dont la taille moléculaire ne dépasse pas 2 nm. Les substances dont la taille est plus importante vont et viennent à travers les cellules endothéliales par un système de pores qui résulte de la fusion de vésicules d'endocytose entre elles : leur diamètre est limité à 10 nm.

■ *Synthèse des constituants de la membrane basale et du sous-endothélium*

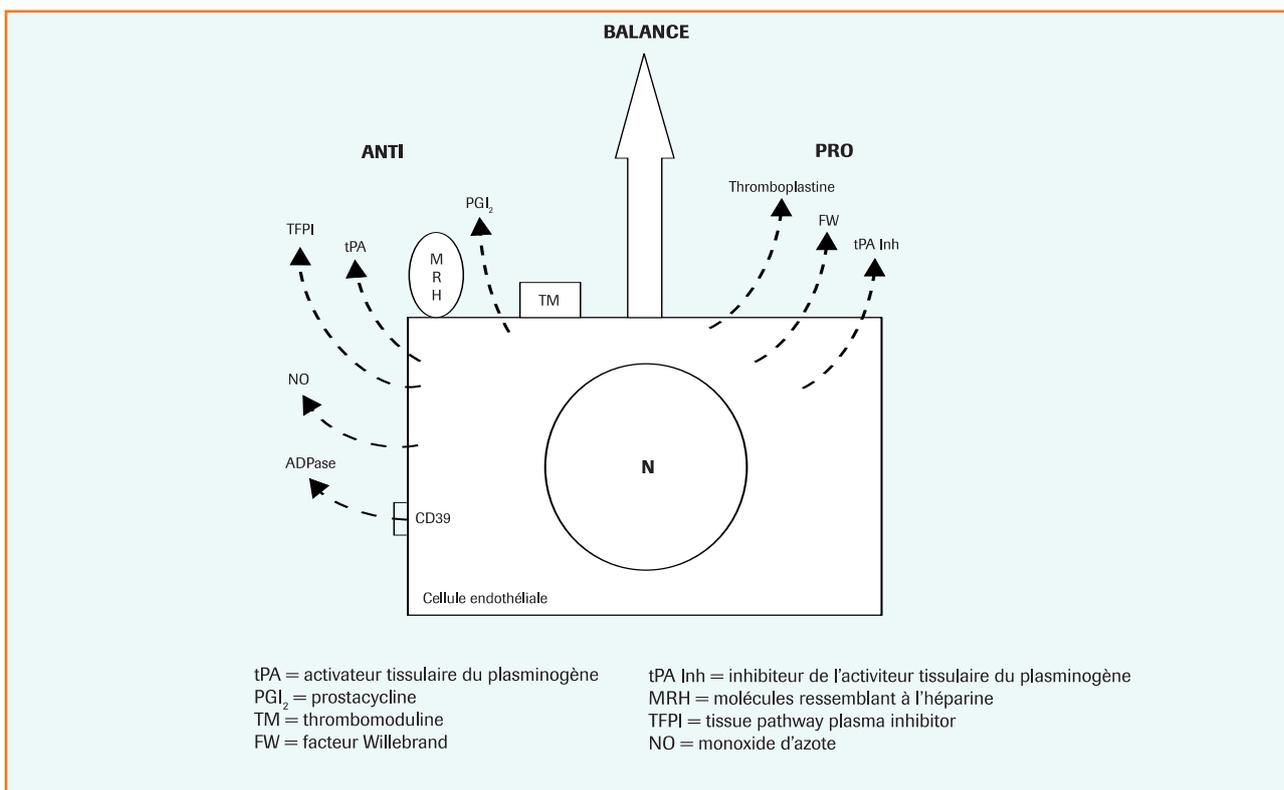
Toutes les molécules constitutives de la membrane basale et de la matrice extracellulaire du sous-endothélium sont synthétisées et secrétées par les cellules endothéliales. Seuls certains composants sont exclusivement synthétisés par les cellules endothéliales : c'est le cas du collagène de type IV caractéristique de la membrane basale. D'autres molécules importantes telle la laminine peuvent être élaborées par les cellules épithéliales qui reposent aussi sur une membrane basale.

■ *Fonctions anti-thrombogéniques*

Outre le rôle du glycocalyx, la cellule endothéliale joue un rôle fondamental d'inhibition de la thrombose grâce à un équilibre subtil entre facteurs pro et antithrombogènes synthétisés par les cellules endothéliales **FIGURE 2**. Citons :

- la synthèse de prostacycline (PGI_2) qui s'oppose à l'activation et à l'agrégation plaquettaire. Le PGI_2 favorise également la vasodilatation
- synthèse de monoxyde d'azote (NO) aux propriétés vasodilatatrices et anti-agrégantes
- présence d'inhibiteur de protéases de la coagulation à leur surface : antithrombine III, $\alpha 2$ macroglobuline
- synthèse d'activateurs de la fibrinolyse parmi lesquels l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA)
- libération d'ADPase, enzyme catabolisant l'ADP, principal inducteur physiologique de l'agrégation plaquettaire
- aptitude à dégrader certaines substances à la fois vasoactives et inductrices d'activation plaquettaire (sérotonine, noradrénaline)
- présence en surface de thrombomoduline (TM), protéine ayant un rôle régulateur important dans les phénomènes d'hémostase en fixant la thrombine. La thrombine perd alors ses propriétés coagulantes vis-à-vis du fibrinogène et pro-agrégantes vis-à-vis des plaquettes.

FIGURE 2 - Propriétés thrombogéniques et antithrombogéniques des cellules endothéliales



■ Régulation de la pression vasculaire par les cellules endothéliales

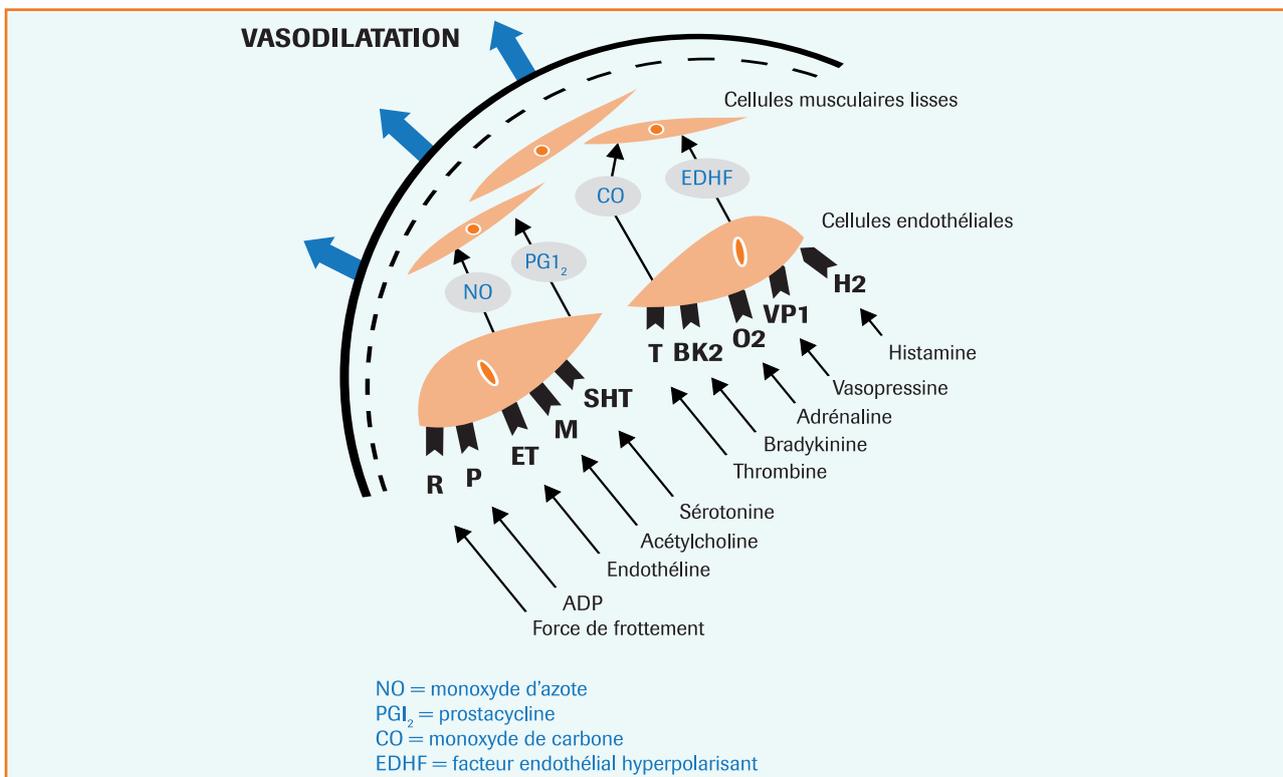
La régulation du tonus vasculaire est sous la dépendance à la fois du système nerveux périphérique et de l'endothélium.

- **Système nerveux périphérique.** Les fibres sensibles et végétatives vont influencer et contrôler la fonction de contrôle tensionnel exercé par l'endothélium vasculaire et d'autres cellules accessoires. Différents neuropeptides sont relargués par les terminaisons nerveuses et vont agir soit directement sur les cellules musculaires lisses des parois vasculaires, soit via les médiateurs synthétisés par les cellules endothéliales. Ainsi la substance P et le peptide associé au gène de la calcitonine (CGRP) ont une fonction vasorelaxante en induisant la synthèse et le relargage de NO par les cellules endothéliales. La CGRP a par ailleurs une action directe relaxante sur toutes les cellules musculaires lisses. La neurokinine A (NK-A) agit sur les cellules endothéliales via des récepteurs NK1, 2 et 3 et selon le type de récepteurs majoritaires et l'organe considéré aura une action vasorelaxante (NK1) via la production de PGI₂ ou vasoconstrictive indépendante des cellules endothéliales sur les vaisseaux pulmonaires. Les fibres parasympathiques via l'acétylcholine et le peptide intestinal VIP ont une action vasodilatatrice antagonisée par les fibres sympathiques et les médiateurs adrénérgiques, l'ATP et le neuropeptide Y.
- **Tonus vasculaire et médiateurs endothéliaux.** Il existe 3 principaux médiateurs endothéliaux qui contrôlent le tonus vasculaire (NO, PGI₂ et endothéline) et plusieurs autres accessoires. Certains médiateurs sont vasoconstricteurs : l'endothéline, l'angiotensine II, les amines superoxydes, d'autres sont vasodilatateurs (NO, CO, prostacycline, bradykinine, facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium ou EDHF). Ces facteurs agissent sur les cellules musculaires lisses de la média et diverses cellules vasculaires en se fixant à des récepteurs spécifiques constituant des facteurs soit endocrines, soit paracrines, soit autocrines

FIGURE 3. Outre une activité vasotonique, ces facteurs ont un impact important sur l'activation des plaquettes, la cascade de la coagulation / fibrinolyse et sur la prolifération de l'endothélium lui-même et des cellules musculaires lisses.

FIGURE 3 - Principaux médiateurs du tonus vasculaire

En cas de cellules endothéliales lésées, les médiateurs agissent directement sur les cellules musculaires lisses et induisent une vasoconstriction

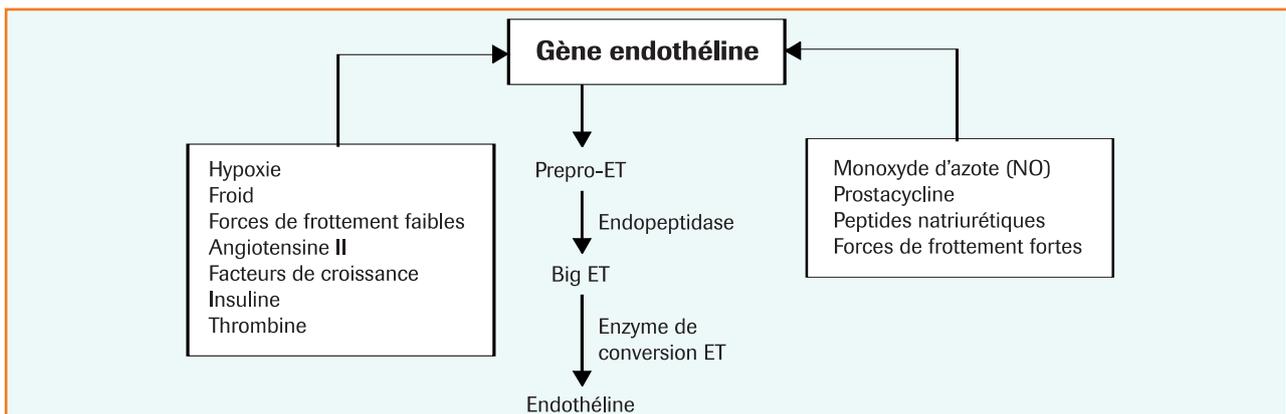


- **NO (monoxyde d'azote) :** il est synthétisé à partir de la L-arginine et de l'oxygène par une NO synthétase (NOs). Cette substance est très labile et sa demi-vie est de 5 à 6 sec. Dans la cellule musculaire lisse la relaxation induite par le NO est obtenue via l'activation du GMP. Les cellules endothéliales contiennent une NO synthétase constitutive dont la stimulation physiologique est due principalement aux forces de frottement (shear stress) liées à la pulsatilité du flux sanguin. Les autres activateurs capables de stimuler la NO synthétase constitutive sont : l'acétylcholine, l'histamine, la vasopressine,

l'oxytocine, la substance P, la thrombine, l'ADP, la sérotonine et la bradykinine. Une autre NO synthétase endothéliale dite inductible est activée plus tardivement. L'activation de la NO synthétase inductible survient essentiellement au cours de la réaction inflammatoire (rôle du LPS bactérien, et des cytokines IL1, TNF α et IFN). Le NO, outre son effet vasorelaxant, a un effet inhibiteur de la prolifération des cellules musculaires lisses, de l'agrégation plaquettaire et de l'adhésion. Il inhibe la formation de l'EHDF et module la production d'endothéline. Les inhibiteurs de la phosphodiesterase-5, type Sildenafil, ont la capacité d'inhiber la dégradation du GMP cyclique, donc de retarder la dégradation du NO.

- **CO (monoxyde de carbone)** : il est produit par la cellule endothéliale en présence de l'hème-oxygénase 2. Il a une activité vasodilatatrice indépendante de la voie du NO.
- **Prostacycline (PGI₂) et autres eicosanoïdes** : l'acide arachidonique est relargué des membranes phospholipidiques via l'action de la phospholipase A2. Une fois produit, il peut soit s'oxyder, soit être converti via différentes voies biochimiques en prostaglandines, thromboxanes, leucotriènes et hydroperoxydes. Les cellules musculaires lisses portent des récepteurs pour les PGE₂, PGI₂, PGF₂ α et TXA₂. La stimulation des récepteurs primaires de PGD₂, des récepteurs de PGI₂ et PGD₂ entraîne une relaxation musculaire lisse par relargage intracellulaire d'AMP cyclique. La stimulation des autres récepteurs de PGE₂, le récepteur de PGF₂ et celui du TXA₂ entraîne une vasoconstriction via le relargage de calcium intracellulaire. Globalement PGE₂ et PGI₂ sont pro-inflammatoires, entraînant vasodilatation et augmentation de la perméabilité vasculaire tout en inhibant fortement l'agrégation plaquettaire. La production de PGI₂ par les cellules endothéliales est induite par les forces de frottement via une augmentation de l'expression des activités COX et PGI₂ synthases. La bradykinine, l'adénosine et la thrombine sont aussi des stimulateurs puissants de la production de PGI₂ endothéliale. La production locale de PGI₂ atténue la vasoconstriction induite par l'endothéline 1 (ET-1). L'équivalent pharmacologique du PGI₂, le Flolan®, administré en IV continu entraîne une diminution significative de la pression artérielle systémique et pulmonaire.
- **Facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium (EDHF)** : Il s'agit d'un facteur vasorelaxant différent du NO et du PGI₂. Il semble s'agir soit d'acide epoxyeicosatriénoïque ou d'un agoniste cannabinoïde tel l'anandamide. Ce facteur agirait en ouvrant les canaux du potassium dans la membrane cellulaire.
- **Angiotensine II** : l'angiotensine II (AT II) est un puissant vasoconstricteur qui agit via deux récepteurs AT RI et AT RII. La noradrénaline est un puissant stimulateur de la production et du relargage d'AT II. L'AT II stimule la production de NO par les cellules endothéliales en activant la NO synthétase constitutive via le récepteur AT RI. L'AT II stimule la prolifération des cellules musculaires lisses et l'angiogénèse.
- **Endothéline (ET)** : l'ET est produite par hydrolyse d'une prépro ET-1 de 212 acides aminés d'abord en big ET-1 de 38 résidus puis en ET active sous l'effet d'une convertase. L'ET est un peptide de 21 acides aminés qui existe en 3 isoformes avec des récepteurs sur les cellules endothéliales et musculaires lisses. Sa demi-vie est de 4 à 7 minutes. L'ET est produite en partie par les cellules endothéliales par la stimulation par les faibles forces de frottement. La noradrénaline et la thrombine, ainsi que l'hypoxie, l'AT II, l'insuline et divers facteurs de croissance, stimulent la sécrétion d'ET qui, à son tour stimule la phospholipase C **FIGURE 4**.

FIGURE 4 - Production cellulaire d'endothéline et facteurs de régulation



Il en résulte une accumulation de calcium intracellulaire qui active une contraction prolongée des cellules musculaires lisses. L'ET exerce un effet mitogène sur les cellules musculaires lisses. L'ET stimule la production de TXA_2 vasoconstrictive ainsi que la capacité à produire du NO, PGI_2 et PGE_2 qui induisent une vasorelaxation réactionnelle. PEG_2 et PGI_2 inhibent la production de l'ET. Il en est de même du NO et des peptides natriurétiques. On connaît deux récepteurs principaux de l'ET : ETA et ETB aux propriétés différentes : ETB fixe les trois isoformes d'ET1, 2 et 3 de façon équivalente, l'ETA est spécifique de ET1. La présence différentielle de ces deux récepteurs varie selon les tissus. Ces récepteurs sont produits en réponse aux mêmes stimuli que ceux qui induisent la production d'ET : hypoxie, AMP cyclique, EGF, bFGF stimulent alors que l'ET, l'AT II, le PGF et le TGF β diminuent l'expression d'ETA. L'AT II et le bFGF stimulent l'AMP cyclique et les catécholamines diminuent l'expression d'ETB. Les récepteurs ETA sont prédominants sur les cellules musculaires lisses où la liaison à l'ET entraîne une vasoconstriction. Il existe des inhibiteurs pharmacologiques non spécifiques de l'ET qui bloquent les récepteurs ETA et ETB tel le Bosentan (Tracleer®) et des inhibiteurs sélectifs de l'ETA, tel le Sitaxentan.

- **Purinorécepteurs :** Des récepteurs purinergiques appelés P2Y sont présents sur les cellules musculaires lisses et les cellules endothéliales. Les purines (adénine et guanine) sous forme de trinuécléotides sont relâchées par les cellules endothéliales et activent les plaquettes. Fixés sur les récepteurs P2Y, ils induisent la production de NO vasorelaxant. La tolérance à l'hypoxie de l'endothélium est améliorée par la préservation des nucléotides puriniques.
- **Neurotransmetteurs produits par la cellule endothéliale :** les cellules endothéliales sont capables de produire de la substance P, du CGRP et de l'acétylcholine. Il en est de même de certains cannabinoïdes endogènes (anandamide). La **FIGURE 3** résume les principaux médiateurs du tonus vasculaire.
- **Sérotonine :** La sérotonine ou 5-hydroxytryptamine (5-HT) est stockée dans les plaquettes après avoir été produite essentiellement par les cellules entérochromaffines du tractus digestif. Des taux circulants élevés de 5-HT, contrastant avec des taux intraplaquettaires abaissés ont été mesurés chez des sujets atteints d'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP). Divers anorexigènes dérivés de la fenfluramine ont été associés à des tableaux d'HTAP. Ces composés libèrent la 5-HT plaquettaire et empêchent sa recapture en agissant sur les transporteurs transmembranaires.

2^e partie Comment j'explore ?



1. Comment j'explore la circulation ?

■ En pratique, de la routine à la recherche : étude morphologique et fonctionnelle

Le clinicien dispose d'un ensemble de techniques morphologiques et fonctionnelles permettant d'explorer l'ensemble du réseau circulatoire.

■ *Le cœur*

Les plus courants : ECG, ponctuel ou enregistrement continu sur 24 heures, échographie transthoracique, scintigraphie myocardique de flux avec tests pharmacologiques. Troponine et CK-M traduisent la souffrance ischémique du myocarde, le BNP et NT-proBNP traduisent la souffrance myocardique. Le doppler tissulaire évalue l'état de la microcirculation myocardique. Angioscanner et IRM permettent d'évaluer la morphologie et la fonction du myocarde, des coronaires.

■ *La grande circulation*

- Pression artérielle ponctuelle ou enregistrement continu sur 24 heures
- Échographie des gros vaisseaux
- Doppler 2D et 3D explorant les parois artérielles, les éventuels rétrécissements en chiffrant le degré de diminution de calibre, la baisse des flux, la morphologie et le nombre des plaques d'athérome, les ulcérations éventuelles (risque de rupture de plaque)
- Scanner avec injection (angioscanner)
- Angio-IRM

■ *La microcirculation*

- Capillaroscopie : étude du flux (sludge) et des anomalies morphologiques et fonctionnelles des capillaires du lit de l'ongle
- Laser Doppler qui mesure les flux microcirculatoires d'une petite surface cutanée
- Dosage des produits des cellules endothéliales activées (ou lésées) F. Willebrand, E-sélectine, VCAM-1, ET, ... circulantes

■ *La circulation veineuse*

- Échographie-doppler du réseau profond (thrombose ?) et superficiel (dévalvulation et inversion de flux)
- Phlébographie (thrombose ?)

■ *La circulation pulmonaire*

- Pression artérielle pulmonaire évaluée indirectement par échographie transthoracique (reflux tricuspideen). Confirmation par prise de pression sanglante par cathétérisme droit
- Scintigraphie de perfusion et angio-scanner pulmonaire en cas de suspicion d'embolie pulmonaire
- Artériographie pulmonaire conventionnelle encore bien souvent nécessaire en cas d'HTAP post-embolique afin d'évaluer les possibilités d'endartériectomie



1. Modifications de l'endothélium au cours de l'inflammation ?

La paroi vasculaire, et en particulier l'endothélium, subit différentes modifications morphologiques durant l'inflammation : il se produit d'abord une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité qui résulte de la contraction endothéliale ou de la rétraction endothéliale. La plupart des médiateurs vasodilatateurs sont d'origine plasmatique ou proviennent des cellules sanguines : histamine, sérotonine, C3a, C5a (anaphylatoxines), bradykinine, leucotriènes, PAF. Les cellules endothéliales produisent également des médiateurs vasodilatateurs (PGI₂, NO, PAF) sous l'influence d'agonistes et de cytokines tels que la thrombine, l'histamine, LTC₄, IL1 et TNF α . Ces dernières cytokines, ainsi que l'IFN γ , entraînent en quelques heures une réorganisation du cytosquelette des cellules endothéliales et une contraction/rétraction qui va majorer la perméabilité vasculaire. Les leucocytes qui adhèrent aux cellules endothéliales vont libérer des formes réactives de l'oxygène et des métalloprotéases contribuant à la lésion endothéliale. La migration transendothéliale des leucocytes activés (par des complexes immuns ou des fragments du complément) vont augmenter la perméabilité vasculaire. Ce phénomène peut être majoré par des anticorps anticellules endothéliales vasculaires, fréquemment observés dans les connectivites et les vascularites. Les cellules endothéliales sont également capables de produire divers médiateurs (cytokines, chimiokines, facteurs de croissance...) qui vont favoriser l'adhésion des cellules sanguines à la paroi des capillaires **TABLEAU 3**.

TABLEAU 3 - Médiateurs de l'inflammation d'origine endothéliale

<p>Cytokines</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Interleukines 1 (IL1) ■ Interleukine 6 (IL6) ■ Interleukine 8 (IL8) <p>Chimiokines</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP1) ■ Growth-regulated oncogène α (Groα) 	<p>Facteurs de croissance</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Endothelial cell-derived growth factor (ECGF) ■ Transforming growth factor β (TGFβ) ■ Colony-stimulating factors : <ul style="list-style-type: none"> - granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) - granulocyte macrophage-stimulating factor (GM-CSF) <p>Autres</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Platelet activating factor (PAF) ■ Monoxyde d'azote (NO) ■ Prostacycline (PGI₂)
---	--

2. Adhésion leucocyte - cellule endothéliale

L'adhésion des leucocytes (polynucléaires, monocytes, lymphocytes) aux cellules endothéliales est un événement clé de la réaction inflammatoire, conduisant à la transmigration de ces cellules vers les sites inflammatoires. Cette interaction est rendue possible par la reconnaissance de molécules spécialisées présentes à la surface des cellules endothéliales soit de façon constitutive, soit induites par diverses cytokines (IL1 et TNF α) et de récepteurs correspondant sur les leucocytes.

■ **Les différents temps de la margination des leucocytes**

On distingue schématiquement 4 temps successifs :

■ *Le rolling*

Les leucocytes ralentissent leur flux et se mettent à « rouler » à la surface des cellules endothéliales.

■ *L'activation*

Sous l'influence de chemo-attractants, les leucocytes expriment certains cosignaux de surface (intégrines) plus activement, ce qui renforce l'interaction avec les récepteurs endothéliaux.

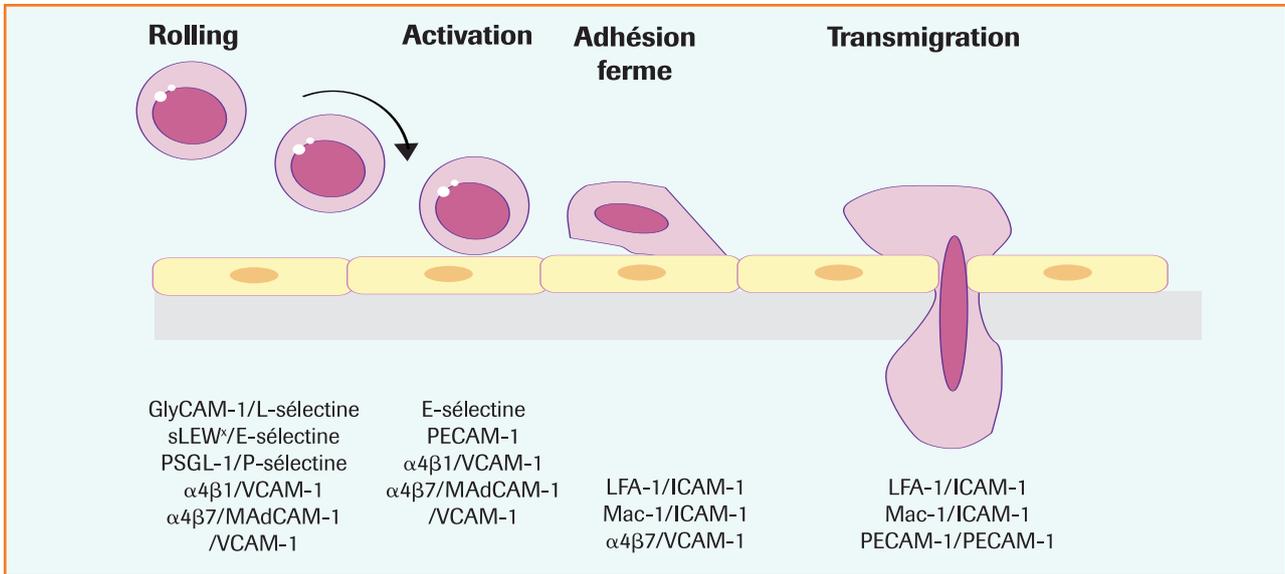
■ **L'adhésion ferme**

Elle met en jeu ces interactions réciproques. Les leucocytes sont amarrés fortement à l'endothélium.

■ **La transmigration ou diapédèse**

Les leucocytes traversent la couche endothéliale pour gagner à travers la paroi le conjonctif, siège de la réaction inflammatoire **FIGURE 5**.

FIGURE 5 - Les différents temps de la margination des leucocytes : rôle des adhésines (intégrines, sélectines)



■ **Les familles des molécules d'adhésion**

On distingue 3 groupes de familles principaux qui, selon les situations sont présentes comme récepteurs sur l'endothélium ou sur les leucocytes, ou comme ligand sur ces mêmes cellules. Ces 3 familles sont les intégrines, la superfamille des immunoglobulines à laquelle appartiennent les CAM (cellular adhesion molecules) et les sélectines **TABLEAU 4**.

TABLEAU 4 - Les principales molécules d'adhésion

Superfamille des molécules d'adhésion	Récepteur sur l'endothélium	Ligand(s)
Intégrine	$\beta 1$ intégrines	Composants de matrice extracellulaire (laminine, vitronectine, collagène, fibronectine, etc...)
	$\alpha 4\beta 1$ intégrine	VCAM-1, fibronectine
	$\alpha \nu \beta 3$ intégrine	Composants de matrice extracellulaire (fibronectine, fibrinogène thrombospondine)
Immunoglobuline	ICAM-1 (CD54)	$\beta 2$ intégrines : LFA-1, Mac-1
	VCAM-1 (CD106)	$\alpha 4\beta 1$ et $\alpha 4\beta 7$
	LFA-3 (CD58)	CD2
	PECAM-1 (CD31)	Homophile, $\alpha \nu \beta 3$
Sélectine	E-sélectine (CD62E)	ESL-1, PGSL-1, CLA
	P-sélectine (CD62P)	PSGL-1
Cadherine	VE-cadherine	Homophile
Autres	CD44	Acide hyaluronique
	Endogline	TGF- β
	VAP-1	?

■ Intégrines

Il s'agit d'une superfamille comportant 30 protéines homologues impliquées dans les contacts cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire **TABLEAU 5**.

TABLEAU 5 - Classification des intégrines

Sous unités	Nom	Ligands/récepteurs	Fonctions
β1	α1 VLA-1 (CD49aCD29)	Collagène, laminine	Adhésion de la cellule-matrice extracellulaire (MEC)
	α2 VLA-2 (CD49bCD29)	Collagène, laminine	Adhésion de la cellule à la MEC
	α3 VLA-3 (CD49cCD29)	Fibronectine, collagènes, laminine	Adhésion de la cellule à la MEC
	α4 VLA4 (CD49dCD29)	Fibronectine, VCAM-1, MadCAM-1	Adhésion de la cellule à la MEC ; Homing ; costimulation cellules T ?
	α5 VLA-5 (CD49eCD29)	Fibronectine	Adhésion de la cellule à la MEC
	α6 VLA-6 (CD49fCD29)	Laminine	Adhésion de la cellule à la MEC
	α7 CD49gCD29	Laminine	Adhésion de la cellule à la MEC
	α8 CD49hCD29	?	?
	αv CD51CD29	Vibronectine, fibronectine	Adhésion de la cellule à la MEC
β2	αL CD11aCD18 (LFA-1)	ICAM-1 (CD54), ICAM-2, ICAM-3	Adhésion des leucocytes à l'endothélium ; adhésion cellules T – APC ; costimulation cellules T ?
	αM CD11bCD18 (Mac-1, CR3)	iC3b, fibrinogène, facteur X, ICAM-1	Adhésion leucocytes et phagocytose ; adhésion de la matrice cellulaire
	αX CD11cCD18 (p150,95 ; CR4)	iC3b, fibrinogène	Adhésion leucocytes et phagocytose ; adhésion de la matrice cellulaire
β3	αIIb GPIIb/IIIa (CD41CD61)	Fibrinogène, fibronectine, facteur Willebrand, vitronectine, thrombospondine	Adhésion des plaquettes et agrégation
	αV Récepteur fibronectine (CD51CD61)	Fibrinogène, fibronectine, facteur Willebrand, thrombospondine, fibronectine, ostéopontine, collagène	Adhésion de la cellule à la MEC
β4	α6 CD49fCD104	Laminine	Adhésion de la cellule à la MEC
β5	αV	Vitronectine	Adhésion de la cellule à la MEC
β6	αV	Fibronectine	Adhésion de la cellule à la MEC
β7	α4 LPAM-1	Fibronectine, VCAM-1, MadCAM-1	Lymphocyte homing des tissus lymphoïdes des muqueuses
	αE HML-1	E-cadhérine	Rétention des cellules T intraépithéliales

Il s'agit de protéines hétérodimériques composées de 2 chaînes polypeptidiques α et β non liées par liaison covalente. Certaines intégrines se fixent sur les séquences RGD (arginine - glycine - acide aspartique) sur la fibronectine et la vitronectine. Selon le type de chaîne β on distingue différents types d'intégrines. Ainsi les intégrines β1 sont appelées molécules VLA (very late activation) car elles sont exprimées tardivement sur les lymphocytes T stimulés *in vitro* : à une chaîne β1 s'associe une chaîne α. La plupart des intégrines β1 sont exprimées sur les leucocytes et les cellules extrahématopoïétiques. VLA4 (α4β1) médie l'attachement des leucocytes aux cellules endothéliales en fixant VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule -1), molécule de la superfamille des Ig. VLA4 est une des principales molécules qui médie le « homing » (domiciliation) des lymphocytes sur les veinules postcapillaires aux sites de l'inflammation. Les intégrines β2, connues sous le nom de LFA-1 (leucocyte function – associated antigen-1) Mac-1 et p150-95 jouent un rôle important dans l'adhésion des lymphocytes (LFA-1), des polynucléaires (Mac-1) et des monocytes (p150-95) à la cellule endothéliale (mais aussi aux cellules présentatrices d'antigène) (LFA-1). La nomenclature des clusters de différenciation la nomme CD11aCD18. Les autres propriétés de LFA-1 sont résumées dans le **TABLEAU 5**. Les ligands principaux de LFA-1 sont ICAM-1 (intercellular adhesion molecule -1 ou CD54) exprimés sur de nombreuses cellules dont les cellules endothéliales

ainsi que ICAM-2 et ICAM-3. L'exposition des lymphocytes T à diverses chimiokines et la stimulation du récepteur clonotypique (TCR) augmente l'avidité des intégrines pour leurs ligands. De même les cytokines inflammatoires augmentent l'expression des ligands des intégrines $\beta 2$ sur les cellules endothéliales. Les intégrines jouent également un rôle essentiel dans l'interaction des polynucléaires et des macrophages avec les cellules endothéliales.

■ **Molécules d'adhésion de la superfamille des immunoglobulines**

(LFA-3, et CD2 son contre récepteur, appartiennent également à cette catégorie de molécules d'adhésion). Entrent dans cette catégorie, les ICAM-1 et VCAM-1, déjà mentionnées, et accessoirement MadCAM-1 (mucosal adhesion cell adhesion molecule -1) exprimées sur les cellules endothéliales des organes digestifs, GlyCAM-1 (glycan-bearing cell adhesion molecule -1), protéoglycane sécrété présent sur les veinules des ganglions. Ces molécules jouent le rôle de molécule d'adressage pour les lymphocytes recirculants et fixent les sélectines. PECAM-1 (platelet endothelial cell adhesion molecule) (CD31) intervient dans la transmigration des polynucléaires et des lymphocytes T à travers l'endothélium. PECAM-1 reconnaît une autre molécule PECAM-1 (interactions homotypiques).

■ **Sélectines et ligands de sélectines** **TABLEAU 6**

TABLEAU 6 - Classification des sélectines

Sélectine	Taille	Distribution	Ligand
L-sélectine (CD62L)	90-110 kDa (variation due à la glycosylation)	Lymphocytes (haute expression sur les cellules naïves T, basse expression sur T activées et T mémoire)	Glycosaminoglycans sulfate sur GlyCAM-1, CD34, MadCAM-1, autres
E-sélectine (CD62E)	110 Kda	Endothélium activé par les cytokines (TNF α , IL1)	Sialylated Lewis ^x et glycans apparentés (e.g., CLA-1) sur glycoprotéines
P-sélectine (CD62P)	140 kDa	Stockage dans les granules et surface de l'endothélium et des plaquettes	Sialylated Lewis ^x et glycans apparentés sur PSGL-1 et autres glycoprotéines

Il existe 3 types différents de sélectines impliquées dans l'adhésion des leucocytes aux cellules endothéliales :

- L-sélectine (CD62L) exprimée sur les leucocytes et les lymphocytes. Sur les lymphocytes, elle sert de molécule de domiciliation en reconnaissant la GlyCAM-1 sur les veinules des ganglions. Sur les polynucléaires, ils interviennent dans le « rolling » sur les cellules endothéliales activées par les cytokines inflammatoires (TNF α , IL1, IFN γ). Les ligands endothéliaux de la L-sélectine sont GlyCAM-1, Mad-CAM-1 et CD34 (protéoglycane)
- E-sélectine (CD62E) (endothelial leukocyte adhesion molecule -1), est exprimée exclusivement par les cellules endothéliales activées. Elle reconnaît des groupements carbohydrates apparentés aux familles Lewis^x ou Lewis A que l'on trouve sur les monocytes, les polynucléaires, les lymphocytes T activés. La E-sélectine intervient dans la domiciliation des lymphocytes cutanés en reconnaissant un ligand particulier appelé CLA-1 (cutaneous lymphocyte antigen -1) sur les lymphocytes T.
- P-sélectine (CD62P) : présente dans les granules sécrétoires des plaquettes, elle est également présente dans les corps de Weibel Palade des cellules endothéliales. Dès que plaquettes ou cellules endothéliales sont activées, la P-sélectine est transloquée sur la membrane et médie la fixation des polynucléaires, des monocytes et des lymphocytes T à ces cellules. Les ligands reconnus sont les mêmes que ceux de la E-sélectine avec en plus un PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand -1). Les 3 sélectines médient l'attachement lâche des leucocytes à l'endothélium, mais la E-sélectine est également impliquée dans l'attachement de forte affinité **FIGURE 5**.

■ **Autres molécules d'adhésion**

CD44 est un récepteur pour le hyaluronate. L'endogline est un récepteur pour le TGF $\beta 1$, la cadhérine -VE est impliquée dans les contacts entre cellules endothéliales **TABLEAU 4**.

■ **La cinétique d'expression des molécules d'adhésion endothéliales**

La P-sélectine endothéliale est inductible par l'histamine ou la thrombine en quelques secondes. La E-sélectine n'est pas exprimée à l'état basal (endothélium au repos), mais est induite par TNF α et l'IL1 en moins d'une heure avec un pic maximal après 4-6 heures. VCAM-1 est exprimée constitutivement mais son expression est très augmentée par l'IL1, le TNF α , l'IL4. Son expression est maximale 24 heures après stimulation

cytokinique. ICAM-1 est peu exprimée à l'état basal, mais son expression augmente après IL1, TNF α ou IFN γ avec une expression endothéliale maximale au delà de 24 heures donc après le pic d'expression de E-sélectine et de VCAM-1.

- **Le rôle des chimiokines dans la migration des globules blancs marginés vers le foyer inflammatoire**
Les chimiokines sont des cytokines chimiotactiques qui jouent un rôle important dans le recrutement des leucocytes et les processus d'angiogenèse. Les chimiokines, au nombre d'au moins 50, sont classées en 4 superfamilles selon la place des résidus cystéine qui forment des ponts disulfures intracaténaux : les 4 groupes sont les CXC, CC, C et CX3C. À partir de 2000, une nouvelle nomenclature des chimiokines ligands a été proposée utilisant cette classification en 4 superfamilles avec le suffixe « L » suivi d'un numéro, et leur récepteur a reçu un suffixe « R » suivi d'un numéro qui ne correspond pas toujours au même numéro que celui de la chimiokine ligand qui se fixe sur le récepteur (un récepteur accepte souvent plusieurs chimiokines) (voir chapitre 5 de cet ouvrage). Des récepteurs de chimiokines sont propres à certaines catégories de cellules : polynucléaires neutrophiles (CXCR1, CXCR2), monocytes (CCR1, CCR5, CCR2), lymphocytes T (CXCR4), plasmocytes (CXCR6), mais selon les tissus plusieurs types cellulaires ont souvent le même récepteur : monocytes, polynucléaires et cellules endothéliales ont des récepteurs CXCR2 par exemple. Le **TABLEAU 7** synthétise la nouvelle nomenclature et les anciens noms de ces facteurs chimiotactiques ou angiogéniques impliqués dans la réaction inflammatoire.

TABLEAU 7 - les 4 familles de chimiokines et leurs récepteurs

	Récepteur	Chimiokines ligand	Types cellulaires
Famille CC	CCR1	CCL3 (MIP-1 α), CCL5 (RANTES), CCL7 (MCP-3), CCL14 (HCC1)	Cellules T, monocytes, éosinophiles, basophiles
	CCR2	CCL2 (MCP-1), CCL8 (MCP-2), CCL7 (MCP-3), CCL13 (MCP-4), CCL16 (HCC4)	Monocytes, cellules dendritiques (immatures), cellules T mémoire
	CCR3	CCL11 (eotaxin), CCL13 (eotaxin-2), CCL7 (MCP-3), CCL5 (RANTES), CCL8 (MCP-2), CCL13 (MCP-4)	Eosinophiles, basophiles, cellules mastocytes TH2, plaquettes
	CCR4	CCL17 (TARC), CCL22 (MDC)	Cellules T (Th2), cellules dendritiques (matures), basophiles, macrophages, plaquettes
	CCR5	CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (eotaxin), CCL14 (HCC1), CCL16 (HCC4)	Cellules T, monocytes
	CCR6	CCL20 (MIP-3 β , LARC)	Cellules T (T régulatrices et mémoire), cellules B, cellules dendritiques
	CCR7	CCL19 (ELC), CCL21 (SLC)	Cellules T, cellules dendritiques (matures)
	CCR8	CCL1 (I309)	Cellules T (Th2), monocytes, cellules dendritiques
	CCR9	CCL25 (TECK)	Cellules T, plasmocytes à IgA
	CCR10	CCL27 (CTACK), CCL28 (MEC)	Cellules T
Famille CXC	CXCR1	CXCL8 (interleukine 8), CXCL6 (GCP2)	Neutrophiles, monocytes
	CXCR2	CXCL8, CXCL1 (Gro α), CXCL2 (Gro β), CXCL3 (Gro γ), CXCL5 (ENA-78), CXCL6	Neutrophiles, monocytes, cellules vasculaires endothéliales
	CXCR3-A	CXCL9 (MIG), CXCL10 (IP-10), CXCL11 (I-TAC)	Cellules helper type 1, mastocytes, cellules mésangiales
	CXCR3-B	CXCL4 (PF4), CXCL9 (MIG), CXCL10 (IP-10), CXCL11 (I-TAC)	Cellules endothéliales microvasculaires, cellules néoplasiques
	CXCR4	CXCL12 (SDF-1)	Largement exprimée
	CXCR5	CXCL13 (BCA-1)	Cellules B, cellules folliculaires T helper
	CXCR6	CXCL16 (DR-PSOX)	Cellules T CD8+, cellules natural killer et cellules T mémoires CD4+
Famille CX3C	CX3CR1	CX3CL1 (fractalkine)	Macrophages, cellules endothéliales, cellules muscle lisse
Famille XC	XCR1	XCL1 (lymphotactine), XCL2	Cellules T, cellules natural killer

3. Comment j'explore l'endothélium ?

Les atteintes de l'endothélium peuvent être fonctionnelles ou structurales, réversibles ou non. Si on excepte les atteintes héréditaires dont la plus fréquente est la maladie de Willebrand (déficit en facteur Willebrand dont il existe plusieurs variétés), la plupart sont acquises et résultent de mécanismes très divers : physiques, mécaniques, métaboliques, infectieux, inflammatoires, immunologiques, iatrogènes... Les modalités d'exploration de l'endothélium vasculaire sont divisées en 3 catégories :

- Dosages plasmatiques
- Détections immunohistologiques
- Mesure des cellules endothéliales circulantes

■ Dosages plasmatiques

■ Marqueurs explorant le rôle de l'endothélium dans le tonus vasculaire

Il s'agit de dosages utilisés en recherche ou à l'occasion de protocoles cliniques. Citons :

- *Le dosage plasmatique ou urinaire des dérivés stables inactifs du PGI₂* tel le 6-keto-PGF1 α dont les taux seront stimulés par la thrombine, la bradykinine, les forces de frottement, le contact avec les leucocytes activés.
- *Le dosage de NO* synthétisé à partir d'oxygène et de L-arginine, sous l'effet des NO synthases, stimulé par les catécholamines, l'histamine, la bradykinine, l'ADP, la thromboxane A2 et la thrombine, reste du domaine de la recherche.
- *L'angiotensine II* est produite à partir de l'angiotensine I inactive sous l'effet de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE). Elle peut être dosée par technique RIA ou photométrique.
- *L'endothéline* puissant vasoconstricteur, produit par la cellule endothéliale peut être dosée par RIA. Son rôle dans l'HTAP primitive ou secondaire à une connectivite en fait une cible de choix pour les thérapeutiques visant à diminuer les pressions dans la petite circulation.

■ Marqueurs explorant le rôle de l'endothélium dans les réponses inflammatoires et immunitaires

Les récepteurs d'adhésion et leurs ligands leucocytaires sont présents à la surface des membranes plasmatiques, mais également dans le plasma, soit par synthèse d'une forme tronquée (sans domaine intramembranaire et cytoplasmique), soit par hydrolyse de la forme membranaire. Le dosage de ces molécules prend tout son intérêt comme marqueur d'activation endothéliale dans différentes atteintes vasculaires thrombogéniques inflammatoires (infections, vascularites, lupus, rejet de greffe, métastases cancéreuses, infarctus du myocarde, malaria, septicémies). On dose ainsi par ELISA les E-sélectines (CD62E), P (CD62P), les principaux membres de la super famille des immunoglobulines ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102), VCAM-1 (CD106). Le dosage de la E-sélectine, sélectivement d'origine endothéliale, semble le plus intéressant dans l'exploration des atteintes endothéliales inflammatoires.

■ Études immunohistologiques

Il s'agit de méthodes réservées à la recherche et à la transplantation faisant appel à des immunomarquages des coupes histologiques d'antigène de surface constitutifs ou induits. On utilise des monoclonaux permettant de caractériser le phénotype endothélial, mais aussi des marqueurs d'adhésion plus courants comme la E-sélectine, l'ICAM-1 ou le VCAM-1.

■ Mesure des cellules endothéliales circulantes

La lésion irréversible de l'endothélium aboutit à la libération de cellules endothéliales de l'intima et à la mise à nu du conjonctif sous-intimal. Les cellules endothéliales libérées peuvent être dosées dans le sang total, en particulier par cytométrie de flux. L'endothéliémie est confirmée dans divers processus infectieux par des germes à tropisme endothélial (CMV, Rickettsies) dans la drépanocytose, le PTT, les angioplasties coronariennes, les sclérodermies systémiques diffuses...

4. Exemples de maladies inflammatoires

■ Athérosclérose et maladies inflammatoires

■ Définition

Selon la définition de l'OMS l'athérosclérose est une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyen calibres. Elle consiste en une accumulation locale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôts calcaires. Le tout est accompagné de modification de la média. L'étape cruciale de la constitution de la plaque d'athérome semble être la présence de lipoprotéines oxydées (ox-LDL) dans l'espace sous-endothélial qui entraîne l'expression locale de facteurs cytokiniques et chimiokines responsables de l'infiltration de la paroi par des monocytes et des lymphocytes T. L'athérosclérose est considérée comme une maladie immuno-inflammatoire, les différents composants du système immunitaire inné et adaptatif assurant un rôle délétère et parfois protecteur dans le devenir de la maladie.

■ Physiopathologie de l'athérosclérose

- La lésion typique ou plaque athéromateuse se constitue de façon très progressive depuis la naissance d'un individu jusqu'à l'âge de 40 ans lorsque se constitue la plaque fibreuse, stade ultime de l'athéromatose non compliquée. Les complications thrombotiques surviennent en cas de rupture de la chape fibreuse ou d'hémorragie intraplaque qui active les phénomènes de coagulation dans la lumière vasculaire. Les 7 stades anatomiques sont regroupés dans le **TABLEAU 8**.

TABLEAU 8 - Évolution de la plaque athéromateuse en 7 stades anatomiques

Âge d'apparition	Stade évolutif	Mécanisme dominant
0-15 ans	Type I : macrophages spumeux isolés Type II : strie lipidique	Accumulation de lipides
15-35 ans	Type III : strie lipidique et dépôts extracellulaires de lipides Type IV : cœur lipidique	
> 30-40 ans	Type V : plaque athéroscléreuse	Fibrose
	Type VI : plaque athéroscléreuse compliquée : - rupture chape fibreuse - hémorragie intraplaque - thrombose Type VII : plaque fibreuse	Hémorragie Thrombose

- Différents types cellulaires interviennent dans la constitution des lésions : les cellules endothéliales, les plaquettes, les cellules monocytes-macrophages et les lymphocytes T surtout CD4+, B accessoirement, impliquant l'intervention de l'immunité innée et adaptative **TABLEAU 9**.

TABLEAU 9 - Principales cytokines et types cellulaires de la plaque d'athérome

Cytokine	Endothéliale	Musculaire lisse	Macrophages	Lymphocytes
IL1	+	+	+	-
TNF α	0	+	+	+
LT (TNF β)	0	0	0	+
IL2	0	0	0	+
IL6	+	+	+	0
IL8	+	0	+	0
MCP-1	+	+	+	0
IFN γ	0	0	0	+
PDGF/TGF β	+/+	+/+	+/+	0
M-CSF	+	+	+	+
IL18	0	+	+	0
IL15	0	0	+	0
IL12	0	0	+	0
MIF*	0	0	+	+

*Macrophage migration inhibitory factor

- Les facteurs d'agression à l'origine de la réaction immuno-inflammatoire peuvent se répartir en 5 catégories et appartiennent soit au domaine de l'inné (prédisposition génétique), soit au domaine de l'acquis :
 - **Traumatiques** : avec l'HTA et les coups de semonce hémodynamique
 - **Émotionnels** : avec le stress
 - **Alimentaires et toxiques** : avec le tabac, le cholestérol LDL, les acides gras alimentaires, les radicaux libres, le diabète, l'homocystéine
 - **Infectieux** : avec le virus Herpès, *Chlamydia pneumoniae* et *Helicobacter pylori* pour ne citer que les germes ayant des arguments épidémiologiques sérologiques et immunohistochimiques
- L'initiation des lésions survient sous l'influence des forces hémodynamiques agissant sur les cellules endothéliales. Celles-ci induisent l'activation des gènes codant pour la NO synthase endothéliale. La rétention du LDL et des lipoprotéines contenant de l'Apo-B est l'événement initiateur principal. Ces lipides interagissent avec la matrice et subissent des modifications oxydatives avec les espèces réactives de l'oxygène incluant les produits de la 12/15 lipoxygénase telle l'HPETE. Cette oxydation des LDL est inhibée par les HDL qui contiennent une protéine sérique antioxydante : le paraoxonase.
- Les LDL légèrement oxydées stimulent les cellules endothéliales qui produisent alors des molécules d'adhésion, des protéines chimiokines telle MCP-1 (CCL-2) et des facteurs de croissance tel le MCSF, lesquels vont recruter les monocytes via le récepteur de chimiokine CCR-2. Les LDL oxydées (ox-LDL) vont aussi inhiber la production du NO, lequel est vasodilatateur et inhibiteur de l'expression des molécules d'adhésion pour les leucocytes. On observe donc une augmentation des molécules d'adhésion endothéliales : ICAM-1, P-sélectine, E-sélectine, PCAM-1 et VCAM-1, et sur les monocytes une expression des intégrines $\beta 2$ (VLA4 et PCAM-1). En cas de diabète sucré des produits de dégradation glyqués sont formés dans le sang et induisent une inflammation via des récepteurs endothéliaux spécifiques.
- Dans la paroi vasculaire l'oxydation de LDL se renforce sous l'action d'espèces réactives de l'oxygène et d'enzymes telles la sphingomyélinase, la phospholipase A2 sécrétée, d'autres lipases et la myéloperoxydase (MPO). Les LDL oxydées agrégées sont reconnues par des récepteurs macrophagiques dits « éboueurs » appelés SR-A, CD36 et CD68. Ces récepteurs de ox-LDL sont exprimés après stimulation par le $\text{TNF}\alpha$ ou l' $\text{IFN}\gamma$. Les ox-LDL phagocytées en abondance transforment les macrophages en cellules spumeuses typiques de la lésion d'athérome. La nécrose ou l'apoptose de ces cellules spumeuses laisse en place une masse croissante de lipides extracellulaires et des débris.
- Les autres cellules peuplant la plaque d'athérome sont les lymphocytes T attirés dans le foyer par les chimiokines IP10 (interféron inductible protéin 10), Mig (monokine induced by $\text{IFN}\gamma$) et I-TAC (IFN inductible T cell α chemoattractant) via leurs récepteurs CXCR3 et des mastocytes attirés par l'éotaxine via leurs récepteur CCR3.
- La formation de la plaque fibreuse passe par la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses. Celle-ci est stimulée par des taux élevés d'homocystéine et l'angiotensine II. L'interaction du système CD40-CD40 ligand (CD40L) stimule lymphocytes TH1 et macrophages qui expriment des cytokines tels l' $\text{IFN}\gamma$, l'IL1, le $\text{TNF}\alpha$ qui favorisent l'inflammation, la multiplication des cellules musculaires lisses, la production de facteur tissulaire (TF). Les cellules musculaires lisses migrées dans l'intima constituent le dôme fibreux de la plaque d'athérome. Plus ce dôme est épais et fibreux, plus la plaque est solide et moins le risque de rupture est grand. La composition cellulaire de la plaque d'athérome varie selon le degré de fibrose de la plaque : 205 ± 18 cellules/ mm^3 avec 29% de cellules musculaires lisses, 60% de macrophages et 11% de lymphocytes T pour seulement $91 \pm 8/\text{mm}^3$ au niveau de la chape fibreuse dont 60% de cellules musculaires lisses, 23% de macrophages et 17% de lymphocytes T.
- L'occlusion du vaisseau est la conséquence, soit d'hémorragies intraplaques, soit d'une rupture d'un dôme fibreux trop mince qui le rend vulnérable à l'action de différentes métalloprotéases : MMP1, MMP2, MMP3, MMP8, MMP9, MMP13, cathepsine, qui dégradent la matrice extracellulaire. L' $\text{INF}\gamma$ inhibe la production de la matrice extracellulaire par les cellules musculaires lisses. La rupture de la plaque survient souvent aux bords de la plaque riche en cellules spumeuses favorisée par des événements telle une infection aiguë qui stimule la production de facteur tissulaire (TF) et diminue celle de l'activateur du plasminogène. L'angiogenèse des petits vaisseaux de la média (rôle du VEGF) fournit une voie d'accès pour les cellules inflammatoires dont l'abondance favorise la rupture. La calcification intimale, phénomène actif au cours duquel les péricytes secrètent une matrice support secondairement calcifiée jouerait un rôle protecteur de la rupture.

- La mise à nu de la région sous-endothéliale de la plaque va entraîner adhésion, agrégation et activation des plaquettes, puis la formation du caillot de fibrine.
- Certains mécanismes de protection vis-à-vis de l'athérosclérose ont été récemment mis en évidence et font l'objet d'études cliniques préventives sur les populations à risque. C'est le cas d'une catégorie de facteurs de transcription appelés PPAR (peroxisome proliferator activated receptors) dont on distingue 2 types principaux aux fonctions anti-athérogènes différentes :
 - PPAR α exprimés par les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses, les monocytes macrophages et les lymphocytes T. Ces facteurs de transcription sont activés par les acides gras polyinsaturés et par les fibrates. Ils diminuent l'expression de VCAM-1 endothélial, ils augmentent la production de NO synthase, ils réduisent la formation des stries lipidiques et des cellules spumeuses en favorisant l'afflux de cholestérol via l'Apo A-I.
 - PPAR γ est un régulateur de l'homéostasie glucidique et de l'adipogenèse. Présent sur les mêmes cellules que PPAR α , ce facteur de transcription se lie à différents acides gras, à des dérivés de prostaglandines et aux glitazones, médicaments utilisés pour augmenter la sensibilité des cellules à l'insuline dans le diabète de type II. Les agonistes de PPAR γ ont un rôle anti-athérogène par une action antiangiogénique (inhibition de l'expression du VEGF). Ils inhibent la migration des cellules musculaires lisses, l'expression de MMP9, augmentent la production d'IL1 Ra et réduisent le contenu lipidique des plaques d'athérome. Chez l'homme, les agonistes de PPAR γ diminuent le taux de la CRP, le nombre de globules blancs par mm³, le taux de MMP9 circulante et ceux de TNF α et de sCD40L. Les agonistes PPAR γ (glitazones) seraient cependant à l'origine d'une augmentation de l'incidence des infarctus du myocarde. Rappelons aussi leur effet ostéopéniant et fragilisant (augmentation du taux de fracture des membres inférieurs chez les femmes diabétiques traitées par rosiglitazone).

■ Facteurs de risque

- Les études épidémiologiques dominées par la cohorte de Framingham ont permis de dégager les facteurs de risque traditionnels de l'athérosclérose résumés dans le **TABLEAU 10**.
- À côté de ces « majors », d'autres facteurs de risque ont fait leur apparition et plusieurs d'entre eux soulignent le rôle de l'inflammation chronique : il s'agit de l'élévation de la CRP, du fibrinogène mais aussi de l'existence d'une maladie immunologique tels le lupus systémique ou la polyarthrite rhumatoïde.

TABLEAU 10 - Facteurs de risque d'athérosclérose (d'après les enquêtes épidémiologiques) et d'accidents thrombotiques cardiovasculaires

Framingham	<ul style="list-style-type: none"> • Âge • HTA (> 140/90) diastolique ou systolique • Tabac • Hypercholestérolémie (> 2g/l) / hyper LDL cholestérol / hypo HDL cholestérol • Obésité : MC > 30 (poids/taille²) ou tour de taille/tour de hanche > 0,8 F, 1H • Diabète sucré (à jeun > 1,26 g/l) et syndrome métabolique* • Hyperleucocytose totale
Autres facteurs de risque	<ul style="list-style-type: none"> • Apo B élevée • Lp(a) élevée • Fibrinogène élevé • CRP élevée • ICAM-1 soluble élevé • Homocystéinémie élevée • PAI-1 élevé (inhibiteur de type I de l'activateur du plasminogène) • Polymorphisme gène MMP-3 • Lupus systémique • Polyarthrite rhumatoïde • Autres rhumatismes inflammatoires chroniques (?) • sCD40 L circulant élevé • TF circulant élevé • BNP (propeptide natriotétique N-terminal atrial) élevé • Activité MPO circulante élevée

*associe : résistance à l'insuline (intolérance au glucose, hyperinsulinémie), hypertriglycéridémie, baisse du HDL cholestérol, HTA et plus largement : excès pondéral, répartition androïde des graisses, inflammation, microalbuminurie, hyperuricémie, anomalies de la fibrinolyse ou de la coagulation.

■ CRP, inflammation et risque cardiovasculaire

Il existe une relation directe entre le risque de complication coronarienne thrombotique et le chiffre de la CRP, même si ce chiffre reste dans les limites de la normale (mesure de CRP ultrasensible). En divisant les populations coronariennes en quintiles selon le chiffre de la CRP, il existe une augmentation linéaire du risque de récurrence avec les taux de CRP : RR de 1,4 ; 1,6 ; 2 et 2,3. La CRP joue un rôle important dans

le développement de la plaque d'athérome. Ainsi elle diminue la production de NO endothélial et la sécrétion de prostacycline. Elle augmente le chimiotactisme induit par la MCP-1, elle augmente l'IL8 chimiokine des polynucléaires, et elle augmente l'activité MMP-1. La production insuffisante de NO va augmenter le tonus vasculaire, l'activation plaquettaire et la prolifération intimale. La CRP intervient dans l'opsonisation et l'élimination des complexes immuns. Les mécanismes de l'athérogenèse médiée par la CRP sont résumés dans le **TABLEAU 11**.

TABLEAU 11 - Principaux mécanismes de l'athérogenèse induite par la protéine réactive C (CRP)

1. Induction des molécules d'adhésion sur l'endothélium (ICAM-1, VCAM-1, E-sélectine)
2. Activation du NFκB dans les cellules de l'endothélium artériel et les cellules spumeuses
3. Stimulation des cytokines inflammatoires par les cellules endothéliales artérielles et les cellules spumeuses (IL1β, IL6, TNFα)
4. Induction de la chimiokine MCP-1 par les cellules endothéliales artérielles
5. Induction d'endothéline-1 par l'endothélium artériel
6. Relargage d'IL6R par les cellules spumeuses formant complexe avec l'IL6 circulante
7. Inhibition de la NO synthase endothéliale et baisse de l'activité NO
8. Augmentation de l'adhésion des monocytes macrophages à l'endothélium artériel
9. Induction de facteur tissulaire (TF) sur les cellules endothéliales et les cellules spumeuses
10. Augmentation de la captation des ox-LDL par les macrophages intimaux avec formation de cellules spumeuses
11. Activation du complément et facilitation de la capture du LDL par les macrophages intimaux
12. Augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les cellules spumeuses et musculaires lisses
13. Augmentation de la migration des cellules musculaires lisses et leur prolifération via une augmentation du récepteur de l'angiotensine de type 1

■ *Prévalence des complications coronariennes et cérébrovasculaires au cours des rhumatismes inflammatoires chroniques*

- Qu'il s'agisse de séries anatomiques ou d'études prospectives, la prévalence de la maladie coronarienne (angor et/ou infarctus du myocarde) au cours du lupus systémique varie dans toutes les séries entre 5 et 15%, atteignant 20 à 50% dans les séries autopsiques. Ces chiffres sont d'autant plus impressionnants qu'il s'agit de femmes souvent jeunes. L'incidence cumulée atteint 1,5% avec un risque multiplié par 5 ou 6, voire 50 dans la tranche d'âge 35-44 ans aux États Unis. Les complications thrombotiques de l'athérosclérose constituent la 3^{ème} cause de mortalité après la maladie elle-même (rein) et les complications infectieuses. Les explorations non invasives menées systématiquement ont confirmé la fréquence de l'athérosclérose, qu'il s'agisse de la mesure au doppler de l'épaisseur intima-média, bon témoin de la survenue d'une cardiopathie ischémique, ou de la recherche de plaques d'athérome carotidiennes qui atteint 37% chez les lupiques contre 15% des témoins, ou de calcifications coronariennes 2 à 3 fois plus fréquentes chez les lupiques que chez les contrôles. Le rôle des (auto)anticorps dans l'entretien ou l'aggravation de l'athérosclérose du lupus est encore ambigu : certains pourraient jouer un rôle aggravant : anticellules endothéliales vasculaires, anticardioline, anti-β2GPI et antiprothrombine qui favorisent les thromboses anti-Lp(a) qui diminuent l'activité de la lipoprotéine (a), anti-HSP60/65 kD d'origine endogène ou d'origine bactérienne. Les anti-ox-LDL ont peut-être un rôle anti-athérogène en complexant le ox-LDL en excès. Ces anticorps peuvent favoriser l'inflammation chronique en induisant des complexes immuns activant le complément ou en empêchant l'activation de TLR4 par les HSP 60 kD donc la production de cytokines inflammatoires et l'expression des molécules d'adhésion. Le β2GPI en se fixant aux ox-LDL va diminuer leur phagocytose par les cellules spumeuses. Les anti-β1GPI au contraire vont se complexer aux ox-LDL ayant fixé le β2GPI et stimuler leur phagocytose par les cellules spumeuses.
- Les études chez les PR ont également souligné le risque cardiovasculaire accentué avec une mortalité par infarctus du myocarde et AVC évalué en rapport standardisé de mortalité entre 1,7 à 2 et un rapport

d'incidence de survenue d'infarctus du myocarde et d'AVC de 3. Les explorations non invasives, bien qu'ayant porté sur des séries de faible effectif montrent une diminution de la compliance artérielle de petit et de gros calibre et un rapport intima/media augmenté chez les PR par rapport aux témoins, corrélé à la durée de l'évolution, au score radiologique de Larsen et, pour certains auteurs, à l'importance du syndrome inflammatoire. Les facteurs de risque d'athérome au cours du lupus et de la PR sont résumés dans les **TABLEAUX 12 et 13**. À côté des facteurs traditionnels, on remarquera dans le lupus le rôle probable de certains anticorps (antiphospholipides en particulier) et dans les deux affections, celui des traitements, en particulier des corticoïdes, des AINS, et peut-être du méthotrexate s'il est administré sans supplément d'acide folique (vitamine B9).

TABLEAU 12 - PR et facteurs de risque coronarien

1. Âge de début élevé
2. Sexe masculin
3. HTA
4. Événement cardiovasculaire préalable
5. Nombre élevé d'articulations inflammatoires
6. Obésité
7. VS, CRP, fibrinogène élevés
8. Usage précoce des corticoïdes
9. Hypertriglycémie
10. Hyperhomocystéinémie (médicamenteuse : méthotrexate)

TABLEAU 13 - Facteurs prédictifs de maladie coronarienne au cours du LED (série de l'hôpital John Hopkins, Baltimore)

Variable	OR (intervalle de confiance 95%)	Valeur p
Âge	1,08 (1,05-1,09)	0,001
Homocystéinémie*	1,05 (1,01-1,10)	0,02
Obésité	2,78 (1,61-4,76)	0,06
HTA	5,69 (3,53-9,18)	0,001
Diabète sucré	4,63 (2,75-7,82)	0,004
Créatinine élevée	2,77 (1,79-4,27)	0,02
Anticoagulant circulant	3,79 (2,51-5,72)	0,002
Corticothérapie (cumulée)	RR = 1,7 (1,2-2,4)	0,0024

*15 % des lupus ont une élévation anormale de l'homocystéine

■ Les micro-angiopathies acquises: exemple des vascularites primitives

■ Classification

Les vascularites des petits vaisseaux touchant électivement les artérioles, les capillaires et les veinules. La classification actuelle distingue, selon le mécanisme lésionnel, les vascularites à complexes immuns, les vascularites dites pauci-immunes caractérisée par la présence habituelle d'anticorps anticytosolique de polynucléaires neutrophiles (ANCA), parfois d'anticorps anticellules endothéliales vasculaires (AECA), enfin les vascularites caractérisées par une agression directe par un agent infectieux ou indirecte via des cytokines ou des facteurs de croissance et les vascularites médiées par une réaction lymphocytaire T

TABLEAU 14 .

TABLEAU 14 - Principales vascularites : classification selon la taille des vaisseaux et le mécanisme

<p>A. Petits vaisseaux</p> <p>1. Vascularites avec complexes immuns</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Vascularites des cryoglobulinémies mixtes « essentielles » / HCV ■ Vascularites à IgA : purpura rhumatoïde ■ Vascularites des connectivites : PR, LED, Sjögren ... ■ Autres vascularites à complexes immuns (Osler, infections virales et autres, médicamenteuses ...) <p>2. Vascularites primitives avec ANCA</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Granulomatose de Wegener ANCA-PR3 ■ Polyangéite microscopique ANCA-MPO ■ Syndrome de Churg et Strauss ANCA-MPO
<p>B. Moyen calibre</p> <p>1. Vascularites nécrosantes, sans syndrome mucocutané et ganglionnaire</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ PAN classique : Systémique à HBV Systémique sans HBV Localisée viscérale (utérus, annexes,...) Localisée cutanée (streptocoque) <p>2. Vascularites primitives avec ANCA</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Maladie de Kawasaki : Antigènes streptococciques / superantigènes Anticorps anticellules endothéliales activées
<p>C. Gros calibre</p> <p>1. Vascularites granulomateuses sujets > 50 ans : maladie de Horton</p> <p>2. Vascularites granulomateuses sujets < 50 ans : maladie de Takayasu</p>

■ *Vascularites à complexes immuns*

- *Complexes immuns à IgM ou IgG.* Le paradigme de la vascularite à complexes immuns remonte au modèle de la maladie sérique aiguë après injection unique d'antigène étranger (sérum albumine bovine chez le lapin et son équivalent humain de maladie sérique après sérum antilymphocytaire équin). Les complexes immuns pathogènes sont les complexes en excès d'antigène. On observe une infiltration des parois artériolaires par des polynucléaires neutrophiles et des cellules mononucléées, une prolifération intimale et souvent une nécrose fibrinoïde de la paroi. Les lésions dépendent des conditions rhéologiques (maximum des lésions dans les zones de bifurcation vasculaire) des propriétés physiques des complexes immuns, de leur capacité à activer le complément via la voie classique, du rapport antigène/anticorps et de la présence de médiateurs tels que les anaphylatoxines, l'histamine, la PAF ainsi que des polynucléaires neutrophiles qui vont produire des protéases (MMP) et des radicaux libres à l'origine de la nécrose pariétale. Le dépôt des complexes immuns et du complément précède en effet l'infiltrat inflammatoire.
- *Complexes immuns à IgA.* Ils sont impliqués dans le purpura rhumatoïde avec des dépôts d'IgA à la fois dans les vaisseaux cutanés, les glomérules rénaux et ceux de l'intestin. En immunofluorescence on trouve également des dépôts de C3 et de fibrine. Les taux élevés de complexes circulants à IgA s'expliquent par une clairance insuffisante par le système réticuloendothélial. En effet les complexes à IgA ne se fixent pas aux érythrocytes porteurs de récepteurs CR1 du C3b. Dans les glomérules, on trouve également déposés des complexes C5b-9 capables de créer des trous donc des lésions osmotiques des cellules endothéliales en l'absence de polynucléaires neutrophiles.

■ *Vascularites avec auto-anticorps*

Nous nous limiterons aux ANCA mais d'autres auto-anticorps sont associés à certaines formes de vascularites (anti-C1q IgG ou IgA et vascularite hypocomplémentémique de Mac Duffie).

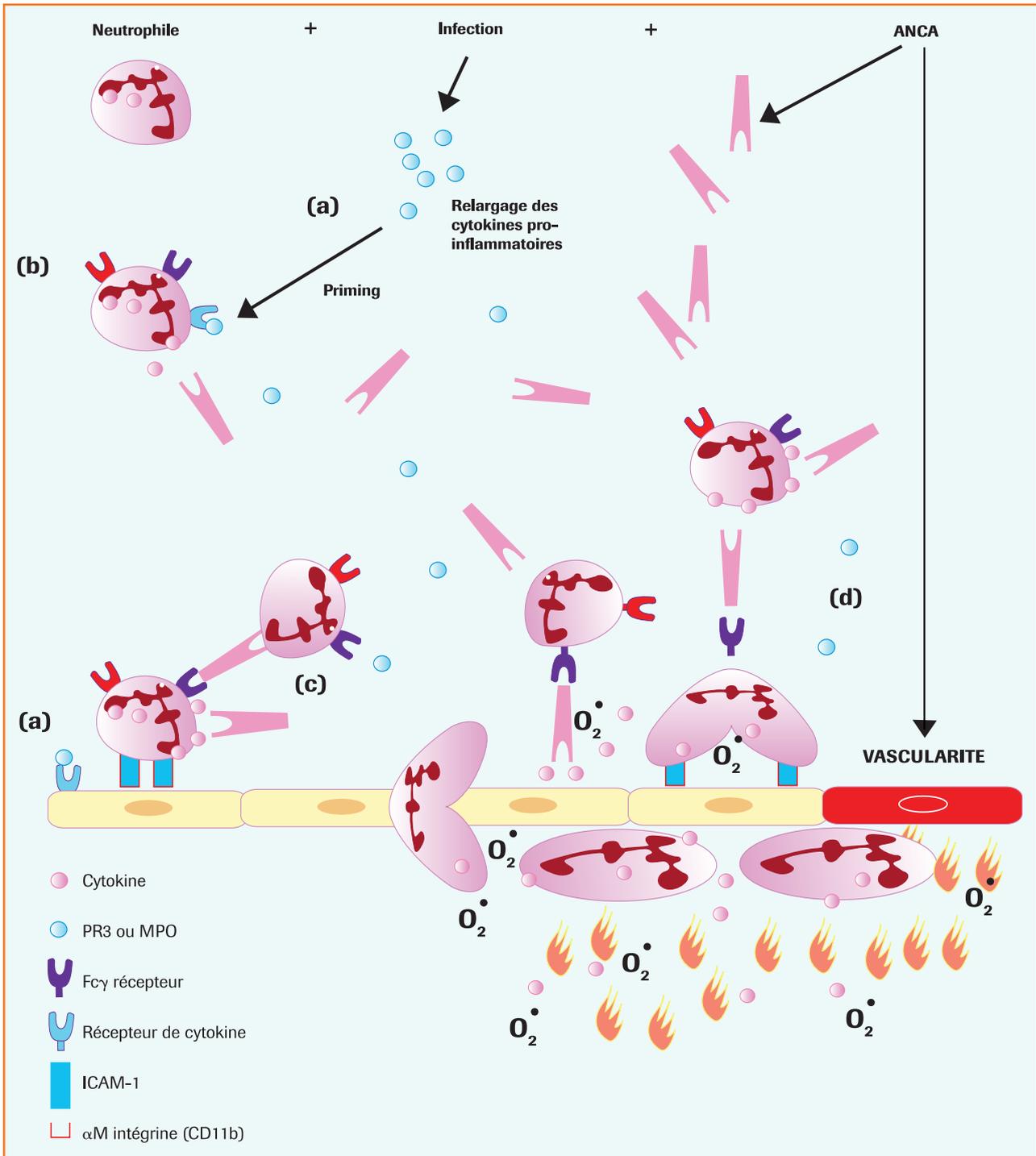
• *ANCA et vascularites*

- Les anticorps anticytoplasme de polynucléaires neutrophiles humains reconnaissent spécifiquement des antigènes des granules primaires et des lysosomes. Les principales cibles identifiées sont la protéinase 3 (PR3) associée à la maladie de Wegener et la myéloperoxydase (MPO) associée à la PAN microscopique et l'angéite de Churg et Strauss. D'autres spécificités ont été identifiées : anti-élastine (vascularite induite par le propylthiouracil ou la minocycline), la cathepsine G (RCH), le lysosyme, la lactoferrine (PR), l'azurocidine, la BPIP (bacterial permeability increasing protein). Deux aspects principaux sont observés en immunofluorescence : un aspect diffus ou classique (D-ANCA) propre aux anti-PR3 et un aspect périphérique (P-ANCA) lié à des anti-MPO, plus rarement aux autres spécificités, souvent appelé A-ANCA pour « atypique ».
- Deux hypothèses ont été avancées pour expliquer l'implication des ANCA dans les vascularites primitives des petits vaisseaux :
 - Les antigènes PR3 ou MPO sont relargués par les polynucléaires activés et viennent se coller sur l'endothélium où les anticorps viennent alors former un complexe immunitaire « *in situ* » (les cellules endothéliales ne produisent pas de PR3 ou de MPO, du moins d'après les études en RT-PCR).
 - Les antigènes PR3 ou MPO des granules peuvent s'exprimer à la surface des membranes des polynucléaires neutrophiles activés et concentrés sur les parois vasculaires sous l'influence de chimiokines telle l'IL8 produit par les cellules endothéliales activées par l'IL1 ou le TNF α . Les anticorps correspondants anti-PR3 ou MPO vont activer les polynucléaires stimulés par l'IL1, le TNF α ou le GM-CSF en se fixant sur l'antigène correspondant, mais aussi en se fixant via les Fc γ RIIa **FIGURE 6**. Les ANCA peuvent par ailleurs activer directement les cellules endothéliales vasculaires qui expriment alors VCAM-1, E-sélectine et IL6. En l'absence d'alpha-1 antitrypsine en quantité suffisante, la PR3 (et l'élastase) ne sont pas neutralisés et peuvent générer des lésions de vascularite.
- Le rôle synergique des ANCA et des (produits des) agents infectieux, notamment bactériens, doit être souligné : le portage chronique du staphylocoque doré entraîne un risque important de rechute de la maladie de Wegener. L'administration de LPS bactérien aggrave la glomérulonéphrite à croissants induite par les anti-MPO injectés à l'animal. Le LPS augmente les taux circulants de MPO et de TNF α ce qui induit l'adhésion et l'activation des polynucléaires à l'endothélium **FIGURE 6**.
- Une théorie plus récente des « auto-antigènes complémentaires » a été proposée : en recherchant un mimétisme moléculaire entre la protéine PR3 et des protéines bactériennes, il a été montré que certaines séquences résultaient de la traduction du brin anticomplémentaire du gène codant pour PR3 c'est-à-dire résultant de la traduction du RNA antisens.

• *Anticorps anti-endothélium (AECA)*

- La fréquence de ces auto-anticorps est variable selon les cellules endothéliales utilisées et les méthodes de détection faute de standardisation. Ils ont été décrits au cours de toutes les vascularites quels que soient la taille du vaisseau et le type de vascularite.
- Les antigènes membranaires sont extrêmement divers, certains constitutifs, d'autres induits par l'activation (LPS, IL1, TNF α), tels les sélectines ou le facteur tissulaire (TF), d'autres sont adsorbés ou « plantés » telle la β 2GPI.
- Ces anticorps sont rarement cytotoxiques via l'activation du complément ou un mécanisme d'ADCC (antibody dependent cellular cytotoxicity).
- Les AECA sont probablement impliqués dans le syndrome de Kawasaki où ils sont cytotoxiques sur les cellules endothéliales en culture (HUVEC) activées par l'IL1.
- Les AECA augmentent l'expression des molécules d'adhésion ICAM-1, VCAM-1 et E-sélectine *in vivo* et induisent une production d'IL1 par les HUVEC.

FIGURE 6 - Rôle des polynucléaires activés et des ANCA au cours des vascularites des petits vaisseaux avec anti-MPO (ou PR3)



- (a) : une infection induit l'activation des polynucléaires neutrophiles (rôle du TNF α et de l'IL1) et l'expression des adhésines sur les cellules endothéliales
- (b) : les polynucléaires activés expriment LFA-1 et MPO et/ou PR3 sur leur membrane
- (c) : les ANCA se fixent sur MPO et/ou PR3 à la surface des polynucléaires et se fixent par leur pôle Fc sur les Fc γ R des autres polynucléaires causant une augmentation de l'adhérence aux cellules endothéliales et la transmigration
- (d) : les polynucléaires activés produisent des radicaux oxygénés et relarguent leurs enzymes protéolytiques ce qui induit la vascularite

■ Vascularites et agents infectieux vasculotropes

- Divers agents infectieux sont susceptibles d'envahir et de léser directement la cellule endothéliale : citons certaines mycobactéries, les spirochètes, les rickettsies, le virus varicelle-zona, l'herpès simplex, le cytomegalovirus, l'HTLV-1, le HIV-1.

- D'autres agents infectieux induisent des vascularites par d'autres mécanismes (complexes immuns, réaction d'hypersensibilité, toxines/superantigènes...); citons mycobacterium tuberculosis, les salmonelles, et parmi les virus, le virus HCV, HBV, la Dengue, le PV-B19.
 - La toxine du choc toxique produit par le staphylocoque doré (TSST) a une action superantigène en stimulant tous les clones T portant un TCR V β 2. Ce germe a été incriminé à l'origine du syndrome de Kawasaki, mais le rôle de TSST reste débattu. Diverses cytokines ainsi que divers facteurs de croissance (VEGF, G-CSF, M-CSF) pourraient avoir un rôle important.
- *Vascularites et réponse à médiation cellulaire*
- Les lésions histologiques granulomateuses observées dans la maladie de Wegener et l'angéite de Churg et Strauss pourraient impliquer une activation lymphocytaire CD4+ avec production de chimiokines attirant les monocytes qui se transformeraient en macrophages produisant des enzymes lysosomiales et des radicaux oxygénés délétères pour les cellules endothéliales. Des mécanismes analogues sont évoqués pour expliquer les lésions vasculaires des angéites à cellules géantes (rôle de l'IFN γ ?) et les formes granulomateuses nodulaires de maladie de Wegener.

4^e partie Quels traitements pour réguler les anomalies vasculaires dans les maladies inflammatoires ?



1. Traitements vasodilatateurs

Ils s'adressent aux micro-angiopathies de la sclérodémie et des connectivites avec phénomène de Raynaud et/ou hypertension artérielle pulmonaire, accessoirement aux artérites de l'athérosclérose et diverses.

■ Inhibiteurs calciques

Adalate®, Tildiem®, Loxen®, Amlor® sont modestement efficaces dans le phénomène de Raynaud primitif et associé à la sclérodémie. Ils sont dotés de propriétés antiradicalaires intéressantes dans le traitement de la sclérodémie : ils semblent diminuer le risque de survenue d'ulcérations digitales et sont utiles en association aux inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) en cas d'atteinte rénale aiguë hypertensive oligoanurique.

■ Inhibiteurs spécifiques du récepteur de l'angiotensine

Dans la famille des « sartans », le losartan (Cozaar®) semble doté d'un effet supérieur à celui de la nifédipine sur le phénomène de Raynaud.

■ Inhibiteurs de l'enzyme de conversion

Cette classe thérapeutique est sans effet sur les phénomènes vasomoteurs pulmonaires et digitaux, mais elle est à l'origine de la modification du pronostic péjoratif de la crise rénale, de la sclérodémie, réduisant la mort rénale de 100 à 50%.

■ Prostacycline PGI₂ et dérivés

Puissants vasodilatateurs et anti-agrégants plaquettaires, ils s'utilisent surtout par voie veineuse, sous-cutanée ou plus rarement par aérosol :

- L'époprostenol (Flolan®), ou PGI₂ par voie veineuse continue (dispositif implantable) est actif sur l'HTAP.
- L'iloprost (Iloméline®), analogue synthétique du PGI₂ par voie IV accélère la guérison des ulcérations digitales sévères et a montré son efficacité en aérosol pour traiter l'HTAP mais nécessite 6 à 9 aérosols quotidiens.
- Le tréprostinil (Remodulin®), analogue synthétique du PGI₂ par voie sous-cutanée continue est actif sur l'HTAP.
- Les prostacyclines synthétiques par voie orale, dont le béraprost (Beradrak®), n'ont pas démontré de bénéfice à long terme dans l'HTAP.

■ Inhibiteurs des récepteurs de l'endothéline 1

On distingue :

- Les inhibiteurs non sélectifs de ETA et ETB dont le chef de file est le bosentan (Tracleer®) utilisé *per os* dans le traitement ambulatoire de l'HTAP idiopathique ou associée à la sclérodémie.
- Les inhibiteurs sélectifs de ETA ont des propriétés analogues. Les premiers prochainement disponibles sont le sitaxentan et l'ambrisentan.

■ Inhibiteurs de la phosphodiesterase 5

Il s'agit du sildenafil (Revatio®) qui augmente la production des molécules vasodilatatrices comme le PGI₂ et le NO en inhibant la dégradation du GMP cyclique. Il est actif dans l'HTAP et associée aux connectivites. Des formes retard (tadalafil) seront bientôt disponibles.

■ Monoxyde d'azote (NO)

Puissant vasodilatateur, le NO agit en stimulant la guanylate cyclase qui augmente la production de GMP cyclique intracellulaire. Le substrat de la NO synthase, la L-arginine, aurait également la propriété de diminuer l'HTAP.

■ Antagonistes des alpha-adrénocepteurs

On utilise les alphabloquants type prazosine (Alpress®, Minipress®), à la dose maximale tolérée en cas d'intolérance aux inhibiteurs calciques pour le traitement du phénomène de Raynaud.

■ Inhibiteurs de la sérotonine

Un antagoniste des récepteurs sérotoninergiques de type 2 et accessoirement $\alpha 1$ adrénergique et dopaminergique a été proposé pour traiter les phénomènes de Raynaud : la kétansérine. Son activité est inconstante et le produit n'est plus commercialisé en Europe. Les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine, telle la fluoxétine (Prozac®) seraient plus efficaces que les inhibiteurs calciques pour traiter le phénomène de Raynaud.

2. Quel est l'effet des anti-TNF ?

■ TNF α et paroi vasculaire

- Le TNF α est une cytokine clé dans le processus inflammatoire, au même titre que l'IL1 β . C'est également une cytokine qui intervient dans la physiopathologie de l'athérosclérose et de l'hémostase par le biais de la dysfonction endothéliale qu'il entraîne.
- Le TNF α joue un rôle majeur en empêchant la captation de l'insuline par les muscles striés et il augmente les acides gras libres circulants. Ainsi les taux de LDL plasmatiques est élevé chez les PR, comparative-ment aux sujets contrôles, cette élévation étant corrélée au chiffre de la vitesse de sédimentation.
- Le TNF α augmente l'activation endothéliale de façon directe et indirecte : les molécules d'adhésion sont augmentées en réponse au TNF α (et à l'IL1 β), favorisant la migration des monocytes dans l'intima où ils capteront les ox-LDL pour former les cellules spumeuses, puis la strie lipidique, premier pas vers la plaque d'athérome. Les cellules spumeuses produisent également du TNF α favorisant la progression de la plaque comme d'autres cytokines produites localement (IL1 β , IFN γ).
- Le TNF α rend la paroi endothéliale prothrombotique en favorisant l'expression du facteur tissulaire (TF) sur les monocytes et par voie systémique augmente la production de facteurs de la coagulation : augmentation du fibrinogène, du tPA, du facteur Willebrand.

■ Anti-TNF α et modification du risque cardiovasculaire

- Les biothérapies anti-TNF α modifient à court terme le profil lipidique des patients atteints de PR : augmentation du HDL cholestérol, mais sans modification du rapport LDL/cholestérol (index athérogène).
- Les anti-TNF α augmentent la sensibilité à l'insuline dans le tertile des patients ayant la plus grande résistance initialement.
- L'infliximab améliore la vasodilatation dépendante de la cellule endothéliale ainsi que la dilatation dépendante du flux sanguin.
- Les résultats des anti-TNF α sur la mesure de la rigidité artérielle sont plus difficile à interpréter.
- Les anti-TNF α restent contre-indiqués chez les patients atteints d'insuffisance cardiaque décompensée.
- Les études épidémiologiques observationnelles suédoises et anglaises de grande ampleur, portant sur des cohortes de PR traitées ou non par anti-TNF α , montrent une diminution de la mortalité globale des PR traitées par anti-TNF α comparés aux PR ne recevant pas d'anti-TNF α portant essentiellement sur la mortalité par infarctus du myocarde et les accidents vasculaires cérébraux. Cette réduction du risque cardiovasculaire est directement liée à la durée du traitement par anti-TNF α (après ajustement sur l'âge, le sexe, le diabète, l'HTA et les antécédents cardiovasculaires, c'est à dire tous les facteurs de risque classiques confondants). Les études ultérieures devront déterminer le rôle éventuel d'autres facteurs, tel que l'emploi du méthotrexate avec ou sans acide folique (taux de l'homocystéinémie) et des AINS anti-COX1 ou COX2.

3. Quelles sont les nouvelles molécules susceptibles de modifier l'angiogénèse, l'hémostase et éventuellement de prévenir l'athéromatose dans les maladies inflammatoires ?

■ Statines

- Les statines inhibent la HMG-CoA (hydroxyl-3-méthyl glutaryl coenzyme A) réductase, enzyme clé de la synthèse endogène du cholestérol. Elle catalyse la transformation de l'HMG-CoA en mévalonate. Il s'ensuit une baisse de concentration du cholestérol intracellulaire, une stimulation de l'expression du récepteur hépatocytaire aux lipoprotéines LDL et une clairance plasmatique augmentée des LDL, donc une baisse du LDL cholestérol.
- Les travaux *in vitro* sur les cellules endothéliales en culture, les lymphocytes, les monocytes et les plaquettes et *ex vivo*, ont mis en évidence les nombreuses propriétés anti-inflammatoires antithrombotiques et immunomodulatrices des statines avec de notables variations selon les molécules testées. Le **TABLEAU 15** résume les principales voies de l'inflammation modifiées par l'action des statines.

TABLEAU 15 - Principales voies de l'inflammation modifiées par l'action des statines

Processus/voie	Méiateur	Type cellulaire
Adhésion ↘	<ul style="list-style-type: none"> ↘ Mac-1 ↘ LFA-1 (aussi via fixation directe) ↘ ICAM-1 (sICAM-1 plasmatique) ↘ VCAM-1 (sVCAM-1 plasmatique) ↘ E-sélectine ↘ L-sélectine 	Macrophage et cellules T vis-à-vis de l'endothélium. Sang périphérique
Migration ↘	<ul style="list-style-type: none"> ↘ MIP-1α (CCL3) ↘ MIP-1 (CCL2) ↘ MIP-1β (CCL4) ↘ IL8 (CCXL8) ↘ RANTES ↘ CCR1 ↘ CCR2 ↘ CCR4 ↘ CCR5 	CE, CML, macrophage, cellules T
Prolifération ↘	<ul style="list-style-type: none"> ↘ CML ↘ CE 	CE, CML
Fonction endothéliale ↗	<ul style="list-style-type: none"> ↗ eNOS ↘ Oxydation LDL ↘ Endothéline-1 	
Dégradation de la matrice ↘	<ul style="list-style-type: none"> ↘ Collagénases interstitielles MMP-1/-13 ↘ Gélatinases MMP-2/-9 ↘ Stromélysine MMP-3 ↗ TIMP-1 	CE, macrophage
Apoptose ↗	<ul style="list-style-type: none"> ↗ Caspase-3 ↗ Caspase-9 ↘ Prenylation de p21RhoB ↘ Bcl-2 	CE, CML, macrophage
Thrombose ↘	<ul style="list-style-type: none"> ↘ Facteur tissulaire (TF) ↘ Facteur VIIa ↘ tPA ↗ Agrégation des plaquettes ↗ Fibrinogène ↗ PAI-1 ↗ PGI₂ ↘ TxA₂, TxB₂ 	CE, macrophage, plaquettes, sang périphérique
Méiateurs de l'inflammation ↘	<ul style="list-style-type: none"> ↘ CD40/CD40L, sCD40L ↘ IL1β ↘ IL6 ↘ TNFα ↘ Protéine C-réactive ↘ Cyclooxygénase 2 ↘ Sérum amyloïde A (SAA) ↗ PPARγ ↘ TH1 (IFNγ, IL12) ↗ TH2 (IL4, IL10, TGF) ↘ MHC II 	CE, macrophage, sang périphérique

↗ augmentation ; ↘ diminution ; CE : Cellule endothéliale ; CML : Cellule musculaire lisse

- Plusieurs mécanismes sont à l'origine de ces interactions :
 - Le premier passe par une modification de composition des radeaux lipidiques de la membrane plasmique des cellules cibles.
 - La cerivastatine modifie la balance TH1/TH2 au profit des TH2 par baisse de l'activité TH1 et accessoirement augmentation de l'activité TH2.
 - Les statines induisent l'expression des récepteurs activés du peroxisome (PPAR), lesquels agissent comme inhibiteurs de facteurs de transcription comme le NFκB et le STAT (signal transducer and activator of transcription).
- Les applications cliniques en pathologie inflammatoire de ces propriétés ont porté sur le traitement de la PR de l'adulte (étude TARA : trial of atorvastatin in rheumatoid arthritis). Le groupe de patients ayant reçu 40 mg d'atorvastatine par jour a baissé son DAS28 en moyenne de 0,5 points (IC95%=0,75 – 0,25) contre + 0,03 dans le groupe placebo avec une réponse EULAR chez 31% des patients contre 10% dans le groupe placebo. La CRP et la VS baissent significativement de 50% et 28% respectivement. Il n'a pas été possible sur cette étude de 6 mois d'évaluer comparativement la morbidité cardiovasculaire. Une étude sur le long terme du bénéfice cardiovasculaire est actuellement menée au NIH dans le lupus de l'enfant (rappelons que les inhibiteurs de HMG-CoA reductase ont été impliqués dans quelques observations de lupus induit).

■ Inhibiteurs de l'angiogenèse

- Cette catégorie de molécules s'oppose à la néoangiogenèse et voit son champ d'application couvrir d'abord le domaine de la cancérologie (il s'agit de faire « mourir de faim » les cellules tumorales) et bientôt celui de l'inflammation avec les rhumatismes inflammatoires chroniques.
 - Les principaux traitement de fond de la PR ont des propriétés anti-angiogéniques. Citons le méthotrexate à faible dose, le leflunomide, la salazopyrine, mais aussi des immunosuppresseurs comme la rapamycine et les agents anti-TNFα. Ces molécules diminuent directement ou indirectement (en diminuant la production de TNFα ou d'IL6) le taux du VEGF.
 - Les inhibiteurs de tyrosine kinase sont de puissants facteurs anti-angiogéniques et sont utilisés en cancérologie : citons l'Imatinib (Glivec®) indiqué pour traiter les LMC et les tumeurs stromales gastro-intestinales, et le sunitinib (Sutent®) indiqué pour traiter les cancers du rein métastatique. En tant qu'inhibiteur du récepteur du PDGF (inhibition de la famille Abl des kinases) et du TGFβ (inhibition des sérine/théonine kinase), l'imatinib pourrait avoir un effet bénéfique dans la diminution de la fibrose de la sclérodermie systémique.
 - Le thalidomide est doté de propriétés anti-angiogéniques (anti-VEGF), sans doute à l'origine de ses propriétés antiprolifératives dans le myélome multiple. Il s'y ajoute une activité procoagulante à l'origine de complications thromboemboliques qu'il partage avec les autres dérivés de cette classe médicamenteuse comme la lenalidomide. Thalidomide, mais aussi Taxol® et TNP-470 ont tous 3 montré un effet inhibiteur sur le pannus et l'angiogenèse dans des modèles d'arthrites expérimentales.
 - Le bevacizumab (Avastin®) est un anticorps monoclonal humanisé anti-VEGF qui a une AMM dans le traitement des adénocarcinomes coliques. Sa tolérance est médiocre avec un risque de perforations digestives, de la cloison nasale, un retard à la cicatrisation et des troubles neurologiques centraux sensoriels et des fonctions supérieures.
 - Le ranibizumab (Lucentis®) est un dérivé Fab du bevacizumab développé pour traiter en injections intravitréennes mensuelles répétées la dégénérescence maculaire du sujet âgé (DMLA).
- Le **TABLEAU 16** résume différents essais thérapeutiques en cours d'inhibiteurs de l'angiogenèse et leurs mécanismes d'action.

TABLEAU 16 - Différents essais thérapeutiques en cours d'inhibiteurs de l'angiogenèse et mécanisme d'action

Molécule	Mécanisme d'action
Phase I	
EMD 121974	Antagoniste d'intégrine (petite molécule)
Contrebastatine A4 prodrogue	Apoptose de l'endothélium proliférant
PTK784/ZK2284	Blocage de la signalisation du VEGF-R
Endostatine	Induction d'apoptose des cellules endothéliales <i>in vivo</i>
BMS-275291	Inhibition synthétique de MMP
SU6668	Blocage de la signalisation des récepteurs du VEGF, FGF et PDGF
Phase II	
CAI	Inhibiteur de l'influx de calcium
Squalamine	Inhibiteur de la pompe Na ⁺ /H ⁺
COL-3	Inhibiteur synthétique de MMP dérivé de cycline
CGS-27023A	Inhibiteur synthétique de MMP dérivé de cycline
TNP-470	Analogue de fumagiline : inhibiteur prolifération endothéliale
Vitaxin	Anticorps anti-intégrine de l'endothélium
IL12	Cytokine inductrice d'IFN γ et d'IP-10 (CXCL10)
Phase III	
SU 5416	Blocage signalisation du récepteur du VEGF
Thalidomide	Inconnu (?)
Marimastat	Inhibiteur synthétique de MMP
AG 3340	Inhibiteur synthétique de MMP
Néovastat	Inhibiteur naturel de MMP
Interféron α	Inhibiteur production FGFB, VEGF
IM 862	Inconnu

■ Inhibiteurs des intégrines et sélectines

Molécules d'adressage par excellence, ces molécules permettent l'adhésion (rôle dans l'hémostase primaire) puis la margination des cellules circulantes vers la région sous-intimale (rôle dans l'athérome), le tissu conjonctif porte-vaisseaux, les protéines de la matrice extracellulaire (rôle dans l'inflammation et le processus de dissémination métastatique des tumeurs). Ces molécules sont également importantes pour les co-sigaux d'activation intercellulaire (processus d'immunité adaptative entre cellules présentatrices d'antigène et lymphocytes T).

■ Anti- $\alpha 4$ intégrine

Le Natalizumab (Tysabri®) est un anticorps monoclonal anti-VLA-4 ($\alpha 4\beta 1$ intégrine), intégrine importante pour la migration des lymphocytes TH1 dans les modèles animaux de sclérose en plaques. L'anti- $\alpha 4$ intégrine bloque ainsi l'interaction avec VCAM-1. Cet anticorps pourrait également bloquer les intégrines $\alpha 4\beta 7$ impliquées dans l'adressage des lymphocytes T dans la paroi du tube digestif et contribuer aux lésions de la maladie de Crohn (récepteur MAd-CAM). Les essais dans la sclérose en plaques ont donné des résultats cliniques prometteurs, mais plusieurs cas de leucoencéphalopathie multifocale progressive, à virus JC, sont venus temporairement suspendre aux USA la commercialisation de cet inhibiteur d'intégrine dans la SEP et la maladie de Crohn.

■ Anti- αL intégrine

l'Efalizumab (Raptiva®) est un monoclonal anti-LFA-1 / intégrine $\alpha L(CD11a)\beta 2(CD18)$ exprimé par les leucocytes. LFA-1 interagit avec ICAM-1 (CD54) et ICAM-2 exprimé par l'endothélium vasculaire, les fibroblastes et les kératinocytes, et ICAM-3 exprimé par les cellules dendritiques présentatrices d'antigène. Le blocage de LFA-1 porté par les T effecteurs mémoire (CD45 Ro+) empêche l'interaction avec les cellules endothéliales et les kératinocytes. Le Raptiva® a une AMM pour le traitement du psoriasis cutané. Il semble peu actif sur l'arthrite psoriasique.

■ Antagoniste de LFA-3

Une molécule hybride faite de LFA-3 fixé sur le fragment Fc d'une IgG1 appelée Alefacept est utilisée pour fixer le récepteur CD2 présent sur les lymphocytes T effecteurs mémoire (CD45 Ro+). Cette molécule « leurre » va empêcher l'interaction CD2-LFA-3. Une fois fixé sur CD2 son côté Fc γ va pouvoir se fixer sur les récepteurs Fc γ RIII (CD16) des cellules NK et les monocytes et activer la production de granzyme impliqué dans la cytolysse des TCD45 Ro+. L'alefacept (Amevive®) est utilisé pour le traitement du psoriasis cutané : la chute des TCD45 Ro+ circulants est corrélée à l'amélioration du psoriasis cutané dans une étude contrôlée multicentrique en double insu contre placebo. Son efficacité en association avec le méthotrexate sur le rhumatisme psoriasique évalué à 6 mois par le score ACR70 est décevant : 17% des patients sous alefacept ont atteint le score ACR70 contre 7% dans le groupe placebo.

■ Anti-intégrines et cancérologie

- Anti- α 5 β 1 intégrine (VLA-5) (récepteur de la fibronectine) : le volociximab est un anticorps monoclonal qui semble prometteur dans le traitement du cancer du rein métastatique.
- Anti- α v intégrine (récepteur de la vitronectine) : le P1F6 et le LM609 sont des monoclonaux anti- α v β 5 intégrine expérimentés dans la maladie de Kaposi. La Vitaxin® est un monoclonal anti- α v β 3 intégrine utilisé pour le traitement des gliomes cérébraux et en phase 2 pour le traitement des mélanomes et les cancers de prostate métastatiques hormono-résistants.

■ Anti-intégrine α IIb β 3 (GPIIa/IIIa) et inhibition de l'hémostase primaire

L'abciximab est un anticorps monoclonal dirigé contre le complexe GPIIa/IIIa, intégrine plaquettaire qui reconnaît le fibrinogène à l'origine de l'agrégation des plaquettes. Ce produit a été utilisé dans les situations aiguës comme la phase aiguë d'un syndrome coronarien et lors d'intervention coronaire / percutané. Utilisé après le clopidrogel, il ne semble pas être plus efficace pour diminuer le risque d'infarctus ou de décès avec un risque de thrombopénie (1%) supérieur à celui du placebo (0%).

■ Anti-sélectine

Les anticorps monoclonaux anti-P-sélectine, L-sélectine et E-sélectine inhibent le « roulement » des leucocytes sur les parois vasculaires, mais leur utilisation en clinique est décevante. Les travaux de recherche clinique se portent plus sur les ligands des sélectines en créant des analogues de ces ligands, qu'il s'agisse d'anti-PSGL-1 (P selectin glycoprotein ligand 1) ou d'un mimétique de sialyl Lewis^x (sLe^x) (TBC1269 ou bimosiamose) qui déplace le ligand PSGL-1 normal des P- et L-sélectines et s'oppose ainsi au « roulement » des leucocytes et accessoirement leur adhésion aux cellules endothéliales.

■ Inhibiteur des molécules d'adhésion de la classe des immunoglobulines

Un anti-ICAM-1 monoclonal murin, l'enlimomab aurait dû s'opposer à la fixation des ligands LFA-1 (CD11a CD18) ou de Mac-1 (CD11b-CD18) leucocytaires. Testé au cours des AVC, c'est le résultat inverse qui a été observé !

4. Inhibiteurs de chimiokines et leurs récepteurs

Les chimiokines sont des cytokines chimiotactiques pour les cellules mononucléées (monocytes, macrophages, lymphocytes T, B, NK, mastocytes), les polynucléaires neutrophiles ou éosinophiles, mais aussi les cellules musculaires lisses, les cellules endothéliales et mésangiales, voire les cellules tumorales. Bien qu'il s'agisse de protéines aux activités redondantes, certaines sont plus spécifiquement impliquées dans la pathologie inflammatoire pulmonaire, neurologique, articulaire (IL8 ou CXCL8, MCP-1 ou CCL2, MIP-1 α ou CCL3), d'autres dans l'athérosclérose (fractalkine ou CX3CL1), d'autres enfin dans la pathogénicité du virus VIH-1, le récepteur de chimiokine CCR-5 étant le corécepteur de HIV-1.

■ Anti-TNF α

Rappelons que les anti-TNF α réduisent l'expression des chimiokines IL8 (CXCL8) et MCP-1 (CCL2) des patients atteints de PR.

■ Essais cliniques concernant la PR

Ils ont porté sur un anticorps monoclonal anti-CCL2 (MCP-1 ligand de CCR-2), l'ABN 912 de Novartis sans aucun bénéfice clinique ni histologique synovial constaté aux doses utilisées. D'autres essais sont en cours avec des anti-CCR1 (récepteurs des chimiokines MIP-1 α = CCL3 et RANTES = CCL5). Diverses cibles potentielles sont actuellement envisagées : le récepteur de chimiokine (CCR5) et les chimiokines IL8 (CXCL8) ENA-78 (CXCL5), Gro α (CXCL1), MIP-1 α (CCL3).

5. Nouvelles molécules

■ Chaperonine 10

La chaperonine 10 (X-Toll®) est une protéine du choc thermique (HSP) qui inhibe l'activation des récepteurs TOLL TLR-4 et TLR-2 par les HSP60, activateurs endogènes, en leur servant de cochaperon. L'activation des TLR-4 par le LPS bactérien ou les HSP 60 endogènes entraîne, via l'induction de NFκB, la production de TNFα et d'IL6. La chaperonine 10 a été administrée en IV deux fois par semaine pendant 12 semaines à des PR à des doses variant de 5 à 10 mg. Une rémission EULAR (DAS 28 < 2,6) a été observée chez 13% des 23 PR et un score ACR 50 a été observé chez 57% des malades ayant reçu la plus forte dose.

■ Agonistes des PPARα et PPARγ

Les récepteurs nucléaires peroxisome proliferator activating receptor (PPAR) jouent un rôle central dans la régulation du métabolisme lipidique et le contrôle de la glycémie. Après liaison d'un ligand sélectif, il se produit une modification de la conformation tridimensionnelle du complexe PPAR-ligand qui se lie à son récepteur nucléaire RXR (9-cis retinoic acid receptor). L'ensemble se fixe sur des séquences spécifiques PPRE (peroxisome proliferator response elements) dans les régions régulatrices des gènes cibles, modifiant ainsi leur transcription. Il existe des agonistes spécifiques à PPARα et à PPARγ et des agonistes mixtes.

■ Agonistes de PPARα

Les fibrates sont des ligands de PPARα. L'activation par les fibrates se traduit par une diminution de concentration des TG et une augmentation du cholestérol HDL. Les fibrates sont utiles pour réduire la progression de l'athérosclérose des coronaires chez les diabétiques et diminuent le risque de mortalité cardiovasculaire.

■ Agonistes PPARγ

Les thiazolidinediones (TZD) ou glitazones comprenant la pioglitazone (Actos®) et la rosiglitazone (Avandia®), utilisées pour traiter le diabète de type 2, exercent leur activité en se liant au PPARγ. Les TZD réduisent la quantité d'acides gras et de TG circulants. Ils induisent une redistribution des graisses du compartiment viscéral vers le compartiment sous-cutané. L'insulino-résistance est en partie liée à une augmentation des cytokines TNFα et IL6. La rosiglitazone augmente la concentration plasmatique d'adiponectine, laquelle abaisse la synthèse des molécules d'adhésion par les cellules endothéliales et inhibe la réaction inflammatoire. Ainsi les TZD pourraient avoir un intérêt majeur pour ses effets anti-inflammatoires et anti-athérogènes. De nombreux TZD ligands de PPARγ et/ou co-agonistes PPARα/γ sont en développement. Parmi les glitazones actuellement sur le marché, la rosiglitazone semble augmenter le risque d'infarctus du myocarde et, chez les femmes, celui de fracture osseuse périphérique.

■ Inhibiteurs de MIF

■ MIF (macrophage migration inhibitory factor) est une cytokine exprimée par les lymphocytes T activés, mais aussi les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes synoviaux. Elle possède des propriétés pro-inflammatoires. Le récepteur de MIF serait la protéine CD74 sur les cellules immunitaires. Son taux plasmatique est augmenté dans la PR et dans l'athérosclérose. Elle est inductible par les glucocorticoïdes dont l'effet athérogène pourrait s'expliquer en partie par cette propriété.

■ Expérimentalement un anticorps monoclonal anti-MIF est capable de retarder et diminuer la fréquence des arthrites dans le modèle murin d'arthrite au collagène II.

■ MIF est retrouvé en abondance dans les plaques d'athérome et pourrait jouer un rôle dans le phénomène de rupture de plaque car elle augmente la production de MMP1, MMP9, MMP12 et abaisse celle des TIMP.

■ De petites molécules sont capables d'inhiber en extracellulaire l'interaction de MIF avec le récepteur CD74 *in vitro* et *in vivo*. Le composé le plus avancé semble être l'ISO-1. Mais d'autres cibles d'inhibition sont envisagées, notamment sur les voies de transduction intracellulaire, ouvrant ainsi des perspectives prometteuses pour le traitement conjoint de l'inflammation, de l'athérogenèse liée à l'inflammation, et à l'effet délétère des glucocorticoïdes au long cours.



1. Les points forts

La cellule endothéliale vasculaire

Elle couvre une surface de 5000 m² et constitue une interface vivante entre contenant (paroi vasculaire et conjonctif environnant) et contenu (éléments figurés sanguins et plasma).

Les stimuli de l'endothélium

L'endothélium est soumis à des stimulations diverses : physiques (pressions/forces de frottement), chimiques (hormones, cytokines, facteurs de croissance, facteurs de coagulation,...), toxiques (espèces réactives de l'oxygène, anticorps, tabac, extraits bactériens et de micro-organismes, lipides oxydés, protéines du complément...), cellulaires (interaction avec les plaquettes, les polynucléaires, les lymphocytes, les monocytes, les cellules tumorales en migration...).

Endothélium et hémostasie

C'est un acteur essentiel dans les phénomènes d'hémostasie (hémostasie primaire, coagulation, fibrinolyse) et de thrombose : les premières étapes se dérouleront à la surface phospholipidique modifiée de la cellule endothéliale. La cellule produit à la fois des facteurs procoagulants et anticoagulants.

Endothélium et tonus vasculaire

C'est un moteur essentiel du tonus vasculaire en produisant des médiateurs à la fois vasoconstricteurs (endothéline-1, angiotensine II,...) et vasodilatateurs (PGI₂, NO,...) et mitogènes pour les cellules musculaires lisses.

Les interactions entre hémostasie et vasomotricité

Il existe une multiplicité d'interactions entre hémostasie et vasomotricité, les mêmes médiateurs intervenant dans les deux domaines simultanément.

La barrière de l'endothélium

C'est un passage obligé pour les cellules sanguines circulantes qui sont impliquées dans la réaction inflammatoire. L'interaction se fait par l'intermédiaire de molécules d'adressage de la famille des intégrines, des sélectines et des protéines de la superfamille des immunoglobulines. Ces molécules sont, soit constitutives, soit induites par les stimuli de l'inflammation : cytokines (rôle du TNF α , IL1 et IFN) et chimiokines (IL8 pour les polynucléaires par exemple).

L'athérosclérose

Elle est actuellement considérée comme une affection de type inflammatoire (rôle des monocytes macrophages, des lymphocytes T et des cytokines induites par la stimulation via les LDL oxydées) mettant en jeu l'immunité innée et adaptative. Une étiologie infectieuse est envisagée sur des bases épidémiologiques et expérimentales.

L'inflammation chronique

L'inflammation chronique est un puissant stimulant de l'athérosclérose comme l'attestent la relation entre taux de la CRP et risque cardiovasculaire. Les maladies inflammatoires chroniques, comme le LED et la polyarthrite rhumatoïde, ont une prévalence de morbidité et de mortalité cardiovasculaire augmentée après ajustement pour les facteurs de risque classique de type Framingham.

Les accidents thrombotiques coronariens et cérébrovasculaires

Ils sont le fait d'une rupture (ou d'une hémorragie) de la chape fibreuse des plaques d'athérome lorsque les cellules inflammatoires qui la colonisent produisent en excès des MMP capables de détruire le tissu fibreux qui recouvre les cellules spumeuses et le cœur lipidique thrombogène de la plaque.

Les traitements de fond de la PR

En diminuant l'inflammation, évaluée par le taux de CRP par exemple, les traitements de fond de la PR diminuent la morbi/mortalité cardiovasculaire. Ceci semble démontré par les anti-TNF α mais la correction des facteurs de risque classiques (surpoids, diabète, tabac, sédentarité, HTA, dyslipidémie,...) garde une place

essentielle dans la prévention à long terme. Le même raisonnement s'applique aux autres rhumatismes inflammatoires chroniques : lupus, rhumatisme psoriasique et spondylarthropathies.

2. Les grandes questions

Les statines

Les statines aux propriétés hypocholestérolémiantes et anti-inflammatoires seront-elles à même de faire régresser la plaque d'athérome ? Les fortes doses préconisées au long cours ne sont pas toujours bien tolérées, mais la question de leur utilisation dans le traitement de fond des rhumatismes inflammatoires chroniques chez des patients ayant plusieurs facteurs de risque méritera des études épidémiologiques au long cours.

Les agonistes de PPAR α et PPAR γ

Les agonistes de PPAR α et PPAR γ , actuellement utilisés dans le diabète de type 2 feront probablement l'objet également d'essais au long cours dès que leur effet délétère sur les récurrences des événements coronariens aura été précisé.

Le rôle délétère au long cours des AINS

Le rôle délétère au long cours des AINS (survenue d'accidents cardiovasculaires), qu'il s'agisse d'anti-COX non sélectifs ou d'anti-COX2, doit faire réfléchir sur l'opportunité d'une large prescription chez les patients âgés porteurs de facteurs de risque non corrigés.

Les effets secondaires vasculaires des corticoïdes

Ils devront être mis en balance avec l'effet bénéfique sur le syndrome inflammatoire.



Angiogenèse : ensemble des processus de formation de nouveaux vaisseaux. Il s'agit d'un processus physiologique qui intervient dans des domaines variés : développement embryonnaire, reproduction, réparation tissulaire. Les cellules endothéliales vasculaires sont à l'origine de l'angiogenèse et répondent à des signaux activateurs et inhibiteurs.

Athérosclérose : maladie dégénérative de l'artère ayant pour origine la formation d'une plaque d'athérome (dépôt lipidique) dans l'intima des artères de gros et moyen calibre.

Cellules endothéliales : ensemble de cellules tapissant en une couche unicellulaire la paroi interne des vaisseaux sanguins et lymphatiques, formant l'endothélium. Elles reposent sur une membrane basale continue ou fenêtrée, selon les tissus, dont les constituants ont été élaborés par les cellules endothéliales elles-mêmes.

Cellules spumeuses : monocytes/macrophages de l'intima artérielle ayant phagocyté des lipoprotéines de faible densité (LDL) oxydées. C'est la cellule caractéristique (mais non exclusive) de la plaque d'athérome.

Chimiokines : médiateurs cytokiniques spécialisés dans l'attraction (chémotactisme positif) de cellules nomades vers un foyer inflammatoire. Ces molécules sont élaborées par les cellules résidentes (histiocytes, macrophages, fibroblastes, voire cellules endothéliales) et sont spécialisées pour attirer un type particulier de cellules inflammatoires grâce à des récepteurs de membrane spécifiques de chimiokine. Une même cellule peut porter différents types de récepteurs de chimiokines.

Intégrines : ensemble de molécules de membrane impliquées dans les contacts cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire. Il s'agit d'hétérodimères composés de 2 chaînes polypeptidiques α et β non liées par liaison covalente.

Microcirculation : circulation sanguine des vaisseaux de moins de 50 μm de diamètre. Elle concerne les artéoles, les veinules et les capillaires.

Molécules d'adhésion de la superfamille des immunoglobulines : il s'agit de molécules de membrane également impliquées dans les contacts cellule-cellule et permettant notamment l'adhésion des cellules circulantes aux cellules endothéliales. Elles servent de molécules d'adressage pour les lymphocytes recirculants.

Sélectines : il s'agit de molécules de membrane impliquées dans le contact cellule-cellule et intervenant dans la domiciliation des cellules « nomades » comme les lymphocytes recirculants.

Vascularite : inflammation de la paroi des vaisseaux sanguins (synonyme = angéite). Ne préjuge pas de la cause de l'inflammation (infectieuse, toxique, physique, chimique, immunologique...).

7^e partie Pour en savoir plus

- Bosch X, Guilabert A, Font J. Antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Lancet* 2006;368(9533):404-18.
- Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003;9(6):653-60.
- Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med* 2006;354(6):610-21.
- Dixon WG, Symmons DP. What effects might anti-TNF α therapy be expected to have on cardiovascular morbidity and mortality in rheumatoid arthritis? A review of the role of TNF[alpha] in cardiovascular pathophysiology. *Ann Rheum Dis* 2007, published online 24 Jan 2007.
- Duran-Sandoval D, Thomas AC, Bailleul B, Fruchart JC, Staels B. [Pharmacology of PPARalpha, PPARgamma and dual PPARalpha/gamma agonists in clinical development]. *Med Sci (Paris)* 2003;19(8-9):819-25.
- Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol* 2006;6(7):508-19.
- Humbert M, Morrell NW, Archer SL, Stenmark KR, MacLean MR, Lang IM, et al. Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004;43(12 Suppl S):13S-24S.
- Jain MK, Ridker PM. Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms. *Nat Rev Drug Discov* 2005;4(12):977-87.
- Shovman O, Gilburd B, Zandman-Goddard G, Sherer Y, Shoenfeld Y. Pathogenic role and clinical relevance of antineutrophil cytoplasmic antibodies in vasculitides. *Curr Rheumatol Rep* 2006;8(4):292-8.
- Soubrier M, Dougados M. [Atherosclerosis and rheumatoid arthritis]. *Rev Med Interne* 2006;27(2):125-36.
- Szekanecz Z, Koch A. Biology of endothelial cells. In: Ball G, Bridges SL J, editors. *Vasculitis*. Oxford: University Press;2002:19-33.