Tome 193 — Mai — N° 5 2009

BULLETIN
DE
L'ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE

publié par

MM. Jacques-Louis Binet, Secrétaire perpétuel
et Raymond Ardaillou, Secrétaire adjoint

Rédacteur en chef : Professeur Jean Cambier
Rédacteur en chef adjoint : Professeur Monique Adolphe
Adjointe à la Rédaction : Odette de Monts

ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE
16, RUE BONAPARTE — 75272 PARIS CEDEX 06
http://www.academie-medecine.fr

BULLETIN DE L'ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE

publié par MM.

Jacques-Louis Binet, Secrétaire perpétuel
et Raymond Ardaillou, Secrétaire adjoint

Rédacteur en chef : Professeur Jean Cambier
Rédacteur en chef adjoint : Professeur Monique Adolphe
Adjointe à la Rédaction : Odette de Monts

Les sommaires du « Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine » sont reproduits dans les « Current Contents » de l'Institute for Scientific Information (Philadelphie). Les articles sont indexés dans le « Bioresearch Index » du Biosciences Information Service (Philadelphie), dans l'index Medicus, dans Excerpta medica et dans le « Bulletin Signalétique » du C.N.R.S. (Paris).

sommaire

Séance thématique : La barrière foeto-placentaire
Placental barrier

1015 Introduction
Christian Nezelof

1017 La différenciation du trophoblaste humain
Human trophoblast differentiation
Danièle Evain-Brion, Jean Guibourdenche, Vassili Tsatsaris, Thierry Fournier

1029 Immunité de la gestation : nouveaux concepts
Immunity of pregnancy : novel concepts
Philippe Le Bouteiller, Hicham El Costa, Maryse Aguerre-Girr, Julie Tabiasco

1043 Le passage transplacentaire des médicaments
Placental transfer of drugs
Elisabeth Elefant, Delphine Beghin

1059 Les défauts d'implantation placentaire et leurs conséquences sur la fonction endothéliale maternelle
Defective placental implantation and its effects on maternal endothelial function
Jean-Michel Foidart, Agnès Noël, Frédéric Chantraine, Sophie Lorquet, Philippe Petit, Carine Munaut, Sarah Berndt, Christel Pequeux, Jean-Pierre Schaaps

1067 Conclusion
Claude Sureau

Communications

1069 Nosologie et prise en charge des gammapathies monoclonales
Nosology and management of monoclonal gammapathy
Bruno Grosbois, Olivier Decaux, Lucienne Guenet, Jean Goasguen, Patrick Jego

1089 Immunoglobuline monoclonale : quand l'hématologue a-t-il besoin du neurologue ?
Monoclonal gammapathy : when does the haematologist's help ?
Véronique Leblond, Marie-Anne Hospital, Andrea Toma, Sylvain Choquet

1099 Neuropathies périphériques associées à une gammapathie monoclonale : corrélations clinico-immunologiques et perspectives thérapeutiques
Polyneuropathy associated with monoclonal gammapathy : treatment perspectives
Jean-Marc Léger, Bénédicte Chassande, Francesco Bombelli, Karine Viala, Lucile Musset, Jean Neil

1113 Information sur une nouvelle technique : la vitrification des ovocytes
Assesment of oocyte vitrification in an IVF/ICSI program
Pierre Boyer, Marie Gervoise-Boyer, Pierre Tourame, Catherine Poirot, Pierre Le Coz

1127 L'immunothérapie spécifique aux allergènes ou désensibilisation des maladies allergiques
Allergen-specific immunotherapy or desensitization
Pascal Demoly, François-Bernard Michel

Informations

1147 Une introduction à la médecine évolutionniste. L'évolution biologique, grande absente de l'enseignement médical
Evolutionary medicine an introduction. Evolutionary biology, a missing element in medical teaching
Bernard Swynghedauw

1165 Médecine thermale : actualités médicales et scientifiques
Crenobalneotherapy : a medical and scientific update
Charles-François Roques, Xavier de Boissezon, Patrice Queneau

Communiqués

1181 Recommandations de l'Académie nationale de médecine concernant les boissons alcooliques : responsabiliser le consommateur
Roger Nordmann (Au nom de la Commission VI : Addictions)

1185 Recommandations de l'Académie nationale de médecine concernant le traitement des tumeurs malignes des tissus mous
Recommendations of the French National Academy of Medicine on the treatment of soft-tissue sarcomas
Jacques Rouëssé (Au nom d'un groupe de travail)

1195 À propos de l'utilisation des cabines à bronzer
Jean Civatte, Jacques Bazex

Présentation d'ouvrages

1197 Monet J. — La naissance de la kinésithérapie. Préface de Denys Pellerin, Éditions Glyphe, Paris 2009, 420 p.
Présenté par Jean Dubousset

1198 Larcan A. et Ferrandis G.G. — Le service de santé aux armées pendant la Première Guerre mondiale, LBM édit., Paris 2008, 596 p.
Présenté par Jacques Philippon

1200 Bazin H. — L'histoire des vaccinations. Eurotext, Montrouge 2008, 471 p.
Présenté par Charles Pilet

Vie de l'Académie

1203 Pierre Choubrac (1916-2009)
Charles Haas

1205 Séance commune Académie d'Agriculture de France — Académie nationale de médecine :
Les pesticides. Raison d'être, connaissance et gestion des risques (Résumé)
Alain Rerat

1209 Séance commune Académie nationale de médecine (France), Academia Nacional de Medicina (Brésil)

1211 Introduction, *Géraud Lasfargues*
Le vieillissement de l'appareil locomoteur : avec une attention spéciale du vieillissement du rachis, *Jean Dubousset*

1223 Actes

Recommandations aux auteurs

1233 Instructions

Abonnements au Bulletin de l'Académie nationale de médecine

1235 Tarifs et modalités

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1015-1016, séance du 12 mai 2009

Séance thématique

La barrière fœto-placentaire

Mots-clés : Placenta. Circulation placentaire. Développement embryonnaire et foetal.

Placental barrier

Key-words (Index Medicus) : Placenta. Placental circulation. Maternal-fetal exchange

INTRODUCTION

Christian NEZELOF *

Depuis déjà longtemps, les taxonomistes ont séparé dans la procréation :

— les ovipares, les êtres pondeurs d'œufs complets, abandonnés dans la nature, possédant les réserves nutritives nécessaires à la survie de leurs petits,

— les vivipares, les êtres qui portent en eux dans une poche ou un organe spécialisé, l'utérus, pendant une période de temps limité, leur descendance, leur assurant un abri plus sûr et une alimentation régulée en permanence, laquelle sera relayée après la naissance par l'allaitement. Par définition, les mammifères sont des vivipares.

Cette distinction sous-entend que chez les vivipares, en particulier les primates, les relations fœto-maternelles passent par un organe intermédiaire régulateur, un médiateur**, le placenta**.

Etant à l'embryon et au fœtus ce qu'est la fusée porteuse au missile interplanétaire, le placenta est un organe indispensable au changement de monde et à l'installation d'une vie terrestre et aérienne. Dans les efforts de procréation assistée, on a pu jusqu'à présent remplacer les gamètes, mais ni l'utérus ni surtout le placenta n'ont trouvé leur substitut.

Comme beaucoup de structures embryonnaires (arcs branchiaux, pronephros, mesonephros etc.) le placenta est une structure *provisoire,* victime à la naissance de ce qu'il est convenu d'appeler aujourd'hui, une apoptose. Celle-ci est gigantesque et symbolise en même temps la vie et la mort. De cette ambiguïté sont nées des croyances et des approches culturelles nombreuses et variées. Dévoré sur place par

* Membre de l'Académie nationale de médecine

nombre d'animaux, accroché aux branches d'un banian en Extrême-Orient, enterré sous les pas d'une maison en Afrique du nord, dispersé entre les firmes de cosmétologie ou de pharmacologie ou simplement jeté à la poubelle, le placenta mérite un autre regard.

Tout proche de l'embryon dont il partage l'origine et possède le double (maternel et paternel) capital génétique, le placenta est l'écho d'un lointain passé, sachant encore partiellement utiliser des voies métaboliques anaérobiques et exprimer des molécules provirales présentes sur terre il y a plusieurs dizaines de millions d'années. Il est surtout l'intime compagnon de l'embryon ou du fœtus et le fidèle témoin de son état et de ses avatars. Sous cet angle ; il est à la fois le notaire et l'impresario de l'embryon, illustrant parfaitement le célèbre aphorisme de Geoffroy Saint-Hilaire : l'ontogenèse récapitule la phylogenèse.

Comme l'embryon, le placenta possède ses propres tissus. Ceux-ci sont *originaux* et ne réapparaissent que dans des conditions pathologiques, dans des tumeurs, les tératomes où leur présence (en particulier le trophoblaste) signe à tout coup la malignité.

Ces structures originales, personnelles au placenta hémochorial sont :

Une vascularisation lacunaire,
Des vestiges vitellins,
Un mésenchyme très primitif, le chorion, où des chercheurs ont récemment trouvé des cellules souches,
Un tissu épithélial, nommé très judicieusement le trophoblaste, divisé en :

— **trophoblaste extravilleux**, invasif, ancrant l'œuf à l'utérus et assurant l'ouverture ou la fermeture des artères nourricières et nouant avec elles des relations si intimes qu'elles facilitent les conflits ou les complicités immunitaires,
— **trophoblaste villeux**, habillant les innombrables villosités choriales, qui vont « faire leur marché » dans le sang maternel

C'est la **barrière fœto-placentaire**. Ce n'est pas un simple passe-plat. Elle n'est ni étanche ni passive. Elle est le siège d'une fine régulation, laquelle varie avec le terme de la grossesse. C'est ce sujet que Danièle Evain-Brion et moi avec le concours de Jean-Michel Foidart, Philippe le Bouteiller et Elisabeth Eléfan, proposons à votre attention ce soir.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1017-1027, séance du 12 mai 2009

La différenciation du trophoblaste humain

Mots-clés : Placenta. Retroviridae. Oxygène. Complications de la grossesse. Trophoblastes

Human trophoblast differentiation

Key-words (Index medicus) : Placenta. Retroviridae. Oxygen. Pregnancy complications. Trophoblasts

Danièle EVAIN-BRION *, Jean GUIBOURDENCHE *, Vassili TSATSARIS *, Thierry FOURNIER *.

RÉSUMÉ

Le rôle du placenta au cours de la grossesse normale et pathologique reste encore trop mal connu. Cependant au cours de ces dernières années de nouveaux aspects de la biologie du trophoblaste ont été révélés. D'une part l'environnement en oxygène et des protéines d'enveloppe rétrovirale, spécifiquement exprimées dans le trophoblaste, semblent jouer un rôle fondamental dans sa différenciation morphologique et fonctionnelle. D'autre part, les fonctions hormonales trophoblastiques évoluent qualitativement et quantitativement, d'un rôle paracrine au premier trimestre de la grossesse vers plus tardivement un rôle endocrine impliqués dans la placentation et la quiescence utérine. Ces éléments ouvrent de nouvelles perspectives diagnostiques et thérapeutiques des pathologies de la grossesse d'origine placentaire.

SUMMARY

The role of the placenta in normal and pathological pregnancy is poorly understood, but important new insights into trophoblast biology have been obtained in recent years. The oxygen environment and retroviral envelope proteins are now known to play a role in morphological and functional differentiation of the human trophoblast. The qualitative and quantitative development of trophoblast hormonal functions during pregnancy, from a paracrine role during the first trimester to an endocrine role in placentation and uterine quiescence, is becoming increasingly clear. These findings are offering new perspectives in the diagnosis and treatment of disorders of placental origin.

* Inserm UMR 767 Paris Descartes, Fondation de coopération scientifique PremUP. Faculté des Sciences Pharmaceutiques, 4 Avenue de l'Observatoire, 75006 Paris et e-mail : daniele.evain-brion@parisdescartes.fr

Tirés à part : Professeur Danièle Evain-Brion, même adresse
Article reçu et accepté le 27 avril 2009

Une semaine après la fécondation, le blastocyste a épuisé ses réserves nutritives, sa vie libre ne peut donc être que de courte durée. Il se différencie en bouton embryonnaire et en trophoblaste. Ce dernier définit alors avec l'organisme maternel par un processus d'implantation, une structure qui lui permettra de se développer au cours de la gestation : le placenta. Le placenta humain est caractérisé par l'invasion majeure du trophoblaste le conduisant au contact du sang maternel (placentation hémochoriale) et par l'intensité et la spécificité de ses fonctions hormonales. Ces hormones jouent un rôle essentiel dans l'établissement et le maintien de la grossesse, l'adaptation de l'organisme maternel à la grossesse, la croissance et le développement du fœtus et dans le mécanisme de la parturition.

DIFFÉRENCIATION MORPHOLOGIQUE DU TROPHOBLASTE HUMAIN

Développement des villosités choriales

Le placenta humain est un placenta de type villeux. Dès trois semaines après la fécondation, l'unité structurale et fonctionnelle du placenta humain, la villosité choriale, est en place dans sa structure définitive. Cette villosité est formée par un axe mésenchymateux où se développent par une angiogénèse et une vasculogénèse intenses les vaisseaux fœtaux et est bordée par le trophoblaste. Elle est soit ancrée dans l'utérus maternel, soit flottante dans la chambre intervilleuse. Au sein de cette villosité, le trophoblaste se différencie suivant deux voies : le trophoblaste extravilleux au contact de la muqueuse utérine qui assure l'ancrage du placenta et le trophoblaste villeux recouvrant l'arbre villositaire, siège des échanges fœtomaternels et des fonctions endocrines placentaires.

Le trophoblaste extra-villeux est invasif et pénètre profondément dans la muqueuse utérine jusqu'au tiers supérieur du myomètre. Ainsi à la base des villosités crampons, les cytotrophoblastes extravilleux sont tout d'abord prolifératifs, groupés, en colonne. Puis ils perdent leur caractère prolifératif et vont migrer et envahir l'endomètre maternel en interagissant avec les cellules déciduales et les cellules immunocompétentes intra-déciduales, tels, les macrophages et les cellules NK (Natural Killer). Le non-rejet des cytotrophoblastes par ces cellules de l'organisme maternel est lié à l'existence à leur surface d'antigènes de classe 1 particuliers (HLA-G) et à la sécrétion de nombreuses cytokines et facteurs immunomodulateurs. Les cytotrophoblastes extravilleux invasifs poursuivent leur migration dans la décidue, et le premier tiers du myomètre, réalisant l'invasion interstitielle. Ils terminent leur migration interstitielle en se différenciant en cellules géantes bi-trinucléées. Mais surtout les cytotrophoblastes extravilleux envahissent par voie endo et périvasculaire les artères spiralées utérines dans leur tiers supérieur. Ainsi, se forment des bouchons trophoblastiques obturant ces artères spiralées utérines et jouant un rôle fondamental. En effet ils ne laissent passer dans la chambre intervilleuse pendant le

premier trimestre de la grossesse qu'un infiltrat sanguin dépourvu d'éléments figurés et de fait protègent l'embryon de taux trop élevés d'oxygène à ces étapes critiques du développement. Cette invasion trophoblastique artérielle est essentielle car elle permet de plus la transformation de la tunique élastique artérielle en une paroi fibreuse atone n'offrant que peu de résistance au flux sanguin maternel. Ainsi après disparition progressive des bouchons trophoblastiques, l'arrivée du sang maternel dans la chambre intervilleuse se fait sans résistance. Cet afflux sanguin atteint 800ml/min à la fin de la grossesse.

Les cellules trophoblastiques villeuses forment une couche de cellules mononucléées prolifératives qui se différencient par fusion cellulaire en un syncytiotrophoblaste qui recouvre l'ensemble des villosités. Ce dernier se régénère tout au long de la grossesse par fusion et différenciation des cellules cytotrophoblastiques sous-jacentes. La progression apoptotique du syncytiotrophoblaste conduit à l'accumulation de noyaux condensés dans des fragments syncytiaux qui sont libérés dans la circulation maternelle. Ces fragments sont à l'origine de 20 % de la présence d'ADN dit fœtal (mais en réalité trophoblastique) et de la totalité de l'ARN dit fœtal circulant. Cette apoptose associée ou non à une nécrose est augmentée dans les pathologies de la grossesse d'origine placentaire telle la prééclampsie ou le retard de croissance intra-utérin. La présence de cet ADN et ARN d'origine trophoblastique dans la circulation maternelle ouvre des perspectives prometteuses pour le diagnostic prénatal [1].

Ce syncytiotrophoblaste présente à sa surface de nombreuses microvillosités qui favorisent sa fonction d'échange. Le syncytiotrophoblaste est un tissu endocrine qui possède de nombreuses particularités. En effet, son activité endocrine est fortement polarisée. Il sécrète plus de 99 % de ses hormones polypeptidiques dans la circulation maternelle [2].

Enfin le syncytiotrophoblaste qui possède le même caryotype que le fœtus est un tissu endocrine sexué. La masse du syncytiotrophoblaste semble plus importante dans les placentas avec un caryotype féminin, expliquant les taux légèrement plus élevés, mais de façon significative sur de larges séries, des hormones d'origine syncytiotrophoblastique en cas de fœtus féminin. Il faut cependant noter que les différences des taux sériques maternels d'hCG en fonction du sexe fœtal ne sont pas suffisantes pour interférer dans le dépistage de la trisomie 21 fœtale par les marqueurs sériques maternels.

La différenciation du trophoblaste humain reflet de l'évolution

Rétrovirus et trophoblaste

Au cours de l'évolution, le génome humain a inséré de nombreuses séquences rétrovirales qui représentent environ 8 à 10 % de celui-ci. De façon tout à fait particulière un grand nombre de ces séquences sont exprimées préférentiellement au niveau placentaire. Elles sont insérées en amont de certains gènes et impliquées

dans la régulation de leur expression. Il en est ainsi pour l'expression dans le placenta humain du gène de la leptine ou d'un facteur de croissance de la famille des IGFs. Mais de façon encore plus singulière, certaines séquences rétrovirales sont capables de coder pour la protéine d'enveloppe du rétrovirus. Ainsi le retrovirus FRD (codant pour sa glycoprotéine d'enveloppe, syncytine 2) a intégré le génome des primates il y a plus de quarante millions d'années (avant la séparation des singes du nouveau monde et de l'ancien monde) tandis que le rétrovirus HERV-W (codant pour la syncytine 2) a été inséré il y a environ vingt-cinq millions d'années. Ces gênes restent actifs dans toutes les branches correspondantes de primates, suggérant une sélection pour un rôle physiologique essentiel [3-5].

Ces protèines d'enveloppe rétrovirale semblent impliquées dans la morphogénèse placentaire. Elles jouent un rôle direct dans la fusion cellulaire, étape limitante de la formation et de la régénération du syncytiotrophoblaste [6]. Ces protéines d'enveloppe rétrovirales fusogènes (syncytine 1, et syncytine 2) sont au niveau placentaire exprimées uniquement dans le trophoblaste avec une expression spécifique pour chacune d'entre elles. La syncytine 1 est exprimée dans tout le trophoblaste quel que soit sa voie de différenciation, la syncytine 2 uniquement dans quelques cytotrophoblastes villeux [7]. Leur action fusogène est liée à leur interaction avec des récepteurs membranaires distincts pour chacune d'entre elles (respectivement transporteur d'amino acides et de carbohydrates) [8]. Enfin la syncytine 2 semble posséder une action immunomodulatrice. La régulation de leur expression est encore mal connue. L'hypoxie au centre de nombreuses pathologies placentaires diminue l'expression de la syncytine 1 et des mécanismes épigénétiques tel un processus de méthylation pourrait réguler son expression.

Influence de l'oxygène dans la régulation du développement et des fonctions du trophoblaste.

L'accumulation d'oxygène dans l'atmosphère de la terre est une étape essentielle dans l'évolution. Indispensable à la vie aérobie, sa forte réactivité conduisant à la production de radicaux libres hautement toxiques, souligne l'importance d'une régulation fine au niveau cellulaire.

La pression partielle d'oxygène dans l'utérus au moment de l'implantation est faible dans de nombreuses espèces animales, aux alentours de 15 à 18 mm de mercure dans l'espèce humaine. De telles conditions favorisent le développement embryonnaire préimplantatoire et minimisent la production de radicaux libres dérivés de l'oxygène hautement tératogènes. En raison de la présence des bouchons trophoblastiques, la pression d'oxygène dans l'espace intervilleux au premier trimestre de la grossesse est d'environ 20 mm de mercure alors qu'au niveau de la décidue il avoisine 60 mm de mercure. Le trophoblaste utilise à ce stade des voies métaboliques phylogénétiquement anciennes notamment des hydrates de carbone produisant de grandes quantités de polyols tel le sorbitol, le ribitol et l'erythritol. Ces sucres non phosphorylés permettent la production de NAD+ à partir de NADH à l'origine d'une glycolyse sans accumulation de lactate. Au cours du premier trimestre de la grossesse, cet

environnement faible en oxygène favorise le développement placentaire par la stimulation de l'angiogenèse et la prolifération des cytotrophoblastes. La disparition progressive des bouchons trophoblastiques augmente significativement les pressions intraplacentaires d'oxygène. C'est à ce stade qu'apparaissent au sein du trophoblaste les enzymes antioxydantes telles les superoxydes dismutases à Cuivre Zinc ou à Manganèse. Des pressions d'oxygène de 60mm de mercure sont ainsi observées au deuxième trimestre de la grossesse pour répondre à la demande métabolique du fœtus en croissance rapide avant de diminuer à 40 mm de mercure en fin de grossesse en raison de la forte consommation fœtoplacentaire [9].

Un défaut d'adaptation du trophoblaste à cette augmentation de la concentration en oxygène ou des fluctuations de cette concentration secondaire à un défaut de remaniement des artères spiralées utérines sont à l'origine d'un stress du reticulum endoplasmique inhibant la synthèse protéique et/ou un stress oxydatif délétère pour la croissance et différenciation du trophoblaste [10].

Il faut remarquer que les pathologies placentaires qui caractérisent le retard de croissance intra-utérin et la prééclampsie sont liées aux fluctuations de l'oxygénation en rapport avec les constrictions spontanées des artères spiralées non remaniées ayant conservé une couche musculaire lisse plus qu'à une hypoxie seule. En effet, le développement placentaire est normal au cours de la grossesse se déroulant en altitude. Ces fluctuations en oxygène inhibent la formation du syncytiotrophoblaste en bloquant via les protéines d'enveloppes rétrovirales la fusion trophoblastique et accélèrent son apoptose. Les fragments syncytiaux libérés en grand nombre dans la circulation maternelle induisent alors une inflammation globale de l'arbre vasculaire maternel à l'origine des signes systémiques de la prééclampsie (hypertension et protéinurie). Le défaut de formation du syncytiotrophoblaste retentit sur les fonctions d'échanges et les fonctions hormonales du placenta conduisant ainsi à un défaut de croissance fœtale.

DIFFÉRENCIATION TROPHOBLASTIQUE ET FONCTIONS HORMONALES

Le trophoblaste humain est caractérisé par l'intensité de ses fonctions hormonales. Les hormones stéroïdiennes (progestérone hormone indispensable à la grossesse maintenant la quiescence utérine, oestrogènes) et polypeptidiques sont sécrétées en quantité beaucoup plus importante que chez les autres mammifères. Le placenta humain organe endocrine extrêmement actif est cependant incomplet dans les mécanismes de la stéroïdogenèse. En effet, il est dépourvu du complexe enzymatique 17α hydroxylase/17-20 lyase nécessaire à la conversion de la prégnenolone en androgènes, substrat de la synthèse des oestrogènes. Cette étape est réalisée par les surrénale fœtales et maternelles. Il existe donc pour la synthèse des oestrogènes une parfaite coopérativité avec le fœtus, d'où le concept classique d'unité fœto-placentaire. Une autre particularité du trophoblaste est la possibilité d'inactiver le

cortisol maternel ou fœtal en cortisone, ce qui permet un contrôle précis de la quantité de glucocorticoïdes actifs arrivant au fœtus.

Le placenta sécrète de nombreuses hormones polypeptidiques Ce sont essentiellement hCG (human chorionic gonadotropin), hPL (hormone lactogène placentaire) ou hCS (hormone chorionique somatomammotropine) et en quantité moindre l'hormone de croissance placentaire.

Au premier trimestre de la grossesse, ces hormones peptidiques sont sécrétées en grande quantité par le trophoblaste invasif et assurent par des mécanismes autocrines et paracrines la qualité de la placentation. Ainsi à titre d'exemple, le trophoblaste invasif sécrète une forme particulière d'hCG, hyperglycosylée, impliquée dans l'invasion trophoblastique et possiblement dans le remaniement vasculaire. Cette forme d'hCG hyperglycosylée n'est pas produite par le trophoblaste endocrine (syncytiotrophoblaste) et disparaît de la circulation maternelle à la fin du premier trimestre de la grossesse [11].

De même l'hormone de croissance placentaire, produit du gène GH-V exprimé spécifiquement dans le trophoblaste et qui diffère de l'hormone de croissance hypophysaire par 13 acides aminés, illustre l'évolution des fonctions hormonales placentaires au cours de la grossesse. Au premier trimestre de la grossesse, la GH placentaire est produite essentiellement par le trophoblaste invasif et stimule par un mécanisme autocrine l'invasion trophoblastique et assure la qualité de la placentation (invasion trophoblastique majeure et remaniement artériel) [12]. Au deuxième trimestre de la grossesse, sa production par le trophoblaste villeux endocrine devient prédominante et prend en charge le métabolisme maternel. L'hormone de croissance placentaire devient un acteur majeur de l'état de résistance à l'insuline qui caractérise la grossesse en modulant la captation du glucose au niveau musculaire [13].

DIFFERENCIATION TROPHOBLASIQUE ET PATHOLOGIES DE LA GROSSESSE

Prééclampsie

La prééclampsie est une entité clinique définie par l'association d'une hypertension artérielle (≥ 14/9) et d'une protéinurie significative (≥ 0,30g/24h) à partir de la 20^{e} semaine d'aménorrhée (SA). C'est une complication majeure et fréquente (environ 2 %) qui touche seize mille grossesses par an en France met en jeu le pronostic maternel et fœtal. La physiopathologie de la pré-éclampsie reste encore mal connue. Cependant les données expérimentales récentes confrontées aux études anatomopathologiques plus anciennes, orientent vers un schéma physiopathologique incluant plusieurs étapes successives : — un défaut initial de placentation, caractérisé par un défaut d'invasion trophoblastique et de remodelage des artères spiralées

utérines induisant une diminution de l'afflux sanguin maternel vers le placenta ; — un terrain maternel prédisposé incluant des facteurs génétiques et environnementaux modulés par les adaptations métaboliques à la grossesse ; — un stress oxydant secondaire aux fluctuations des concentrations en oxygène induisant un dysfonctionnement généralisé du syncytiotrophoblaste placentaire et la libération de fragments syncytiaux apoptotiques dans la circulation maternelle. Ceux-ci induisent une inflammation généralisée de l'endothélium maternel conduisant au second trimestre aux signes cliniques de cette maladie. L'approche expérimentale de cette pathologie d'origine placentaire est difficile puisqu'elle est diagnostiquée tardivement sur des signes cliniques à un stade ou il est difficile de définir si les lésions placentaires observées sont la cause ou la conséquence du processus pathologique.

De façon intéressante plusieurs études suggèrent une diminution significative de l'expression des syncytines dans les placentas de prééclampsie sans qu'il soit possible de définir si celle-ci est à l'origine des anomalies de différenciation trophoblastique dans cette maladie ou un simple reflet de l'hypoxie placentaire.

Trisomie 21

La trisomie 21 (T21) est l'anomalie génétique viable la plus fréquente et la cause majeure de retard mental. Bien qu'en pratique clinique quotidienne le dépistage de la T21 fœtale repose en partie sur des marqueurs sériques maternels d'origine placentaire, telle l'hCG (human chorionic gonadotropin) élevée, peu d'études ont été menées sur le développement placentaire dans cette aneuploïdie. Nous avons révélé révélé en utilisant un modèle *in vitro* de différenciation des cytotrophoblastes villeux en syncytiotrophoblaste un défaut de formation du syncytiotrophoblaste en cas de T21 [14]. Ce défaut de différenciation et de fusion du trophoblaste, lié à la surexpression d'origine génétique de la superoxide dismutase à cuivre zinc [15] mais aussi à la production d'une hCG anormalement glycosylée à faible activité biologique [16].

Une anomalie de la cinétique d'expression des syncytines lors de la formation du syncytiotrophoblaste est observée dans cette aneuploïdie. Il faut noter que ce défaut de formation du syncytiotrophoblaste observée dans la trisomie 21 est réversible *in vitro*, notamment en présence d'hCG biosynthétique [17].

Infection à cytomégalovirus

Parmi les nombreux facteurs de transcription impliqués dans la regulation de la différenciation du trophoblaste humain, le PPAR (peroxysome proliferators activator receptor) gamma joue un role fondamental en modulant la différenciation du trophoblaste [18]. Ce récepteur nucléaire activé par des ligands lipidiques est exprimé dans le placenta uniquement dans le trophoblaste. Son activation inhibe l'invasion trophoblastique. Le cytomegalovirus de la famille des virus de l'herpes utilise la machinerie cellulaire de son hôte pour échaper à la réponse immunitaire et

faciliter sa replication. Ainsi dans le trophoblaste il active PPARγ pour sa replication mais perturbe ainsi l'invasion trophoblastique pouvant expliquer les avortements précoces lors de cette infection [19].

Retard de croissance intra utérin

La croissance fœtale est régulée essentiellement par l'apport nutritionnel au fœtus et est donc tributaire de la qualité du développement placentaire au centre des interactions entre la mère et le fœtus. La fonction d'échange est donc la fonction fondamentale du placenta. Elle implique divers mécanismes de transferts passifs, actifs ou facilités. La qualité de ces échanges entre la mère et le fœtus dépend surtout de la circulation du sang maternel dans la chambre intervilleuse et de l'intégrité de la surface du syncytiotrophoblaste. En contact direct avec le sang maternel, le syncytiotrophoblaste assure outre ses fonctions endocrines et métaboliques, des fonctions immuno-suppressives et d'hémostase comparables à celles d'un endothélium. De fait, il est facile d'imaginer que les altérations d'origine génétique ou environnementale (tabac, alcool, drogue...) du développement et/ou des fonctions du syncytiotrophoblaste vont interférer sur ses fonctions indispensables à la croissance fœtale.

CONCLUSION

Ce bref résumé des connaissances acquises les plus récentes sur les facteurs impliqués dans la différenciation du trophoblaste souligne combien son étude peut fasciner le biologiste mais aussi les perspectives d'une meilleure approche diagnostique et thérapeutique des pathologies de la grossesse d'origine placentaire.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Chiu RW., Chan KC.,, Gao Y., Lau VY., Zheng W., Leung TY. — Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*., 2008, *105*, 20458-20463.

[2] Linneman K., Malek A., Sager R., Blum WF., Schneider H., Fusch C. — Leptin production and release in the dually *in vitro* perfused human placenta. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., 2000, *85*, 4298-301.

[3] Blaise S., De Parseval N., Benit L., Heidmann T. — Genomewide screening for fusogenic human endogenous retrovirus envelopes identifies syncytin 2, a gene conserved on primate evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 2003, *100*, 13013-13018.

[4] Mi S., Leeee X., Li X., Veldman G.M., Finnerty H., Racie L — Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature,* 2000, *403*, 785-789.

[5] Blond J.L., Beseme F., Duret L., Bouton O., Bedin F., Perron H., Mandrand B., Mallet F. — Molecular characterization and placental expression of HERV-W, a new human endogenous retrovirus family. *J. Virol*., 1999, *73*, 1175-1185.

[6] Frendo JL, Olivier D, Cheynet V, Blond JL, Bouton O, Vidaud M. — Direct involvement of HERV-W Env glycoprotein in human trophoblast cell fusion and differentiation. *Mol Cell Biol*., 2003, *23*, 3566-3574.

[7] Malassine A, J.L. Frendo, Evain-Brion D. — Trsisomy 21- affected placentas highlight prerequisite factors for human trophoblast fusion and differentiation. 2009. *Int. J. De. Biol.,* sous presse

[8] Esnault C., Priet S., Ribet D., Vernochet C., Bruls T., Lavialle C. — A placenta-specific receptor for the fusogenic, endogenous retrovirus-derived, human syncytin-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 2008, *105*, 17532-17537.

[9] Burton GJ. — Oxygen, the Janus gas ; its effects on human placental development and function. *J Anat*., 2008 Oct 7. [Epub ahead of print]

[10] Yung HW, Calabrese S, Hynx D, Hemmings BA, Cetin I, Charnok-Jones DS — Evidence of placental translation inhibition and endoplasmic reticulum stress in the etiology of human intrauterine growth restriction. *Am. J. Pathol.,* 2008, *173*, 451-62.

[11] Handschuh K, Guibourdenche J, Tstasaris V, Guesnon M, Laurendeau I, Evain-Brion D — Human chorionic gonadotropin produced by the invasive trophoblast but not the villous trophoblast promotes cell invasion and is down-regulated by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Endocrinology,* 2007, *148*, 5011-5019.

[12] Lacroix M.C., Guibourdenche J., Fournier T., Laurendeau I., Igout A., Goffin V. — Stimulation of human trophoblast invasion by placental growth hormone. *Endocrinology*. 2005, *5*, 2434-2444.

[13] Barbour L.A., Shao J., Qiao L, Leitner W., Anderson M., Friedman J.E — Human placental growth hormone increases expression of the p85 regulatory unit of phosphatidylinositol 3-kinase and triggers severe insulin resistance in skeletal muscle. *Endocrinology*, 2004, *145*,1144-1150.

[14] Frendo J.L., Vidaud M., Guibourdenche J., Luton D., Muller F, Bellet D — Defect of villous cytotrophoblast differentiation into syncytiotrophoblast in Down's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*., 2000, *85*, 3700-3707.

[15] Frendo JL, Therond P, Bird T, Massin N, Muller F, Guibourdenche J. — Overexpression of copper zinc superoxide dismutase impairs human trophoblast cell fusion and differentiation. *Endocrinology*. 2001, *142*, 3638-3648.

[16] Frendo J.L., Guibourdenche J., Pidoux G., Vidaud M., Luton D., Giovagrandi Y. — Trophoblast production of a weakly bioactive human chorionic gonadotropin in trisomy 21-affected pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.,* 2004, *89*, 727-732.

[17] Pidoux G, Gerbaud P, Marpeau O, Guibourdenche J, Ferreira F, Badet J — Human placental development is impaired by abnormal human chorionic gonadotropin signaling in trisomy 21 pregnancies. *Endocrinology*, 2007, *148*, 5403-5413.

[18] Fournier T, Therond P, Handschuh K, Tsatsaris V, Evain-Brion D. — PPARgamma and early human placental development. *Curr. Med. Chem*., 2008, *15*, 3011-24.

[19] Rauwel B., Mariame B., Martin H., Nielsin R., Allart S., Pipy B — Activation of PPAR-gamma for de novo replication of HCMV impairs trophoblast differentiation. Sous presse

DISCUSSION

M. Jean-Daniel SRAER

Quel est le rôle du système fibrinolythique (UK, tPA, Pai1) dans la formation des bouchons muqueux ? Quelles sont les principales enzymes impliquées dans la digestion du collagène lors du développement des vaisseaux ?

Les artères spiralées utérines sont obstruées pendant le premier trimestre de la grossesse par des amas de cellules trophoblastiques, appelés « bouchons trophoblastiques ». La disparition progressive de ceux-ci de la périphérie du placenta vers le centre au début du deuxième trimestre de la grossesse fait certainement intervenir un grand nombre d'enzymes protéolytiques notamment des métalloprotéases détruisant les molécules d'adhérence des cellules entre elles et des cellules à la matrice extracellulaire.

M. André-Laurent PARODI

Votre conclusion fait apparaître le placenta hémochorial des primates comme l'aboutissement de l'évolution des placentaires. Pouvez-vous nous dire rapidement en quoi ce placenta présente des progrès au regard d'autres placentas, peut-être plus occlusifs comme des placentas épithélio ou syndesmo-choriaux ?

Le placenta hémochorial des primates est caractérisé par l'invasion importante du trophoblaste dans la cavité utérine le conduisant au contact du sang maternel. Cette caractéristique est possiblement liée à l'apparition de la station debout. Cependant comme l'ont montré les travaux de R. Leiser, la fonction essentielle du placenta, qui est la capacité d'assurer les échanges fœtomaternels est plus « efficace » dans d'autres types de placentation.

M. Jean-Jacques HAUW

Que sait-on des mécanismes de régulation de l'invasion trophoblastique de la paroi utérine ?

L'invasion trophoblastique implique les mêmes mécanismes complexes que ceux présents dans l'invasion tumorale mais elle est caractérisée par le fait qu'elle est contrôlée par l'environnement utérin. Cet environnement utérin implique la décidue, composée notamment de cellules déciduales, de cellules immunocompétentes maternelles et de vaisseaux utérins. La décidue produit un certain nombre de facteurs solubles qui inhibent l'invasion cellulaire (à titre d'exemple inhibiteurs de protéses, TGFbeta...) et/ou guide celle-ci tel l'IGFBP1. Il en est de même des cellules immunocompétentes maternels (natural killers, lymphocytes B, macrophages...). Par ailleurs il apparaît clairement que la teneur élevé en oxygène des vaisseaux artériels joue un rôle essentiel dans la différenciation du trophoblaste vers un phénotype invasif via des facteurs de transcription trophoblastique tel HIF1. Les mécanismes de régulation de cette invasion trophoblastique ne sont pas tous élucidés mais au cœur des pathologies de la grossesse d'origine placentaire, tel le retard de croissance intrautérin ou la prééclampsie.

M. Georges DAVID

Le passage d'éléments trophoblastiques est habituel en cours de grossesse. On sait qu'il y a possibilité de persistance bien au-delà de l'accouchement. Quel est le mécanisme de leur tolérance ?

Il est bien établi qu'on peut retrouver dans les capillaires des poumons maternels mais non dans la circulation périphérique des fragments de syncytiotrophoblaste avec de nombreux noyaux. Cependant comme il sera illustré dans l'exposé de Philippe Lebouteiller le trophoblaste, notamment le trophoblaste invasif dit « extravilleux », peut

également être retrouvé dans la circulation maternelle. Ce dernier exprime à sa surface des antigènes d'histocompatibilité spécifique (HLAG notamment) qui l'empêche d'être reconnu par les cellules immunocompétentes maternelles.

M . Jacques MILLIEZ

Le dosage différentiel, qualitatif, des différentes molécules d'hCG permettra-t-il un jour le diagnostic de trisomie 21 fœtale ?

L'étude de l'hormone chorionique gonadotrope (hCG) à sa source de production trophoblastique, révèle que les trophoblastes isolés de placenta avec une trisomie 21 produisent des formes d'hCG anormalement glycosylées. La détection de ces formes d'hCG dans le sang maternel, pourra améliorer le dépistage de la trisomie 21 fœtale, la certitude diagnostique reposant sur la preuve de l'anomalie génétique.

M. Jean-Yves LE GALL

Le génome humain contient donc environ 8 % de séquences rétrovirales. La plupart sont tronquées et donc inactives. Connaît-on le nombre de ces séquences complètes et actives, leur localisation et les facteurs de transcription qui contrôlent leur activité ?

Les travaux de De Parseval *et coll.* (2003) ont révélé que parmi les séquences non tronquées, 16 gènes sont capables de coder pour la protéine d'enveloppe des rétrovirus. Trois de ces séquences sont fortement exprimées au niveau placentaire. Les facteurs de transcription contrôlant leur activité sont encore très mal connus.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1029-1042, séance du 12 mai 2009

Immunité de la gestation : nouveaux concepts

Mots-clés : Cellules tueuses naturelles. Cytokines. Cytotoxicité. Antigène HLA. Trophoblastes. Placenta

Immunity of pregnancy : novel concepts

Key-words (Index medicus) : Killer cells, natural. Cytokines. Cytotoxicity. HLA antigens. Trophoblasts. Placenta

Philippe LE BOUTEILLER *, Hicham EL COSTA *, Maryse AGUERRE-GIRR *, Julie TABIASCO *

RÉSUMÉ

L'énigme immunologique de la grossesse a fait l'objet de nombreuses études depuis les hypothèses émises par Sir Peter Medawar dans les années 50, qui ont servi de base de réflexion. Avec l'avancée des technologies et les nombreuses découvertes en immunologie fondamentale, de nouveaux concepts ont émergé d'études effectuées dans des modèles de gestation murins mais également d'observations et d'expériences ex vivo chez l'homme. Plusieurs mécanismes moléculaires ont été décrits qui neutralisent les effets potentiellement néfastes d'effecteurs de la réponse immune maternelle vis-à-vis des cellules trophoblastiques d'origine fœtale et exprimant des alloantigènes paternels, présentes aux interfaces fœto-maternelles durant la gestation. La fonction cytotoxique des alloanticorps maternels anti-paternels, détectables pendant la grossesse, peut ainsi être bloquée localement au niveau du placenta par des protéines inhibitrices du complément et par une délétion partielle des cellules B maternelles spécifiques de ces alloantigènes. Les cellules T CD8+ cytotoxiques spécifiques des mêmes alloantigènes acquièrent un état de tolérance transitoire et réversible vis-à-vis de ceux-ci et/ou sont éliminées ou bloquées dans leur prolifération par des molécules immunosuppressives secrétées par le trophoblaste. Les cellules NK utérines, recrutées en très grand nombre au site d'implantation embryonnaire ont un potentiel cytotoxique négativement contrôlé pendant la gestation. Il a également été démontré chez l'homme que les interactions entre certains récepteurs activateurs présents sur les cellules NK utérines et les cellules du cytotrophoblaste extravilleux et les cellules stromales utérines favorisaient le remodelage vasculaire utérin. A l'inverse, il a été démontré que les mères qui n'expriment pas ou peu de récepteurs NK utérins de type KIR activateur (génotype AA) et portent un fœtus exprimant des molécules HLA-C du groupe C2 présentaient un grand risque de développer une pré-éclampsie.

* Inserm U563, Centre de physiopathologie de Toulouse-Purpan, Bât. A, CHU Purpan, B 3028 — 31024 Toulouse Cedex 3, et e-mail : philippe.le-bouteiller@inserm.fr

Tirés à part : Docteur Philippe Le Bouteiller, même adresse
Article reçu et accepté le 24 avril 2009

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1029-1042, séance du 12 mai 2009

SUMMARY

Pregnancy represents an immunological paradox, as underlined by the Nobel prize laureate Peter Medawar in the 1950s. This paradox is generating renewed interest with insights obtained in studies of pregnant mice and in ex vivo experiments performed with human cells and tissues. A number of molecular mechanisms have been discovered that prevent maternal placental immune effector cells located at the maternal-fetal interface from attacking fetus-derived cells. For example, maternal alloantibodies directed against paternal alloantigens expressed by the trophoblast are blocked by complement-inhibiting proteins, and maternal B cells specific for these paternal antigens are partially deleted. Maternal anti-paternal $CD8^+$ cytotoxic T cells are inefficient, owing to the lack of HLA-A and HLA-B molecule expression on trophoblast target cells, together with the action of local immunosuppressive molecules, and transient tolerance of paternal alloantigens. NK cells present in the pregnant uterus and directed against fetus-derived trophoblast cells exhibit little if any cytotoxic potential. Interestingly, decidual NK cell/trophoblast interactions appear to play a physiological role in vascular uterine remodeling and in subsequent placental development. Most possible combinations of uterine NK KIR receptors and fetal HLA-C molecules expressed by the trophoblast are compatible with normal pregnancy, but the risk of severe preeclampsia appears to be far higher than normal when the mother's uterine NK cells do not express activating KIR (AA genotype) and when her fetus possesses group C2 HLA-C molecules.

L'énigme immunologique de la grossesse chez les animaux vivipares (le fœtus et ses annexes extra-embryonnaires, en particulier les cellules trophoblastiques, expriment des alloantigènes d'origine paternelle, normalement reconnus par la mère comme du " non-soi ", et devraient donc être rejetés, comme une allogreffe, par le système immunitaire de la mère) a été à l'origine de plusieurs hypothèses émises par le prix Nobel Sir Peter Medawar dans les années 50 [1]. D'innombrables articles, revues et discussions se sont basées sur ces hypothèses. Plusieurs avancées significatives ont récemment permis de clarifier un certain nombre de mécanismes moléculaires à l'origine de cette énigme et qui remettent en question la théorie du fœtus considéré comme une allogreffe non rejetée. L'objet de cet article est de décrire, en les simplifiant, ces découvertes, effectuées bien souvent dans des modèles murins mais très probablement applicables à l'espèce humaine. Le lecteur pourra également se référer à d'autres revues récentes, plus exhaustives, écrites par des experts reconnus sur le sujet [2-7].

Les interfaces fœto-maternelles pendant la grossesse

Chez les espèces vivipares, l'embryon transite dans l'oviducte de la mère puis se niche et se développe dans l'utérus où certaines de ses annexes extra-embryonnaires sont alors en contact avec des tissus maternels. Son génome étant pour moitié d'origine paternelle (en cas de dons d'ovocytes, le génome fœtal est même totalement allogénique), les cellules fœtales trophoblastiques peuvent donc présenter aux cellules effectrices du système immunitaire maternel avec lesquelles elles sont en

contact localement des molécules du " non soi " reconnues comme étrangères par la mère.

Durant la gestation humaine, le fœtus lui-même, baignant dans le liquide amniotique, n'est pas en contact direct avec des tissus maternels [5,7-9]. Seules les cellules trophoblastiques (dérivées du trophectoderme du blastocyste et donc d'origine fœtale) sont en contact local direct continu avec des cellules sanguines ou utérines effectrices de l'immunité maternelle. Le trophectoderme se différencie en trophoblaste villeux et extravilleux. Le trophoblaste villeux forme les deux couches cellulaires qui tapissent les villosités chorioniques flottant dans l'espace intervilleux sanguin maternel : on distingue le cytotrophoblaste villeux (couche interne) et le syncytiotrophoblaste qui en dérive (couche externe). Les cellules du cytotrophoblaste extravilleux dérivent du cytotrophoblaste villeux provenant des villosités chorioniques ancrées dans la caduque (*decidua basalis)*. Elles prolifèrent à la base de ces villosités puis acquièrent un phénotype invasif qui les font pénétrer profondément à l'intérieur de la *decidua basalis* et même du myomètre (trophoblaste interstitiel) et pénétrer à l'intérieur des artères maternelles spiralées où elle vont progressivement remplacer les cellules endothéliales (trophoblaste endovasculaire). Les cellules du trophoblaste extravilleux constituent également la membrane chorionique qui, associée à la membrane amniotique, forment l'enveloppe de l'amniochorion qui entoure le liquide amniotique [5,10]. Ces différents sites d'interaction entre trophoblaste et cellules maternelles constituent donc les interfaces fœto-maternelles qui sont au nombre de quatre : - Interface entre le syncytiotrophoblaste et l'espace intervilleux sanguin maternel ; - Interface entre le chorion (constitué de cellules du cytotrophoblaste extravilleux) et la *decidua parietalis* ; - Interface entre le cytotrophoblaste extravilleux (de type endovasculaire) et le sang périphérique des artères spiralées maternelles ; - Interface entre le cytotrophoblaste extravilleux (interstitiel, cellules placentaires géantes) et la *decidua basalis.*

Les cellules trophoblastiques, dépourvues de molécules HLA de classe II, sont caractérisées par une expression unique des molécules HLA de classe I. Les cellules du trophoblaste extravilleux, contrairement à la plupart des cellules somatiques de l'organisme, n'expriment pas les molécules polymorphes HLA-A et HLA-B qui sont à l'origine des rejets de greffes [10]. A l'inverse, ces cellules expriment à leur surface les molécules relativement peu polymorphes HLA-C, ainsi que les molécules HLA de classe I non classiques, non polymorphes, HLA-G (sous des formes membranaires et/ou solubles), HLA-E et HLA-F. Le syncytiotrophoblaste qui tapisse l'extérieur des villosités chorioniques placentaires est dépourvu de toute expression membranaire de molécules HLA de classe I. Plusieurs groupes ont cependant identifié dans le syncytiotrophoblaste l'isoforme soluble HLA-G5 [11-13].

Le syncytiotrophoblaste est en contact avec le sang maternel de l'espace intervilleux, contenant, comme le sang périphérique, les différentes cellules effectrices du système immunitaire maternel (cellules T $CD8^+$, T $CD4^+$, cellules B, cellules NK, monocytes...). Les cellules du cytotrophoblaste extravilleux formant la membrane chorio-

nique qui tapisse la cavité amniotique sont également en contact avec le sang maternel de l'espace intervilleux [5,14], alors que celles qui ont migré et envahi les artères maternelles spiralées pour remplacer les cellules endothéliales qui tapissaient leur paroi, sont en contact direct avec le sang circulant de la mère. Les cellules du trophoblaste extravilleux qui envahissent la *decidua basalis* sont en contact avec les mêmes types de cellules du système immunitaire maternel. Toutefois, la distribution de ces cellules maternelles dans la *decidua basalis* diffère de celle observée dans le sang périphérique : cellules NK (~70 %), macrophages (~20 %), cellules dendritiques (~1 %), cellules T $CD4^+$, y compris T régulatrices (~10 %), cellules T$\gamma\delta$, cellules NKT, rares cellules T $CD8.^+$

Nous verrons que l'interaction spécifique entre des récepteurs exprimés à la surface des cellules immunitaires ou stromales maternelles et leurs ligands spécifiques exprimés par les cellules trophoblastiques, loin d'être néfaste, pourrait au contraire être à l'origine de mécanismes favorisant la survie du fœtus et le devenir de la grossesse.

Lors de la grossesse, les différents types de cellules trophoblastiques sont donc théoriquement des cibles potentielles des effecteurs humoraux et cellulaires de la réponse immunitaire de la mère. Le fœtus doit ainsi faire face à trois menaces potentielles provenant du système immunitaire de la mère et spécifiquement dirigées contre des antigènes paternels : les anticorps cytotoxiques fixant le complément, les cellules T $CD8^+$ cytotoxiques, les cellules NK tueuses. Nous verrons que le fœtus (en absence de toute pathologie ou présence de pathogènes) parvient à déjouer ces différentes menaces par la mise en place de mécanismes moléculaires protecteurs spécifiques et transitoires.

Première menace : les anticorps cytotoxiques maternels anti-paternels dirigés contre les cellules du trophoblaste

La présence d'alloanticorps maternels cytotoxiques dirigés contre des molécules HLA de classe I a été observée depuis très longtemps chez environ 15 % des primipares et 75 % des multipares. Trois mécanismes principaux ont été décrits qui permettent de prévenir cette menace :

— Les cellules trophoblastiques n'expriment pas de molécules HLA de classe II. Cette absence d'expression prévient la stimulation des lymphocytes B (producteurs des anticorps) ainsi que celle des lymphocytes T $CD4^+$ (stimulateurs des cellules B via la sécrétion de cytokines de type IL-4, IL-5, IL-10).

— Le placenta humain résiste à la lyse par les anticorps cytotoxiques maternels anti-paternels en inhibant l'activation du complément par des molécules régulatrices : " membrane co-factor protein " [15] qui empêche la fixation du complément aux immunoglobulines et le " decay accelerating factor (DAF) qui favorise l'inactivation du complément [16]. Certains avortements précoces chez l'homme pourraient donc être dus à des défauts d'expression de telles protéines

régulatrices du complément. Chez la souris, l'inactivation de la protéine Crry régulatrice des composants C3 et C4 de la cascade du complément (souris $Crry^{-/-}$) entraîne 100 % d'avortements chez les souris gestantes par suite des dépôts de C3 sur les cellules trophoblastiques invasives et d'inflammation placentaire qui en résulte [17]. L'activation du complément apparaît donc comme critique à ce niveau [18].

— Des expériences effectuées chez la souris par le groupe de C. Kanellopoulos à Paris ont démontré que des cellules B maternelles spécifiques d'antigènes fœtaux paternels H2-K^k sont partiellement délétées de la rate, du sang périphérique et de la moelle osseuse pendant la seconde moitié de la gestation [19].

Deuxième menace : les cellules T $CD8^+$ cytotoxiques spécifiques d'antigènes d'histocomptabilité de classe I paternels

Une combinaison de plusieurs mécanismes permet au fœtus de prévenir cette seconde menace :

Absence d'expression des molécules HLA de classe I les plus polymorphes à la surface des cellules trophoblastiques

Les cellules du trophoblaste préviennent l'émergence de réactions cytotoxiques médiées par les lymphocytes T $CD8^+$ maternels spécifiques des antigènes paternels en n'exprimant pas les molécules polymorphes HLA-A et HLA-B à leur surface [10]. Bien que les molécules HLA-C soient également polymorphes (mais à un moindre degré), leur expression à la surface des cellules du trophoblaste extravilleux est faible et les cellules T $CD8^+$ spécifiques de HLA-C sont rarement observées après transplantation.

Sécrétion locale de molécules immunosuppressives

Plusieurs facteurs immunosuppresseurs solubles sont présents localement aux interfaces fœto-maternelles et contrôlent l'activité des cellules T (mais également NK) :

— Les molécules *HLA-G solubles* sont sécrétées à la fois par le cytotrophoblaste extravilleux et le syncytiotrophoblaste [20]. Celles-ci induisent l'apoptose des cellules T $CD8^+$ activées en se fixant spécifiquement sur la molécule CD8 [11, 21], ce qui pourrait expliquer le faible nombre de cellules T $CD8^+$ observé au niveau de la *decidua basalis* [14]. Il a d'ailleurs été montré que le niveau d'expression de la molécule HLA-G soluble dans le sang maternel de patientes faisant des avortements spontanés était significativement inférieur à celui de femmes enceintes sans complication de grossesse [22, 23].

— Le " Transforming Growth Factor " (TGF)-β2. L'administration d'anticorps anti-TGF-β à des souris inhibe l'implantation embryonnaire [24].

— Le " Progesterone Induced Blocking Factor " (PIBF*)* qui induit la sécrétion de cytokines de type Th2. C'est une protéine anti-abortive. En effet, une absence de

sécrétion de PIBF semble un facteur prédictif d'avortements spontanés précoces [25].

— L'indoleamine 2, 3-dioxigenase (IDO). Certains macrophages expriment l'enzyme IDO qui catabolise le tryptophane en réponse à l'interféron-γ. Ceci résulte en un rapide appauvrissement du tryptophane entraînant une inhibition de la prolifération des cellules T. L'enzyme IDO est également exprimé et sécrété par le syncytiotrophoblaste en contact avec le sang maternel de l'espace intervilleux. Il a été démontré qu'un inhibiteur de l'IDO entraînait un dépôt de complément à l'interface fœto-maternelle chez la souris et un rejet médié par les cellules T des embryons allogéniques mais pas syngéniques [26].

— Fas ligand (CD95L) : le trophoblaste exprime cette molécule. Chez des souris mutantes déficientes en Fas ligand, la gestation est associée à une nécrose au niveau des interfaces fœto-maternelles entraînant une résorption fœtale [27]. Un lien avec HLA-G soluble a également établi puisque cette dernière molécule induit la production de Fas ligand soluble par les cellules T $CD8^+$ activées, induisant leur apoptose par fixation sur les molécules Fas membranaires [21, 28].

Etat de tolérance transitoire des cellules T maternelles spécifiques des molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) héritées du père

Pendant la gestation, le fœtus survit malgré la présence (au niveau de l'espace intervilleux et de la *decidua basalis*) de cellules T d'origine maternelle reconnaissant spécifiquement des molécules du CMH de classe I d'origine paternelle. Afin de suivre le devenir des cellules T réactives envers ces alloantigènes paternels chez des souris gestantes, des expériences ont été effectuées dans un modèle de souris transgéniques pour un récepteur des cellules T (TCR) reconnaissant la molécule H-$2K^b$. Contrairement aux grossesses syngéniques ou allogéniques n'exprimant pas H-$2K^b$, les souris portant des embryons K^{b+} ont un nombre réduit de cellules T réactives envers la molécule H2-K^b et acceptent des greffes exprimant la même molécule K^b [29]. La réponse de ces cellules T (rejet de greffes portant K^b) est restaurée après la délivrance. La conclusion de ces résultats est que, durant la grossesse, les cellules T maternelles acquièrent un état de tolérance transitoire et réversible envers les alloantigènes paternels. Une autre étude effectuée chez la souris démontre que des cellules T spécifiques d'antigènes fœtaux décroissent en nombre pendant la gestation et suggère qu'une délétion clonale spécifique pourrait être un mécanisme de tolérance [30].

Troisième menace (ou atout ?) : les cellules NK utérines présentes au niveau de la *decidua basalis*

Les cellules " Natural Killer " (NK) sont de grands lymphocytes granuleux de phénotype $CD3^{négatif}$/$CD56^{positif}$/ $NKp46^{positif}$ présents dans le sang circulant, les organes lymphoïdes secondaires, le thymus. Les cellules NK constituent un composant majeur de l'immunité innée. Leurs fonctions effectrices sont à la fois la lyse de cellules cibles exprimant " un soi modifié " (cellules infectées par un virus, cellules

tumorales, cellules allogéniques) et la sécrétion de cytokines, en particulier de type inflammatoire (interféron-γ) et de chimiokines, et facteurs de croissance dont des facteurs angiogéniques : Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), angiopoiétine, Placental Growth Factor (PlGF). Ces fonctions effectrices sont déclenchées par l'interaction des récepteurs NK membranaires activateurs avec leurs ligands spécifiques exprimés à la surface des cellules cibles. Dans un organisme sain, ces fonctions effectrices NK sont contrôlées par l'engagement par leurs ligands physiologiques spécifiques des récepteurs inhibiteurs qui préviennent ainsi toute réaction anormale dirigée contre des molécules du soi.

Les cellules NK sont également présentes dans la muqueuse utérine, en nombre variable dépendant du cycle ovarien [31]. Après l'implantation embryonnaire, leur nombre croît très rapidement pour atteindre ~70 % des cellules lymphoïdes présentes dans la *decidua basalis*. Cette impressionnante proportion de cellules NK à ce niveau suggère qu'elles exercent des fonctions importantes en début de grossesse. Le phénotype des cellules NK de la decidua (dNK) diffère de celui des cellules NK du sang périphérique, avec une sous-population majeure $CD56^{bright}$ $CD16^{négative}$. Les cellules NK utérines expriment une grande variété de récepteurs dont certains ligands ont été identifiés et exprimés sur les cellules trophoblastiques (HLA-E, HLA-G, HLA-C) avec lesquelles elles sont en contact localement [32]. C'est le cas des récepteurs CD94/NKG2A (inhibiteur) et CD94/NKG2C (activateurs) qui reconnaissent la molécule HLA-E, des récepteurs ILT2/LILRB1 et KIR2DL4 (ayant des propriétés activatrices et inhibitrices) reconnus par les formes solubles ou membranaires de HLA-G, et les récepteurs " killer cell immunoglobulin-like receptor " (KIR) -formes activatrices ou inhibitrices- reconnaissant les molécules HLA-C. Le récepteur activateur CD160 dont le ligand principal est HLA-C [33], est exprimé par une sous-population minoritaire de cellules NK utérines. D'autres récepteurs activateurs (NKG2D, NKp30, NKp46) sont également exprimés à la surface de sous-populations de cellules NK utérines, mais on ne connaît pas encore la nature de leurs ligands spécifiques dont la présence a été récemment démontrée à la surface du trophoblaste et des cellules stromales utérines [34, 35].

Alors qu'on aurait pu penser que les cellules NK utérines pouvaient présenter une menace pour les cellules trophoblastiques présentes dans la *decidua basalis*, des études récentes démontrent au contraire que leur rôle apparaît bénéfique pour un bon développement placentaire.

La grande majorité des cellules NK de la decidua basalis possède un potentiel cytotoxique limité et contrôlé négativement au cours de grossesses non pathologiques.

Cette conclusion est basée sur les observations suivantes : — La sous-population majoritaire de cellules dNK $CD56^{bright}$/$CD16^{négative}$ est faiblement cytotoxique, contrairement au phénotype $CD56^{dim}$/$CD16^{positif}$, majoritaire dans les NK du sang périphérique ; à l'inverse des cellules NK du sang périphérique, les cellules dNK ne semblent pas polariser vers la synapse leurs centres d'organisation microtubulaires et leurs granules contenant de la perforine, granzyme et granulysine [36]. Nous avons

récemment démontré dans notre équipe que le potentiel cytotoxique des cellules dNK était négativement contrôlé par l'engagement du récepteur inhibiteur NKG2A [37].

Les cellules trophoblastiques sont résistantes à la lyse

La difficulté d'induire la lyse de cellules cibles trophoblastiques, à la fois par des cellules dNK mais également par des cellules NK du sang circulant, a été observée il y a quelques années [38, 39]. L'absence de lyse des cellules du trophoblaste par les cellules dNK pourrait être due notamment à une expression très forte de la forme active de la molécule " X-linked inhibitor of apoptosis " (XIAP) observée dans le trophoblaste de premier trimestre de gestation [40]. Ce puissant inhibiteur des caspases bloque la cascade apoptotique médiée par Fas dans les cellules trophoblastiques en début de gestation.

L'interaction spécifique entre certains récepteurs KIR des cellules dNK et les molécules HLA-C exprimées par les cellules trophoblastiques exerce un effet bénéfique sur la grossesse

Dans une étude récente, des chercheurs de l'Université de Cambridge en Grande Bretagne ont démontré qu'une certaine combinaison de récepteurs NK maternels de type KIR (exprimés sur les dNK) et de molécules HLA-C (exprimées à la surface des cellules du trophoblaste extravilleux) pouvait augmenter le risque de pré-éclampsie [41], une pathologie de la grossesse caractérisée localement par un défaut de remodelage vasculaire utérin [42]. La perfusion sanguine placentaire est alors diminuée par un défaut de transformation des artères maternelles spiralées (défaut d'invasion trophoblastique). Ces auteurs ont démontré que le risque de pré-éclampsie était augmenté chez les mères dont le génotype KIR est de type " AA " (perte de la plupart des récepteurs de type activateur) et portant un fœtus homozygote pour les molécules de type HLA-C2 (et donc exprimées à la surface du trophoblaste extravilleux), groupe allélique de HLA-C ayant un résidu Lysine 80 qui réagit avec les récepteurs KIR2DL1 et KIRD2S1. En comparant différentes populations ethniques, dans différentes zones géographiques de différents continents, ces mêmes auteurs ont également mis en évidence une corrélation statistique inverse entre les fréquences du génotype KIR AA et celles de HLA-C2. Ces observations suggèrent que l'interaction entre les KIR maternels présents sur les dNK avec les molécules HLA-C d'origine paternelle exprimées par le trophoblaste extravilleux a des conséquences fonctionnelles importantes en terme de régulation du développement placentaire.

Une des fonctions possible des cellules dNK pourrait donc être de contrôler le remodelage vasculaire utérin en début de gestation. Cette hypothèse est fondée sur les observations suivantes : — les cellules dNK produisent des cytokines et chimiokines qui sont impliquées respectivement dans le contrôle de l'angiogenèse et la migration du trophoblaste : VEGF-C, " PlGF, IP-10, IL-8 [35, 43] ; — des analyses immunohistochimiques effectuées sur des coupes de *decidua basalis* de premier

trimestre de grossesse ont montré que les cellules dNK pouvaient être étroitement associées aux artères maternelles spiralées ; — l'engagement du récepteur KIR2DL4, exprimé par les cellules dNK, par son ligand spécifique HLA-G soluble produit par le trophoblaste extravilleux entraîne la production par les cellules dNK de médiateurs de type pro-angiogénique [44] ; — par l'utilisation de modèles murins déficients en cellules NK, l'équipe de B.A. Croy au Canada a démontré que les cellules NK utérines contrôlaient en effet le remodelage vasculaire utérin chez des souris gestantes par la sécrétion d'interféron-γ [45]. Des souris déficientes en cellules NK ou en interféron-γ présentent des défauts d'implantation embryonnaire ainsi que des anomalies du remodelage vasculaire utérin aboutissant à la formation de placentas de petite taille. La reconstitution chez de telles souris d'une population de NK à partir de moelle osseuse de souris SCID (déficientes en cellules T et B) ou l'injection d'interféron-γ murin ou humain, corrigent largement ces déficits observés, démontrant l'importance fonctionnelle positive des cellules dNK et de leur sécrétion d'interféron-γ [46].

Les cellules T régulatrices exercent une fonction de contrôle pendant la gestation

Les cellules T régulatrices (Treg) représentent une sous-population de cellules T $CD4^+$ caractérisée par une forte expression constitutive de la chaîne α du récepteur à l'IL-2 (CD25) et du facteur de transcription Foxp3. Ces cellules représentent ~5-10 % des cellules T $CD4^+$ périphériques. Ces Treg exercent un effet suppresseur sur les réponses immunitaires spécifiques d'antigènes et sont donc importantes pour induire une tolérance aux allogreffes et la prévention de maladies autoimmunes. Il a été observé chez les souris gestantes une expansion des Treg dans la circulation maternelle, la rate et les ganglions drainant ainsi que dans les ganglions des fœtus [47]. Les Treg exerceraient un effet suppresseur vis-à-vis d'une réponse de type allogénique dirigée contre le fœtus. Leur absence empêche en effet toute gestation d'aller à son terme. Les Treg inhibent la prolifération de cellules T par stimulation anti-CD3. De la même manière, il a été observé une augmentation du nombre de Treg dans la circulation périphérique des femmes enceintes. Elles ont également été détectées dans la *decidua basalis*. Leur proportion est significativement diminuée dans la decidua provenant d'avortements spontanés à répétition [48].

CONCLUSION

Les différentes observations récentes décrites dans cette revue, démontrent à la fois la mise en place par le fœtus de mécanismes moléculaires visant à déjouer spécifiquement des réponses immunitaires de la mère dirigées contre des alloantigènes paternels exprimés par le trophoblaste, mais également les conséquences positives d'une interaction entre récepteurs membranaires maternels (cellules dNK) et ligands membranaires ou solubles d'origine fœtale (trophoblaste) en terme de développement placentaire (vascularisation). Ces données nouvelles démontrent

que les interactions cellules maternelles/cellules trophoblastiques aux différentes interfaces fœto-maternelles pendant la grossesse ont des conséquences fonctionnelles cruciales : les signaux qui en résultent apparaissent à la fois bénéfiques au fœtus et à la mère. Les différentes théories immunologiques élaborées au cours des cinq dernières décades et qui tentaient d'expliquer le " paradoxe immunologique " de la gestation (" self-nonself ", " missing self ", " danger hypothesis "...) doivent donc maintenant être revisitées. Bien que considérées comme " allogéniques ", les cellules trophoblastiques fœtales et les cellules immunes maternelles interagissent pour leurs bénéfices réciproques. La grossesse ne peut donc plus être considérée dorénavant comme une simple " allogreffe ". Un dialogue permanent et bénéfique s'établit donc entre la mère et son enfant *in utero*.

REMERCIEMENTS

L'équipe de Philippe Le Bouteiller est financée par l'INSERM, l'Université Paul Sabatier, le CHU de Toulouse, le réseau d'excellence européen EMBIC. HEC et JT bénéficient d'une bourse de la Fondation pour la Recherche Médicale.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Medawar P.B. —Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp. Soc. Exp. Biol, .* 1953, *44*, 320-338.

[2] Caucheteux S.M., C. Kanellopoulos-Langevin, D.M. Ojcius. — At the innate frontiers between mother and fetus: linking abortion with complement activation. *Immunity,* 2003, *18*, 169-172.

[3] Ledee-Bataille N. — Materno-fœtal dialogue and human embryo implantation: some evolving concepts. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.,* 2004, *33*, 564-576.

[4] Chaouat G. — The Th1/Th2 paradigm: still important in pregnancy? *Semin. Immunopathol.,* 2007, *29*, 95-113.

[5] Hunt J.S. — Stranger in a strange land. *Immunol. Rev.,* 2006, *213*, 36-47.

[6] Moffett A., C. Loke. — Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nat. Rev. Immuno.,* 2006, *6*, 584-594.

[7] Moffett A., Y.W. Loke. — The immunological paradox of pregnancy: a reappraisal. *Placenta,* 2004, *25*, 1-8.

[8] Le Bouteiller P., A. Blaschitz. — The functionality of HLA-G is emerging. *Immunol. Rev.*, 1999, *167*, 233-244.

[9] Loke Y.W., A. King. — Immunology of human placental implantation: clinical implications of our current understanding. *Mol. Med. Today,* 1997, *3*, 153-159.

[10] Le Bouteiller P., J. Pröll. — Immunologie placentaire: le fœtus face à un double défi. *Réalités en Gynécologie-Obstétrique,.* 2001, *57*, 9-17.

[11] Solier C., M. Aguerre-Girr, F. Lenfant, A. Campan, A. Berrebi, V. Rebmann, *et al.* — Secretion of pro-apoptotic intron 4-retaining soluble HLA-G1 by human villous trophoblast. *Eur. J. Immunol.*, 2002, *32*, 3576-3586.

[12] Ishitani A., N. Sageshima, N. Lee, N. Dorofeeva, K. Hatake, H. Marquardt, *et al.* — Protein expression and peptide binding suggest unique and interacting functional roles for HLA-E, F, and G in maternal-placental immune recognition. *J. Immunol.*, 2003, *171*, 1376-1384.

[13] Hunt J.S., P.J. Morales, J.L. Pace, A.T. Fazleabas, D.K. Langat. — A commentary on gestational programming and functions of HLA-G in pregnancy. *Placenta,* 2007, *28 Suppl A*, S57-63.

[14] Pröll J., A. Bensussan, F. Goffin, J.M. Foidart, A. Berrebi, P. Le Bouteiller. — Tubal versus uterine placentation: similar HLA-G expressing extravillous cytotrophoblast invasion but different maternal leukocyte recruitment. *Tissue Antigens,* 2000, *56*, 479-491.

[15] Zhang J., D. Schneider, C. Ober, M.S. McPeek. — Multilocus linkage disequilibrium mapping by the decay of haplotype sharing with samples of related individuals. *Genet. Epidemiol.*, 2005, *29*, 128-140.

[16] Holmes C., K. Simpson, H. Okada, N. Okada, S. Wainwright, D. Purcell, *et al.* — Complement regulatory proteins at the feto-maternal interface during human placental development: distribution of CD59 by comparison with membrane cofactor protein (CD46) and decay accelerating factor (CD55). *Eur. J. Immunol.*, 1992, *22*, 1579-1585.

[17] Xu C., D. Mao, V.M. Holers, B. Palanca, A.M. Cheng, H. Molina. — A critical role for murine complement regulator crry in fetomaternal tolerance. *Science,* 2000, *287*, 498-501.

[18] Girardi G., R. Bulla, J.E. Salmon, F. Tedesco. — The complement system in the pathophysiology of pregnancy. *Mol. Immunol.,* 2006, *43*, 68-77.

[19] Aït-Azzouzene D., M. Gendron, M. Houdayer, A. Langkopf, K. Burki, D. Nemazee, *et al.* — Maternal B lymphocytes specific for paternal histocompatibility antigens are partially deleted during pregnancy. *J. Immunol.,* 1998, *161*.

[20] Hunt J.S., D.E. Geraghty. — Soluble HLA-G isoforms: technical deficiencies lead to misinterpretations. *Mol. Hum. Reprod.,* 2005, *11*, 715-717.

[21] Contini P., M. Ghio, A. Poggi, G. Filaci, F. Indiveri, S. Ferrone, *et al.* — Soluble HLA-A,-B,-C and —G molecules induce apoptosis in T and NK CD8+ cells and inhibit cytotoxic T cell activity through CD8 ligation. *Eur. J. Immunol.,* 2003, *33*, 125-134.

[22] Alegre E., A. Diaz-Lagares, J. Lemaoult, N. Lopez-Moratalla, E.D. Carosella, A. Gonzalez. — Maternal antigen presenting cells are a source of plasmatic HLA-G during pregnancy: longitudinal study during pregnancy. *Hum. Immunol.,* 2007, *68*, 661-667.

[23] Hunt J.S., L. Jadhav, W. Chu, D.E. Geraghty, C. Ober. — Soluble HLA-G circulates in maternal blood during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.,* 2000, *183*, 682-688.

[24] Slager H.G., W. Van Inzen, E. Freund, A.J. Van Den Eijnden-Van Raaij, C.L. Mummery. — Transforming growth factor-beta in the early mouse embryo: implications for the regulation of muscle formation and implantation. *De.v Genet.,* 1993, *14*, 212-224.

[25] Szekeres-Bartho J., A. Barakonyi, G. Par, B. Polgar, T. Palkovics, L. Szereday. — Progesterone as an immunomodulatory molecule. *Int. Immunopharmacol.,* 2001, *1*, 1037-1048.

[26] Munn D.H., M. Zhou, J.T. Attwood, I. Bondarev, S.J. Conway, B. Marshall, *et al.* — Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism. *Science,* 1998, *281*, 1191-1193.

[27] Hunt J.S., D. Vassmer, T.A. Ferguson, L. Miller. — Fas ligand is positioned in mouse uterus and placenta to prevent trafficking of activated leukocytes between the mother and the conceptus. *J. Immunol.,* 1997, *158*, 4122-4128.

[28] Fournel S., M. Aguerre-Girr, X. Huc, F. Lenfant, A. Alam, A. Toubert, *et al.* — Cutting Edge: Soluble HLA-G1 triggers CD95/CD95 ligand-mediated apoptosis in activated CD8+ cells by interacting with CD8. *J. Immunol.,* 2000, *164*, 6100-6104.

[29] Tafuri A., J. Alferink, P. Moller, G.J. Hammerling, B. Arnold. — T cell awareness of paternal alloantigens during pregnancy. *Science,* 1995, *270*, 630-633.

[30] Jiang S., M. Vacchio. — Multiple mechanisms of peripheral T cell tolerance to the fetal allograft. *J Immunol.,* 1998, *160*, 3086-3090.

[31] Bulmer J., G. Lash. — Human uterine natural killer cells: a reappraisal. *Mol. Immunol.,* 2005, *42*, 511-521.

[32] Tabiasco J., M. Rabot, M. Aguerre-Girr, H. El Costa, A. Berrebi, O. Parant, *et al.* — Human decidual NK cells: unique phenotype and functional properties — a review. *Placenta,* 2006, *27 Suppl A*, S34-39.

[33] Le Bouteiller P., A. Barakonyi, J. Giustiniani, F. Lenfant, A. Marie-Cardine, M. Aguerre-Girr, *et al.* — Engagement of CD160 receptor by HLA-C is a triggering mechanism used by circulating natural killer (NK) cells to mediate cytotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.,* 2002, *99*, 16963-16968.

[34] Koopman L., H. Kopcow, B. Rybalov, J. Boyson, J. Orange, F. Schatz, *et al.* — Human decidual natural killer cells are a unique NK cell subset with immunomodulatory potential. *J. Exp. Med.,* 2003, *198*, 1201-1212.

[35] Hanna J., D. Goldman-Wohl, Y. Hamani, I. Avraham, C. Greenfield, S. Natanson-Yaron, *et al.* — Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Nat. Med.,* 2006, *12*, 1065-1074.

[36] Kopcow H.D., D.S. Allan, X. Chen, B. Rybalov, M.M. Andzelm, B. GE, *et al.* —Human decidual NK cells form immature activating synapses and are not cytotoxic. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.,* 2005, *102*, 15563-15568.

[37] El Costa H., A. Casemayou, M. Aguerre-Girr, M. Rabot, A. Berrebi, O. Parant, *et al.* — Critical and differential roles of NKp46- and NKp30-activating receptors expressed by uterine NK cells in early pregnancy. *J. Immunol.,* 2008, *181*, 3009-3017.

[38] Avril T., A.C. Jarousseau, H. Watier, J. Boucraut, P. Le Bouteiller, P. Bardos, *et al.* — Trophoblast cell line resistance to NK lysis mainly involves an HLA class I-independent mechanism. *J. Immunol.,* 1999, *162*, 5902-5909.

[39] Chumbley G., A. King, K. Robertson, N. Holmes, Y.W. Loke. — Resistance of HLA-G and HLA-A2 transfectants to lysis by decidual NK cells. *Cell Immunol.,* 1994, *155*, 312-322.

[40] Straszewski-Chavez S., V. Abrahams, E. Funai, G. Mor. — X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) confers human trophoblast cell resistance to Fas-mediated apoptosis. *Mol. Hum. Reprod.,* 2004, *10*, 33-41.

[41] Hiby S.E., J.J. Walker, M. O'Shaughnessy K, C.W. Redman, M. Carrington, J. Trowsdale, *et al.* — Combinations of maternal KIR and fetal HLA-C genes influence the risk of preeclampsia and reproductive success. *J. Exp. Med.,* 2004, *200*, 957-965.

[42] Redman C.W., I.L. Sargent. — Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*, 2005, *308*, 1592-1594.

[43] Le Bouteiller P., J. Tabiasco. — Killers become builders during pregnancy. *Nature Medicine,* 2006, *12*, 991-992.

[44] Rajagopalan S., Y.T. Bryceson, S.P. Kuppusamy, D.E. Geraghty, A.V. Meer, I. Joosten, *et al.* — Activation of NK Cells by an Endocytosed Receptor for Soluble HLA-G. *PLoS Biol.,* 2005, *4*, e9.

[45] Croy B.A., H. He, S. Esadeg, Q. Wei, D. McCartney, J. Zhang, *et al.* — Uterine natural killer cells: insights into their cellular and molecular biology from mouse modelling. *Reproduction,* 2003, *126*, 149-160.

[46] Guimond M.J., B. Wang, B.A. Croy. — Engraftment of bone marrow from severe combined immunodeficient (SCID) mice reverses the reproductive deficits in natural killer cell-deficient tg epsilon 26 mice. *J. Exp. Med.*, 1998, *187*, 217-223.

[47] Mold J.E., J. Michaelsson, T.D. Burt, M.O. Munch, K.P. Beckerman, M.P. Busch, *et al.* — Maternal alloantigens promote the development of tolerogenic fetal regulatory T cells in utero. *Science,* 2008, *322*, 1562-1565.

[48] Sasaki Y., M. Sakai, S. Miyazaki, S. Higuma, A. Shiozaki, S. Saito. — Decidual and peripheral blood CD4+CD25+ regulatory T cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases. *Mol. Hum. Reprod.,* 2004, *10*, 347-353.

DISCUSSION

M. François-Bernard MICHEL

Vous nous avez remarquablement décrit cette sorte de « pacte de non agression » entre mère et fœtus. A quelle date estimez-vous qu'il est rompu ? Sitôt après l'accouchement ou progressivement au cours des premiers mois de vie ?

Sitôt après l'accouchement, car il n'y a alors plus de cellules NK déciduales qui jouent un rôle très important dans cette tolérance, l'anergie des cellules T CD8+ cytotoxiques est levée ainsi que la délétion partielle de certaines cellules B spécifiquement dirigées contre les alloantigènes paternels. Chez la souris, il a été ainsi montré que, après la mise bas, une greffe de peau de souris exprimant des antigènes paternels était rejetée, ce qui n'était pas le cas durant la gestation. Toutefois, il est à noter que des cellules ou débris trophoblastiques (d'origine fœtale) persistent de longs mois dans la circulation sanguine maternelle sans que cela déclenche normalement de réaction de rejet (voir réponse à la question de M. Georges David).

M. Claude DREUX

Quel est le mécanisme de la forte prolifération de cellules NK dans l'utérus ? Est-ce que les cellules NK du placenta sont spécifiques donc différentes des cellules NK utérines ?

La forte prolifération des cellules NK utérines présentes dans la *decidua basalis* est due à la sécrétion locale de cytokines stimulatrices et en particulier de l'interleukine 15 (IL-15) ainsi que par la prolactine, toutes deux produites par les cellules stromales de la muqueuse utérine. Les cellules NK utérines ont un phénotype différent de celui des cellules NK du sang périphérique : elles sont $CD56^{bright}$ $CD16^{négatives}$ (phénotype " non cytotoxique ") alors que les cellules NK du sang sont $CD56^{dim}$ $CD16^{positives}$ (phénotype " cytotoxique "). Les cellules NK utérines expriment également certains autres récepteurs et marqueurs que l'on ne voit pas dans les NK du sang. Les cellules NK utérines ont un phénotype très conservé alors que celui des cellules NK du sang périphérique est variable d'un individu à l'autre. Fonctionnellement, les NK utérines ne sont pas cytotoxiques (dans les grossesses normales) mais sécrétent des facteurs angiogéniques (Vascular Endothelial Growth Factor, Placental Growth Factor, angiopoiétine-2), ce qui n'est pas le cas des cellules NK du sang périphérique.

M. Georges DAVID

Le passage d'éléments trophoblastiques est habituel en cours de grossesse. On sait qu'il y a possibilité de persistance bien au-delà de l'accouchement. Quel est le mécanisme de leur tolérance ?

En effet, des cellules ou débris trophoblastiques (d'origine fœtale) persistent de longs mois dans la circulation sanguine maternelle sans que cela déclenche normalement de réaction de rejet : ceci est probablement dû au fait que ces trophoblaste n'expriment pas les molécules HLA-A et HLA-B polymorphes à leur surface (donc pas de présentation d'alloantigènes paternels aux cellules T CD8+ cytotoxiques), n'expriment pas non plus de molécules HLA de classe II (donc pas de stimulation des lymphocytes B) mais expriment par contre les molécules HLA-E et HLA-G qui les protègent de la lyse NK en interagissant avec des récepteurs NK de type inhibiteur.

M. Jacques MILLIEZ

Quelles nouvelles pistes d'application clinique peut-on explorer en fonction des connaissances récentes sur l'immunité de la grossesse, à propos des fausses couches spontanées répétées, autrefois attribuées à des causes immunitaires ?

Il est encore trop tôt pour envisager ces applications cliniques. Toutefois, au vu des résultats obtenus sur la prééclampsie (PE) par le groupe de Ashley Moffett à Cambridge (UK) démontrant qu'une association particulière entre un génotype " KIR maternel " et un génotype " HLA-C fœtal " était un facteur prédictif de PE, on peut penser que dans le futur, il serait possible d'effectuer des génotypage " KIR " et " HLA-C " à partir du sang de la mère et du père et de pouvoir prédire la probabilité d'avortements spontanés à répétition. Il est possible également que des infections virales utérines soient un " déclencheur " de l'activité cytolytique des cellules NK de la decidua, entraînant alors la destruction des cellules trophoblastiques et une fausse-couche dite " spontanée ".

M. Bernard PESSAC

Qu'en est-il des michrochimérismes chez la mère (voir réponse donnée plus haut à Georges David) ? Et la tolérance vis-à-vis des grossesses ultérieures extra-utérines ?

Il existe également un microchimérisme maternel chez le fœtus. En effet, un nombre substantiel de cellules maternelles traversent le placenta et migrent dans les ganglions lymphatiques de l'embryon. Il vient d'être démontré que l'immunité fœtale anti-maternelle se développe *in utero* et était annihilée (tolérance) par le développement de cellules T régulatrices qui persistent jusqu'à l'âge adulte. Que les grossesses soient normales (dans l'utérus) ou extra-utérines, les mécanismes de tolérance que j'ai décrits doivent être identiques. En effet, les seules cellules fœtales qui sont en contact avec les tissus maternels pendant la grossesse sont les cellules trophoblastiques. Or, nous avons démontré que dans les grossesses tubaires, les cellules trophoblastiques (qui contribuent à activer les cellules NK utérines) étaient bien présentes au site d'implantation embryonnaire, tout comme les cellules NK, mais en moindre quantité.

M. Jean-Daniel SRAER

Y-a-t-il des cellules souches hématopoïétiques dans l'utérus avant la grossesse ?

De rares populations de cellules épithéliales et stromales ayant une activité progénitrice ont été identifiées dans l'endomètre humain et murin adulte. Chez l'homme, des clones de cellules stromales exprimant un panel de marqueurs des cellules souches mésenchymateuses viennent d'être identifiés. On ne sait pas si une seule cellule souche endométriale primitive en est à l'origine.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1043-1057, séance du 12 mai 2009

Le passage transplacentaire des médicaments

Mots-clés : Placenta. Préparations pharmaceutiques. Vecteurs de médicament

Placental transfer of drugs

Key-words (Index medicus) : Placenta. Pharmaceutical preparations. Drug carriers

Élisabeth ELEFANT *, Delphine BEGHIN *

RÉSUMÉ

Lien unique entre la mère et le fœtus, le placenta est essentiel au bon développement du fœtus. En raison de son rôle dans l'apport des nutriments et l'élimination des produits de dégradation, une fonction de barrière protectrice vis-à-vis de différents toxiques, virus et médicaments qui peuvent être en contact avec le fœtus lui a été attribuée. Qu'en est-il de cette notion de « barrière » placentaire ? Les différents mécanismes de passage des médicaments, ainsi que les moyens de les étudier sont présentés afin de mieux comprendre le rôle du placenta dans leur passage éventuel.

SUMMARY

As the sole interface between the mother and fetus, the placenta is essential for normal fetal development, ensuring the transfer of nutrients and metabolic waste products. The authors examine the barrier function of the placenta, together with the different mechanisms of drug transport and the experimental models used to investigate them.

Le placenta

Le placenta constitue le lien entre la mère et le fœtus, essentiel au développement de ce dernier. Pendant la période embryonnaire le chorion n'est pas perfusé par du sang maternel mais par un fluide extracellulaire issu du plasma. [1]. Des produits présents dans la circulation maternelle (médicaments, virus...) peuvent atteindre l'embryon par diffusion pendant cette période critique de son développement (organogenèse).

* Centre de Référence sur les Agents Tératogènes (CRAT). Hôpital Armand Trousseau, 26 avenue du Dr Arnold Netter. 75571 Paris Cedex 12, www.lecrat.org

Tirés à part : Docteur Élisabeth Elefant, même adresse, et e-mail : elisabeth.elefant@trs.ap-hp.fr
Article reçu et accepté le 24 avril 2009

À partir de dix semaines post-conception, les sangs maternel et foetal sont séparés par la « barrière placentaire » constituée par l'endothélium des capillaires fœtaux, le mésenchyme qui les entoure et le trophoblaste (cytotrophoblaste en couche discontinue en fin de grossesse et syncytiotrophoblaste). Ces circulations se juxtaposent sans jamais se mélanger et définissent le type hémochorial à trophoblaste villeux du placenta humain. A partir de ce terme de la grossesse, les médicaments contenus dans la circulation maternelle doivent traverser cette « barrière » avant d'atteindre la circulation fœtale [2]. Cette notion de « barrière » repose sur l'étanchéité entre les deux circulations sanguines et non sur l'absence de passage de xénobiotiques (dont les médicaments) à travers cette membrane.

Mécanismes de passage des médicaments

Le passage des médicaments à travers les membranes s'effectue grâce à différents mécanismes : le transfert passif, la diffusion facilitée, le transport actif, la phagocytose et la pinocytose. La pinocytose et la phagocytose représentent un mode de transfert tout à fait minoritaire pour les médicaments, et la diffusion facilitée n'est que très peu utilisée. Cette diffusion est médiée par un transporteur mais ne nécessite pas d'énergie. Le transfert médicamenteux est donc effectué en fonction de son gradient de concentration, et peut être inhibé par des analogues structuraux. Ce mode de transport a été décrit pour les céphalosporines, le gancyclovir, et la corticostérone [3].

Nous insisterons plus particulièrement sur la diffusion passive et le transport actif.

Diffusion passive

Généralités

Le transfert passif est la forme prédominante des échanges au niveau placentaire.

La diffusion passive peut être décrite par la loi de Fick : $V\,diff = D \times S \times (Cm-Cf)/A$ (V diff : taux de diffusion, D : coefficient de diffusion, S : aire de surface d'échange, Cm : concentration dans la circulation maternelle, Cf : concentration dans la circulation fœtale et A : épaisseur de la membrane).

La diffusion passive ne nécessite pas d'énergie, n'est pas saturable et n'est pas sujette à l'inhibition compétitive. Quand les produits traversent le placenta de façon passive, leur passage est fonction de leur concentration dans la circulation maternelle, de leurs propriétés physico-chimiques et des propriétés du placenta. Des variations de ces paramètres peuvent modifier le passage des médicaments.

La diffusion passive est favorable aux molécules ayant un faible poids moléculaire (<500 Da), très liposolubles et non ionisées [4].

La fixation des médicaments aux protéines plasmatiques limite leur diffusion. Bien qu'un grand nombre de protéines soient impliquées dans ces liaisons, seules l'albumine et l'α1 glycoprotéine acide ont des liaisons avec un large nombre de molécules acides et basiques respectivement.

Spécificités de la grossesse

Le taux de transfert d'une molécule à travers une membrane par diffusion passive est directement lié à l'aire de la surface d'échange, l'épaisseur de la membrane et du flux sanguin irriguant la membrane [5]. La distribution du sang maternel dans le placenta est un premier pas pour le transfert d'une molécule et est fonction du flux sanguin utérin et de la perméabilité de la membrane placentaire. Toute condition qui restreint le débit utérin maternel aura des répercussions sur le passage des médicaments. Les changements (physiologiques ou pathologiques) de structure du placenta tout au long de la grossesse induisent une modification profonde de ces paramètres.

Modifications histologiques **:** la combinaison de l'augmentation de la surface d'échange et la diminution de l'épaisseur de la barrière placentaire durant la grossesse assure les besoins nutritionnels et énergétiques croissants du fœtus. La moyenne de la surface d'échange (c'est à dire la surface villositaire) varie de 3,4m^2 à 28 semaines de grossesse à 12.6m^2 à terme [5]. L'épaisseur de la membrane diminue de 50-100 μm au 2^e mois à 4-5 μm à terme.

Débit sanguin : à terme, le sang entre dans les espaces intervilleux par cent artères spiralées. Le débit sanguin augmente durant la grossesse passant de 50 mL/min à dix semaines à 600 mL/min à terme.

Protéines plasmatiques : les concentrations maternelles d'α1-glycoprotéine acide sont relativement constantes durant la grossesse, alors que le taux fœtal augmente de 10 % vers la 12ème semaine à 30-40 % à terme [6]. Ceci explique que la fraction de molécules liée à l'α1 glycoprotéine acide, tels que la bupivacaine, et l'aprenolol, soit élevée chez le fœtus [7, 8]. A l'opposé, une réduction importante de la concentration maternelle d'albumine et une augmentation de la concentration fœtale au fur et à mesure de la grossesse est observée. Ainsi, il y a une montée graduelle du ratio entre les concentrations fœtales et maternelles d'albumine de l'ordre de 30 % à douze semaines à 120 % à terme [6].

Transport actif

Le transport actif d'une molécule implique son transfert contre un gradient de concentration et nécessite donc de l'énergie. Celle-ci provient le plus souvent de l'hydrolyse de l'ATP ou d'un gradient électrochimique de Na+, Cl-, ou H+.

De nombreux transporteurs ont été découverts dans le placenta. Certains facilitent l'entrée des médicaments vers le fœtus (pompes d'influx) et d'autres permettent de limiter l'exposition fœtale (pompes d'efflux).

Transporteurs d'influx

La plupart des transporteurs d'influx ont été mis en évidence en raison de leur rôle physiologique d'entrée de substances endogènes nécessaires au bon développement du fœtus. Les connaissances acquises sur leurs interactions avec certains médicaments dans d'autres organes ont poussé les recherches vers leur identification au niveau placentaire et leur modulation par des médicaments substrats afin de pouvoir évaluer leur impact lors d'une éventuelle exposition fœtale.

Transporteurs de monoamines : trois transporteurs de monoamines ont été identifiés dans le placenta: le transporteur de la sérotonine (SERT), celui de la noradrénaline (NET) et celui de la monoamine extraneuronal (OCT3).

SERT et NET sont exprimés sur la membrane apicale du trophoblaste, et transportent la sérotonine, la dopamine, l'adrénaline et la noradrénaline [9]. SERT et NET placentaires sont identiques à ceux des neurones sérotoninergiques et noradrénergiques et peuvent donc être la cible des antidépresseurs tels que la fluoxétine (Prozac®), la sertaline (Zoloft®), la paroxetine (Deroxat®) et le citalopram (Seropram®). De plus, la cocaïne et les amphétamines interagissant avec ces transporteurs, leur rôle dans une éventuelle exposition fœtale serait à évaluer.

OCT3 appartient à la famille des transporteurs de cations organiques, et est présent sur la membrane basale du trophoblaste [10]. Ce transporteur peut être inhibé par les hormones stéroïdes. La fonction physiologique d'OCT3 est de faciliter la clairance des catécholamines de la circulation fœtale. Un grand nombre de molécules sont reconnues par OCT3, comme la cimétidine (Tagamet®) et la prazosine (Alpress®).

Transporteurs de cations organiques (OCTN1 et OCTN2) : OCTN1 est proche de la structure de OCT3 et est fortement exprimé au niveau du placenta [11]. Parmi ses substrats exogènes on trouve la cimétidine, la clonidine, la nicotine, la procainamide, la pyrilamine, la quinine, la quinidine, le vérapamil, l'ofloxacine, et la levofloxacine [12]. OCTN2 (ou transporteur de carnitine) est proche structurellement de OCTN1. Il est exprimé sur la membrane apicale [13]. La fonction physiologique de ce transporteur est de transporter la carnitine de la circulation maternelle vers le fœtus. Il transporte aussi des cations inorganiques. Certaines bêta-lactamines, comme la céphaloridine, sont reconnues par OCTN2 [14]. Parmi ses substrats, on trouve également la cimétidine, la nicotine, la pyrilamine, la clonidine, la procainamide, la quinidine, la quinine et le vérapamil [15].

Récepteur et transporteur de folates : l'acide folique est un nutriment essentiel pour le fœtus. Il traverse le placenta à l'aide d'un récepteur de folates situé sur la membrane apicale du syncytiotrophoblaste et d'un transporteur de folates réduits situé sur la membrane basale [16]. Parmi les médicaments pouvant interagir avec ce transporteur, on trouve le méthotrexate.

Monocarboxylate transporters (MCTs) : les transporteurs de monocarboxylates sont exprimés au pôle basal ou apical des trophoblastes. Le rôle physiologique de

MCT est de transporter du lactate, mais aussi du pyruvate et du bêta-hydroxybutyrate. Plusieurs molécules sont reconnues par ce transporteur, comme le valproate, les salicylates, les statines et le foscarnet [17].

Equilibrative nucleoside transporters (ENT1 et ENT2) : ces transporteurs de nucléosides ont été trouvés sur la membrane basale et apicale du trophoblaste. Ils peuvent transporter de nombreux médicaments tels que la cytarabine, la gentamicine et des antirétroviraux tels que la zalcitabine (ddC) et la zidovudine [18]. Le dipyridamole, le dilazep et la lidoflazine inhibent ENT1.

Pour conclure, sans préjuger d'un impact thérapeutique pratique, on peut penser que les médicaments substrats de ces transporteurs ont plus de chances de pénétrer dans le trophoblaste.

Transporteurs d'efflux

Ils représentent le deuxième grand groupe des transporteurs actifs et trouvent leur source d'énergie dans l'hydrolyse de l'ATP. Durant ces dernières années, certains de ces transporteurs ont été découverts lors de leur association au phénomène de « multidrug resistance » sur des cellules cancéreuses [19]. Il s'agit principalement des transporteurs d'efflux de la famille ABC (ATP-Binding Cassette), tels que la P-glycoprotéine (également appelée P-gp ou MDR1 ou ABCB1), les MRPs (Multidrug Resistance-associated Proteins) (codées par les gènes ABCC1 à 6 et ABCC10 à 12), et la Breast Cancer Resistance Protein (BCRP ou ABCG2). Leur rôle principal est de limiter le passage des molécules dans la cellule.

P-gp et placenta

La P-gp est exprimée sur la membrane apicale du syncytiotrophoblaste, donc en contact direct avec le sang maternel [20].

Ushigome *et al.* [21] ont montré que la P-gp régule le passage de la vincristine, de la vinblastine et de la digoxine à l'intérieur des cellules trophoblastiques. Le transfert de ces médicaments à travers le trophoblaste semble plus important du fœtus à la mère que dans le sens opposé. En présence d'inhibiteurs de la P-gp, ce transport est réduit, ce qui entraîne une augmentation de l'accumulation fœtale. Pavek *et al.* [22] ont récemment montré que la P-gp « pompe » la ciclosporine en dehors du trophoblaste dans le modèle du placenta perfusé chez le rat, réduisant ainsi le passage de la ciclosporine dans la circulation fœtale.

Les souris mdr1a (-/-), knockout pour le gène de la P-gp, sont un bon outil pharmacologique pour examiner les fonctions de la P-gp dans différents tissus *in vivo*. Lankas *et al*. [23] ont montré que l'administration d'un isomère de l'avermectine (un pesticide) est associée à 100 % de fentes palatines chez les fœtus (-/-). Les souris hétérozygotes (+/-) sont moins sensibles et les fœtus homozygotes (+/+), ayant beaucoup de P-gp, sont totalement insensibles aux doses testées. Ils ont montré que le degré d'exposition fœtale d'une substance était inversement relié à l'expression de la P-gp, déterminée par le génotype fœtal.

Smit *et al.* [24] ont utilisé les souris mdr1a/1b (-/-) pour évaluer le rôle de la P-gp dans la protection fœtale vis-à-vis de la digoxine, du saquinavir et du paclitaxel. Ils ont trouvé que respectivement 2.4-, 7-, et 16- fois plus de digoxine, de saquinavir et de paclitaxel, entraient dans la circulation fœtale des souris mdr1a/1b (-/-) par rapport au type sauvage. Cette étude montre que la P-gp joue un rôle fœtoprotecteur majeur. L'étude du taux d'expression de la P-gp dans le placenta revêt donc un intérêt certain, puisqu'elle pourrait être à l'origine de différences significatives de passage transplacentaire des médicaments. Une étude récente [25] a permis de mettre en évidence le taux d'expression de la P-gp placentaire en fonction de l'âge gestationnel. Les résultats montrent une diminution du taux d'expression de la P-glycoprotéine entre le début et la fin de grossesse. Ces résultats originaux suggèrent une protection fœtale plus grande au début de grossesse, période où la sensibilité aux effets tératogènes est maximale.

MRPs et placenta

Lors d'études d'immunohistochimie, il est apparu que le placenta humain exprimait différents transporteurs de la famille des MRP [26].

Sur la membrane apicale du syncytiotrophoblaste, la présence de MRP2 a été décrite, celle de MRP3 y est exprimée plus faiblement et celle de MRP1 reste sujette à controverse [26].

Sur la membrane basale du syncytiotrophoblaste, la présence de MRP1 a été mise en évidence [20, 26].

MRP1 et MRP3 ont été décrits de manière abondante dans l'endothélium des capillaires fœtaux [26].

Les fonctions physiologiques des protéines MRPs placentaires restent spéculatives, bien qu'il semble qu'elles puissent jouer un rôle fœtoprotecteur en permettant l'excrétion des produits de métabolisme final du fœtus vers la mère. Le rôle des MRPs placentaires dans la distribution des médicaments et de leurs métabolites glucuronidés est actuellement un axe en plein essor.

BCRP et placenta

Une très forte expression de BCRP dans le placenta humain a été rapportée par Allikmets et *al.*, l'ayant ainsi nommé « transporteur ATP spécifique placentaire (ABCP) » [27]. Lors d'études immunohistochimiques, BCRP a été localisé sur le pôle apical du trophoblaste de la villosité chorionique [28].

Des études sur des souris déficientes en P-gp ont montré que l'inhibition de BCRP par l'élacridar (GF 120918), un inhibiteur de BCRP et de la P-gp, augmente de manière significative le passage du topotécan dans le fœtus [29]. Le rôle de BCRP dans la restriction du passage materno-fœtal du topotécan a été montré dans une autre étude, dans laquelle l'accumulation de topotécan dans les fœtus BCRP1-/- étaient deux fois plus importante que chez les fœtus BCRP1+/+ [30]. Plus récemment, l'activité fonctionnelle de BCRP a été mise en évidence dans des vésicules de

microvillosités membranaires de placenta humain [31]. Des études sur cotylédon perfusé ont montré que l'inhibition de BCRP augmentait le passage du PhIP (2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine) [32].

Ainsi, de la même manière que la P-gp, BCRP semblerait contribuer à la fonction protectrice du placenta en effluant des médicaments et xénobiotiques contenus dans le sang maternel. Son expression serait constante durant la grossesse [33] et serait supérieure à celle de la P-gp dans le placenta humain à terme [34]. Enfin de nombreuses études ont montré que BCRP limitait le passage transplacentaire du glibenclamide (Daonil®, Glucovance®, Miglucan®) (cf. infra) [35, 36].

Moyens d'études du passage placentaire des médicaments

Plusieurs modèles ont été mis en place pour étudier *in vitro* le transport placentaire des nutriments, médicaments et toxiques. Ces modèles permettent de contourner les problèmes d'ordres éthiques et méthodologiques inhérents aux modèles *in vivo*. Ces techniques *in vitro* ne sont pas sans limites pour autant car elles ne prennent pas en compte les variables physiologiques et biochimiques de la mère, du placenta et du fœtus, ni de leurs changements durant la grossesse.

Modèle ex vivo

Le modèle *ex vivo* du cotylédon perfusé a été décrit pour la première fois en 1967 [37]. Après un examen attentif, un cotylédon d'un placenta à terme est sélectionné pour une étude de perfusion. L'intégrité et la viabilité du tissu placentaire sont suivies par la mesure des pressions partielles dans les circuits fœtaux et maternels et de la consommation de glucose. L'antipyrine est utilisée comme un marqueur diffusant librement pour évaluer le transfert de substances.

Cette technique est utilisée pour déterminer le transfert placentaire des substances, déterminer l'effet des substances endogènes et exogènes sur les pressions et le transport, mesurer la libération de substances endogènes dans les perfusions fœtale et maternelle [38-40].

Avec l'avancée des connaissances concernant l'identité, la localisation et la régulation des transporteurs placentaires, l'utilisation de cette méthode est amenée à se développer. Par exemple, l'addition d'inhibiteurs spécifiques de transporteurs permettra une estimation plus précise de l'implication d'un transporteur dans le passage transplacentaire d'un médicament donné. Ainsi, il sera envisageable d'évaluer de façon plus précise le rapport bénéfices/risques pour le fœtus des thérapeutiques maternelles.

Modèle in vitro

Ces modèles sont utilisés pour connaître l'existence ou non de systèmes de transport et de métabolisation dans le placenta à partir de fragments tissulaires ou de lignées cellulaires explorées *in vitro* [41]. Les différents types de préparations dans cette catégorie comprennent :

Les coupes placentaires et les explants villositaires qui offrent l'avantage de pouvoir conserver la microarchitecture ainsi que les interactions cellulaires et les communications paracrines du placenta. De plus, des explants placentaires de début et de fin de grossesse peuvent être utilisés.

Les cultures primaires de syncytiotrophoblastes permettent l'étude de la capture et des mécanismes de transport à l'échelon cellulaire et moléculaire. L'isolement et la culture de trophoblastes villeux mononucléés dérivant de placenta de 1er trimestre ou à terme est actuellement bien décrit. La capture de substances radioactives peut être mesurée aussi bien sur des trophoblastes mononucléés que sur des cellules multinucléées adhérentes résultant de la formation du syncytium. L'expression endogène de multiples transporteurs dans ces trophoblastes isolés est un des avantages de cette technique, permettant ainsi d'avoir une meilleure compréhension des interactions potentielles entre les xénobiotiques et les substances naturelles. Les trophoblastes isolés sont aussi utilisés pour l'étude du transport des médicaments et l'étude de la régulation de l'expression de gènes associés à la formation du syncytium [42].

Les lignées cellulaires dérivées de choriocarcinomes humains (BeWo, JAr et JEG) possèdent de nombreuses propriétés communes avec les trophoblastes villositaires en termes de morphologie, marqueurs biochimiques et sécrétion hormonale [43]. Ces cellules sont couramment utilisées pour les études de la barrière placentaire, incluant les mécanismes de transport.

Les vésicules de membranes villositaires sont utilisées pour étudier les mécanismes de transport fœtal et maternel de manière séparée [44].

Modèle in vivo

Le rapport fœtus/mère des concentrations sanguines est utilisé comme un index de transfert placentaire *in vivo*. Il permet ainsi d'avoir une mesure directe du ratio des concentrations plasmatiques, mais ne permet pas l'étude des mécanismes mis en jeu. Il est calculé à partir d'échantillons sanguins provenant d'une veine périphérique (sang maternel) et du cordon ombilical (sang fœtal) au moment de l'expulsion du placenta [45].

Application thérapeutique : exemple du glibenclamide

Le diabète gestationnel est une complication survenant dans 5 à 12 % des grossesses. Bien que l'insuline soit le traitement de référence en cours de grossesse (absence de passage placentaire), des équipes s'intéressent à d'autres approches thérapeutiques, en particulier des traitements non injectables.

Le glibenclamide (ou glyburide) (Daonil®, Glucovance®, Miglucan®) est un sulfamide hypoglycémiant, administré par voie orale, qui semble avoir une efficacité comparable à celle de l'insuline et un passage placentaire négligeable [46-48], malgré des caractéristiques physico-chimiques qui, en théorie, auraient laissé supposer

l'inverse. Différents techniques ont permis de confirmer ce passage placentaire négligeable et d'en trouver l'explication.

Le glibenclamide est indétectable dans le sang de cordon 4 heures (Tmax) après la dernière prise chez douze mères (limite de détection 10 ng/mL) [47].

La méthode du cotylédon perfusé a permis de souligner le rôle limitant pour son passage placentaire de la très forte liaison du glibenclamide à l'albumine, et également de mettre en évidence l'implication de transporteurs d'efflux au vu des différences de passage observées entre le sens materno-fœtal et fœto-maternel [49].

L'implication des transporteurs d'efflux pour le transfert placentaire du glibenclamide, et plus précisément de BCRP, a été confirmée par les études *in vitro* sur les cultures de trophoblastes et les vésicules de membranes villositaires [35]. L'inhibition de BCRP sur un modèle de cotylédon perfusé a également montré une augmentation du passage du glibenclamide [36].

Toutes les techniques présentées plus haut, ont permis de vérifier l'absence de passage de cet hypoglycémiant oral et de comprendre les mécanismes placentaires impliqués dans ce phénomène. Ces résultats ouvrent des perspectives considérables dans la prise en charge du diabète gestationnel.

CONCLUSION

Le passage des médicaments à travers la « barrière » placentaire est tributaire de leurs propriétés physico-chimiques mais aussi des modifications pharmacocinétiques liées à la grossesse. De plus, la présence de divers transporteurs sur l'interface placentaire, dont certains limitent le transfert des médicaments de la circulation maternelle vers la circulation fœtale, ont permis de mieux comprendre les différences de passage possibles entre différents médicaments. Les recherches actuelles, tournées vers l'identification des transporteurs placentaires et leurs moyens d'étude, élargissent les possibilités d'exploration de nouvelles options thérapeutiques chez la femme enceinte, tout en conservant en mémoire les limites de chaque méthode avant toute extrapolation clinique.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Burton G.J., Jaunaux E. — Maternal vascularisation of the human placenta : does the embryo develop in a hypoxic environment ? Gynecol., Obstet., Fertil, 2001, *29*, 503-508.

[2] Gude N.M., Roberts C.T., Kalionis B., King R.G. — Growth and function of the normal human placenta. *Thromb. Res.*, 2004, *114*, 397-407.

[3] Syme M.R., Paxton J.W., Keelan J.A. — Drug transfer and metabolism by the human placenta. *Clin. Pharmacokinet,* 2004, *43*, 487-514.

[4] Audus K.L. — Controlling drug delivery across the placenta. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 1999, *8*, 161-5.

[5] Aherne W., Dunnill M.S. — Morphometry of the human placenta. *Br. Med. Bull*., 1966, *22*, 5-8.

[6] Krauer B., Dayer P., Anner R. — Changes in serum albumin and alpha 1-acid glycoprotein concentrations during pregnancy: an analysis of fetal-maternal pairs. *Br. J. Obstet. Gynaecol*., 1984, *91*, 875-81.

[7] Herngren L., Ehrnebo M., Boreus L.O. — Drug binding to plasma proteins during human pregnancy and in the perinatal period. Studies on cloxacillin and alprenolol. *Dev. Pharmacol. Ther*., 1983, *6*, 110-24.

[8] Thomas J., Long G., Moore G., Morgan D. — Plasma protein binding and placental transfer of bupivacaine. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1976, *19*, 426-34.

[9] Ganapathy V., Prasad P.D. — Role of transporters in placental transfer of drugs. *Toxicol. Appl. Pharmacol*., 2005, *207*, 381-7.

[10] Sata R., Ohtani H., Tsujimoto M. *et al.* — Functional analysis of organic cation transporter 3 expressed in human placenta. *J. Pharmacol. Exp. Ther*., 2005, *315*, 888-95.

[11] Wu X., George R.L., Huang W. *et al.* — Structural and functional characteristics and tissue distribution pattern of rat OCTN1, an organic cation transporter, cloned from placenta. *Biochim. Biophys. Acta*, 2000, *1466*, 315-27.

[12] Yabuuchi H., Tamai I., Nezu J. *et al.* — Novel membrane transporter OCTN1 mediates multispecific, bidirectional, and pH-dependent transport of organic cations. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1999, *289*, 768-73.

[13] Lahjouji K., Elimrani I., Lafond J. *et al.* — L-Carnitine transport in human placental brush-border membranes is mediated by the sodium-dependent organic cation transporter OCTN2. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*., 2004, *287,* C263-9.

[14] Ganapathy M.E., Huang W., Rajan D.P. *et al.* — beta-lactam antibiotics as substrates for OCTN2, an organic cation/carnitine transporter. *J. Biol. Chem*., 2000, *275*, 1699-707.

[15] Ohashi R., Tamai I., Yabuuchi H. *et al.* — Na(+)-dependent carnitine transport by organic cation transporter (OCTN2): its pharmacological and toxicological relevance. *J. Pharmacol. Exp. Ther*., 1999, *291*, 778-84.

[16] Ganapathy V., Smith S.B., Prasad P.D. — SLC19 : the folate/thiamine transporter family. *Pflugers Arch*., 2004, *447*, 641-6.

[17] Halestrap A.P., Meredith D. — The SLC16 gene family-from monocarboxylate transporters (MCTs) to aromatic amino acid transporters and beyond. *Pflugers Arch*., 2004, *447*, 619-28.

[18] Griffiths M., Yao S.Y., Abidi F. *et al.* — Molecular cloning and characterization of a nitrobenzylthioinosine-insensitive (ei) equilibrative nucleoside transporter from human placenta. *Biochem. J*., 1997, *328* (Pt 3), 739-43.

[19] Schinkel A.H., Jonker J.W. — Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv. Drug Deliv*. Rev., 2003, *55*, 3-29.

[20] Atkinson DE, Greenwood SL, Sibley C.P. *et al.* — Role of MDR1 and MRP1 in trophoblast cells, elucidated using retroviral gene transfer. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*., 2003, *285*, C584-91.

[21] Ushigome F., Takanaga H., Matsuo H. *et al.* — Human placental transport of vinblastine, vincristine, digoxin and progesterone: contribution of P-glycoprotein. *Eur. J. Pharmacol.,* 2000, *408,* 1-10.

[22] Pavek P., Fendrich Z., Staud F. *et al.* — Influence of P-glycoprotein on the transplacental passage of cyclosporine. *J. Pharm. Sci.*, 2001, *90*,1583-92.

[23] Lankas G.R., Wise L.D., Cartwright M.E. *et al.* — Placental P-glycoprotein deficiency enhances susceptibility to chemically induced birth defects in mice. *Reprod. Toxicol*., 1998, *12*, 457-63.

[24] Smit J.W., Huisman M.T., Van Tellingen O. *et al.* — Absence or pharmacological blocking of placental P-glycoprotein profoundly increases fetal drug exposure. *J. Clin. Invest.*, 1999, *104*, 1441-7.

[25] Gil S., Saura R., Forestier F., Farinotti R. — P-glycoprotein expression of the human placenta during pregnancy. *Placenta*, 2005, *26,* 268-70.

[26] St-Pierre M.V., Serrano M.A., Macias R.I. *et al.* — Expression of members of the multidrug resistance protein family in human term placenta. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*., 2000, *279*, R1495-503.

[27] Allikmets R., Schriml L.M., Hutchinson A. *et al.* — A human placenta-specific ATP-binding cassette gene (ABCP) on chromosome 4q22 that is involved in multidrug resistance. *Cancer Res*., 1998, *58*, 5337-9.

[28] Maliepaard M., Scheffer G.L., Faneyte I.F. *et al.* — Subcellular localization and distribution of the breast cancer resistance protein transporter in normal human tissues. *Cancer Res*. 2001, *61*, 3458-64.

[29] Jonker J.W., Smit J.W., Brinkhuis R.F. *et al.* — Role of breast cancer resistance protein in the bioavailability and fetal penetration of topotecan. *J. Natl. Cancer Inst*., 2000, *92*, 1651-6.

[30] Jonker J.W., Buitelaar M., Wagenaar E. *et al.* — The breast cancer resistance protein protects against a major chlorophyll-derived dietary phototoxin and protoporphyria. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, U S A 2002, *99*, 15649-54.

[31] Kolwankar D., Glover D.D., Ware J.A., Tracy T.S. — Expression and function of ABCB1 and ABCG2 in human placental tissue. *Drug Metab. Dispos*., 2005, *33*, 524-9.

[32] Myllynen P., Kummu M., Kangas T. *et al.* — ABCG2/BCRP decreases the transfer of a food-born chemical carcinogen, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in perfused term human placenta. *Toxicol. Appl. Pharmacol.,* 2008, *232*, 210-7.

[33] Wang H., Wu X., Hudkins K. *et al.* — Expression of the breast cancer resistance protein (Bcrp1/Abcg2) in tissues from pregnant mice: effects of pregnancy and correlations with nuclear receptors. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*., 2006, *291*, E1295-304.

[34] Ceckova M., Libra A., Pavek P. *et al.* — Expression and functional activity of breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2) transporter in the human choriocarcinoma cell line BeWo. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*., 2006, *33,* 58-65.

[35] Gedeon C., Anger G., Piquette-Miller M., Koren G. — Breast cancer resistance protein: mediating the trans-placental transfer of glyburide across the human placenta. *Placenta*, 2008, *29*, 39-43.

[36] Pollex E., Lubetsky A., Koren G. — The role of placental breast cancer resistance protein in the efflux of glyburide across the human placenta. *Placenta*, 2008, *29*, 743-7.

[37] Panigel M., Pascaud M., Brun J.L. — [Radioangiographic study of circulation in the villi and intervillous space of isolated human placental cotyledon kept viable by perfusion]. *J. Physiol.*, (Paris) 1967, *59*, 277.

[38] Brandes J.M., Tavoloni N., Potter B.J. *et al.* — A new recycling technique for human placental cotyledon perfusion: application to studies of the fetomaternal transfer of glucose, inulin, and antipyrine. *Am. J. Obstet. Gynecol*., 1983, *146*, 800-6.

[39] Holcberg G., Huleihel M., Sapir O. *et al.* — Increased production of tumor necrosis factor-alpha TNF-alpha by IUGR human placentae. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol*., 2001, *94*, 69-72.

[40] Sastry B.V. — Techniques to study human placental transport. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1999, *38*, 17-39.

[41] Bourget P., Roulot C., Fernandez H. — Models for placental transfer studies of drugs. *Clin. Pharmacokinet*, 1995, *28*, 161-80.

[42] Frank H.G., Morrish D.W., Potgens A. *et al.* — Cell culture models of human trophoblast: primary culture of trophoblast-a workshop report. *Placenta*, 2001, *22 Suppl.*, A S107-9.

[43] Liu F., Soares M.J., Audus K.L. — Permeability properties of monolayers of the human trophoblast cell line BeWo. *Am. J. Physiol.*, 1997, *273*, C1596-604.

[44] Hemmings D.G., Lowen B., Sherburne R. *et al.* — Villous trophoblasts cultured on semi-permeable membranes form an effective barrier to the passage of high and low molecular weight particles. *Placenta*, 2001, *22*, 70-9.

[45] Bourget P., Fernandez H., Demirdjian S. *et al.* — [Determination of the ratio of serum concentrations of tobramycin between fetus and mother at birth. A model of small scale pharmacokinetics]. *Arch. Fr. Pediatr.*, 1991, *48*, 543-7.

[46] Elliott B.D., Schenker S., Langer O. *et al.* — Comparative placental transport of oral hypoglycemic agents in humans: a model of human placental drug transfer. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1994, *171*, 653-60.

[47] Langer O., Conway D.L., Berkus M.D. *et al.* — A comparison of glyburide and insulin in women with gestational diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.*, 2000, *343*, 1134-8.

[48] Nicholson W., Bolen S., Witkop C.T. *et al.* — Benefits and risks of oral diabetes agents compared with insulin in women with gestational diabetes: a systematic review. *Obstet. Gynecol.*, 2009, *113,* 193-205.

[49] Nanovskaya T.N., Nekhayeva I., Hankins G.D., Ahmed M.S. — Effect of human serum albumin on transplacental transfer of glyburide. *Biochem. Pharmacol.*, 2006, *72*, 632-9.

DISCUSSION

M. Bernard PESSAC

Peut-on comparer la « barrière fœto-maternelle » à la barrière hémato-encéphalique ?

Il existe de nombreux points communs entre les deux « barrières ». Elles sont composées de l'endothélium vasculaire continu et étanche des capillaires et d'une couche cellulaire (astrocytes ou syncitiotrophoblaste). Enfin, comme dans le placenta, la présence de nombreux transporteurs d'efflux a été mis en évidence dans le cerveau, limitant ainsi le passage des médicaments substrats de ces transporteurs.

M. Gilles CREPIN

Le transfert actif est-il le même tout au long de la grossesse ou s'adapte-t-il aux compétences progressives du fœtus pour assurer son autonomie homeostasique ?

L'expression de certains transporteurs peut varier en cours de grossesse. L'expression de P-gp est plus importante en début de grossesse qu'à terme. L'expression de BCRP semble stable durant la grossesse, quelques études ayant aussi montré une augmentation en fin de grossesse.

M. Roger NORDMANN

Comme vous l'avez remarquablement exposé, un grand nombre de médicaments ont un passage transplacentaire passif ou actif, ce qui conduit à relativiser la notion de '' barrière ''

fœto-placentaire. Je voudrais signaler qu'il en est malheureusement de même pour les substances psycho-actives les plus consommées. C'est ainsi que, du fait de ses propriétés physico-chimiques particulières, l'alcool traverse aisément cette '' barrière '' ; de plus, du fait de l'immaturité des enzymes du catabolisme de l'éthanol au niveau fœtal, sa concentration peut même s'y retrouver plus élevée que dans le sang maternel ! De même, en cas de consommation de cannabis au cours de la grossesse, le tétrahydrocannabinol a un passage transplacentaire aisé, en raison de sa liposolubilité. Ne pensez-vous pas que la connaissance des effets néfastes pour le fœtus de telles consommations sont souvent sous-estimées du fait de la croyance en une barrière fœto-placentaire efficace?

Il est certain que l'expression de « barrière » placentaire laisse penser que cet organe opère un effet protecteur vis-à-vis de toutes les substances auxquelles le fœtus peut être amené à être exposé, y compris celles que vous avez mentionnées qui sont effectivement pourvues de propriétés psychopharmacologiques certaines. Le fœtus possède d'ailleurs de récepteurs aux substances psychoactives de cette nature (comme les récepteurs aux cannabinoïdes).

M. Jean-Paul TILLEMENT

Existe-t-il des interactions d'ordre métabolique au niveau du placenta sachant qu'il possède un équipement enzymatique permettant les transformations de certains médicaments ? Sait-on aujourd'hui comment et en quelles proportions sont transférées les nanoparticules ?

Le dispositif enzymatique du placenta est très pauvre comparé à celui du foie, et il est usuel de considérer qu'il joue un rôle tout à fait marginal dans le passage placentaire des médicaments. Néanmoins, certaines voies métaboliques présentes dans le placenta peuvent expliquer le transfert modéré de certaines substances (prednisone, buprénorphine, méthadone...).

M. Alain Abbas SAFAVIAN

En réalité, on peut considérer que tous les médicaments peuvent passer à travers la barrière fœto-placentaire (sauf quelques grosses molécules comme l'insuline ou l'héparine). Et vous venez de nous apprendre les découvertes récentes sur les passages actifs nécessitant transporteur et énergie. La question qui se pose donc au prescripteur est la prévention du risque tératogène et fœtotoxique de chaque médicament. Or, les essais thérapeutiques ne pouvant pas être réalisés chez la femme enceinte pour des raisons éthiques évidents, l'évaluation du risque se base sur les essais chez l'animal d'une part et l'analyse retrospective des données connues chez la femme d'autre part. Je suis étonné de vous entendre dire qu'un certain nombre d'essais cliniques ont été. effectués récemment ou sont en cours. Comment répondent-ils, ces chercheurs, aux considérations éthiques et aussi juridiques dans l'état actuel de la législation ?

Contrairement à une idée répandue, les essais cliniques chez la femme enceinte sont assez fréquents. La Cochrane Database a été constituée à son origine sur la collecte d'essais cliniques randomisés en cours de grossesse. Ces essais concernent des pathologies gravidiques (rupture prématurée des membranes, menace d'accouchement prématuré, hypertension artérielle gravidique, retard de croissance intra-utérin...) qui nécessitent par définition de travailler sur des groupes de femmes enceintes et incluent généralement des patientes au-delà du premier trimestre. Ces essais répondent aux critères éthiques et juridiques des pays dans lesquels ils ont été conduits. »

M. Pierre GODEAU

Vous avez signalé que la liaison des médicaments aux protéines plasmatiques était l'un des facteurs s'opposant à la diffusion passive transplacentaire des médicaments. Que se passe-t-il en cas d'hypoalbuminémie et d'hémodilution consécutive à l'augmentation de la masse sanguine en cours de l'évolution de la grossesse en particulier pour l'adaptation éventuelle des posologies ?

En théorie, l'hypoalbuminémie et l'hémodilution jouent des rôles opposés. La première augmente la fraction libre (donc active) des médicaments et la seconde diluerait cet effet. Dans la pratique, ces deux paramètres ne conduisent pas à une modification a priori des posologies médicamenteuses en cours de grossesse. En revanche, des modifications du métabolisme hépatique maternel ont des répercussions beaucoup plus sensibles sur l'efficacité des traitements tout au long de la grossesse, nécessitant une surveillance de concentrations plasmatiques et une éventuelle adaptation des posologies.

M. Paul VERT

L'ensemble des prescripteurs sont concernés par le sujet du passage placentaire, car toute molécule sur le marché peut aboutir chez une femme enceinte. Les industriels reportent souvent la responsabilité d'accidents éventuels sur les prescripteurs. Cependant certaines données peuvent induire en erreur comme les supports tant maternel que fœtal qui dépendent des moments desprélèvements par rapport au moment de la prise médicamenteuse avec les cinétiques respectives de la mère et de l'enfant. Pourriez-vous aborder le problème du métabolisme des médicaments par l'organisme (le foie) fœtal et de l'élimination placentaire de leurs métabolites entre le fœtus et la circulation maternelle ?

Le foie embryonnaire dispose d'un équipement enzymatique très tôt (vers la cinquième semaine post-conception). Il s'agit essentiellement à ce terme de voies métaboliques d'activation des médicaments (oxydo-réduction...). En revanche, les dispositifs de désactivation ne sont présents que beaucoup plus tard dans la vie fœtale, voire après la naissance (on parle d'immaturité hépatique même chez des nouveau-nés à terme). La conjonction de ces deux phénomènes peut conduire à l'apparition de métabolites que le fœtus n'éliminera que lentement de son compartiment vers celui de sa mère, qui in fine épure son organisme et celui de son fœtus. Lors d'administrations médicamenteuses maternelles chroniques, ceci peut conduire à une accumulation de substances chez le fœtus, avec des concentrations fœtales ou néonatales parfois supérieures à celles de la mère.

M. Jean-Pierre NICOLAS

Qu'en est-il du passage transplacentaire des vitamines ? En particulier des folates et de la vitamine A ainsi que des acides rétinoïques qui jouent un rôle important dans la différenciation cellulaire ?

Les vitamines ont un mode de passage qui leur est propre. Pour l'acide folique, un transporteur d'influx placentaire des folates réduits a été mis en évidence au pôle basal du syncitiotrophoblaste. Il existe un récepteur des folates au niveau apical du syncytiotrophoblaste (FRα) permettant leur entrée du sang maternel vers le cytoplasme du syncytiotrophoblaste. Pour la vitamine A, transportée sur une protéine spécifique (RBP) dans

le sang, elle pénètre dans le compartiment fœtal sans sa protéine transporteuse, peut-être dans des lipoprotéines, selon des modalités mal connues qui respectent les besoins fœtaux, même en cas d'apport maternel insuffisant ou de carence.

M. Jacques-Louis BINET

Les chimiothérapies sont-elles donc interdites chez la femme enceinte ? Qu'en est-il des corticoïdes et de la cyclosporine ?

D'une manière générale, les chimiothérapies sont vivement découragées au premier trimestre, mais leur administration est envisageable au-delà (en fonction de la nature des substances, leur posologie et l'état maternel). Les corticoïdes font partie de la pharmacopée utilisable quelle que soit leur voie d'administration en cours de grossesse. La ciclosporine peut être prescrite chez la femme enceinte, les données concernant cet immunosuppresseur étant suffisantes à ce jour pour le considérer utilisable quel que soit le terme.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1059-1066, séance du 12 mai 2009

Les défauts d'implantation placentaire et leurs conséquences sur la fonction endothéliale maternelle

MOTS CLÉS : PLACENTA. PRÉÉCLAMPSIE. INHIBITEURS DE L'ANGIOGENESE

Defective placental implantation and its effects on maternal endothelial function

KEY-WORDS (Index Medicus) : PLACENTA. PREECLAMPSIA. ANGIOGENESIS INHIBITORS

Jean-Michel FOIDART *,**, Agnès NOËL **, Frédéric CHANTRAINE *, Sophie LORQUET *,**, Philippe PETIT *, Carine MUNAUT **, Sarah BERNDT **, Christel PEQUEUX **, Jean-Pierre SCHAAPS *

RÉSUMÉ

La prééclampsie, une maladie spécifique de la grossesse caractérisée par de l'hypertension, des œdèmes et une protéinurie guérit spontanément par la délivrance placentaire. Sa pathogénie est étroitement liée à une hypoxie placentaire. L'hypoxie placentaire est responsable d'une dysfonction vasculaire maternelle provoquée par une libération placentaire accrue de facteurs anti-angiogènes, tels que la forme soluble du récepteur de type 1 du VEGF (VEGFR1). Ce récepteur fixe le VEGF et le PlGF produits également par les cellules trophoblastiques villositaires. En l'absence de VEGF et de PlGF dans la circulation maternelle, une dysfonction endothéliale survient dans de nombreux territoires vasculaires (foie, reins, cerveau, cœur, poumons …). Expérimentalement, le sVEGFR1 exerce non seulement une action anti-angiogène ; il entraîne par des mécanismes de transduction intracellulaire une augmentation de l'expression endothéliale de la NO-synthase. Lorsque la production de NO est accrue, les péricytes et les cellules musculaires lisses périvasculaires sont recrutés et leur adhésion aux cellules endothéliales est fortement stimulée. Ceci peut contribuer à limiter l'invasion trophoblastique et à empêcher l'augmentation du débit utéroplacentaire au cours de la prééclampsie.

* Gynécologie-Obstétrique, Université de Liège, Hôpital de la Citadelle, 1 boulevard du 12e ligne, B-4000 Liège — Belgique e-mail : eliane.welliquet@chrcitadelle.be

** Laboratoire de Biologie des tumeurs et du développement, Université de Liège, Tour de pathologie, Sart Tilman, B-4000, Liège — Belgique

Tirés à part : Professeur Jean-Michel FOIDART, même adresse

Article reçu et accepté le 24 avril 2009

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1059-1066, séance du 12 mai 2009

SUMMARY

Preeclampsia, a pregnancy-specific syndrome characterized by hypertension, edema and proteinuria, resolves spontaneously on placental delivery. Its pathogenesis is thought to involve placental hypoxia, which leads to maternal vascular dysfunction through increased placental release of anti-angiogenic factors such as the soluble form of VEGF receptor-1 (VEGFR1). VEGFR1 binds VEGF and PlGF, which are also produced by villous trophoblastic cells. In the absence of VEGF and PlGF in the maternal circulation, endothelial dysfunction occurs in several vascular territories (liver, kidneys, brain, heart, lungs, etc.). In experimental models, sVEGFR1 not only has an anti-angiogenic action but also augments endothelial expression of NO synthase through intracellular transduction. When NO production is increased, pericytes and perivascular smooth muscle cells are recruited and their adhesion to endothelial cells is strongly stimulated. This can hinder both trophoblast invasion and increase uteroplacental flow during preeclampsia.

INTRODUCTION

L'implantation embryonnaire au cours de la fenêtre implantatoire, entraîne rapidement une prolifération des syncytiotrophoblastes et leur invasion dans la *decidua* maternelle. Vers le 13ème jour, les villosités commencent à apparaître sous forme de travées syncytiales séparées par des lacunes. C'est vers le 15ème jour qu'un axe cytotrophoblastique apparaît à l'intérieur de chaque colonne syncytiale. En progressant, ces cellules syncytiales ouvrent des vaisseaux maternels dont le contenu se répand dans les lacunes. Selon l'embryologie classique, c'est donc vers le 15ème jour que s'établit la circulation maternelle placentaire hémochoriale.

Les villosités placentaires du deuxième au quatrième mois grandissent et se multiplient. Les villosités libres et les villosités crampons sont couvertes de cellules trophoblastiques. Au niveau des villosités crampons, les cellules trophoblastiques extravilleuses envahissent la *decidua* maternelle puis le tiers interne du myomètre.

Au niveau des branches terminales des artères utérines, des cellules trophoblastiques extravillositaires pénètrent à contre-courant et remplacent les cellules endothéliales qui bordent la lumière vasculaire. Ces mêmes cellules trophoblastiques sont capables de détruire la limitante élastique interne et les cellules musculaires lisses de la média. Ainsi, de manière physiologique, tout au long du premier trimestre et au cours de la première partie du deuxième trimestre, les cellules trophoblastiques invasives modifient profondément la structure des artères spiralées utérines pour les transformer en artères utéro-placentaires. Ces artères utéro-placentaires ont un large calibre. Elles sont dépourvues de limitante élastique interne et de cellules musculaires lisses, et par conséquent, elles sont réfractaires aux agents vasoconstricteurs.

Cette adaptation physiologique permettra une importante augmentation du débit utéro-placentaire au cours de la grossesse. Le débit utérin en dehors de la gestation est inférieur à 20 ml/minute tandis qu'il atteint une valeur de 750 ml à 1 litre en fin de gestation.

Contrairement à la théorie classique, nous avons montré par des biopsies de lits placentaires, par des examens échographiques Doppler et par implantation de caméra endoscopique dans la chambre intervilleuse, que la circulation hémochoriale ne s'établit qu'à la 13e semaine de la grossesse. Préalablement, les bouchons trophoblastiques endovasculaires bloquent la circulation hémochoriale. Les villosités ne baignent que dans du plasma maternel.

Il apparaît donc que le trophoblaste villeux et le fœtus jeune croissent jusqu'alors dans une atmosphère pauvre en oxygène [1-3].

Par la suite, d'autres auteurs ont confirmé ces travaux et l'analyse directe des gaz sanguins de la circulation utérine et placentaire a confirmé qu'au cours du premier trimestre de la grossesse, la pression partielle en oxygène est particulièrement basse au sein de la chambre intervilleuse [4].

ÉTIOPATHOGÉNIE DE LA PRÉÉCLAMPSIE

L'invasion trophoblastique artérielle précoce est compromise chez les femmes qui développeront une prééclampsie en fin de grossesse.

En effet, l'invasion trophoblastique endovasculaire est limitée aux segments déciduaux des artères utéroplacentaires mais n'atteint pas les segments myométriaux des artères spiralées.

En conséquence de cette invasion trophoblastique réduite, les parois vasculaires gardent des cellules endothéliales intactes, une limitante élastique interne et un manchon musculaire lisse capable de réagir aux agents vasoconstricteurs.

Il s'ensuit une réduction relative du calibre artériel, ce qui entraînera en fin de grossesse une diminution de l'adaptation au débit [5].

Les conséquences en aval de cette hypoxie sont une réduction de la prolifération villositaire avec une diminution de la croissance des villosités intermédiaires immatures et matures.

Un placenta de petite taille est fréquemment observé chez les patients prééclamptiques !

L'ANGIOGENÈSE PLACENTAIRE

Le placenta produit de nombreuses cytokines angiogènes. Parmi celles-ci, le *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) est une protéine puissamment angiogénique. Elle induit la production de NO et de prostacyclines par les cellules endothéliales, favorisant ainsi la vasodilatation.

Le VEGF exerce son action endothéliale par l'intermédiaire de deux récepteurs membranaires : le VEGFR1 et le VEGFR2. Le VEGFR1, également appelé Flt1 ou

fms-like tyrosine kinase est un récepteur du VEGF et du *Placental Growth Factor* (PlGF).

Les cellules endothéliales, mais aussi les cellules trophoblastiques, sont capables de produire un variant de ce récepteur. Ce variant n'est pas membranaire mais soluble. Il est donc sécrété dans la circulation maternelle. Capable de lier le VEGF et le PlGF, il neutralise ces cytokines angiogènes et se comporte donc comme un anti-angiogène puissant.

Les travaux de Clark et de Charnock-Jones [6-8] ont montré que les villosités placentaires et, plus particulièrement, le trophoblaste expriment à la fois du VEGF, du PlGF, et leurs récepteurs le VEGFR1 et le VEGFR2, ainsi que le variant soluble anti-angiogène.

Au cours de la prééclampsie, nous avons montré une importante surexpression du récepteur soluble du VEGF dans le trophoblaste villositaire. Les taux de mRNA codant pour le sVEGFR1 sont multipliés par dix, ce qui explique que le VEGF et le PlGF circulant deviennent indosables dans le sang maternel puisqu'ils sont entièrement complexés à la forme soluble du récepteur.

La neutralisation du VEGF et du PlGF par des taux élevés d'un récepteur soluble plasmatique maternel entraîne des lésions endothéliales, une perte de la prolifération et des capacités migratoires et angiogènes des cellules endothéliales maternelles.

De nombreux travaux ont contribué à montrer que le trophoblaste villeux des femmes prééclamptiques produit des taux élevés de sVEGFR1, et qu'à son tour cette molécule suffit à entraîner une souffrance endothéliale maternelle responsable de l'hypertension, de la protéinurie, du HELLP syndrome et des formes sévères de la prééclampsie qui se manifestent par des convulsions éclamptiques et par une coagulation intravasculaire disséminée. Expérimentalement chez l'animal, l'administration de sVEGFR1 est capable de reproduire les signes de la maladie humaine.

L'HYPOXIE PLACENTAIRE EST RESPONSABLE DE LA PRODUCTION ACCRUE DU VEGFR1 SOLUBLE.

Nous avons montré expérimentalement à l'aide de cultures d'explants villositaires placentaires de douze semaines que l'hypoxie expérimentale entraîne une augmentation de la production par le trophoblaste villositaire de VEGF mais aussi du récepteur soluble.

Il apparaît clairement que c'est donc bien une hypoxie précoce qui, à elle seule, est capable d'enclencher un programme génique spécifique aboutissant à la production de molécules fortement anti-angiogènes [9].

LES CONSÉQUENCES ENDOTHÉLIALES DE LA PRODUCTION ACCRUE DE sVEGFR1

Afin d'étudier l'impact du sVEGFR1 sur l'angiogenèse, nous avons utilisé le modèle classique d'anneaux d'aortes dans lequel des fragments d'aortes sont cultivés en présence de la molécule à tester. De manière très surprenante, nous avons mis en évidence un effet très fortement stimulant du sVEGFR1 sur la formation de néo-vaisseaux à partir d'anneaux d'aortes de rats mis en culture.

Ces données paraissent paradoxales puisque les effets anti-angiogènes du sVEGFR1 sont particulièrement bien établis.

La caractérisation des vaisseaux néoformés montre en réalité que les tubes vasculaires sont essentiellement constitués non plus de cellules endothéliales mais de cellules endothéliales entourées de cellules musculaires lisses périvasculaires, et qu'une partie importante des structures issues des anneaux d'aortes ne sont en réalité pas des vaisseaux mais des cordons de cellules musculaires lisses. Nous avons pu montrer que le sVEGFR1 stimule considérablement l'adhésion des cellules endothéliales aux cellules musculaires lisses. En présence de sVEGFR1, les cellules endothéliales augmentent l'expression d'un récepteur membranaire, le S1P1. Ce récepteur lie la sphingosine 1-phosphate (S1P). Lorsque ces cellules endothéliales activées par le sVEGFR1 expriment le récepteur S1P1, la S1P entraîne par sa fixation à son récepteur une activité accrue d'eNOS.

La NO synthase endothéliale produit alors du NO. Ce gaz volatil diffuse et stimule la migration puis l'adhésion des péricytes aux cellules endothéliales [Pequeux *et coll.,* 2009 soumis].

CONCLUSION

Nos travaux démontrent que le placenta, contrairement à une opinion répandue, se développe au cours des premières semaines de la grossesse dans une atmosphère pauvre en oxygène. Les villosités baignent dans du plasma. L'ouverture des artères spiralées à la 13^{e} semaine de la grossesse par les cellules trophoblastiques invasives entraîne alors une augmentation de la pression partielle en oxygène et l'établissement d'une circulation hémochoriale.

Si l'hypoxie des villosités placentaires jeunes persiste, les cellules trophoblastiques produisent une quantité élevée du sVEGFR1, un récepteur du VEGF aux propriétés anti-angiogènes bien connues.

Expérimentalement, le sVEGFR1 altère les fonctions endothéliales (migration, prolifération cellulaire, angiogenèse).

Ce récepteur soluble stimule également l'expression endothéliale du récepteur de la sphingosine 1-phosphate. La fixation de sphingosine 1-phosphate à son récepteur déclenche alors l'expression et l'activation de NO-synthase endothéliale. Le NO

recrute des péricytes et des cellules musculaires lisses, ce qui peut contribuer à réduire l'adaptation physiologique à la grossesse et favorise la prééclampsie.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Foidart J.M., Hustin J., Dubois M., Schaaps J.P. — The human placenta becomes haemochorial at the 13th week of pregnancy. *Int. J. Dev. Biol.,* 1992, *36*, 451-453.

[2] Hustin J., Schaaps J.P. — Echo(cardio)graphic and anatomic studies of the materno trophoblastic border during the first trimester of pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol*., 1987, *157*, 162-168.

[3] Schaaps J.P., Foidart J.M. — Uteroplacental circulation. *Rev. Fr. Gyn. Obs*., 1991, *86*, 579-584.

[4] Rodesch F., Simon P., Donner C., Jauniaux E. — Oxygen measurements in endometrial and trophoblastic tissues during early pregnancy. *Obstet. Gynecol.,* 1992, *80*, 283-285.

[5] Redman C.W., Sargent I.L. — Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*, 2005, *308*, 1592-1594.

[6] Charnock-Jones D.S., Sharley A.M., Boocock C.A., Ahmed A., Plevin R., Ferrara N., Smith S.K. — Vascular endothelial growth factor receptor localization and activation in human trophoblast and choriocarcinoma cells. *Biol. Reprod*., 1994, *51*, 524-530.

[7] Clark D.E., Smith S.K., Sharkey A.M., Charnock-Jones D.A. — Localization of VEGF and expression of its receptors flt and KDR in human placenta throughout pregnancy. *Hum. Reprod*., 1996, *11*, 1090-1098.

[8] Clark D.E., Smith S.K., He Y., Day K.A., Licence D.R., Corps A.N., Lammoglia R., Charnock-Jones D.S. — A vascular endothelial growth factor antagonist is produced by the human placenta and released into the maternal circulation. *Biol. Reprod*., 1998, *59*, 1540-1548.

[9] Munaut C., Lorquet S., Pequeux C., Blacher S., Berndt S., Frankenne F., Foidart J.M. — Hypoxia is responsible for soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) but not for soluble endoglin induction in villous trophoblast. *Hum. Reprod.*, 2008, *23*, 1407-1415.

DISCUSSION

Monsieur Claude SUREAU

Compte tenu de ces remarquables observations, concernant la circulation et la faiblesse de celle-ci dans la chambre intervilleuse en début de gestation, comment expliquer la présence de cellules d'origine embryonnaire dans la circulation maternelle ? Quelle explication donnez-vous à la survenue d'éclampsie après l'accouchement ?

Nos travaux en échocardiographie et les études anatomiques de la jonction entre le trophoblaste et l'endomètre maternel au cours du 1er trimestre de la grossesse démontrent que le placenta humain devient hémochorial à la 13e semaine de la gestation. Différents auteurs confirment qu'au cours du premier trimestre de la gestation, les segments terminaux des artères utéroplacentaires sont fonctionnellement oblitérés par

des bouchons trophoblastiques qui disparaissent à la 13ème semaine de la gestation. Jusqu'à ce moment, du plasma maternel percole entre ces bouchons trophoblastiques et la paroi de ces artères et remplit la chambre intervilleuse. Ce plasma peut être aisément visualisé par l'implantation de petites caméras dans la chambre intervilleuse tout au long du 1er trimestre de la gestion. Il s'écoule lentement vers les veines utérines maternelles et au cours de ce transit il emporte de très rares cellules trophoblastiques et surtout des débris de ces cellules contenant l'ADN embryonnaire. Ce sont ces cellules trophoblastiques et surtout l'ADN embryonnaire libre qui sont accessibles pour le diagnostic moléculaire à partir d'un prélèvement de sang maternel. Concernant l'explication relative à l'éclampsie après l'accouchement, il est exact que l'augmentation du sVEGFR1 d'origine placentaire entraîne une souffrance endothéliale maternelle. Ce dysfonctionnement des cellules endothéliales maternelles entraîne à son tour des lésions d'hypoxie et de la vasoconstriction dans l'ensemble des territoires maternels concernés (rein, myocarde, cerveau, foie). Il est probable que, chez certaines patientes, les cercles vicieux physiopathologiques continuent à progresser en dépit de l'élimination du placenta et de la source du sVEGFR1 à l'origine des lésions fonctionnelles endothéliales maternelles. Ceci est toutefois une hypothèse, non une démonstration.

Monsieur Gilles CREPIN

Les perturbations hémodynamiques aboutissent à des troubles sanguins avec CIVD syndrome. En s'appuyant sur le mécanisme que vous avez développé, à partir de quel moment de la grossesse les héparines de bas poids moléculaire ont-elles leur place ?

Les héparines de bas poids moléculaire ont leur place très tôt dans la gestation, de manière à éviter l'activation des processus de coagulation dans la chambre intervilleuse. Il est donc logique de commencer ce traitement anticoagulant dès la 8e semaine de la gestation. De nombreux travaux ont été consacrés à la prescription d'héparine de bas poids moléculaire pour la prévention des récidives de retards de croissance intra-utérines ou de décès fœtal liés à un syndrome des anti-phospholipides ou à diverses trombophilies.

Monsieur Paul VERT

Avec Danièle Evain-Brion vous avez évoqué les variations du taux d'oxygène au niveau de la chambre intervilleuse selon le stade de la grossesse. Est-ce lié à l'absence ou à la présence d'hémoglobine maternelle, donc à un contenu en oxygène différent, ou est-ce la Po2 et l'oxygène dissout qui changent ? L'embryogénèse précoce se fait-elle dans un relatif environnement hypoxique ?

Le développement de l'embryon a effectivement lieu dans un environnement relativement hypoxique. Nos propres mesures de la pO_2 montrent qu'en moyenne, la pression partielle en oxygène dans l'artère utérine maternelle est de 93 mm Hg. Elle est de 31 mm Hg dans la chambre intervilleuse et lorsque le sang artérialisé dans le placenta retourne vers le fœtus par la veine ombilicale, la pression partielle en oxygène n'est que de 21,30 mm Hg. Ceci démontre bien que l'embryon, au cours des treize premières semaines de la gestation, se développe dans un environnement d'hypoxie relative. Il ne semble pas que cette hypoxie relative soit liée à une diminution de la saturation partielle en oxygène mais plutôt à une diminution de la disponibilité de l'hémoglobine maternelle dans la chambre intervilleuse. Il faut se rappeler, qu'au cours des treize premières semaines de la gestation,

seul du plasma percole à travers les segments distaux des artères utérines pour entrer dans la chambre intervilleuse. Les globules rouges maternels n'ont pas accès à la chambre intervilleuse placentaire jusqu'au milieu de la 13e semaine de la gestation.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1067-1068, séance du 12 mai 2009

CONCLUSION

Claude SUREAU *

Ma première remarque concernera la richesse de cette séance, la qualité des orateurs, et celle des discussions ; nous sommes certes accoutumés, à l'Académie, à une grande qualité des échanges, mais celle-ci fut d'autant plus remarquable que la thématique était complexe et concernait des aspects très spécifiques de la périnatologie.

Je voudrais dire à Elisabeth Elefant mon admiration pour la grande qualité et la clarté de son exposé sur les problèmes si délicats et les angoisses fréquentes que génèrent les thérapeutiques administrées aux femmes enceintes ; il n'est pas nécessaire de revenir sur les situations dramatiques qu'ont entraînées dans le passé de telles administrations, et qui font parfois encore l'objet de mises en cause judiciaires ; Paul Vert vient très judicieusement de rappeler les difficultés et les incertitudes auxquelles sont si souvent exposés les praticiens ; c'est dire l'immense reconnaissance que nous devons et que je tiens à exprimer à Elisabeth Elefant pour l'aide considérable qu'elle a apportée pendant des décennies aux obstétriciens inquiets devant de telles administrations ainsi qu'aux patientes qu'ils devaient éclairer et heureusement, très souvent rassurer.

J'ai souvent eu l'occasion, dans le passé, d'évoquer avec Philippe Le Bouteiller les problèmes posés par la fameuse et étrange « tolérance » dont bénéficie l'être prénatal. Il vient de citer Gérard Chaouat, dont l'action fut si décisive dans l'évolution des concepts concernant cette tolérance, lorsqu'il était le collaborateur de M. Voisin, avant de rejoindre mon équipe à Baudelocque. Grâce à Philippe Le Bouteiller le voile se déchire un peu plus et notre compréhension de ces phénomènes mystérieux s'est sensiblement accrue.

Il n'est pas exagéré de dire que les observations que vient de nous présenter Jean-Michel Foidart sont surprenantes et même quelque peu révolutionnaires ; grâce à lui, grâce aux moyens d'investigation originaux qu'il a su mettre en œuvre, la chambre intervilleuse, l'équilibre des pressions de part et d'autre de la membrane villositaire, son évolution au cours de la grossesse ont été à l'origine d'une compréhension nouvelle des ces phénomènes jusqu'ici imparfaitement connus. Oserais-je rappeler que dans un hôpital de Boston une plaque encore vierge attend le nom de celui qui percera le mystère de l'éclampsie ; je souhaite que ce nom soit celui de Jean-Michel Foidart et j'attends ce moment avec impatience.

Mon ami Christian Nezelof a souligné dans son introduction le caractère indispen-

* Membre de l'Académie nationale de médecine

sable du placenta et je suis pleinement d'accord avec lui, même si on a pu rêver parfois de la mise en œuvre d'un « placenta artificiel » ; il y a plus de cinquante ans, j'ai eu l'occasion de prendre connaissance, à la bibliothèque de l'Hôpital Presbyterien de New-York, d'un brevet concernant un tel organe ; je n'ai pas l'impression que depuis cette lointaine période des progrès déterminants aient été réalisés. Mais Christian Nezelof a fait également allusion au caractère indispensable de l'utérus, et là, je me dois d'exprimer quelques réserves : celles-ci découlent de mon expérience d'obstétricien qui m'a conduit à plusieurs reprises, mais non sans angoisse, à extraire près du terme des enfants ectopins vivants ; cette éventualité révèle bien que l'utérus n'est pas nécessaire pour le développement d'un enfant, mais qu'il l'est pour que sa naissance s'effectue dans de bonnes conditions de sécurité maternelle.

Et puis, je voudrais rendre un hommage particulier à notre consœur Danièle Evain-Brion : d'abord pour avoir été à l'origine de cette passionnante séance et d'y avoir apporté une contribution essentielle ; mais plus encore pour avoir osé l'initiative, remarquable, exceptionnelle, ainsi que pour le courage, la persévérance, dont elle a fait preuve pour créer cette fondation « Prem up » destinée à élucider les mécanismes de la prématurité et à en prévenir les conséquences, que nous ne connaissons que trop ; elle a su susciter l'intérêt et même l'enthousiasme, et la disponibilité de fonds ; elle a organisé l'an dernier la première réunion consacrée à ce thème ; une autre se tiendra le 16 mai au Sénat, sur les grossesses multiples, précédée d'une séance le 15 mai, consacrée au cerveau du nouveau-né prématuré, organisée par le Pr. Gressens. Danièle Evain-Brion va vous présenter les grandes lignes de ce projet, d'une importance médicale, scientifique et humaine, considérable auquel l'Académie nationale de médecine est heureuse d'avoir apporté son soutien.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1069-1087, séance du 19 mai 2009

COMMUNICATION

Nosologie et prise en charge des gammapathies monoclonales

Mots-clés : Paraprotéinémies. Myélome multiple. Macroglobulinémie de waldenström. Chaines légères des immunoglobulines

Nosology and management of monoclonal gammapathy

Key-words (Index medicus) : Paraproteinemias. Multiple myeloma Waldenstrom macroglobulinemia. Immunoglobulin light chains

Bernard GROSBOIS *, Olivier DECAUX *, Lucienne GUENET **,
Jean GOASGUEN ***, Patrick JEGO *

RÉSUMÉ

Les gammapathies monoclonales sont fréquentes (1 % dans la population générale). Cette fréquence augmente avec l'âge. Au plan nosologique, les gammapathies monoclonales de signification indéterminée (GMSI) sont les plus fréquentes. Les circonstances révélatrices correspondent aux situations cliniques ou biologiques conduisant à la prescription d'une électrophorèse des protides. Si le patient est asymptomatique cliniquement et biologiquement (hémoglobine, créatinine, calcémie normales) et que le taux de composant monoclonal est < 15g/l le diagnostic de GMSI peut être retenu. Par contre, en cas d'anomalies cliniques et/ou biologiques et/ou d'un taux de composant monoclonal > 15g/l, il faut rechercher un myélome multiple en cas d'Ig G ou d'Ig A ou une maladie de Waldenström en cas d'IgM. Les GMSI ne sont pas traitées mais doivent être surveillées de façon régulière et prolongée du fait du risque de transformation maligne (estimé aux environs de 1 % par an). Des facteurs prédictifs de l'évolution maligne ont été identifiés : isotype de chaîne lourde, taux de composant monoclonal, plasmocytose médullaire, dosage des chaînes légères libres sériques. La surveillance doit être annuelle, clinique et biologique (électrophorèse des protides, hémogramme, calcémie, créatinine).

* Médecine Interne, Hôpital Sud, CHU, 16 boulevard de Bulgarie, 35203, Rennes cedex
** Laboratoire de Biochimie, Hôpital Pontchaillou, CHU Rennes
*** Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Pontchaillou, CHU Rennes

Tirés à part : Professeur Bernard Grosbois, même adresse et e-mail : bernard.grosbois@chu-rennes.fr
Article reçu le 30 avril 2009, accepté le 11 mai 2009

SUMMARY

Monoclonal gammapathy (MG) affects about 1 % of the general population, and its prevalence is higher in elderly subjects. Monoclonal gammapathy of undetermined significance (MGUS), the most common disorder, is asymptomatic and associated with normal hemoglobin, calcium and creatinine levels and a monoclonal component of less than 15 g/l. A B cell neoplasm should be suspected in patients with clinical manifestations and/or abnormal hemoglobin, calcium or creatinine levels, and/or a monoclonal component >15 g/l. Multiple myeloma tends to be associated with IgG or IgA MG, and Waldenstrom's macroglobulinemia with IgM MG. Patients with MGUS do not need treatment but only yearly follow-up (symptoms, protein electrophoresis, hemoglobin, calcium and creatinine assay), as the estimated annual risk of malignant transformation is about 1 %. Factors predictive of malignant transformation include the type of serum monoclonal protein, the monoclonal protein concentration, bone marrow plasmocytosis, and the serum free light chain ratio.

Une gammapathie monoclonale (GM) désigne une immunoglobuline constituée d'un même type de chaîne lourde (alpha, gamma, mu,...) et d'un même type de chaîne légère (kappa ou lambda). Le terme de gammapathie monoclonale, introduit par Jan Waldenström [1] fait référence à la migration des immunoglobulines monoclonales au niveau de l'aire des gammaglobulines sur l'électrophorèse des protides. Une gammapathie monoclonale témoigne de la prolifération d'un clone de plasmocyte producteur d'une immunoglobuline monoclonale et peut être révélatrice d'une hémopathie maligne (myélome, maladie de Waldenström, lymphome,...). Cependant le caractère monoclonal n'est pas synonyme de malignité. Lorsqu'une hémopathie maligne est éliminée, l'appellation anglo-saxonne de MGUS (pour Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance) ou Gammapathie Monoclonale de Signification Indéterminée (GMSI) est retenue.

ÉPIDÉMIOLOGIE

La fréquence des gammapathies monoclonales est d'environ 1 % dans la population générale. Cette fréquence augmente avec l'âge : elle est de 3,2 % au-dessus de 50 ans, de 5,3 % au-dessus de 70 ans et de 7,3 % au-dessus de 85 ans dans une étude portant sur 21 463 sujets de plus de 50 ans réalisée par KYLE[2].

CIRCONSTANCES RÉVÉLATRICES

La découverte est souvent fortuite ou dans des circonstances cliniques ou biologiques conduisant à la réalisation d'une électrophorèse des protides sériques.

Cliniques :

— Altération de l'état général
— Douleurs osseuses, fractures pathologiques, tassements vertébraux

— Infections récidivantes
— Syndrome tumoral (adénopathies, splénomégalie, hépatomégalie)
— Syndrome d'hyperviscosité (asthénie, céphalées, vertiges, troubles de la conscience, saignements, ...)
— Manifestations systémiques dont les plus fréquentes sont cutanées (xanthomatoses, purpura vasculaire...) et neurologiques (neuropathies périphériques...) [3].

Biologiques :

— Syndrome sédimentaire avec élévation isolée de la VS sans syndrome inflammatoire
— Hypercalcémie
— Anémie
— Insuffisance rénale
— Protéinurie

NOSOLOGIE DES GAMMAPATHIES MONOCLONALES

Les gammapathies monoclonales peuvent être classées en trois grands cadres nosologiques : gammapathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI), hémopathies malignes, gammapathies associées à une pathologie non lymphoïde (tableau 1).

Tableau 1 . — Nosologie des gammapathies monoclonales :

Gammapathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI)
Hémopathies malignes
Dyscrasies plasmocytaires malignes
Myélome multiple
Amylose primaire AL
Plasmocytome osseux ou extra osseux
Syndrome lymphoprolifératif malin
Maladie de Waldenström
Lymphome malin
Leucémie lymphoïde chronique
Gammapathie monoclonale associée à une pathologie non lymphoïde
Infection
Maladie hépatique chronique
Maladie auto-immune
Déficit immunitaire
Néoplasies viscérales
Maladie de Gaucher

Gammapathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI)

Elles représentent les cas les plus fréquents de gammapathies monoclonales (les deux tiers dans une population générale). Une GMSI est définie comme une gammapathie monoclonale sans aucun signe clinique ou biologique de myélome, de maladie de Waldenström ou d'une autre hémopathie maligne. Le terme souvent employé de gammapathie monoclonale bénigne doit être abandonné.

Les critères diagnostiques définis par Kyle sont principalement biologiques [4] :

— taux du composant monoclonal inférieur à 30 g/l (quel que soit le type d'immunoglobuline)
— normalité de l'hémogramme, de la calcémie et de la créatininémie
— chaînes légères libres urinaires inférieures à 1 g/24 heures
— plasmocytose médullaire inférieure à 10 %
— absence de lésions osseuses sur les radiologies standards (crâne, humérus, rachis dorsal et lombaire, bassin, fémurs)
— suivi évolutif supérieur à un an

Hémopathies malignes

Les gammapathies monoclonales de type Ig G et Ig A doivent être distinguées des gammapathies monoclonales de type Ig M.

Gammapathie monoclonale Ig G et Ig A.

Le principal diagnostic est le myélome multiple. Les critères diagnostiques sont basés sur la plasmocytose médullaire et le taux du composant monoclonal sérique ou urinaire. Les critères d'atteinte organique [5] sont la calcémie, la créatinine, l'hémoglobine et les radiographies osseuses. (Tableau 2). Si aucun critère n'est présent, il s'agit d'un myelome indolent. La présence d'un seul de ces critères fait retenir le diagnostic de myelome symptomatique.

Gammapathie monoclonale Ig M.

Le diagnostic de maladie de Waldenström indolente est retenu si le taux du composant monoclonal est supérieur à 30 g/l et/ou si l'infiltration médullaire est supérieure à 10 %. Le diagnostic de maladie de Waldenström symptomatique est retenu en cas d'infiltration médullaire supérieure à 10 % associée à des signes cliniques ou biologiques en lien avec l'infiltration médullaire ou la GM, quel que soit le taux du composant monoclonal.

Les autres hémopathies malignes associées à l'existence d'une gammapathie monoclonale sont résumées dans le tableau 1.

Gammapathies monoclonales associées à une pathologie non lymphoïde

Certaines pathologies non lymphoïdes ont été décrites comme favorisant l'apparition de gammapathie monoclonale. Les affections en cause sont principalement de

Tableau 2. — Résumé des critères diagnostiques définis par le Groupe International d'Étude du Myélome d'après[15].

	GMSI	Myélome asymptomatique	Myélome symptomatique
Taux du composant monoclonal	< 30 g/l	> 30 g/l	Pas de valeur seuil
Plasmocytose médullaire	<10 %	>10 %	Pas de valeur seuil
Atteinte organique *	-	-	+
	Absence d'arguments clinique et biologique pour une hémopathie maligne B		
	Tous les critères nécessaires	Un seul critère nécessaire	

*** Atteinte organique**	
Hypercalcémie	>0,25 mmol/l par rapport à normale >2,75 mmol/l
Insuffisance rénale	Créatininémie >173 mmol/l
Anémie	Hémoglobine <2 g/dl par rapport à normale Hémoglobine <10 g/dl
Lésions osseuses	Lacunes osseuses Ostéoporose avec fracture pathologique compressive
Autres	Syndrome d'hyperviscosité Amylose Infection bactérienne à répétition (>2 épisodes en 12 mois)

quatre types : infections, maladies auto-immunes, hépatopathies, certains déficits immunitaires

Infections

Toutes les infections peuvent être associées à l'existence d'une gammapathie monoclonale. Les infections aiguës sont habituellement responsables de gammapathies monoclonales transitoires qui correspondent alors réellement à des gammapathies « bénignes ». En revanche, les infections chroniques peuvent être responsables de gammapathies monoclonales permanentes. Elles peuvent être d'origine bactérienne (endocardite, ostéomyélite, salmonellose), parasitaire et surtout virale. Trois virus semblent avoir un rôle privilégié : EBV, CMV (gammapathies monoclonales transitoires) et VIH (gammapathies monoclonales permanentes). Le virus de l'hépatite C est également fréquemment associé à l'existence d'une gammapathie monoclonale pouvant avoir une activité de type cryoglobulinémie.

Hépatopathies chroniques

La plupart des hépatopathies chroniques quelle qu'en soit l'étiologie (nutritionnelle, auto-immune, virale,...) peuvent s'accompagner d'une gammapathie monoclonale.

Maladies auto-immunes

La pathologie la plus souvent en cause est le syndrome de Goujerot-Sjögren primitif [6].

Déficits immunitaires

Un déficit immunitaire primitif ou acquis peut être associé à une gammapathie monoclonale.

Maladie de Gaucher

La maladie de Gaucher est fréquemment associée à une gammapathie monoclonale avec une prévalence pouvant atteindre 16 % dans certaines séries [7].

PRISE EN CHARGE INITIALE

Confirmation et caractérisation de la gammapathie monoclonale

L'électrophorèse des protides sériques (EPS) permet la détection des gammapathies monoclonales sous la forme d'une bande étroite migrant dans la région des gammaglobulines (figure 1) parfois dans la région des β, ou exceptionnellement dans les α2globulines. L'électrophorèse en gel d'agarose est la technique de référence. Plus récemment se sont développées des techniques d'électrophorèse capillaire de zone totalement automatisables. La sensibilité de l'EPS capillaire était meilleure que celle de l'EPS sur gel d'agarose (97,2 % contre 93,5 %) ; par contre la spécificité était moins bonne (93,7 % contre 98,9 %) [8]. L'EPS capillaire présente un avantage important car elle permet une meilleure quantification du pic d'immunoglobuline monoclonale[9].

L'immunofixation (figure 2) est indispensable pour confirmer l'existence d'une immunoglobuline monoclonale et pour sa caractérisation (type de chaîne lourde, type de chaîne légère). Elle a supplanté l'immunoélectrophorèse.

Enquête étiologique (figure 3)

L'examen clinique est une étape essentielle de l'enquête étiologique. Il doit rechercher des signes orientant vers une hémopathie maligne : adénopathies, splénomégalie, hépatomégalie, douleurs osseuses, altération de l'état général, sueurs nocturnes, infections à répétition, épistaxis, ...

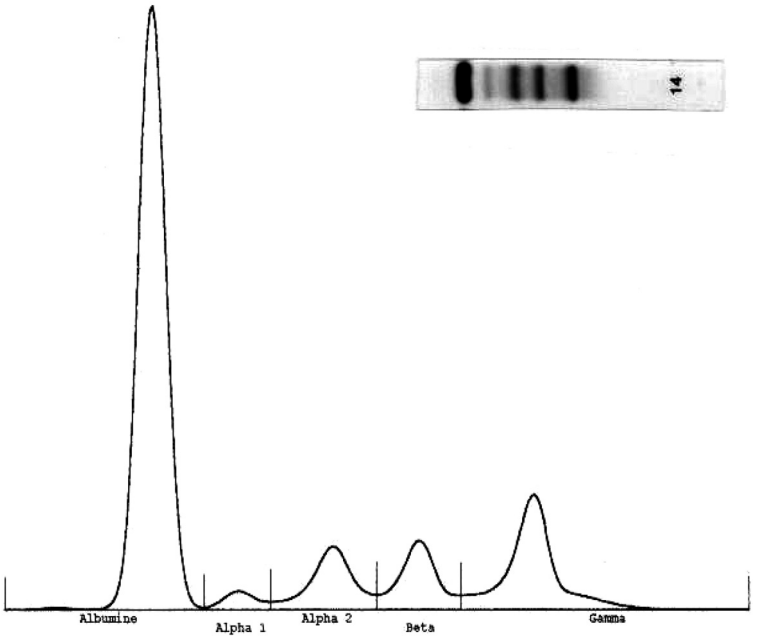


FIG. 1A. — Électrophorèse des protides sériques sur gel d'agarose

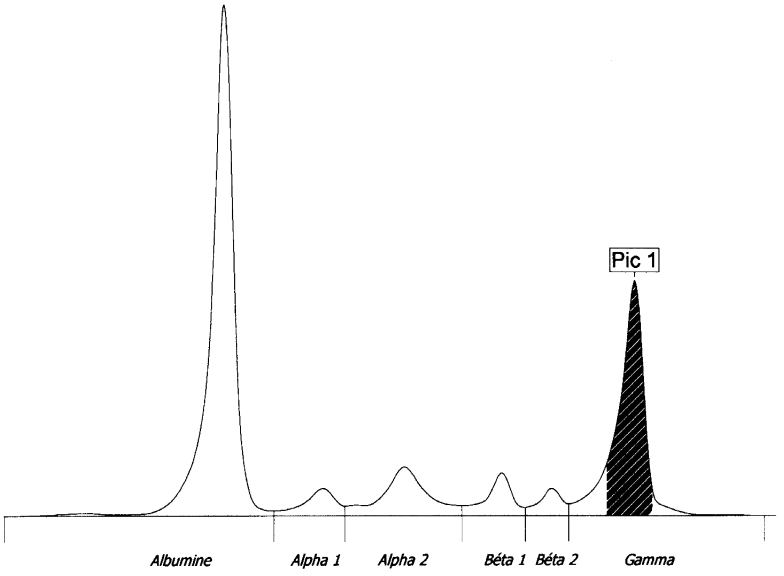


FIG. 1B : Electrophorèse des protides sériques capillaire de zone

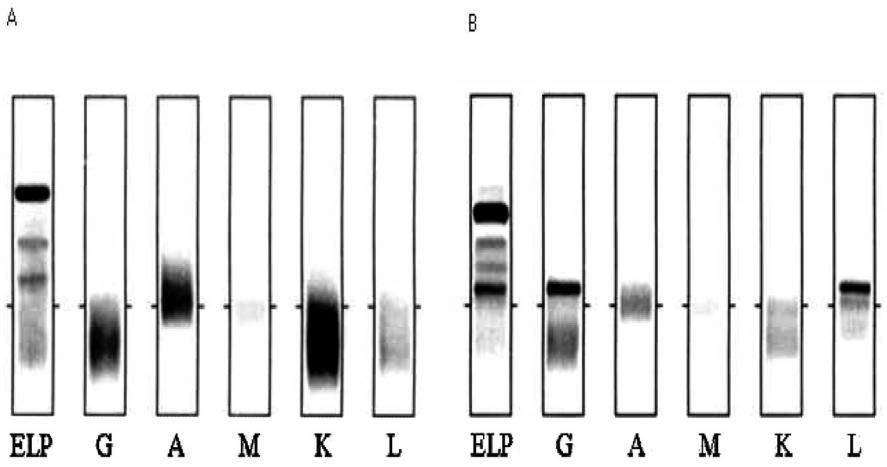


FIG. 2

A : Immunofixation normale

B : Présence d'une gammapathie monoclonale Ig G lambda

Lorsque le patient est symptomatique, des explorations complémentaires sont d'emblée nécessaires.

Chez un patient asymptomatique, la distinction entre GMSI et hémopathie maligne est parfois difficile.

Le bilan étiologique comporte en première intention un hémogramme et un dosage de la calcémie et de la créatininémie.

L'enquête étiologique [4] est ensuite poursuivie en fonction du caractère normal ou non de ces examens, du taux du composant monoclonal et du type d'immunoglobuline monoclonale.

Si le taux du composant monoclonal Ig G, Ig A ou Ig M est inférieur à 15 gll et les examens biologiques de première ligne sont normaux :

- aucune enquête complémentaire n'est nécessaire dans l'immédiat,
- le diagnostic de GMSI peut être retenu.

— ***Si le taux composant monoclonal est > 15gll etlou si au moins un des examens biologiques de première ligne est anormal***, il est nécessaire de compléter l'enquête étiologique en se guidant sur le type de composant monoclonal :

  - S'il s'agit d'une Ig G ou Ig A : myélogramme, bilan radiologique osseux
  - S'il s'agit d'une Ig M : biopsie ostéo-médullaire et/ou immunophenotypage lymphocytaire medullaire, scanner abdominal, recherche d'une cryoglobulinémie.

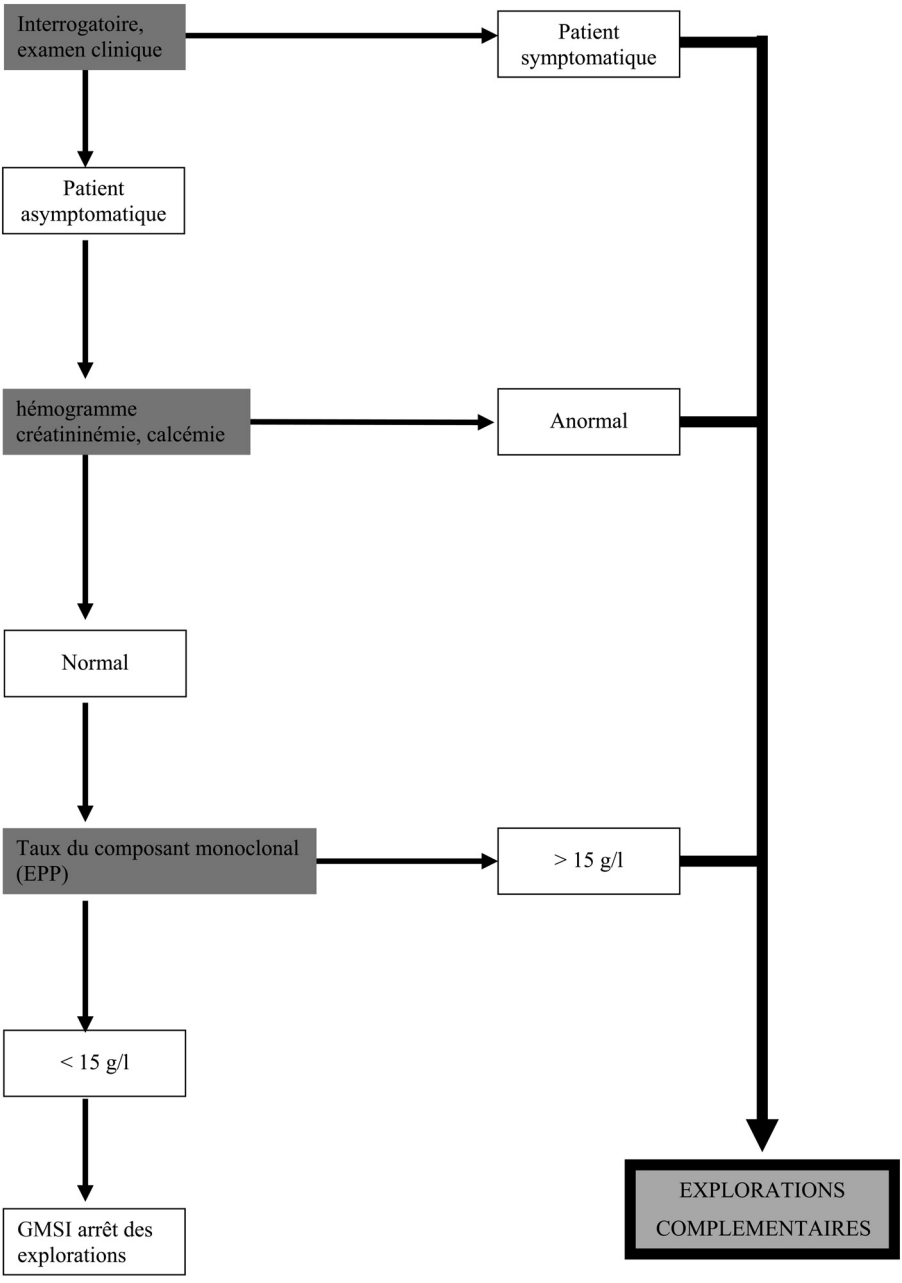


FIG. 3. — Algorithme décisionnel devant une gammapathie monoclonale

PRISE EN CHARGE AU LONG COURS DES GMSI

Les GMSI représente un état pré-néoplasique avec un risque de transformation maligne en hémopathie lymphoide B.

Dès 1978, Kyle décrivait l'évolution d'une cohorte de 241 patients avec un suivi de plus de cinq ans et observait 11 % d'évolution vers une hémopathie maligne [10]. Lors de la dernière mise à jour [11] la durée médiane de suivi était de 13,7 ans (0-39 ans). Seuls 14 patients (6 %) étaient encore en vie en avril 2003. Soixante-quatre patients (27 %) ont évolué vers une hémopathie maligne : 44 patients ont développé un myélome, 8 une amylose, 7 une maladie de Waldenström et 5 une hémopathie maligne lymphoïde (leucémie lymphoïde chronique, lymphome malin non hodgkinien,...). Le risque actuariel de transformation maligne était évalué dans cette cohorte à 17 % à 10 ans, 34 % à 20 ans et 39 % à 25 ans.

Afin de confirmer ces données sur une plus large population, les mêmes auteurs ont étudié une cohorte de 1 384 patients suivis pour une GMSI diagnostiquée entre le 1er janvier 1960 et le 31 décembre 1994 [12]. L'âge moyen au diagnostic était de 72 ans. La durée de suivi médiane était de 15,4 ans (extrêmes de 0 à 35 ans). Cent quinze cas (8 %) de transformation maligne ont été observés. Le risque relatif de développer un myélome était estimé à 25, une maladie de Waldenström à 46, une amylose à 8,4 et un LNH à 2,4. Le risque actuariel de transformation était estimé dans cette population à 10 % à dix ans, 21 % à vingt ans et 26 % à vingt-cinq ans, soit environ 1 % par an. Il persistait avec le temps.

Dans une étude personnelle [13], nous avons étudié rétrospectivement le devenir de 190 patients suivis pour une GMSI. La durée moyenne de suivi était de sept ans (extrêmes 1-20 ans). Le diagnostic de GMSI était maintenu chez 128 patients (67,37 %) avec une durée moyenne de suivi de quatre vingt-seize mois. Quarante et un patients (21,58 %) ont évolué vers un syndrome immunoprolifératif malin avec un délai moyen de survenue de quarante-neuf mois. Le risque actuariel de transformation maligne était estimé à 13,05 % à cinq ans et 25,14 % à dix ans.

À l'inverse des données récentes conduisent à penser que tout myélome serait précédé d'une phase de GMSI. Ainsi Landgren [14] a rapporté récemment dans une série de 71 myélomes la présence d'une gammapathie monoclonale dans 100 % et 82,4 % respectivement deux ans et huit ans auparavant.

Principaux critères prédictifs de transformation maligne

Isotype

Dès 1992, Blade signalait le rôle prédictif de l'isotype [15]. Sur une cohorte de 128 patients ils observaient cinq (23,8 %) cas de transformation parmi les 21 patients ayant une GMSI Ig A et huit (7,5 %) cas de transformation parmi les 107 patients ayant une GMSI Ig G ou Ig M ($p<0,025$). Ce résultat a été confirmé depuis sur de plus larges cohortes.

Dans sa cohorte de 1 384 patients, Kyle [12] observait que les GMSI Ig A et Ig M avaient un risque d'évolution plus élevé que les GMSI de type Ig G. Ce résultat a été également rapporté par Cesana [16]. Sur une cohorte de 1 247 patients Gregersen [17] évaluait le risque relatif de transformation maligne des Ig A et des Ig M respectivement à 1,8 et à 1,1 par rapport aux Ig G. Dans une étude épidémiologique ayant recensé 504 GMSI, Ogmundsdottir [18] évaluait le risque relatif de transformation des Ig A à 27,8 pour les hommes et à 62,1 pour les femmes par rapport à une population témoin. Parallèlement le risque relatif de transformation des GMSI Ig G était de 6,59 pour les hommes et de 16,5 pour les femmes.

Taux de composant monoclonal

Dans l'étude de Kyle [12], le facteur le plus discriminant était le taux de composant monoclonal. Le risque de transformation à vingt ans était évalué à 14 % lorsque le pic initial était inférieur à 5 g/L et à 49 % lorsque le pic initial était supérieur à 25 g/L. Le risque relatif de transformation des patients dont le taux de composant monoclonal était supérieur à 25 g/L était de 4,6 par rapport aux patients ayant un taux de composant monoclonal inférieur à 5 g/L. Dans cette étude, les auteurs ne définissaient pas de valeur seuil.

Une valeur seuil du taux de composant monoclonal a été proposée par quelques auteurs. Van de Donk [19] fixait la valeur seuil à 10 g/L. Pour les patients ayant un taux de composant monoclonal inférieur ou supérieur à 10 g/L, le risque de transformation à dix ans était estimé respectivement à 4,76 % et 32,2 %. Cesana [15] définissait la valeur seuil à 19,2 g/L. Dans notre étude [13] nous avons fixé la valeur seuil à 15 g/L. Le risque de transformation maligne était évalué à 5,3 % à cinq ans et à 15,2 % à dix ans pour les patients dont le pic initial était inférieur à 15 g/L. Ce risque s'élevait à 12,1 % à cinq ans et à 33,7 % à dix ans lorsque le taux de l'immunoglobuline était supérieur à 15 g/L au diagnostic (Log Rank : 0,002).

Plasmocytose médullaire

Selon les recommandations de Kyle [4] la réalisation d'un myélogramme n'est pas nécessaire lorsque le taux de composant monoclonal est inférieur à 20 g/L en l'absence de signes cliniques ou biologiques évocateurs d'une hémopathie maligne. Ainsi, un myélogramme n'a été réalisé que chez 12 % (160 patients) des 1 384 patients de leur cohorte [12]. Dans la plupart des études, un myélogramme a été réalisé chez une minorité de patients. De ce fait, la plasmocytose médullaire a été rarement identifiée comme facteur prédictif de transformation maligne.

Dans l'étude de Van de Donk [19] (102 patients), le risque actuariel de transformation maligne à dix ans était estimé à 0 % lorsque la plasmocytose médullaire était inférieur à 2 % contre 26,4 % lorsqu'elle était supérieure à 2 %. Pour Cesana [15] (1 104 patients), la valeur seuil était 5 %. Les patients ayant une plasmocytose médullaire entre 6 et 9 % avaient un risque relatif de transformation de 1,44 par rapport aux patients ayant une plasmocytose médullaire inférieure à 5 %. Tous les patients de ces deux cohortes ont bénéficié d'un myélogramme.

Dans une étude personnelle concernant 91 patients suivis pour une GMSI Ig G ou Ig A[20] nous avons identifié comme facteur prédictif de l'évolution maligne la plasmocytose médullaire avec une valeur seuil de 5 % (Log Rank : 0,031). Les patients ayant une plasmocytose médullaire inférieure à 5 % (65 patients) avaient un risque de transformation maligne estimé à 11,1 % à 5 ans et 19 % à 10 ans. Ce risque était plus important pour les patients dont l'infiltration médullaire était supérieure à 5 % (26 patients) : 28,2 % à cinq ans et 34,7 % à dix ans.

Dosage des chaînes légères libres sériques et rapport kappallambda

Les chaînes légères libres d'immunoglobulines sont présentes à de faibles concentrations dans le sérum de sujets sains. Leur demi vie sérique est courte car elles sont rapidement filtrées au niveau rénal. Du fait de leur réabsorption tubulaire importante il n'est pas possible de détecter les protéinuries de Bence-Jones avant que le seuil de réabsorption ne soit dépassé. Un nouveau test de dosage des chaînes légères libres sériques permet la quantification des chaînes légères libres sériques kappa et lambda dans le sérum et dans les urines [21]. L'étude du rapport kappa/lambda permet de distinguer les excès de synthèse polyclonale et monoclonale. Un rapport kappa/lambda anormal (normales 0,26-1,65) indique un excès d'un type de chaîne légère et témoigne de la présence d'une chaîne légère libre sérique monoclonale [22]. Rajkumar [23] a utilisé ce dosage sur le sérum de 1 148 patients de la cohorte de 1 384 patients décrite par Kyle [12]. Un rapport kappa/lambda anormal était associé à un risque de transformation maligne plus élevé. Le risque actuariel de transformation maligne des patients ayant un rapport kappa/lambda normal était estimé à 5,3 % à dix ans et 12,6 % à vingt ans. Pour les patients ayant un rapport kappa/lambda anormal (379 patients-33 %), ce risque s'élèvait à 16,7 % à dix ans et 35 % à vingt ans.

Perspectives d'avenir : les marqueurs génétiques

L'étude cytogénétique des plasmocytes dans le myélome et les GMSI a longtemps été difficile compte tenu de leur faible prolifération. La cytogénétique standard identifiait des anomalies chromosomiques quantitatives chez environ 30 % des myélomes. Avec le développement des techniques d'hybridation en interphase (FISH), des anomalies chromosomiques quantitatives et structurales ont été identifiées dans plus de 90 % des myélomes et dans au moins 50 % des cas de GMSI.

Les translocations 14q32 sont mises en évidence dans environ 60 % des myélomes [24]. Elles impliquent des partenaires chromosomiques variés dont certains sont récurrents (4p, 11q, 16q,...) et s'accompagnent d'une dérégulation de l'expression de certains gènes potentiellement oncogènes (Cycline D1, FGFR3,...). Ces translocations sont également observées dans les GMSI. Avet-Loiseau [2] a étudié 669 myélomes et 147 GMSI. Une translocation 14q32 était mise en évidence dans 73 % (447 cas) des myélomes et dans 48 % (69 cas) des GMSI. Les partenaires de ces translocations variaient en fonction du stade. Une translocation t(11 ; 14) était

observée dans 20 % des myélomes et 13 % des GMSI. En revanche, la translocation t(4 ; 14) était observée dans 15 % des myélomes et 2 % des GMSI. D'autres auteurs trouvaient des résultats partiellement discordants. Ainsi, une translocation impliquant le locus 14q32 était mise en évidence dans 47/61 (77 %) cas de GMSI par Fonseca. Dans cette étude, la translocation t(4-14) était identifiée dans 9 % (5 patients) des GMSI [26].

La délétion du bras long du chromosome 13 est plus fréquente dans le myélome (36-50 %) que dans les GMSI (21 %) et semble plus fréquente dans les myélome post GMSI (70 %) [27]. Ces données ont fait évoquer un rôle de la délétion du chromosome 13 dans l'évolution des GMSI vers un myélome mais cette hypothèse reste débattue.

Ces données cytogénétiques confirment l'existence d'un lien entre GMSI et myélome. Le lien entre ces anomalies génétiques et l'évolution maligne n'est pas établi. L'existence des ces anomalies génétiques ne suffit pas à rendre compte du potentiel évolutif malin des GMSI puisque seules 20 % d'entre elles vont évoluer vers un myélome sur vingt ans. D'autres événements oncogéniques sont nécessaires. Par ailleurs, faute de recul évolutif suffisant, il n'a pas été mis en évidence de lien entre ces anomalies et le risque évolutif des GMSI.

D'apparition récente, les techniques d'étude du profil d'expression génique ont fourni des résultats intéressants dans les tumeurs solides (cancer du sein notamment) et les hémopathies malignes (leucémies aiguës, lymphomes). La comparaison des profils d'expression génique des plasmocytes de sujets sains, de GMSI et de myélomes a permis d'identifier des gènes potentiellement impliqués dans la physiopathologie et l'oncogenèse du myélome[28]. L'utilisation de ces techniques appliquée aux GMSI pourrait permettre la mise en évidence de populations de GMSI différentes par leur profil d'expression et de définir les groupes de patients les plus à risque d'évolution. Cependant, à l'heure actuelle, ces techniques sont difficiles à mettre en œuvre, elles nécessitent des effectifs de patients importants et l'obtention de populations cellulaires homogènes.

Score prédictifs

L'évaluation du risque individuel des patients reste difficile. Chacun de ces facteurs prédictifs pris indépendamment ne permet pas de classer correctement les patients. La définition d'une valeur seuil est toujours imparfaite car il existe un chevauchement des valeurs entre les groupes de patients. L'utilisation d'une combinaison de facteurs sous la forme de score pronostic permettrait de s'affranchir des limites de chacun.

Rajkumar [23] a proposé récemment un score prédictif tenant compte des trois facteurs de risques identifiés par cette équipe : isotype (Ig G ou non Ig G), taux de composant monoclonal (inférieur ou supérieur à 15 g/L) et dosage des chaînes légères libres sériques (rapport kappa/lambda normal ou anormal). Les auteurs

définissaient ainsi quatre groupes de patients ayant des risques de transformation très différents. Les patients n'ayant aucun facteur de risque (449 patients soit 39,1 % de la cohorte) avaient un risque de transformation estimé à 5 % à vingt ans. Les patients ayant trois facteurs de risque (53 patients soit 4,6 %) avaient un risque d'évolution estimé à 58 % à vingt ans (soit 3 % par an) et un risque relatif de transformation estimé à 20,8 par rapport au groupe de patients n'ayant aucun facteurs de risque.

Dans notre étude concernant 91 GMSI Ig G et Ig A [13], nous avons proposé un score prédictif tenant compte du taux de composant monoclonal (valeur seuil 15 g/L) et de la plasmocytose médullaire (valeur seuil 5 %). Les 23 patients (25,2 %) ayant un taux de composant monoclonal inférieur à 15 g/L et une plasmocytose médullaire inférieure à 5 % avaient un risque évolutif faible estimé à 0 % à cinq ans et 12,9 % à dix ans. Dix-huit patients (19,8 %) avaient les deux facteurs supérieurs à la valeur seuil. Ce groupe avait un risque de transformation maligne élevé à 38,9 % à cinq ans et 49,1 % à dix ans. Un groupe intermédiaire composé de 50 patients (55 %) ayant un seul critère supérieur au seuil avait un risque intermédiaire : 7,1 % à cinq ans et 19,4 % à dix ans (Log Rank : 0,0009).

Ces différents résultats confirment la grande hétérogénéité des GMSI en terme de risque évolutif.

SURVEILLANCE DES GMSI

Le risque évolutif des GMSI est maintenant bien identifié. Les facteurs prédictifs sont de mieux en mieux connus et l'utilisation de scores prédictifs combinant plusieurs facteurs permettra probablement d'évaluer le risque individuel de chaque patient. Les scores proposés doivent être validées sur des études prospectives.

L'abstention thérapeutique est préconisée [4] sauf dans les cas où l'immunoglobuline monoclonale est responsable par elle même de manifestations pathologiques : cryoglobulinémie, neuropathie périphérique,... La surveillance clinique et biologique doit être régulière et prolongée compte tenu de la persistance du risque évolutif avec le temps.

La surveillance doit être semestrielle initialement puis annuelle en cas de stabilité pendant deux ans. Elle est basée sur des critères cliniques (état général, douleurs osseuses, syndrome tumoral) et biologiques (hémogramme, calcémie, créatininémie, électrophorèse des protides, protéinurie). La répétition de l'immunofixation n'est pas nécessaire au cours du suivi. Le suivi du composant monoclonal est basé sur l'évolution du pic sur l'électrophorèse des protides et non sur le dosage pondéral des immunoglobulines. Ce dernier a pour seul intérêt d'étudier le taux des immunoglobulines polyclonales.

En cas d'apparition d'une symptomatologie clinique ou d'anomalies biologiques, l'enquête étiologique doit être reprise. L'évolution maligne pouvant être brutale

[14], il est nécessaire de répéter les explorations en cas d'apparition de symptômes cliniques ou biologique quelque soit la date du dernier bilan évolutif.

Dans l'étude de Kyle [14], 72 % des patients sont décédés d'une cause indépendante (cardio-vasculaire principalement) après vingt ans de suivi. Le risque de décès de cause indépendante est donc plus élevé que le risque de transformation maligne. Ces données sont importantes car elle rappellent la nécessité de la prise en compte du terrain sous-jacent. Ainsi, chez un patient âgé ayant de gros facteurs de risque ou des pathologies sous-jacentes graves, l'enquête étiologique et la surveillance doivent être simplifiées.

Dans la mesure où il n'existe pas de moyens de prévenir l'évolution maligne, on peut s'interroger sur l'utilité du suivi systématique des GMSI. Kyle [14] soulignait qu'une surveillance régulière permet de diagnostiquer une évolution maligne précocement ce qui peut prévenir l'apparition de complications graves telles qu'une fracture pathologique ou une insuffisance rénale conduisant à l'hémodialyse.

CONCLUSION

Les gammapathies monoclonales représentent un problème fréquent en pratique clinique. Il paraît important d'établir des stratégies diagnostiques et de surveillance raisonnables afin de limiter les coûts humains et financiers engendrés par leur prise en charge. En l'état actuel des connaissances, plusieurs pistes pourraient être proposées :

— **limiter le nombre de cas de gammapathie monoclonale de découverte fortuite** en réservant la réalisation de l'électrophorèse des protides aux indications classiques et en évitant les examens systématiques.
— **limiter les explorations initiales devant une gammapathie monoclonale** car le diagnostic le plus probable est celui de GMSI. L'absence de symptomatologie clinique, d'anomalies biologiques associées (hémogramme, calcémie, créatininémie) et un taux modéré du composant monoclonal (inférieur à 15 g/L) permettent d'orienter rapidement le diagnostic et de limiter les investigations.
— **adapter la surveillance des GMSI au risque individuel :** une surveillance prolongée est théoriquement nécessaire ce qui induit un nombre de consultations et d'électrophorèses très important. L'utilisation de scores prédictifs permettra probablement de classer les patients en fonction de leur risque individuel et d'adapter la surveillance en conséquence

BIBLIOGRAPHIE

[1] Waldenström J. — Studies on conditions associated with disturbed gamma globulin formation (gammopathies). *Harvey lect*., 1960-61, *56*, 211-231.

[2] Kyle R.A., Therneau T.M., Rajkumar S.V. *et al.* — Prevalence of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (MGUS) among Olmsted County, MN Residents 50 Years of Age. *Blood,* 2003, *102*, 934.

[3] Decaux O., Laurat E., Perlat A. *et al.* — Systemic manifestations of monoclonal gammopathy. *Eur. J. Int. Med.*, 2009, *20*, 457-461.

[4] Kyle R.A., Vincent Rajkumar S. — Monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, 2005, *18,* 689-707.

[5] Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. Br. J. Haematol., 2003, *121*, 749-57.

[6] Ramos-Casals M., Loustaud-Ratti V., De Vita S., Zeher M., Bosch J. A. *et al.* — Sjogren syndrome associated with hepatitis C virus: a multicenter analysis of 137 cases. *Medicine (Baltimore),* 2005, *84*, 81-89.

[7] Grosbois B., Jaussaud R., Rose C. *et al.* — Gaucher disease and monoclonal gammopathy = a report of 17 cases and impact of therapy. *Blood Cell Mol. Dis.*, 2009, *43*, 138-139.

[8] Lissoir B., Wallemacq P., Maisin D. — Électrophorèse des protéines sériques : comparaison de la technique en capillaire de zone Capillarys (Sebia) et de l'électrophorèse en gel d'agarose Hydrasys (Sebia). *Ann. Biol. Clin., (Paris),* 2003, *61*, 557-562.

[9] Jenkins M.A., Guerin M.D. — Quantification of serum proteins using capillary electrophoresis. *Ann. Clin. Bioche.,* 1995, *32*, 493-497.

[10] Kyle R.A. — Monoclonal gammopathy of undetermined significance. Natural history in 241 cases. *Am J. Med..,* 1978, *64,* 814-826.

[11] Kyle R.A., Therneau T.M., Rajkumar V. *et al.* — Long-term follow-up of 241 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance: The original Mayo Clinic series 25 years later. *Mayo Clin. Proc.,* 2004, *79*, 859-866.

[12] Kyle R.A., Therneau T.M., Rajkumar S.V. *et al.* — A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N. Engl. J. Med.,* 2002, *346*, 564-569.

[13] Decaux O., Cuggia M., Ruelland A. *et al.* — Suivi évolutif des gammapathies monoclonales de signification indéterminée. Etude rétrospective de 190 patients. *Presse Med.*, 2006, *35*, 1143-1150.

[14] Landgren O., Kyle R.A., Pfeiffer R.M. *et al.* — Monoclonal Gammopathy of undetermined significance (MGUS) precedes multiple myeloma:a prospective study. *Blood*, 2009, *113*, 4992-5001.

[15] Blade J., Lopez-Guillermo A., Rozman C. *et al.* — Malignant transformation and life expectancy in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br. J. Haematol.,* 1992, *81*, 391-394.

[16] Cesana C., Klersy C., Barbarano L. *et al.* — Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.,* 2002, *20,* 1625-1634.

[17] Gregersen H., Ibsen J., Mellemkjoer L. *et al.* — Mortality and causes of death in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br. J. Haematol.,* 2001, *112,* 353-357.

[18] Ogmundsdottir H.M., Haraldsdottir V., M Johanneson G. *et al.* — Monoclonal gammopathy in Iceland : a population-based registry and follow-up. *Br. J. Haematol.*, 2002, *118*, 166-173.

[19] Van de Donk N., De Weerdt O., Eurelings M. *et al.* — Malignant transformation of monoclonal gammopathy of undetermined significance : cumulative incidence and prognostic factors. *Leuk. Lymphoma*, 2001, *42,* 609-618.

[20] Grosbois B., Decaux O., Goasguen J. *et al.* — Malignant transformation of monoclonal gammopathy of undetermined significance: proposal of a predictive score. *Haematologica*, 2005, *90,* 197 (abstract).

[21] Bradwell A.R., Carr-Smith H.D., Mead G.P. *et al.* — Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin. Chem*., 2001, *47,* 673-680.

[22] Katzmann J.A., Clark R.J., Abraham R.S. *et al.* — Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin. Chem*., 2002, *48*, 1437-1444.

[23] Rajkumar S.V., Kyle R.A., Therneau T.M. *et al.* — Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*, 2005, *106*, 812-817.

[24] Bergsagel P.L., Kuehl W.M. — Chromosome translocations in multiple myeloma. *Oncogene,* 2001, *20,* 5611-5622.

[25] Avet-Loiseau H., Minvielle S., Mellerin M.P. *et al.* — 14q32 chromosomal translocations: a hallmark of plasma cell dyscrasias? *Hematol. J.*, 2000, *1,* 292-294.

[26] Fonseca R., Bailey R.J., Ahmann G.J. *et al.* — Genomic abnormalities in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*, 2002, *100,* 1417-1424.

[27] Avet-Loiseau H., Li J.Y., Morineau N. *et al.* — Monosomy 13 is associated with the transition of monoclonal gammopathy of undetermined significance to multiple myeloma. Intergroupe Francophone du Myelome. *Blood*, 1999, *94,* 2583-2589.

[28] Davies F.E., Dring A.M., Li C. *et al.* — Insights into the multistep transformation of MGUS to myeloma using microarray expression analysis. *Blood*, 2003, *102,* 4504-4511.

DISCUSSION

M. Jean-Yves LE GALL

L'évolution naturelle des gammapathies monoclonales peut être considérée comme la succession de deux évènements mutationnels, le premier entraînant la prolifération anormale d'un clone, le second sa transformation maligne. Que sait-on des gènes en cause ?

Le myélome est caractérisé par une instabilité génétique qui augmente avec la progression de la maladie. Ainsi, de nombreuses anomalies chromosomiques ont été décrites dès le stade MGUS. Les événements initiaux incluent des translocations impliquant le gène des chaînes lourdes d'immunoglobulines (locus 14q32) avec certains partenaires récurrents ou une hyperdiploïdie. Cette phase initiale est ensuite suivie d'une instabilité complémentaire pendant la progression de la maladie qui inclut notamment des délétions ou des monosomies du chromosome 13, des activations d'oncogène, des translocations secondaires (telles que la translocation impliquant c-myc). Des amplifications ou des délétions de chromosome sont fréquentes et notamment l'amplification du bras long du chromosome 1 (gains de 1q) et la délétion du bras court du chromosome 17 (del17).

— L'anomalie la plus fréquente est représentée par les translocations impliquant la région 14q32 (t(14q32)) et, en particulier, le gène des chaînes lourdes d'immunoglobulines (IGH). Ces anomalies se retrouvent chez environ 60 % des patients (Avet-Loiseau et al, 2002 ; Fonseca et al, 2003). Contrairement aux lymphomes malins (dans lesquels le partenaire de la translocation est spécifique du type histologique), les

partenaires chromosomiques sont extrêmement variés dans le myélome multiple. A ce jour, plus de trente régions chromosomiques ont été rapportées. Néanmoins, seules certaines d'entre elles paraissent réellement récurrentes. Par ordre de fréquence décroissante, on retrouve la t(11 ; 14) (environ 20 % des patients), la t(4 ; 14) (~15 %), la t(14 ; 16) (~5 %), la t(6 ; 14) (<2 %) et la t(14 ; 20) (<3 %). Ces translocations entraînent la dérégulation de gènes spécifiques. Ainsi, la t(11 ; 14) dérégule le gène CCND1, conduisant à une hyperexpression de la cycline D1. La t(4 ; 14) n'a jamais été décrite dans d'autres pathologies, et entraîne la dérégulation de deux gènes (FGFR3 et MMSET) situés de part et d'autre du point de cassure sur le chromosome 4. La t(14 ; 16) dérégule l'oncogène MAF. La t(6 ; 14) et la t(14 ; 20) conduisent à une hyperexpression des gènes CCND3 (codant pour la cycline D3) et MAFB, respectivement. Cette disparité de partenaires chromosomiques explique en partie l'hétérogénéité de la pathologie. Ces anomalies chromosomiques impliquant le gène IGH sont très précoces dans l'oncogenèse de la maladie. En effet, lorsque l'on analyse des cas de MGUS, l'incidence de ces réarrangements illégitimes est globalement la même que dans le myélome multiple symptomatique, avec une moindre incidence de t(4 ; 14).

— La seconde anomalie en terme de fréquence est l'hyperdiploïdie (50 à 60 % des patients). La nature des chromosomes en excès n'est pas aléatoire et touche tout particulièrement les chromosomes impairs (3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 et 21). Aucune explication n'a été avancée à ce jour pour expliquer ce biais dans la nature des chromosomes gagnés. L'hyperdiploïdie dans le myélome multiple représente une voie oncogénique distincte de celle liée aux t(14q32). En effet, les réarrangements récurrents impliquant la région 14q32 sont pratiquement incompatibles avec une hyperdiploïdie. De plus, tout comme les t(14q32), l'hyperdiploïdie a été démontrée dans les MGUS, montrant ainsi le caractère précoce de survenue de ces anomalies.

— La troisième anomalie est la perte de matériel chromosomique sur le chromosome 13. Tout comme les précédentes anomalies, les anomalies du 13 ont été décrites dans les MGUS, avec une incidence similaire à celle retrouvée dans le myélome multiple, soit de l'ordre de 40-50 % et surviennent donc très probablement lors des premiers stades de l'oncogenèse plasmocytaire.

— La quatrième anomalie, par ordre de fréquence est représentée par les gains de copies supplémentaires du bras long du chromosome 1 (ou gains de 1q). Cette anomalie n'est pas spécifique au myélome. Elle a été décrite dans de très nombreuses hémopathies malignes, mais également dans de nombreux types de tumeurs solides. Récemment, une équipe américaine a démontré une très forte corrélation entre les gains de 1q et l'hyperexpression d'un gène dénommé CKS1B. Dans cette étude, tous les cas d'hyperexpression de ce gène étaient associés à la présence de une à quatre copies supplémentaires de ce gène. Le rôle biologique de cette anomalie n'est pas connu. Cette anomalie ne paraît pas primitive puisque non retrouvée dans les MGUS, et à l'inverse, très fréquente en rechute. Cependant, la preuve formelle de l'implication de ce gène dans l'oncogenèse du myélome n'a pas été apportée à ce jour.

— La dernière anomalie récurrente est la perte du bras court du chromosome 17 (del(17p)). La cible principale de ces délétions n'est pas connue à ce jour. Toutes les études se sont focalisées de manière arbitraire sur le gène de la P53, situé en 17p13. Par analyse FISH, la plupart des études ont montré une perte de ce gène chez près de 10 % des patients atteints de myélome multiple, mais exceptionnellement dans les cas de MGUS. La perte d'un allèle de ce gène nécessiterait une mutation du second allèle pour avoir une implication biologique. Tout ceci plaide plutôt pour une cible autre que la P53, qui reste toutefois à découvrir.

— Parmi les translocations secondaires, les plus fréquentes sont celles qui impliquent le locus du gène c-myc. Les mécanismes de ces translocations sont multiples (t(8 ; 14), t(8 ; 22), autres partenaires,...). Dans une cohorte de 610 patients atteints de myélome ou de leucémie à plasmocytes, une translocation c-myc était mise en évidence chez 15 % des patients.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1089-1097, séance du 19 mai 2009

COMMUNICATION

Immunoglobuline monoclonale : quand l'hématologue a-t-il besoin du neurologue ?

MOTS-CLÉS : PARAPROTÉINÉMIES. IMMUNOGLOBULINES. MACROGLOBULINÉMIE DE ALDENSTROM. AMYLOSE. SYNDROME POEMS. NEUROPATHIES PÉRIPHERIQUES. HÉMATOLOGIE

Monoclonal gammapathy : when does the hematologist need the neurologist's help ?

KEY-WORD (Index medicus) : PARAPROTEINEMIAS. IMMUNOGLOBULINS. WALDENSTROM MACROGLOBULINEMIA. AMYLOSE. POEM SYNDROME. PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM DISEASES. HEMATOLOGY

Véronique LEBLOND *, Marie Anne HOSPITAL, Andréa TOMA, Sylvain CHOQUET

RÉSUMÉ

La découverte d'une immunoglobuline monoclonale est un motif de consultation très fréquent en hématologie. L'association d'une gammapathie et d'une neuropathie périphérique peut être observée dans une gammapathie monoclonale bénigne, une maladie de Waldenström, une amylose AL ou un POEMS. Le rôle de l'hématologue est de rechercher et de préciser l'hémopathie sous jacente, de juger s' il existe une indication thérapeutique et enfin de choisir parmi les différentes options thérapeutiques celle qui est la meilleure pour son patient. Le neurologue doit définir le type de neuropathie et déterminer le lien entre la neuropathie et l'immunoglobuline monoclonale. En conclusion l'association d'une immunoglobuline monoclonale et d'une neuropathie périphérique nécessite une collaboration étroite entre les deux spécialistes.

SUMMARY

Monoclonal gammapathy is a frequent reason for consulting a hematologist. Monoclonal gammapathy can be associated with peripheral neuropathy in monoclonal gammapathy of unknown significance (MGUS) and in hematological disorders such as Waldenstrom's

* Hématologie , 47 boulevard de l'Hôpital Paris 75013

Tirés à part : Véronique LEBLOND Hôpital de la Salpêtrière. 47 boulevard de l'Hôpital. 75651 Paris cedex 13. E-mail : veronique.leblond @psl.aphp.fr
Article reçu le 26 mars 2009, accepté le 11 mai 2009

acroglobulinemia, AL amyloidosis and the POEMS syndrome. The hematologist must characterize the hematological disorder, evaluate the need for treatment, and choose the best treatment option. The neurologist must define the type of neuropathy and evaluate the relationship between the abnormal immunoglobulin and the peripheral neuropathy. Thus, close co-operation between the hematologist and neurologist is necessary when a patient presents with both monoclonal immunoglobulin and peripheral neuropathy.

La découverte d'une immunoglobuline monoclonale est un motif de consultation très fréquent en hématologie Lorsque le patient décrit une neuropathie le plus souvent périphérique, cela va nécessiter une collaboration étroite entre l'hématologue et le neurologue, pour mieux caractériser l'atteinte neurologique, pour apprécier le lien entre l'hémopathie et l'atteinte neurologique, et enfin pour discuter du meilleur choix thérapeutique.

LA DÉMARCHE DIAGNOSTIQUE

L'arbre décisionnel va dépendre de l'isotype de l'immunoglobuline monoclonale et du tableau neurologique (Tableau 1).

Le diagnostic de **gammapathie monoclonale bénigne** sera un diagnostic d'élimination. Cela n'est pas synonyme d'abstention thérapeutique car on verra par la suite que l'activité anticorps de l'immunoglobuline peut être délétère Le fait d'avoir une immunoglobuline monoclonale toujours liée à un clone B qui peut être plus ou

Tableau 1. — Neuropathies et immunoglobulines monoclonales

MGUS: monoclonal gammapathy of unknown origin
MW: Maladie de Waldenström
λ : chaînes légères lambda
κ: chaînes légères kappa

Tableau neurologique	MGUS IgM	Myélome IgG, IgA	Amylose IgG, IgA>IgM λ > κ	MW IgM	POEMS IgA>IgG λ > κ	Cryoglobuline IgM
Infiltration compression		++++		+		
dépôts			+++++			
Métaboliques Hypercalcémie Hyperviscosité		+++		+		
Autoimmun	5 %	rare		10-50 %		++
cytokines				-	++++	
Vascularites						++++

Tableau 2. — Critères diagnostiques pour classer les gammapathies monoclonales IgM bénignes et la maladie de Waldenström (Owen)

	MW symptomatique	MW asymptomatique	IgM monoclonale bénigne symptomatique	IgM monoclonale bénigne asymptomatique
IgM sérique	+	+	+	+
Infiltration médullaire en morphologie	+	+	-*	-*
Symptômes liés à l'infiltration tumorale	+	-	-	-
Symptômes liés à l'IgM	+	-	+	-

* chez certains patients, l'infiltration médullaire peut être authentifiée par des techniques plus sensibles comme la cytométrie de flux ou la PCR en l'absence d'infiltration morphologique de la moelle

moins important. Lorsque l'infiltration médullaire est visible sur le myélogramme on fera le diagnostic de l'hémopathie (maladie de Waldenström, myélome ou autre hémopathie lymphoïde). Dans le cas contraire, le diagnostic sera celui de « gammapathie monoclonale benigne (MGUS dans la littérature anglo saxone : monoclonal gammapathy of unknown origin) [1].

IL S'AGIT D'UNE IGM MONOCLONALE : le diagnostic à évoquer est une **maladie de Waldenström**. L'existence d'une IgM monoclonale n'est pas synonyme de MW car elle peut être observée dans de nombreux syndromes lymphoprolifératifs B (la leucémie lymphoïde chronique, lymphomes malins non Hodgkiniens) et dans les gammapathies IgM dites « bénignes » (Tableau 2). Le diagnostic différentiel peut être très difficile avec les lymphomes spléniques de la zone marginale.

La maladie de Waldenström (MW) est un syndrome lymphoprolifératif chronique décrit en 1944 [2] La médiane d'âge est de 63 ans. Son incidence est estimée à 3,4 par million d'habitants chez l'homme et à 1,7 chez la femme et représente 6 % des syndromes lymphoprolifératifs B et 2 % des hémopathies malignes. Il existe des formes familiales chez 20 % des patients. La présentation clinique est protéiforme en raison des propriétés physico chimiques ou de l'activité anticorps de l'IgM monoclonale [3]. Ces particularités nécessitent une prise en charge multidisciplinaire par les hématologues, les neurologues et les internistes. En effet cette maladie peut être révélée par une neuropathie périphérique, une cryoglobulinémie, des manifestations cliniques liées à un syndrome d'hyperviscosité, ou des manifestations hématologiques avec une cytopénie ou un syndrome tumoral. Le rôle de l'hématologue est de caractériser ce syndrome lymphoprolifératif, de poser l'indication d'un traitement et de décider du type de traitement. Le rôle du neurologue est de caractériser au mieux le type de neuropathie périphérique, de rechercher une

immunoglobuline monoclonale et d'en caractériser l'activité anticorps et d'aider l'hématologue dans prise en charge du patient. Le rôle de l'interniste est d'évoquer ce diagnostic devant un purpura vasculaire ou un acrosyndrome.

L'hématologue doit caractériser le type de lymphoprolifération et poser l'indication du traitement. Les critères diagnostiques définis lors du deuxième workshop sur la MW : IgM monoclonale sérique et infiltration médullaire par des petits lymphocytes avec différenciation plasmocytaire de phénotype IgM+, CD5-/+, C10-, CD19+, CD20+, CD22+, CD23-, CD25+, CD27+, FMC7+, CD38+, CD103- [4]. Le taux d'IgM doit être impérativement mesuré sur l'electrophorèse. La technique nephélomètrique de dosage pondéral de l'IgM ne doit jamais être utilisée pour suivre l'évolution de l'IgM, cette technique donnant des résultats variables d'un laboratoire à l'autre. Le suivi du composant monoclonal doit donc impérativement être fait sur l'électrophorèse des protides. L'existence d'une cryoglobuline ou d'agglutinines froides peuvent modifier la quantification de l'IgM et doivent donc être recherchés au diagnostic. L'étude de l'activité anticorps de l'IgM monoclonale apporte des éléments dans la compréhension de la physiopathologie de la MW. Une revue sur ce point récemment publiée [5]. Lorsqu'une activité anticorps fonctionnelle est détectée elle est dirigée dans plus de 25 % des cas contre un auto-antigènes et dans certains cas seulement cette activité auto-anticorps est responsable de manifestations pathologiques. Lorsque l'activité anticorps de l'IgM n'est pas dirigée contre un auto-antigène, elle peut l'être contre un hétéro-antigènes viral ou bactérien et reconnaître de façon croisée à la fois un auto-Ag et un hétéro-Ag (exemple : *Klebsiella pneumoniae* et ADN humain). (Tableau 3).

Vingt pour cent des patients développent une neuropathie périphérique, celle-ci pouvant se manifester par une atteinte des nerfs crâniens, une mono ou multinévrite, ou une poly neuropathie symétrique, témoignant de mécanismes physiopathogèniques complexes. La majorité des patients ont une neuropathie chronique progressive, symétrique, distale. Les deux tiers ont une activité de l'IgM dirigée contre des antigènes du nerf, incluant la glycoprotéine associée à la myéline (MAG : myelin-associated glycoprotein : 50 % des patients), sulfatide, chondroitine sulfate C, protéines du cytosquelette (vimentine, tubuline) et plusieurs gangliosides : GM1 ± GD1b, GQ1b, GD1 chez environ 20 % des patients. La neuropathie anti MAG est la plus fréquente. Cette neuropathie est chronique, progressive, ataxiante, démyélinisante et avec à l'EMG un tracé caractéristique avec augmentation des vitesses de latence distale. Il existe également des neuropathies liées à des propriétés physicochimiques particulières de l'IgM, comme les neuropathies avec dépôts d'amylose ou les neuropathies cryoglobulinémiques, ou encore les neuropathies liées à des dépôts endoneuraux d'IgM [6-9]. Elles peuvent se révéler sous forme d'une polyneuropathie axonale ou parfois d'une multinévrite, les symptômes sont surtout sensitifs ou sensitivomoteurs, une dysautonomie oriente vers l'amylose, une atteinte cutanée (purpura, ulcère) vers une cryoglobulinémie. Une infiltration tumorale des racines ou un infiltration distale peut également être responsable d'une multinévrite souvent douloureuse. Il est évident que devant la diversité des mécanismes impliqués dans

TABLEAU 3. — Principales manifestations viscérales lors de la maladie de Waldenström (les manifestations indiquées en gras sont plus fréquentes)

Organes	Infiltration tumorale	lié à l'IgM circulante	Dépôt tissulaire d'IgM ou de chaîne légère	Activité auto anticorps	Autres	Amylose
Poumon	**Infiltrat** **Ep pleural** **Nodule**					nodules
Tube digestif	Infiltration de la lamina propria		lymphangiectasie : par accumulation d'IgM			+
Rein	**Infiltration de l'interstitium** **Masse périrénale**	***cryoglobuline :** Glomérulonéphrite membranoprolifération avec dépôts microtubulaires *** glomérulopathie par thrombi intra-capillaires d'IgM** * Nécrose tubulaire aigue par hyperviscosité	**Glomérulopathie par dépôt granuleux de chaines d'immunoglobuline (type Randall)**	Sd de Goodpasture	Néphropathie par dépôts en cristaux (CAST nephropathy) Autres glomérulopathies	**Glomerulopathie par dépôts fibrillaires**
Œil et annexes	Tumeur lacrymale, conjonctivale	**Exsudat, hémorragies rétiniennes**		Rétinopathie		
Système Nerveux périphérique	Infiltrat de cellules malignes	**Cryoglobulinémie (neuropathie sensitivo-motrices distales douloureuses**			**Activité Anti glycoconjugués**:	**Neuropathie sensitive, canal carpien, dysautonomie**
peau	Macule, papule, erythème Nodules	Hyperviscosité Purpura acral, œdème, hémorragies muqueuses **Cryoglobulinémie**	Papules de surcharge	Pemphigus. Maladie autoimmune anti-epiderme	Sd de Schnitzler (urticaire, douleurs osseuses, signes généraux) Xanthomes disséminés.	Dépôts amyloides
Autre	Arthrite par infiltration articulaire et periarticulaire				Bing Neel syndrome (infiltration tumorale du SNC favorisée par hyperviscosité)	

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, n° 5, 1089-1097, séance du 19 mai 2009

ces neuropathies, un avis neurologique est indispensable. Le traitement le plus souvent repose sur celui de l'hémopathie.

Certains patients, malgré un taux élevé d'IgM et une infiltration médullaire importante, sont asymptomatiques et ne présentent pas de cytopénie. Ces patients ne doivent pas être traités. La médiane de survie des patients asymptomatiques au diagnostic est de quinze ans, donc supérieure à celle des patients nécessitant un traitement (huit ans), mais la médiane de survie à partir du traitement est identique dans les deux groupes. Les critères pour initier un traitement sont la présence de signes généraux, une activité délétère de l'IgM (un syndrome d'hyperviscosité, cryoglobulinémie, neuropathie périphérique sévère ; maladie des agglutinines froides, amylose AL, etc.), une anémie <10g/l et/ou des plaquettes <100 10^9/l ou une masse tumorale importante. Il importe de savoir reconnaître une neuropathie liée à la MW car l'existence d'une neuropathie symptomatique constitue une indication de traitement de la MW, même si la MW est indolente.

IL S'AGIT D'UN AUTRE ISOTYPE associé à une neuropathie

On peut évoquer d'autres mécanismes :

Une amylose AL : l'amylose-AL est toujours en rapport avec une population monoclonale de cellules de la lignée B synthétisant une chaîne légère, soit maligne en raison d'une hémopathie associée (myélome, maladie de Waldenström) ou apparemment bénigne (gammapathie monoclonale de signification indéterminée). Elle est incluse dans l'entité plus vaste des amyloses puisque ses dépôts ont les caractéristiques générales des " β-fibrilloses " avec comme pour toutes les variétés d'amylose, la présence du composant P et de glycosaminoglycanes. L'amylose AL est une pathologie rare qu'il faut évoquer devant une grande variété de situation clinique et dont le diagnostic est difficile pour l'anatomopathologiste s'il n'est pas suspecté par le clinicien. Certains signes sont très évocateurs mais rarement présents. Un purpura est présent dans 15 % des cas et peut faire porter le diagnostic dès l'entrée du patient dans le cabinet de consultation s'il est typique, siégeant au niveau des paupières ou au niveau du cou. La macroglossie est le signe le plus spécifique mais il existe chez moins de 10 % des patients et peut être difficile à reconnaître. L'atteinte musculaire avec pseudo-hypertrophie musculaire et signe de l'épaulette est encore plus rare. La présentation est beaucoup plus souvent peu spécifique, fatigue et dyspnée d'effort liées à une atteinte cardiaque, amaigrissement et dégoût des aliments liés à une infiltration digestive, œdèmes des membres inférieurs liés à une atteinte glomérulaire rénale, paresthésies ou hypotension orthostatique liées à une neuropathie. L'association de l'une de ces situations avec un pic monoclonal même minime sur l'électrophorèse est très évocatrice du diagnostic. La recherche d'une immunoglobuline monoclonale dans le sang ou les urines doit faire partie du bilan étiologique d'un syndrome néphrotique, d'une cardiopathie ou d'une neuropathie inexpliquée. Si le diagnostic est suspecté il pourra être fait par un geste biopsique peu agressif du fait

de la dissémination habituelle des dépôts, et non pas forcément par la biopsie de l'organe symptomatique [10]. Une neuropathie périphérique survient dans 20 % des cas, responsable d'une polyneuropathie sensorielle douloureuse suivie plus tard de déficit moteur. Une neuropathie autonome cause d'hypotension orthostatique, d'une perte de la sudation, de troubles gastro-intestinaux, d'un dysfonctionnement vésical et d'impuissance peut être isolée ou associée à la neuropathie périphérique [11].

Le diagnostic d'amylose impose de rechercher la présence d'un composant monoclonal dans le sang et les urines, puis dans un second temps à le rattacher ou non à une hémopathie maligne qu'elle peut révéler ou compliquer. Une étude conjointe du sérum et des urines par des techniques immunochimiques (électrophorèse en agarose à haute résolution avec immunofixation ou immuno-empreinte sur nitrocellulose) permet la détection d'une protéine monoclonale dans environ 90 % des cas d'amylose primitive. Une protéinurie de Bence-Jones est retrouvée par des techniques classiques dans 70 % des cas. Elle est deux fois plus souvent de type λ que ϰ, au contraire du rapport λ/ϰ de 1/2 observé dans le myélome sans amylose. Les cas où l'Immunoglobuline monoclonale n'est pas décelable correspondent le plus souvent à leur dégradation où à leur dépôt dans les tissus. Le dosage des chaînes légères libres (free-light chain) retrouve un excès de chaînes légères libres dans la majorité des cas, permettant d'évoquer le diagnostic d'amylose AL, d'évaluer la réponse au traitement et la durée de la réponse [12].

L'examen histologique vise à la mise en évidence de dépôts microscopiques dans les tissus atteints et demande un anatomopathologiste averti de la suspicion diagnostique et entraîné quand il s'agit de tout petit fragment obtenu par ponction de graisse sous-cutané. Une fois le diagnostic d'amylose posé la nature de l'amylose doit être précisé. Le diagnostic précis du type d'amylose repose essentiellement sur l'immunohistochimie sur fragments congelés en utilisant différents anticorps, anti-chaînes légères pour l'amylose AL, anti-SAA pour l'amylose AA et anti-transthyrétine pour un grand nombre d'amylose héréditaire.

UN POEMS

Cette entité rare dont l'acronyme signifie **P**olyneuropathy **O**rganomegaly **E**ndocrinopathy **M**onoclonal component **S**kin changes est caractérisée par une prolifération plasmocytaire associée à une polyneuropathie souvent inaugurales avec une atteinte distale sensitivo-motrice d'aggravation progressive parfois sévère sévère avec atteinte de la marche [13]. Cette neuropathie est le plus souvent mixte : axonale et démyélinisante et est associée à une hyperprotéinorachie sans hypercytose avec un œdème papillaire [14]. Il s'agit d'une IgA (45 %) ou IgG (35 %) associée dans la majorité des cas à une chaîne légère de type lambda. Son taux est en général peu important, sans baisse des Ig polyclonales. L'association à d'autres manifestations endocriniennes, cutanées doit faire évoquer le diagnostic. L'hypothèse physiopatho-

logique évoque une sécrétion anormale de cytokines dont le VEGF qui est responsable d'une stimulation de l'angiogénèse en activant la cellule endothéliale et entraînant également une vasoperméation avec un syndrome de fuite capillaire responsable d'un œdème dépactant les fibres de myélines. Le dosage du VEGF peut aider au diagnostic et au suivi thérapeutique.

Le traitement des neuropathies associées à ces différentes entités repose le plus souvent sur le traitement de la prolifération B même si celle-ci est parfois peut importante. Il repose sur la chimiothérapie, les anticorps monoclonaux anti B et parfois des intensifications thérapeutiques avec greffe de cellules souches hématopoïétiques [15-17]. Plus rarement on doit y associer des plasmaphérèse ou des perfusions d'immunoglobulines polyvalentes.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Kyle R.A. — Monoclonal gammopathy of undetermined significance. Natural history in 241 cases. *Am. J. Med.,* 1978, *64,* 814-26.

[2] Waldenström J. — Incipient myelomatosis or essential hyperglobulinemia with fibrinogenopenia — a new syndrome? *Acta Med. Scand.,* 1944, *117,* 216-247.

[3] Leblond V., Tournilhac O., Morel P. — Waldenstrom's macroglobulinemia: prognostic factors and recent therapeutic advances. *Clin. Exp. Med.,* 2004, *3,* 187-98.

[4] Owen R.G., Treon S.P., AL-KATIB A. *et al.* — Clinicopathological definition of Waldenström's macroglobulinaemia: consensus panel recommendations from the Second International Workshop on Waldenström's macroglobulinaemia . *Semin. Oncol.,* 2003, *30,* 110-115.

[5] Stone M., Merlini G., Pascual V. — Autoantibody activity in Waldenstrom macroglobulinemia. *Clin. Lymphoma.,* 2005, *5*, 225-9.

[6] Baldini L., Nobile-Orazio E., Guffanti A. *et al.* — Peripheral neuropathy in IgM monoclonal gammopathy and Waldenstrom's macroglobulinemia: a frequent complication in elderly males with low MAG-reactive serum monoclonal component. *Am. J. Hematol.,* 1994, *45*, 25-31.

[7] Nobile-Orazio E. — IgM paraproteinaemic neuropathies. *Curr. Opin. Neurol.,* 2004, *17*, 599-605.

[8] Ortiz N., Risa R., Gallardo E. *et al.* — IgM monoclonal antibody against terminal moiety of GM2, GalNAc-GD1a and GalNAc-GM1b from a pure motor chronic demyelinating polyneuropathy patient: effects on neurotransmitter release. *J. Neuroimmunol.,* 2001, *119*, 114-23.

[9] Levine T., Pestronk A., Florence J. *et al.* — Peripheral neuropathies in Waldenstrom's macroglobulinaemia. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.,* 06*, 77*, 224-8.

[10] Falk RH., Comenzo RL., Skinner M. — The systemic amyloidoses. *N. Engl. J. Med.,* 1997, *33,* 898-909.

[11] Vital C., Vital A., Bouillot-Eimer S. *et al.* — Amyloid neuropathy: a retrospective study of 35 peripheral nerve biopsies. *J. Peripher. Nerv. Syst*., 2004, *9*, 232-41.

[12] Katzmann J.A., Clark R.J., Abraham R.S. *et al.* — Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin. Chem.,* 2002*, 48,* 1437-44.

[13] Dispenzieri A., Kyle R.A., Lacy M.Q. *et al.* — POEMS syndrome: definitions and long-term outcome. *Blood*, 2003, *101*, 2496-506.

[14] Kelly J.J. — Neurologic complications of primary systemic amyloidosis. *Rev. Neurol. Dis.,* 2006, *3*, 173-181.

[15] Lunn M.P.T., Nobile-Orazio E. — Immunotherapy for IgM anti-Myelin-Associated Glycoprotein paraprotein-associated peripheral neuropathies (Cochrane review) *Cochrane Database Syst. Rev.* 2003, *1*, CD002827.

[16] Estronk A., Florence J., Miller T. *et al.* — Treatment of IgM antibody associated polyneuropathies using rituximab. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry,* 2003, *74*, 485-9.

[17] Commenzo R.L. — Amyloidosis. *Curr. Treat Options Oncol.,* 2006, *7,* 225-236.

DISCUSSION

M. Jean-Michel VALLAT

Comment discutez-vous, dans votre centre inter hématologistes et neurologistes, la décision thérapeutique (en dehors des polyradiculonévrites inflammatoires démyélinisantes chroniques qui relèvent des immunoglobulines, plasmaphérèses...) ?

Lorsque l'hémopathie est directement impliquée dans la physiopathogénie de la neuropathie la décision du traitement est prise dans le cadre des réunions de concertation pluridisciplinaire avec le neurologue responsable du patient. Le type de traitement dépend bien sûr de l'hémopathie, de l'existence ou non de protocole prospectif en cours, et des comorbidités du patient. Le traitement repose en cas de gammapathie sur l'éradication du clone B responsable de la sécrétion de l'immunoglobuline donc le plus souvent sur la chimiothérapie et/ou les anticorps monoclonaux.

M. Bernard PESSAC

Quant à la greffe de cellules souches : s'agit-il d'un traitement ou seulement de la reconstitution du système hématopoïétique après chimiothérapie ?

L'intérêt d'un traitement par greffe autologue de cellules souches hématopoïétiques repose sur le conditionnement par chimiothérapie pratiqué avant la réinjection des cellules souches. Ce traitement utilisant des chimiothérapies à forte dose a pour but de diminuer le risque de rechute ou de retarder la rechute. La greffe elle-même n'est qu'un support pour restituer rapidement les fonctions hématopoïétiques du patient.

M. Raymond ARDAILLOU

A-t-on utilisé les anticorps anti-VEGF dans le traitement des gammapathies monoclonales et, si oui, avec quels résultats ?

L'utilisation d'un traitement par anti-VEGF se justifie si le VEGF joue un rôle pathogène dans les manifestations cliniques liées à l'immunoglobuline monoclonale, ce qui est le cas dans le POEMS. Un petit nombre de patients a donc reçu un traitement par anticorps monoclonaux anti-VEGF avec des résultats contradictoires. Cette pathologie étant rare, seuls des essais prospectifs pourront répondre à la question.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1099-1111, séance du 19 mai 2009

COMMUNICATION

Neuropathies périphériques associées à une gammapathie monoclonale : corrélations clinico-immunologiques et perspectives thérapeutiques

MOTS-CLÉS : NEUROPATHIES PERIPHERIQUES. MALADIES AUTO-IMMUNES DU SYSTÈME NERVEUX. PARAPROTÉINÉMIES. FACTEURS IMMUNOLOGIQUES

Polyneuropathy associated with monoclonal gammapathy : treatment perspectives

KEY-WORDS (Index medicus) : PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM DISEASES. AUTOIMMUNE DISEASES OF THE NERVOUS SYSTEM. PARAPROTEINEMIAS. IMMUNOLGIC FACTORS

Jean-Marc LEGER *, Bénédicte CHASSANDE *, Francesco BOMBELLI *, Karine VIALA *, Lucile MUSSET **, Jean NEIL **

RÉSUMÉ

La recherche d'une cause, en particulier accessible à un traitement, est la préoccupation majeure du neurologue confronté au diagnostic de neuropathie périphérique. Dans cette démarche, la mise en évidence d'anomalies immunologiques dans le sérum et plus rarement le liquide céphalo-rachidien, peut être d'une aide déterminante pour le diagnostic étiologique, mais peut aussi constituer une fausse piste, à l'origine de décisions thérapeutiques inadaptées. La recherche d'une gammapathie monoclonale doit donc être pratiquée et interprétée de préférence dans les centres spécialisés dans le diagnostic étiologique des neuropathies périphériques, en particulier dysimmunitaires, parallèlement à d'autres recherches telles qu'une cryoglobulinémie et d'auto-anticorps sériques. La mise en évidence d'une gammapathie monoclonale, en particulier s'il s'agit d'une gammapathie monoclonale de signification indéterminée, implique la confrontation de cette donnée immunologique avec les autres signes de la neuropathie périphérique, en particulier cliniques, électrophysiologiques et le cas échéant neuropathologiques obtenus par biopsie nerveuse. Cette confrontation est d'une aide décisive pour la prise en charge diagnostique et thérapeutique dans un nombre limité de corrélations considérées comme pertinentes.

* Centre de Référence Maladies Neuromusculaires Rares Paris Est. Bâtiment Babinski. Hôpital de la Salpêtrière, 47, bld de l'Hôpital, 75651 Paris cedex 13, e-mail : jean-marc.leger@psl.aphp.fr

** Laboratoire d'Immunochimie. CHU Pitié-Salpêtrière. Paris

Tirés à part : Professeur Jean-Marc LÉGER, même adresse

Article reçu le 3 décembre 2008, accepté le 12 janvier 2009

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1099-1111, séance du 19 mai 2009

SUMMARY

Since the first report of a high prevalence of monoclonal gammapathy (MG) in patients with peripheral neuropathy (PN), some 25 years ago, a large number of such associations have been described. Neuropathies associated with MG have heterogeneous clinical, neurophysiological, neuropathological, and hematological features. The most pertinent relationship seems to be that between distal acquired demyelinating sensory (DADS) neuropathy associated with IgM MG of unknown significance (MGUS) and the presence of serum autoantibodies reacting with myelin-associated glycoprotein (MAG). Other interesting correlations were recently reported in CANOMAD (chronic ataxic neuropathy with ophthalmoplegia, M-protein and anti-disialosyl antibodies). Patients with demyelinating neuropathy (DNP) associated with MG should be screened for malignant plasma cell dyscrasia. MG is more likely to be responsible for the neuropathy if it consists of IgM, if autoantibodies (mainly directed to MAG) are found in serum or on nerve biopsy, and if the clinical manifestations correspond to chronic distal sensory neuropathy. DNP associated with IgM MGUS sometimes responds to immunotherapy but the potential benefits must be considered in view of possible adverse effects. Rituximab, an anti-CD20 monoclonal antibody, has shown promise in this setting. DNP associated with IgG or IgA MGUS may be indistinguishable from chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP), in terms of clinical and electrophysiological features and the treatment response. In the POEMS syndrome (polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, M-protein, and skin changes), appropriate treatment can lead to a drastic improvement in the neuropathy. Patients with chronic axonal polyneuropathy associated with IgG MG should be screened for Al amyloidosis. However, most axonal polyneuropathies associated with IgG or IgM MGUS are indistinguishable from chronic idiopathic axonal polyneuropathies.

INTRODUCTION

La recherche d'une cause, en particulier accessible à un traitement, est une préoccupation majeure du neurologue confronté au diagnostic de neuropathie périphérique (NP). Dans cette démarche, la mise en évidence d'anomalies immunologiques dans le sérum et plus particulièrement d'une gammapathie monoclonale, peut être d'une aide déterminante pour le diagnostic étiologique, mais peut aussi constituer une fausse piste, à l'origine de décisions thérapeutiques inadaptées [1, 2]. L'objectif de cette revue est donc de rapporter les principales corrélations clinico-immunologiques reconnues comme pertinentes pour le diagnostic étiologique de NP, et de souligner l'intérêt de cette classification pour le traitement et le suivi des patients.

GAMMAPATHIES MONOCLONALES

Généralités

Une gammapathie monoclonale (GM) témoigne de la prolifération d'un clone de plasmocytes producteurs d'une immunoglobuline monoclonale et peut être révélatrice d'une hémopathie maligne (myélome, maladie de Waldenström, lymphome,

TABLEAU I. — Définition d'une gammapathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI) [13]

Une GMSI IgM est définie par :

a. Absence d'infiltration lymphoplasmocytaire sur la biopsie ostéo-médullaire
b. Absence de signes systémiques évoquant une infiltration maligne (signes cliniques, syndrome d'hyperviscosité, organomégalie)
c. Absence d'évolution vers un syndrome lymphoprolifératif dans les douze mois suivant la mise en évidence de la GMSI.

Une GMSI IgG ou IgA est définie par :

a. Taux du composant monoclonal < 30 g/L
b. Protéinurie de Bence-Jones < 1g/24h
c. Absence de lésions osseuses ostéolytiques
d. Absence d'anémie, d'hypercalcémie ou d'insuffisance rénale chronique
e. Infiltration cellulaire < 10 % sur la biopsie ostéo-médullaire
f. Absence d'évolution vers un myélome ou un syndrome lymphoplasmocytaire dans les douze mois suivant la mise en évidence de la GMSI

etc.) [3]. Cependant le caractère monoclonal n'est pas synonyme de malignité. Le terme souvent encore utilisé de gammapathie monoclonale « bénigne » doit être proscrit, car une partie des GM de signification indéterminée peut évoluer vers un syndrome immunoprolifératif malin B. La dénomination Gammapathie Monoclonale de Signification Indéterminée (GMSI), équivalent français de l'acronyme anglais MGUS (Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance) proposé par Kyle en 1978 [4], est maintenant communément admise. Les GMSI constituent la très grande majorité des cas de GM. Leur fréquence est estimée à 3,4 % chez les sujets de plus de 50 ans et augmente avec l'âge, jusqu'à 6,6 % chez les sujets de plus de 80 ans [5]. Leur définition répond aux critères du Tableau I, dont les principaux sont les suivants : — Taux du composant monoclonal < 30 g/L (quel que soit le type d'immunoglobuline) ; — Chiffres normaux pour la calcémie, la créatinémie et l'hémoglobine ; — Protéinurie de Bence-Jones < 1g/24 heures ; — Plasmocytose médullaire < 10 % ; — Absence de lésions osseuses (crâne, humérus, rachis, bassin, fémurs) ; 5 — Suivi évolutif supérieur à un an.

Une donnée majeure est le risque de transformation maligne des GMSI qui est estimé à 1 % par an et persiste avec le temps [6]. Les GMSI correspondent donc à un état pré-néoplasique, et doivent faire l'objet d'une surveillance régulière et prolongée [3]. Dans la principale cohorte suivie par le groupe de Kyle à la Mayo Clinic et portant sur 1 384 patients avec une GMSI diagnostiquée entre 1960 et 1994, suivis en moyenne pendant 15,4 ans (extrêmes : 0-35 ans), 115 cas de transformation maligne (8 %) ont été observés [6]. Le risque relatif a été estimé par ces auteurs à 25 pour un myélome, 46 pour une maladie de Waldenström, 8,4 pour une amylose et 2,4 pour un lymphome non Hodgkinien. Le principal obstacle à la pertinence des résultats de cette étude de cohorte, et d'autres études comparables [7] est l'impossibilité de connaître l'ancienneté de la GMSI au moment de sa mise en évidence. Des facteurs

prédictifs de l'évolution vers un syndrome immunoprolifératif malin ont donc été identifiés : isotypes IgA et IgM par rapport à IgG, taux du composant monoclonal, degré de la plasmocytose médullaire, taux relatifs des chaines légères kappa et lambda dans le sérum [3].

Gammapathie monoclonale et enquête étiologique dans une NP

Si l'on se réfère aux recommandations professionnelles récemment éditées pour la prise en charge diagnostique des neuropathies périphériques (polyneuropathies et mononeuropathies multiples) sous l'égide de la Haute Autorité de la Santé (HAS) [8], la réalisation d'une électrophorèse et d'une immuno-électrophorèse des protides sanguins avec immunofixation n'a pas été incluse dans le bilan biologique à réaliser en première intention dans une NP, ce qui souligne assez la rareté estimée par le Groupe de Recommandations Professionnelles de la mise en évidence d'une GM, et *a fortiori* d'auto-anticorps sériques spécifiques.

En revanche la réalisation d'une électrophorèse et d'une immuno-électrophorèse des protides sanguins avec immunofixation doit être la règle dans le bilan étiologique d'une NP de cause indéterminée en milieu spécialisé, *a fortiori* dans les Centres de Référence maladies neuro-musculaires rares. L'examen clé pour la mise en évidence d'une GM est l'électrophorèse des protides. En principe l'immuno-électrophorèse avec immunofixation ne devrait pas être prescrite en l'absence de pic dans les gammaglobulines, mais sa sensibilité est meilleure pour la détection des myélomes à chaînes légères, des myélomes non sécrétants et de l'amylose AL, qui sont des causes possibles de NP. Une des questions posées par la mise en évidence d'une GM au cours de l'enquête étiologique d'une NP est le degré d'investigation nécessaire de la GM (voir plus loin).

On ne saurait néammoins assez souligner la nécessité de faire pratiquer ces examens immunologiques dans des laboratoires ayant une expertise suffisante, en particulier pour la mise en évidence de pics monoclonaux de faible taux sérique, et également pour la détection d'une protéine cryo-précipitante (cryoglobulinémie).

GAMMAPATHIE MONOCLONALE ET NEUROPATHIE PÉRIPHÉRIQUE

Données générales

En 1963, Garcin et Rondot ont rapporté l'association d'une NP à une maladie de Waldenström [9]. Toutefois, la prévalence élevée des GM au cours des NP a été relevée en 1981 par le groupe de la Mayo Clinic [10]. De très nombreuses associations ont été rapportées par la suite, dont la fréquence et l'hétérogénéité rendent la prise en charge complexe [1]. Les associations reconnues intéressent d'abord les GMSI, IgM et IgG, plus rarement IgA. Les NP concernées appartiennent surtout au groupe des polyneuropathies dysimmunitaires, démyélinisantes dans la majorité des cas, qui sont une variété rare d'atteinte acquise du système nerveux périphérique [11]. Les formes aiguës, comme le syndrome de Guillain-Barré, ne s'accompagnent

pas en règle de la présence d'une GMSI, même si certaines formes rares dites « axonales » de Syndrome de Guillain-Barré et le syndrome de Miller-Fisher, s'accompagnent de la présence d'auto-anticorps sériques dirigés contre des gangliosides.

Trois entités, au sein des polyneuropathies dysimmunitaires chroniques associées à une GM, ont fait l'objet de nombreux travaux au cours des vingt dernières années : la polyneuropathie démyélinisante associée à une GM IgM avec activité dirigée contre la MAG (myelin-associated-glycoprotein), les polyneuropathies inflammatoires démyélinisantes chroniques (PIDC) associées à une GMSI IgG ou IgA, et le syndrome CANOMAD (pour : chronic ataxic neuropathy, ophthalmoplegia, M-protein, anti-disialosyl antibodies) ou neuropathie ataxiante avec ophtalmoplégie. Leur caractérisation est surtout liée à la mise en évidence d'auto-anticorps sériques pour lesquels il existe une réactivité avec des auto-antigènes présents dans la myéline du nerf périphérique. Des recommandations pour la prise en charge de ces polyneuropathies dysimmunitaires, élaborées par des groupes d'experts sous l'égide de l'European Federation of Neurological Societies (EFNS) et de la Peripheral Nerve Society (PNS) ont été publiées très récemment [12, 13].

Une GM peut enfin être associée à une polyneuropathie axonale chronique, mais les corrélations reconnues sont rares.

Tableau II. — Relation causale possible entre la GM et la neuropathie démyélinisante [13]

Hautement probable s'il s'agit d'une GM IgM qui s'accompagne de :

a. Titres élevés d'autoanticorps anti-MAG ou anti-GQ1b ou
b. D'une biopsie nerveuse montrant des dépôts de la GM IgM en immunofluorescence ou des aspects de « widening » en microscopie électronique.

Probable si :

a. Il s'agit d'une GM IgM (GMSI ou Maladie de Waldenstrôm) avec des titres élevés d'autoanticorps non anti-MAG mais dirigés contre d'autres antigènes : GM1, GD1a, GD1b, GM2, sulfatides etc.), et si la neuropathie a un phénotype DADS d'évolution lentement progressive.
b. Il s'agit d'une GM IgG ou IgA avec une biopsie nerveuse montrant des dépôts de la GM en immunofluorescence ou des signes évocateurs en microscopie électronique (comme en 2b mais avec des dépôts d'IgG ou d'IgA).

Improbable si l'une des situations suivantes est présente chez un patient présentant une GMSI sans autoanticorps anti-MAG :

a. Durée d'installation du pic de la neuropathie < 6 mois
b. Évolution à rechutes
c. Atteinte des nerfs craniens (sauf pour la neuropathie ataxiante avec ophtalmoplégie)
d. Asymétrie
e. Antécédents d'infection précédant l'installation de la neuropathie
f. Altération des potentiels sensitifs des nerfs médians à l'ENMG, contrastant avec des potentiels sensitifs normaux sur les nerfs suraux.
g. GM IgG ou IgA sans les caractéristiques du 2b.

Corrélations reconnues fréquentes

La polyneuropathie démyélinisante associée à une GM IgM avec activité anti-MAG

Elle a été individualisée pour la première fois en 1983 [14]. Il s'agit d'une polyneuropathie sensitive pure ou à prédominance sensitive, ataxiante, d'évolution très chronique, touchant surtout des hommes de 50 à 70 ans. Nous avons rapporté une série de 40 cas [15], dans laquelle les principaux signes étaient les suivants : le déficit moteur était absent ou tardif, et prédominait à l'extrémité distale des membres inférieurs ; les ROT étaient diminués puis abolis aux membres inférieurs, puis aux quatre membres ; l'ataxie était, avec les paresthésies, la cause majeure de la gêne fonctionnelle chez ces patients et il existait, dans 30 % des cas, un tremblement d'attitude des membres supérieurs ; l'examen de la sensibilité montrait une altération précoce de la pallesthésie et du sens de position des articulations. Sur le plan électrophysiologique, ces patients répondent aux critères de PIDC [12], mais avec des particularités [16] : diminution homogène et symétrique des vitesses de conduction motrices aux membres inférieurs, puis aux quatre membres ; allongement disproportionné des latences distales motrices ; absence de blocs de conduction. Ces caractéristiques ont fait proposer par les auteurs Nord-Américains l'acronyme de DADS neuropathy pour « distal acquired demyelinating symmetric » neuropathy [17]. Cette polyneuropathie est associée dans plus de 50 % des cas à la présence d'auto-anticorps sériques dirigés contre la MAG. Cette réactivité croise avec d'autres auto-antigènes glycolipidiques, dont le SGPG (sulphated glucuronic paragloboside) et le SGLPG (sulphated glucuronic lactosaminyl paragloboside). Cette réactivité croisée est variable, dans la mesure où certains patients avec une DADS neuropathy associée à une GMSI IgM ont des auto-anticorps dirigés contre SGPG et SGLPG, et pas contre la MAG [15, 18]. Dans notre série personnelle [15], La présence d'auto-anticorps anti-SGPG/SGLPG était plus fréquente mais moins spécifique du phénotype clinique et électrophysiologique de DADS neuropathy que la présence d'auto-anticorps anti-MAG. La biopsie nerveuse, qui n'est plus recommandée depuis la généralisation du dosage des anticorps anti-MAG, montre des aspects caractéristiques d'élargissement des lamelles myéliniques les plus périphériques en microscopie électronique [19].

La GM est dans la majorité des cas une GMSI, mais peut être associée à une maladie de Waldenström ou à un lymphome, surtout si la chaîne légère est lambda au lieu de kappa. Dans ce cas et au moindre doute (augmentation de la VS, taux sérique de la paraprotéine > 5g/L), il semble raisonnable de compléter le bilan hématologique par une recherche de protéinurie de Bence-Jones dans les urines, une biopsie ostéomédullaire et un scanner X thoraco-abdomino-pelvien à la recherche d'adénopathies profondes et/ou d'une hépato-splénomégalie.

À côté de ce phénotype typique, une minorité de patients atteints de polyneuropathie démyélinisante associée avec une GM IgM ont un tableau clinique et électrophysiologique similaire à celui des PIDC associées à une GMSI IgG ou IgA (voir *infra*), et quelques rares cas ont été rapportés en association avec une amylose. *A*

contrario, le phénotype de DADS neuropathy n'est pas exclusivement associé à une GM IgM, certains patients avec une DADS neuropathy pouvant être classés comme des PIDC idiopathiques, ainsi que cela a été montré dans une étude publiée par notre groupe [20].

Les PIDC associées à une GMSI IgG ou IgA

Les patients présentant cette association ont un déficit moteur proximal et distal, un déficit sensitif, et des signes électrophysiologiques, en tous points comparables à ceux des PIDC idiopathiques [13, 21, 22] et répondent en outre aux mêmes traitements. Une seule étude a montré une meilleure efficacité des échanges plasmatiques (EP) chez ces patients que chez ceux présentant l'association d'une PIDC et d'une GMSI IgM [23]. Aucune activité antiganglioside spécifique n'a pour le moment été mise en évidence dans ces formes. Exceptionnellement, il a été rapporté des cas d'infiltration de la myéline par des dépôts de l'immunoglobuline [24].

Autres corrélations reconnues mais rares

Les corrélations entre NP et GM peuvent répondre à des mécanismes très hétérogènes, nécessitant le cas échéant l'aide de l'étude ultrastructurale obtenue par biopsie nerveuse [24].

Le syndrome neuropathie ataxiante avec ophtalmoplégie

Bien que très rare, ce syndrome est un modèle intéressant de corrélation entre une polyneuropathie surtout sensitive, ataxiante, à rechutes, avec fréquente ophtalmoplégie, atteinte des nerfs bulbaires et la présence d'une GMSI IgM associée à celle d'anticorps anti-gangliosides di-sialosylés. Ces auto-anticorps di-sialosylés portent l'épitope NeuNAc (α2-8) NeuNAc, et sont principalement (mais non exclusivement) GD3, GD1b, GT1a, GT1b et GQ1b. Les patients peuvent également présenter un syndrome lié aux agglutinines froides, du fait de la présence d'épitopes glycoprotéiques sialylés sur les cellules rouges sanguines, qui ont une réactivité croisée avec l'IgM monoclonale.

La plus grande série à ce jour, colligeant une vingtaine de patients, a été publiée en 2001 [25]. Les signes électrophysiologiques y sont hétérogènes, orientant vers une atteinte soit démyélinisante, soit axonale. La réponse aux traitements immunomodulateurs ne peut être évaluée, s'agissant d'une série rétrospective. La description de nouveaux cas dans la littérature depuis 2001 permet d'envisager un tableau clinique plus hétérogène que celui rapporté.

Amylose AL

Elle doit être évoquée systématiquement devant une polyneuropathie axonale chronique associée à une GMSI. S'agissant d'une IgG ou plus rarement d'une IgA ou d'une IgM, la première préoccupation sera de rechercher des arguments cliniques (sévérité de l'atteinte sensitivo-motrice, douleurs, signes dysautonomiques, amai-

grissement récent) et électrophysiologiques (perte axonale sévère, signes de dénervation active), ce qui doit conduire à une biopsie, toujours des glandes salivaires accessoires, parfois d'autre organes touchés (rectum, rein, graisse abdominale) et souvent neuro-musculaire [26]. La mise en évidence de dépôts amyloïdes à la biopsie doit faire rechercher systématiquement une amylose héréditaire, dont la cause principale est une mutation du gêne de la Transthyrétine, de transmission dominante. La GMSI peut en effet être une condition associée fortuitement à une amylose héréditaire.

Le syndrome POEMS

Le syndrome POEMS (polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, M-protein, skin changes) associe une polyneuropathie sensitivo-motrice sévère, avec des signes de démyélinisation et une atteinte axonale sévère [27], des signes systémiques, une GM IgG ou IgA à chaines légères lambda, et peut s'associer à un myélome ostéosclérosant, un plasmocytome solitaire ou une maladie de Castleman.

La maladie de Waldenström

Elle peut s'accompagner d'une polyneuropathie démyélinisante avec présence d'auto-anticorps sériques dirigés contre la MAG, et d'autres types de NP : mononeuropathie multiple avec dépôts d'une substance amorphe dans l'endonèvre, exceptionnellement dépôts endoneuraux de cryoglobuline, infiltration des nerfs craniens ou axonopathie non spécifique [28].

Le myélome multiple

Le myélome multiple ostéolytique, habituellement associé à une GM IgG ou IgA à chaines légères kappa ou lambda, peut s'accompagner de NP de mécanisme non univoque, incluant une amylose AL [26] et une infiltration des racines médullaires [1].

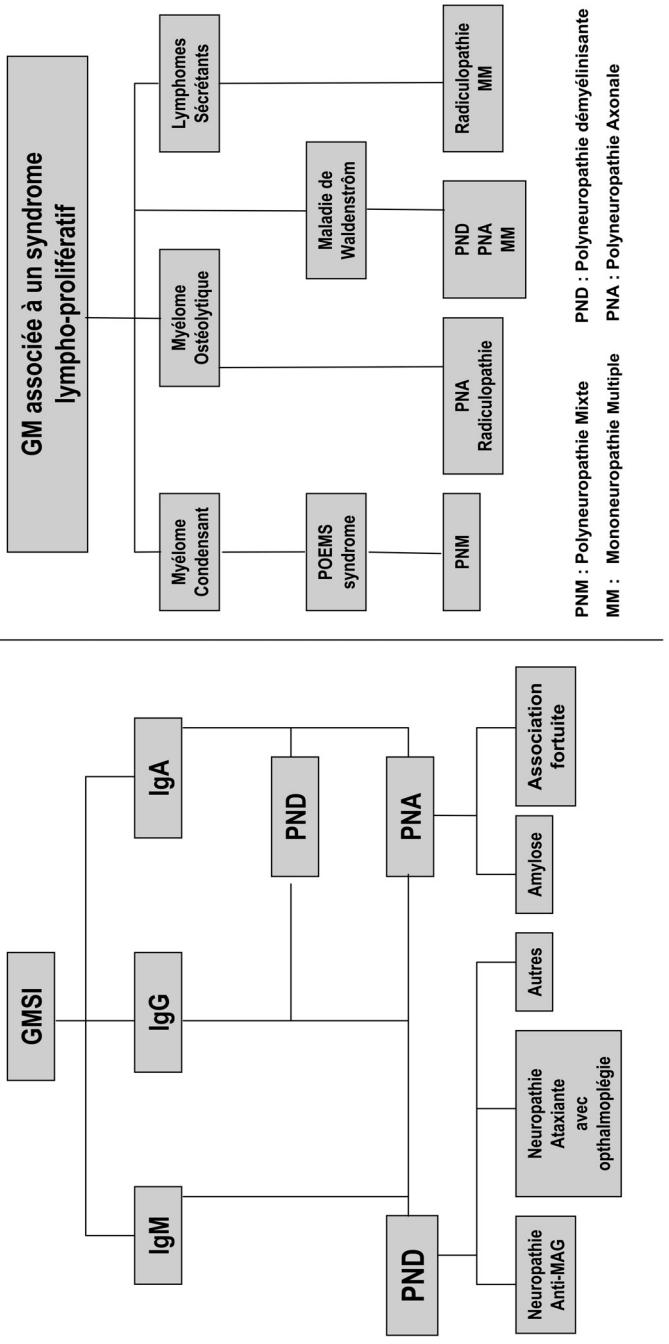
Les lymphomes sécrétants une GM

Une prolifération lymphomateuse intra-nerveuse peut y être responsable d'une NP, surtout radiculaire ou tronculaire unique ou multiple [24, 28].

Le cas particulier des axonopathies choniques associées à une GMSI IgG

Très peu d'études ont été rapportées sur cette association. Les deux seules études rétrospectives déjà mentionnées [21, 22] n'ont pas trouvé de caractéristiques cliniques et électrophysiologiques spécifiques. Il n'y a pas non plus d'activité anti-ganglioside reconnue, et pas d'argument aujourd'hui pour considérer ces neuropathies comme dysimmunitaires et proposer un traitement immunomodulateur [13].

TABLEAU III. — Proposition d'arbre décisionnel. Neuropathie périphérique et gammapathie monoclonale



CONCLUSION

La recherche d'un mécanisme causal entre une polyneuropathie démyélinisante chronique et une GM est souvent difficile. On peut, dans cette démarche, s'aider du Tableau II, proposé par le Guideline EFNS/PNS [13]. Un arbre décisionnel est proposé dans le Tableau III.

TRAITEMENTS

Nous avons souligné que le traitement des polyneuropathies démyélinisantes associées à une GMSI IgG ou IgA ne différait pas de celui des PIDC, pour lesquelles il existe des recommandations publiées dans la littérature [12].

Dans la polyneuropathie associée à une GMSI IgM avec anticorps anti-MAG, les conclusions d'une Revue Cochrane récemment éditée ne retiennent pas de traitement de référence [29]. Aujourd'hui les seuls essais ayant montré une efficacité sur le mécanisme considéré comme causal, sont les essais de Phase II avec le rituximab, un anticorps monoclonal anti-CD 20. Le rituximab a montré, dans deux études pilotes [30, 31], une efficacité immunologique certaine sur la réduction du taux de B-lymphocytes et la diminution significative du taux de la GM et des titres sériques d'auto-anticorps anti-MAG. Les résultats sur la polyneuropathie ont été considérés comme suffisamment encourageants dans ces essais pour mettre en place deux études de Phase III, dont les résultats ne sont pas encore disponibles. La deuxième étude a fait l'objet d'un PHRC obtenu par notre groupe : il s'agit d'une étude multicentrique regroupant sept centres en France et un centre en Suisse. L'inclusion du dernier et cinquante-troisième patient a eu lieu en novembre 2008, et les résultats seront disponibles à partir de décembre 2009.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Léger J.M., Hayes M.T. — Neuropathies associated with monoclonal gammopathy. In : CROS D. Peripheral Neuropathy. A Practical approach to diagnosis and management. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 2001 : 109-20.

[2] Ropper A.H., Gorson K.C. — Neuropathies associated with paraproteinemia. *New Engl. J. Med.*, 1998, *238*, 1601-7.

[3] Decaux O., Avet-Loiseau H., Grosbois B. — Transformation maligne des gammapathies monoclonales de signification indéterminée. *Presse Med.,* 2007, *36*, 1985-96.

[4] Kyle R.A. — Monoclonal gammopathy of undetermined significance. Natural history in 241 cases. *Am. J. Med.*, 1978, *64*, 814-26.

[5] Kyle R.A., Themeau T.M., Rajkumar S.V. *et al.* — Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N. Engl. J. Med.,* 2006, *354*, 1362-9.

[6] Kyle R.A., Themeau T.M., Rakjumar S.V. *et al.* — A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N. Engl. J. Med.* 2002, 346, 564-9.

[7] Decaux O., Cuggia M., Ruelland A. *et al.* — Suivi évolutif des gammapathies monoclonales de signification indéterminée. Etude rétrospective de 190 patients. *Presse Med.,* 2006, *35*, 1143-50.

[8] Recommandations Professionnelles. HAS. Mai 2007. Prise en charge diagnostique des neuropathies périphériques (polyneuropathies et mononeuropathies multiples). www.has-sante.fr

[9] Garcin R., Rondot P. — Les aspects névritiques initiaux de la macroglobulinémie de Waldenström. *Psychiatr. Neurol. Neurochir.*, 1963, *66*, 318-25.

[10] Kelly J.J., Kyle R.A., O'Brien P.C. *et al.* — Prevalence of monoclonal protein in peripheral neuropathy. *Neurology,* 1981, *31*, 1480-3.

[11] Saperstein D.S., Katz J.S., Amato A.A., Barohn R.J. — Clinical spectrum of chronic acquired demyelinating polyneuropathies. *Muscle Nerve*, 2001, *24*, 311-24.

[12] European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: report of a joint task force of the EFNS and the PNS. *Eur. J. Neurol.,* 2006, *13*, 326-32.

[13] European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on management of paraproteinemic demyelinating neuropathies: report of a joint task force of the EFNS and the PNS. *J. Peripher. Nerv. Syst*., 2006, *11*, 9-19.

[14] Smith I.S., Kahn S.N., Lacey B.W. et *al.* — Chronic demyelinating neuropathy associated with benign IgM paraproteinemia. *Brain*, 1983, *106*, 169-95.

[15] Chassande B., Léger J.M., Ben Younes-Chennoufi A. *et al.* — Peripheral neuropathy associated with IgM monoclonal gammopathy : correlations between M-protein antibody activity and clinical/electrophysiological features in 40 cases. *Muscle Nerve,* 1998, *21,* 55-62.

[16] Kaku D.A., England J.D., Sumner A.J. — Distal accentuation of conduction slowing in polyneuropathy associated with antibodies to myelin-associated glycoprotein and sulphated glucuronyl paragloboside. *Brain,* 1994, *117*, 941-7.

[17] Katz J.S., Saperstein D.S., Gronseth G. *et al.* — Distal acquired demyelinating symmetric neuropathy. *Neurology,* 2000, *54*, 615-20.

[18] Van den Berg L., Hays A.P., Nobile-Orazio E. *et al.* — Anti-MAG and anti-SGPG antibodies in neuropathy. *Muscle Nerve,* 1996, *19*, 637-43.

[19] Vital C., Vallat J.M., Deminière C. *et al.* — Peripheral nerve damage during multiple myeloma and Waldentröm's macroglobulinemia.An ultrastructural and immunopathological study. Cancer, 1982, *50,* 1291-7.

[20] Maisonobe T., Chassande B., Vérin M. *et al.* — Chronic dysimmune demyelinating polyneuropathy : a clinical and electrophysiological study of 93 patients. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry,* 1996, *61*, 36-42.

[21] Di Troia A., Carpo M., Meucci N. *et al.* — Clinical features and anti-neural activity in neuropathy associated with IgG monoclonal gammopathy of undetermined significance. *J. Neurol. Sci.,* 1999 ; *164* : 64-71.

[22] Magy L., Chassande B., Maisonobe T. *et al.* — Polyneuropathy associated with IgG/IgA monoclonal gammopathy : a clinical and electrophysiological study of 15 cases. *Eur. J. Neurol.,* 2003, *10*, 677-85.

[23] Dyck P.J., Low P.A., Windebank A.J. *et al.* — Plasma exchange in polyneuropathy associated with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N. Engl. J. Med.,* 1991, *325*, 1482-6.

[24] Vallat J.M., Jauberteau M.O., Bordessoule D. *et al.* — Link between peripheral neuropathy and monoclonal dysglobulinemia. *J. Neurol. Sci.*, 1996, *137*, 124-30.

[25] Willison H.J., O'Leary C.P., Veitch J. *et al.* — The clinical and laboratory features of chronic sensory ataxic neuropathy with anti-disialosyl IgM antibodies. *Brain,* 2001,*124*, 1968-77.

[26] Vital C., Vital A., Bouillot-Eimer S. *et al.* — Amyloid neuropathy : a retrospective study of 35 peripheral nerve biopsies. *J. Peripher. Nerv. Syst*., 2004, *9*, 232-41.

[27] Dispenzieri A., Kyle R.A., Lacy M.Q. *et al.* — POEMS syndrome: definitions and long-term outcome. *Blood,* 2003, *101*, 2496-506.

[28] Viala K., Behin A., Maisonobe T. *et al.* — Neuropathy in lymphoma : a relationship between the pattern of neuropathy, type of lymphoma and prognosis ? *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 2008, *79*, 778-82.

[29] Lunn M.P.T., Nobile-Orazio E. — Immunotherapy for IgM anti-Myelin-Associated Glycoprotein paraprotein-associated peripheral neuropathies (Cochrane review) *Cochrane Database Syst . Rev.* 2003, 1: CD002827.

[30] Pestronk A., Florence J., Miller T. *et al.* — Treatment of IgM antibody associated polyneuropathies using rituximab. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry,* 2003, *74*, 485-9.

[31] Renaud S., Gregor M., Fuhr P. *et al.* — Rituximab in the treatment of anti-MAG associated polyneuropathy. *Muscle Nerve*, 2003, *27*, 611-5.

DISCUSSION

M. Jean-Michel VALLAT

Comment discutez-vous, dans votre centre entre hématologistes et neurologistes, la décision thérapeutique (en dehors des polyradiculonévrites inflammatoires démyélinisantes chroniques qui relèvent des immunoglobulines, plasmaphérèses...) ?

Si la neuropathie périphérique est associée à un syndrome lympho-prolifératif caractérisé, la décision thérapeutique revient d'abord aux hématologues. Le neurologue peut, le cas échéant, proposer un traitement d'appoint, comme par exemple un traitement des douleurs neuropathiques. Si la neuropathie périphérique est associée à une gammapathie monoclonale de signification indéterminée (GMSI), la décision thérapeutique revient habituellement aux neurologues qui sont souvent, mais non systématiquement, amenés à prescrire des traitements immunomodulateurs dont le détail a été donné dans cette revue. Dans les cas où l'association entre la neuropathie périphérique et la maladie hématologique n'est pas clairement définie, une coordination est indispensable entre les spécialistes respectifs pour la meilleure décision thérapeutique.

M. Jean-Jacques HAUW

Quelles sont les indications actuelles de l'examen d'une biopsie nerveuse pour le diagnostic et les indications thérapeutiques du cas de suspicion de polyneuropathie associée à une gammapathie monoclonale ?

Le recours à la biopsie nerveuse n'est plus recommandé dans la polyneuropathie démyélinisante chronique associée à une GMSI IgM avec activité contre la MAG, ni dans les

polyneuropathies inflammatoires démyélinisantes chroniques associées à une GMSI IgG, IgM ou plus rarement IgA. La biopsie nerveuse est en revanche légitime dans les polyneuropathies axonales associées à une GMSI IgG (ou plus rarement IgM), dès lors qu'il existe une suspicion raisonnable d'amylose. Dans tous les autres cas, la biopsie nerveuse doit être discutée au cas par cas, notamment pour ne pas méconnaître une infiltration des nerfs périphériques liée à un syndrome lympho-prolifératif caractérisé.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1113-1125, séance du 26 mai 2009

COMMUNICATION

Information sur une nouvelle technique : la vitrification des ovocytes

MOTS-CLÉS : OVOCYTES. CONGÉLATION. FÉCONDITÉ. TECHNIQUES D'ASSISTANCE MÉDICALE À LA PROCRÉATION

Assessment of oocyte vitrification in an IVF/ICSI program

KEY-WORDS (Index medicus) : OOCYTES. FREEZING. FERTILITY. REPRODUCTIVE TECHNIQUES, ASSISTED

Pierre BOYER *, Marie GERVOISE-BOYER*, Pierre TOURAME *,
Catherine POIROT **, Pierre LE COZ ***,

RÉSUMÉ

Jusqu'à ce jour, la congélation par la technique lente des ovocytes a rencontré des difficultés telles qu'elle n'a pratiquement pas fait l'objet d'application en clinique. Les recherches sur une technique de congélation ultrarapide ou vitrification ont avancé rapidement ces dernières années et sont mises en application en Assistance Médicale à la Procréation dans plusieurs pays étrangers. Les premiers résultats montrent une amélioration de la prise en charge. Le transfert d'embryons frais et le transfert d'embryons issus d'ovocytes vitrifiés réchauffés donnent des résultats équivalents et/ou supérieurs à ceux obtenus après transfert des embryons congelés par méthode lente. Nous proposons de promouvoir l'application de la vitrification des ovocytes en France dans le cadre d'une recherche biomédicale. Les conséquences d'une telle mise au point pourront apporter plus de chances aux femmes prises en charge en stérilité en diminuant le nombre de traitements de stimulations ovariennes. Cette technique pourrait représenter une possibilité d'alternative à la congélation d'embryons dont la pratique donne des résultats, mais engendre des difficultés liées au devenir de ces embryons. L'autoconservation du gamète féminin est également un réel espoir de préservation de la fertilité des femmes.

* Service de Médecine et Biologie de la Reproduction Hôpital Saint joseph, 26 boulevard de Louvain 13008 Marseille

** UPMC Université Paris 06, F-75005 — APHP — UF de Biologie de la Reproduction, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière — 75013, Paris, France

*** Faculté de médecine de Marseille EA 3783 264 rue Saint Pierre 13385 Marseille

Tirés à part : Docteur Pierre BOYER, même adresse et e-mail : pb.boyer@gmail.com
Article reçu le 25 novembre 2008, accepté le 16 mars 2009

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1113-1125, séance du 26 mai 2009

SUMMARY

Slow freezing of human oocytes is not yet a practical option. A new rapid freezing technique known as vitrification has recently been validated for use in assisted reproductive technologies. We propose to conduct a national trial aimed at validating this method in France. In theory, this new approach can reduce the number of ovarian stimulations required for a given number of implantations. In addition, it has the potential to provide an alternative to embryo freezing, a procedure that raises the thorny issue of the fate of supernumerary embryos.

La congélation de l'ovocyte humain a été l'objet de nombreux essais pendant plusieurs années, entre 1986 et 1995, avec peu de développements cliniques du fait des échecs répétés liés à la procédure technique de congélation lente et à l'absence de l'injection intra-cytoplasmique d'un seul spermatozoïde (Intra Cytoplasmic Sperm Injection : ICSI). Depuis l'ICSI, la congélation lente des ovocytes a connu un regain d'intérêt avec des résultats qui sont restés malheureusement décevants. La Congélation ultrarapide, ou vitrification, développée depuis 1995 en recherche fondamentale est entrée dans la pratique en Assistance Médicale à la Procréation (AMP) depuis 2005. Les résultats sont tellement encourageants qu'elle est utilisée dans de nombreux pays notamment en Europe.

En France, le soin de statuer sur les nouvelles techniques d'AMP est confié à l'Agence de la Biomédecine (ABM) qui souhaite voir appliquer une procédure de Recherche Biomédicale (RBM) pour son développement [1]. Dans ce cadre législatif le Service de Médecine et Biologie de la Reproduction de l'Hôpital Saint Joseph de Marseille a déposé un projet d'étude auprès de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) après soumission à la commission de réflexion éthique de l'Hôpital Saint-Joseph et avis favorable du Comité de Protection des Personnes (CPP) MARSEILLE II.

Principes de la congélation cellulaire

La congélation consiste à amener des cellules ou tissus, ici les ovocytes, de la température du corps (37° C), à celle de l'azote liquide (-196° C) dans lequel ils peuvent être conservés en immersion sur de très longues périodes. Dans un deuxième temps, ces cellules sont réchauffées à la température initiale avant d'être réintroduites dans l'organisme. La durée de la conservation ne modifie pas la viabilité des cellules tant que les niveaux d'azote sont maintenus. Leur viabilité est attestée par la conservation de leur potentiel spécifique. Par contre, les variations de température et les phénomènes de cristallisation de l'eau qu'elles entraînent, conditionnent la survie cellulaire. La formation de ces cristaux provoque, par augmentation de volume, des déchirures membranaires qui entraînent une lyse cellulaire. La survie des cellules est de 50 % en moyenne. Pour y remédier, on utilise des solutions hypertoniques qui sortent l'eau intracellulaire et des cryo-protecteurs qui abaissent le point de congélation en réduisant la taille des cristaux de glace et protègent les

Tableau I. — Principes de la congélation cellulaire

Différence entre les deux méthodes de congélation	**Descente thermique lente**	**Descente thermique ultra-rapide : Vitrification**
Étapes	Le choc thermique induit la cristallisation fine de l'eau, la déshydratation des cellules se fait au fur et à mesure de la descente en température	Après une étape préalable de déshydratation dans une solution de cryoprotecteurs, la solidification se fait grâce une vitesse de refroidissement ultrarapide (2 000 à 20 000°/minute) vers un état vitreux sans réarrangement cristallin, ni expansion de volume.
Cryoprotecteurs	Abaisse le point de congélation Contrôle la taille des germes cristallins de l'eau Concentration croissante dans le temps et exposition prolongée	Fortes concentrations (2 ou 3 fois supérieures à la concentration initiale lors de la méthode lente pour le glycerol par exemple [32] permettant l'obtention d'un milieu visqueux qui se solidifie en un état amorphe. Durée d'exposition très courte inférieure à une minute.
Mise en œuvre technique	Automatisable (investissement coûteux) Toutes les étapes sont longues	Aucun équipement lourd Technique manuelle Microvolumes
Applications	Spermatozoïdes, Embryons	Particulièrement approprié pour les cellules ayant un rapport volume/surface élevé : convient à Ovocytes, Embryons quelque soit le stade

membranes. Les effets responsables de la forte mortalité sont surtout des chocs osmotiques, soit la formation intracellulaire de cristaux qui entraîne une augmentation de volume avec lyse membranaire.

L'histoire de l'AMP se trouve ainsi accompagnée par la cryobiologie : congélation de spermatozoïde en 1946 par C. Poldge, développement de la Fécondation *in vitro* entre 1978 et 1982, par R. Edwards et P. Steptoe en Angleterre et par J. Testart et R. Frydman en France, première naissance après congélation d'embryon en 1984 par A. Trounson, première naissance après congélation d'ovocytes en 1986 par C. Chen, l'ICSI en 1992 par G. Palermo, vitrification de l'ovocyte en 1999 par L. Kuleshova puis congélation de cortex ovarien en 2004 par R. Gosden.

Il existe deux types de descente en température l'une lente, l'autre rapide ou vitrification, les grands principes sont présentés dans le tableau I. En dehors de la publication de Chen en 1986 [2] et du regain d'utilisation par les équipes italiennes [3, 4] pour des raisons réglementaires, les résultats avec la congélation lente des ovocytes restent peu nombreux.

La technique de vitrification, bien qu'éprouvée en biologie animale [5-8], a été utilisée chez l'homme avec retard pour différentes raisons : les laboratoires sont équipés depuis longtemps en matériel de congélation très onéreux qu'il a fallu rentabiliser ; pour obtenir des vitesses de descente en température très rapides, les ovocytes sont mis en contact avec l'azote liquide exposant à un risque théorique de

contamination microbienne [9,10]. Son intérêt s'est accru ces cinq dernières années devant des résultats particulièrement convaincants. Cette technique est particulièrement appropriée pour des cellules ayant un rapport volume sur surface élevé comme c'est le cas pour les ovocytes. Enfin, la mise en place est bon marché du fait de l'absence d'équipement lourd : les étapes sont toutes manuelles, effectuées dans des micros volumes avec un environnement à –196° C, ce qui rend négligeable le risque de contamination microbiologique. Elles sont délicates mais maîtrisables par des biologistes entraînés aux micromanipulations.

Les travaux expérimentaux

Dès 1972, David Wittingham [5] publie dans Science les premières congélations lentes d'ovocytes chez la souris : les résultats sont excellents, tant en survie qu'en développement des embryons jusqu'au stade blastocyste, évalué *in vitro* ; le transfert des embryons dans des souris pseudo gestantes donne des portées de souriceaux normaux. En 1985, Rall utilise le premier la vitrification sur les embryons et confirme l'excellente survie grâce à l'absence de cristallisation [6]. Chez les bovins, Kuwayama initie la vitrification d'ovocytes et obtient une descendance [7], il a dans le même temps exploré la diploïdie sur les blastocystes obtenus pour éliminer une activation ovocytaire qui aurait été induite par la méthode. Martinat-Botté complète les travaux sur la vitrification de l'embryon de porc, elle fait état de trois cents porcelets nés vivants sans malformations [8].

Les données cliniques

La méta-analyse d'Oktay à partir des études publiés entre 1997 et 2005 a confirmé les mauvais résultats de la congélation lente, au cours de près de dix années, seulement soixante-seize accouchements donnant quatre vingt dix-sept enfants, comparés à ceux obtenus avec les ovocytes frais. Le même article a conclu sur les premières données de la vitrification d'ovocyte en soulignant qu'en quelques mois déjà cinquante et une grossesses étaient répertoriées [11]. La première naissance rapportée par Kuleshova chez l'homme a été publiée en 1999 [12]. Kuwayama a publié en 2005 [7, 9] des travaux à partir desquels les applications cliniques se sont développées. L'utilisation en AMP a gagné de nombreux pays et fait l'objet d'études de plus en plus nombreuses. La publication de Cobo et Kuwayama de 2008 [13] est particulièrement démonstrative. Sur un programme de don d'ovocytes, ils ont séparé en deux groupes les ovocytes recueillis après induction de l'ovulation chez les donneuses : dans le premier groupe les ovocytes ont été injectés avec un spermatozoïde par micromanipulation (ICSI) immédiatement après avoir enlevé la corona radiata (décoronisation), dans l'autre groupe ils ont été vitrifiés immédiatement après décoronisation puis réchauffés et injectés en ICSI le même jour. Les résultats sont résumés dans le tableau II. L'expérience de Chian à l'Université de Mc Gill au Canada [14] fait état de trente-deux patientes, 352 ovocytes vitrifiés et réchauffés avec un taux de fécondation de 83,8 % en ICSI et 115 embryons transférés, le taux de

Tableau II : Évaluation de l'efficacité de la vitrification dans un programme de don d'ovocyte d'après Cobo, 2008 [7]

Programme de don d'ovocytes	**Sans congélation N (%)**	**Avec Vitrification N (%)**
Ovocytes en métaphase II	231	219
Ovocytes à 2 pronucléï	171 (76,3)	180 (82,2)
Embryons obtenus à J3	149 (84,6)	125 (77,6)
Blastocystes obtenus	68 (47,5)	38 (48,7)
Transferts	1	23
Grossesses	1	15 (65,2)
Taux Implantation	2/2	20/49 (40,8)
Evolutives	1	11 (47,8)

Tableau III. — Évaluation des résultats de la vitrification d'ovocyte humains d'après la littérature.

Auteurs [référence]	**Ovocytes (N)**	**Survie %**	**Fécondation %**	**Clivage %**	**Grossesses par transfert % (N)**	**Implantation %**	**Enfants**
Kuwayama [7]	64	91	90	81	41,3 (12)	18,75	7
Kuleshowa [12]	17	65	50		50 (1)	16,6	1
Cobo [13]	509	96,7	76,3		65,2 (?)	40,8	28
Chian [15]	?	?	?	?	?	?	200
Antinori [33]	463	99,4	92,9		32	13,2	
Katayama [34]	46	94	91	90	33,3 (2)	28,5	2
Lucena [35]	707	89,2	87,2	94.3	56,5 (13)	13,4	
Selman [36]	53	75	77,7		33,3 (2)	21,4	
Yoon [37]	426	85,1	77,4	94.3	43,3 (13)	14,2	

grossesse est de 43,7 % par transfert, le taux d'implantation de 18,3 % par embryon, 17 enfants sont nés. Depuis, Chian publie en 2008 un travail d'évaluation de la santé des enfants issus de cette vitrification des ovocytes et montre sur une série de deux cents enfants qu'il n'y a pas de différence avec l'état de santé habituellement noté en AMP [15]. Le tableau III regroupe l'évaluation des résultats publiés de la vitrification d'ovocytes humains.

En l'absence d'autorisation de congélation des embryons, les Italiens s'intéressent particulièrement à la congélation des ovocytes. Avec la méthode lente ils citent un taux de grossesse de 5,5 % par ponction et 6,3 % par transfert sur l'activité de 2004 [3]. Devant les altérations du fuseau de division cellulaire de la deuxième division de

méiose observées au réchauffement ils proposent une augmentation des concentrations de cryo-protecteurs, qui deviendront proches de celles utilisées lors de la méthode de vitrification. [16, 17]. Ces mêmes équipes vont démontrer que la vitrification ne porte pas atteinte au fuseau de méiose, et explique probablement l'amélioration constatée en termes de survie et de fécondabilité [18, 19]. Le rapport National Italien sur l'activité 2007 [4] constate une nette augmentation de la pratique de congélation des ovocytes puisqu'elle concerne actuellement 28 784 ovocytes soit 12,9 % des ovocytes collectés. Le rapport ne précise pas la part de la vitrification dans la congélation ovocytaire. Cent quatre vingt-treize enfants vivants sont nés en 2007 de transferts d'embryons obtenus après décongélation d'ovocytes issus des 2 366 transferts [3, 4]. Entre les deux rapports officiels de 2004 et 2005 [3], le nombre de congélation d'ovocytes par méthode lente ou vitrification a doublé, les taux de grossesses passent respectivement de 5,5 à 9,5 % de grossesse par décongélation, et de 6,3 à 11,4 % par transfert. Dans le rapport 2007, on constate encore une amélioration avec 10 % de grossesses par décongélation et 12,6 % par transfert d'embryon. Ces résultats sont en rapport avec la diffusion de la technique de vitrification des ovocytes.

Recherche biomédicale proposée

Nous proposons de recourir à une étude réalisée chez des patientes en hyperstimulation dont le nombre d'ovocyte égale ou dépasse 12 métaphases II. La moitié sera fécondée immédiatement et l'autre vitrifiée. L'objectif principal de la recherche repose sur l'évaluation du nombre d'embryons disponibles pour le transfert en comparant celui obtenu après congélation d'embryons dans le bras des ovocytes fécondés immédiatement et celui obtenu après réchauffement des ovocytes vitrifiés puis fécondés. Les critères secondaires englobent l'appréciation de nombreux critères biologiques objectivés par l'enregistrement d'images numérisées de toutes les étapes de la fécondation jusqu'au transfert. Des critères cliniques sur le résultat des transferts et l'évolution des grossesses sont prévus. Enfin, le suivi de la santé des enfants est inclus dans la procédure mise en place dans le Service sur l'ensemble de la cohorte des enfants nés depuis le début de l'activité en 1995.

Évaluation des risques

Le risque le plus évoqué concerne l'impact des hautes concentrations de cryo-protecteurs indispensables à la vitrification, l'évaluation des concentrations adaptées pour les ovocytes et les embryons a fait l'objet de nombreux travaux publiés [20]. L'approche actuelle tend à favoriser l'utilisation d'un mélange de cryo-protecteurs pour diminuer la toxicité des produits pris isolément en diminuant les concentrations utiles ainsi que leur substitution par des substances osmotiquement actives comme le sucrose [21]. L'évaluation des risques de contamination microbiologique à également fait l'objet d'études, l'utilisation de paillettes de haute sécurité a été

proposée pour l'embryon [10]. En l'état actuel des données, les évaluations préclinique et clinique sont très rassurantes. Il n'y a pas de risque spécifique attendu et la surveillance est la même que pour toutes les autres techniques d'AMP. (Surveillance à long terme de la santé des enfants).

Autres applications de la vitrification

Une meilleure efficacité de la vitrification par rapport à la congélation lente a également été démontrée sur des morulae à J4 et des blastocystes en totale expansion à J5 [22-24]. Il en est de même pour la congélation des Zygotes comme cela a été démontré par Al-Hassani en Allemagne où la congélation d'embryon est légalement interdite [25]. On peut aujourd'hui constater que quelque soit le stade concerné de l'ovocyte au blastocyste, la vitrification fait la preuve de sa supériorité.

Place de la vitrification de l'ovocyte dans le cadre de la prise en charge des couples en AMP et de la préservation de la fertilité féminine

L'efficacité de cette technique est telle qu'elle autorise immédiatement l'autoconservation d'ovocyte chez des femmes en âge de procréer. La gestion des autoconservations de gamètes fait l'objet d'un cadre légal et administratif qui est celui de l'autoconservation et ne génère pas les difficultés conceptuelles, pour certains couples, de la congélation des embryons, difficultés liées au devenir de ces embryons en cas d'abandon du projet parental. L'autoconservation du gamète féminin a d'ores et déjà fait l'objet d'une application avant certains traitements stérilisants [26].

Cette nouvelle approche doit faire repenser la prise en charge des couples en AMP, centrée sur le nombre d'embryons à transférer plus que sur le nombre d'embryons à obtenir. L'échec d'implantation possible avec un seul embryon transféré, sera compensé par la possibilité d'obtenir d'autres embryons avec la cohorte d'ovocytes vitrifiés disponibles. Cette nouvelle chronologie biologique devrait permettre de diminuer la fréquence des traitements hormonaux et des ponctions chirurgicales, voir leur nombre total. A plus long terme la technique devrait permettre de diminuer notablement le nombre d'embryons congelés. Dans de rares cas, la vitrification permettrait de « sauver » les ovocytes qui ne peuvent être fécondés le jour de la ponction chirurgicale par absence de spermatozoïde au recueil. Si le manque de recul représente aujourd'hui le seul frein à la mise en œuvre de la technique de vitrification ovocytaire en raison du principe de précaution en France, soulignons que le retentissement à long terme sur la descendance n'est pas d'avantage connu que pour les autres techniques d'AMP, il est a contrario certain que l'absence d'évaluation de faisabilité entraîne une perte de chance pour la préservation de la fertilité féminine, et une pérennisation des risques existants pour les femmes concernées par l'AMP.

Considérations éthiques

Sur un plan éthique, la vitrification pourrait améliorer l'état actuel des pratiques de l'Assistance Médicale à la Procréation car elle ouvre la voie à la conservation des ovocytes et remet à l'ordre du jour l'autoconservation du gamète féminin.

Cette technique induit un recours aux micromanipulations de gamètes que ce soit pour la cryoconservation ou la fécondation, y compris pour des couples chez lesquels il y aurait absence de stérilité masculine.

Grâce au développement de cette technique, l'offre de soins sera plus appropriée à la demande initiale des couples. En effet, les praticiens savent que la constitution d'un stock d'embryons surnuméraires n'entre pas dans le cadre plus délimité du projet parental des personnes stériles qu'ils prennent en charge. Aux yeux des couples, les embryons surnuméraires représentent davantage une contrepartie embarrassante à assumer qu'un choix délibéré. Le malaise qu'ils ressentent à l'égard du devenir de ces embryons, en est l'illustration.

Cet intérêt indéniable sur le plan éthique trouve son corrélat juridique puisque la technique de vitrification des ovocytes permet un « bénéfice individuel direct » [27]. En termes de santé publique, l'impact ne peut être que positif dans la mesure où il s'agit d'une voie thérapeutique inédite dont la société pourrait tirer bénéfice ultérieurement. La nouvelle législation européenne plaide également en faveur de cette nouvelle orientation thérapeutique [28], puisque la vitrification ovocytaire comporte la perspective d'une réduction des *risques* pour la santé des femmes du fait de la réduction du nombre de traitements hormonaux nécessaires et du nombre d'actes chirurgicaux associés. On peut estimer qu'un seul traitement autorise plusieurs tentatives avec replacement d'embryons frais dont l'implantation est bien meilleure que celle des embryons congelés. En un mot, cette nouvelle technique s'inscrit dans l'esprit général de la loi relative à la bioéthique du 6 août 2004 [29] qui exige de s'assurer de la préservation de la santé des femmes et de la fertilité. S'agissant de la nécessaire prise en compte du principe de précaution, la présente recherche se situe dans le droit fil de l'avis nº 79 du Comité consultatif national d'éthique (CCNE) [30] qui met en garde contre la surestimation de risques hypothétiques et potentiels sur les risques connus et avérés (accident d'hyperstimulation, actes chirurgicaux inutiles, absence de spermatozoïdes le jour de la ponction des ovocytes, abandon d'embryons congelés...). Notre projet d'investigation s'inspire de la version procédurale du principe de précaution qui consiste à anticiper les risques plausibles, à les mettre en balance, et ce, non pas pour entraver l'action mais pour optimiser la qualité de sa réalisation [31].

BIBLIOGRAPHIE

[1] Camby C. — Courrier du 30 novembre 2007, Agence de la Biomédecine.

[2] Chen C. — Pregnancy after human oocyte cryopreservation *Lancet*, 1986, *1*,884-6.

[3] Relazione del Ministro della Salute al Parlamento sullo stato di Attuazione della Legge contenente norme in materia di Procreazione Medicalemente Assistita. (Legge 19 febbraio 2004, N 40, Articulo 15) — anno 2005.

[4] Relazione del Ministro della Salute al Parlamento sullo stato di Attuazione della Legge contenente norme in materia di Procreazione Medicalemente Assistita. (Legge 19 febbraio 2004, N 40, Articulo 15) — anno 2007.

[5] Whittingham D.G. — Fertilization *in vitro* and development to term of unfertilized mouse oocytes previously stored at — 196 degrees. *Science*, 1972, *18*, 411-414.

[6] Rall W. F., Fahy G. M. — Ice-free cryopreservation of mouse embryos at –196° C by vitrification *Nature*, 1985, *313*, 573-575.

[7] Kuwayama M., Vajta G., Kato O., Leibo S.P. — Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod. Biomed., Online,* 2005, *11*, 300-308.

[8] Martinat-Botté F., Berthelot F., Plat M., Mabec F. — Cryo-préservation et transfert des embryons porcins produits *in vivo* : état des lieux. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 2006, *34*, 754-759.

[9] Kuwayama M., Vajta G., Ieda S., Kato O. — Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. *Reprod. Biomed. Online*, 2005, *11*, 608-614.

[10] Vanderzwalmen P., Ebner T., Zech N. — One decade of experience with vitrification of human embryos in straws, hemi-straws and high security vitrification straws. In *Vitrification in Assisted Reproduction, a user's Manual and Trouble — Shooting Guide.* (INFORMA Healthcare, Edit), 2007.

[11] Oktay K., Cil A. P., Bang H. — Efficency of oocyte cryopreservation: a meta-analysis *Fertil. Steril.,* 2006, *86*, 70-80.

[12] Kuleshova L., Gianaroli L., Magli C. — Birth after following vitrification of a small number of human oocytes: case report. *Human. Reprod.* 1999, 14, 3077-3079.

[13] Cobo A., Kuwayama M., Perez S., Ruiz A. *et al.* — Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. *Fertil. Steril*. 2008, *89*, 6, 1657-1664.

[14] Chian R. C. — Vitrification des ovocytes et des embryons: voie d'avenir. *Gynécologie Obstétrique et biologie de la Reproduction,* 2007, *36* s44-s47.

[15] Chian R.C., Huang J.Y., Tan S. L., Lucena E., Saa A., Rojas A.,. Castellón R. L.A. — Obstetric and perinatal outcome in 200 infants conceived from vitrified oocytes *Reprod. Biomed., Online,* 2008, 16, 608-610.

[16] Fabbri R., Porcu E., Marsella T., Rocchetta G. *et al.* — Human oocyte cryopreservation: new perspectives regarding oocyte survival *Hum. Reprod.,* 2001, *16*, 411-416.

[17] Rienzi L., Martinez F., Ubald F.I., Minasi M.G. *et al.* — Polscope analysis of meiotic spindle changes in living metaphase II human oocytes during the freezing and thawing procedures *Hum. Reprod.*, 2004, *19*, 655-659.

[18] Rienzi L. — Cryobiology and cryopreservation of human gametes and embryos. Prague April 13th-14th, 2007 ESHRE SIG EMBRYOLOGY COURSE.

[19] Ciotti P.M., Porcu E., Notarangelo L., Magrini O. *et al.* — Meiotic spindle recovery is faster in vitrification of human oocytes compared to slow freezing *Fert. Steril.*, In press.

[20] Smith G., Villa-Diaz L. — Potential developmental consequences of cryopreservation of mammalian oocytes and embryos. In *Vitrification in Assisted Reproduction, a user's Manual and Trouble —Shooting Guide.* (INFORMA Healthcare, Edit), 2007.

[21] Kuleshova L., Mac Farlane D., Trouson A., Shaw J. — Sugars exert a major influence on the vitrification proprety on EG based solutions and have low toxicity to embryos and oocytes. *Cryobiology*, 1999, *38*, 119-130.

[22] Stehlik E., Stehlik J., Katayama K., Kuwayama M. *et al.* — Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human Blastocystes. *Reprod. Biomed. Online,* 2005, *11*, 53-57.

[23] Takahashi K., Mukaida T., Goto T., Oka C. — Perinatal outcome of blastocyst transfer with vitrification using cryoloop : a 4-yearFollow-up study. *Fertil. Steril.,* 2005, *84*, 88-92.

[24] Vanderzwalmen P., Zech N., Greindl A.J., Ectors F. *et al.* — Cryo-préservation des embryons humains par vitrification. *Gynecologie Obstétrique et Fertilité*, 2006, *34*, 760-769.

[25] Al-Hasani S., Ozmen B., Koutlaki N., Shoepper B. *et al.* — Three years of routine vitrification of human zygotes : is it still fair to advocate slow-rate freezing ? *Reprod. Biomed. Online,* 2007, *14*, 288-293.

[26] Porcu E., Bazzocchi A., Notarangelo L., Paradisi R. *et al.* — Human oocyte cryopreservation in infertility and oncology *Curr. Opin. Endocrino.l Diabetes Obes.,* 2008, *15*, 1-7.

[27] Loi nº 88-1138 du 20 décembre 1988 relative à la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales, disponible sur *www.legifrance.gouv.fr*

[28] Directive 2001/20/CE du Parlement européen et du Conseil du 4/4/2001, disponible sur *http://afssaps.sante.fr*

[29] Loi nº 2004-800 du 6 août 2004, relative à la bioéthique, *Journal officiel de la République française, nº 182*, 7 août 2004.

[30] Comité Consultatif National d'éthique, Avis Nº 79 « Transposition en droit français de la directive européenne relative aux essais cliniques de médicaments : un nouveau cadre éthique pour la recherche sur l'homme » (rapporteur : Sadek Beloucif), *Les Cahiers du Comité Consultatif National d'éthique, nº 37*, oct. 2003, pp. 20-33.

[31] Kourilsky P., et Viney G. — Le principe de précaution. Rapport au Premier ministre, Paris, *La Documentation française* (Editions Odile Jacob, Paris, Edit.), 2000.

[32] Ali J., Shelton J. — Development of vitrification solutions. *In Vitrification in Assisted Reproduction, a user's Manual and Trouble — Shooting Guide.* (INFORMA Healthcare, Edit), 2007.

[33] Antinori M., Licata E., Dani G. — Cryotop vitrification of human oocytes results in high survival rate and healthy deliveries *Reprod. Biomed., Online,* 2007 (14), 72-79.

[34] Katayama P., Stehlik J., Kuwayama M. — High survival rate of vitrified human oocytes results in clinical pregnancy *Fertil. Steril.,* 2003, *80*, 223-224.

[35] Lucena E., Bernal DP., Lucena C. — Successful ongoing pregnancies after vitrification of oocytes *Fertil. Steril.,* 2006, 85, 108-111.

[36] Selman H., Angelini A., Barnocchi N. — Ongoing pregnancies after vitrification of human oocytes using a combined solution of ethylene glycol and dimethyl sulfoxide Fertil. Steril., 2006, *86*, 997-1000.

[37] Yoon T.K., Lee D.R., Cha S.K. — Survival rate of human oocytes and pregnancy outcome after vitrification using slush nitrogen in assisted reproductive technologies *Fertil. Steril.*, 2007, *88*, 952-956.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1113-1125, séance du 26 mai 2009

DISCUSSION

M. Pierre JOUANNET

Pouvoir disposer d'une technique efficace permettant de conserver les capacités fonctionnelles des ovocytes pendant de longues périodes serait d'un grand intérêt, notamment pour préserver la fertilité des femmes devant recevoir des traitements potentiellement stérilisants. La vitrification est une nouvelle technique qui pourrait présenter des avantages par rapport aux techniques de congélation et décongélation lente pour atteindre cet objectif.
Cependant l'application clinique de toute nouvelle technique médicale implique qu'elle ait été validée par des études expérimentales et précliniques suffisantes. Peut-on dire aujourd'hui qu'il existe des résultats consensuels suffisants concernant les différents paramètres techniques de la vitrification, notamment en matière de cryoprotecteurs utilisés, de leur dilution, de la température et du conditionnement des ovocytes ? Ce dernier point est particulièrement important pour l'innocuité de la méthode. En effet, la plupart des travaux publiés jusqu'à présent ont utilisé des dispositifs ouverts qui avaient pour conséquence un risque de contamination possible des ovocytes au contact de l'azote liquide. Des dispositifs fermés ont été décrits mais ont-ils été validés ?
Les effets de la technique sur la qualité des ovocytes, notamment sur l'intégrité du fuseau mitotique de la deuxième métaphase de méiose qui est présent au stade où l'ovocyte est vitrifié, et sur son aptitude à former un embryon se développant normalement ont-ils été suffisamment étudiés ?
Dans le domaine de l'Assistance Médicale à la Procréation (AMP), trop de techniques innovantes ont été proposées et utilisées cliniquement sans qu'elles aient été validées sérieusement du point de vue de leur efficacité et de leur innocuité. Ce fut par exemple le cas de techniques comme le « Gamete Intra-Fallopian Transfer » (GIFT), l'éclosion assistée de l'embryon, la coculture embryonnaire, la fécondation par microinjection de spermatides, toutes techniques à la durée de vie relativement brève et qui ont été abandonnées par la plupart des équipes.
Ne serait-il pas souhaitable que la vitrification ovocytaire fasse l'objet d'une évaluation et d'une validation minutieuse et rigoureuse avant d'être utilisée cliniquement ? C'était la proposition faite très récemment par l'éditeur en chef du journal Human Reproduction dans un plaidoyer pour une approche basée sur les preuves en matière d'AMP et où il prenait la technique de vitrification comme exemple (Van Steirteghem, What next for assisted reproductive technology ? A plea for an evidence-based approach, Human Reprod, 2008, 23, 2615-2616) ?

Au plan fondamental, nous disposons de plus de vingt ans de recherches expérimentales en vitrification. L'aspect physique de la vitrification est maîtrisé depuis longtemps, l'absence de remaniement moléculaire, permet une excellente conservation de la cellule, avec maintien de la physiologie, maintien du potentiel de développement de l'embryon préimplantatoire. La meilleure preuve que l'on puisse apporter du respect de la physiologie de l'ovocyte est quand même bien sa capacité à supporter la fécondation et le développement de blastocyste, ce que notre demande de Recherche BioMédicale faite auprès de l'Afssaps ne manquera pas de démontrer. La préservation du fuseau méiotique est d'ores et déjà démontrée par une étude italienne menée par Ciotti P. *et al.* — publiée dans Ferility Sterility de juin 2009.

Pour ce qui est de l'expérience humaine, environ cinq cents naissances d'enfants sont aujourd'hui publiées et certainement ces naissances sont plus nombreuses encore dans les pays qui ont initié la technique.
Les risques de contamination microbiologique des ovocytes sont purement théoriques dans l'azote liquide. Aucun des gaz médicaux liquides utilisés dans la pharmacopée ne fait l'objet d'études de sécurité sanitaire microbiologique. Ce serait un contre sens physique de demander des tests dans la mesure où la compression des gaz pour obtenir leur liquéfaction les soumet à des pressions ne permettant pas la survie de microorganismes. Le risque de contamination lors du stockage peut être réglé en dédiant des cuves spécifiques à la cryoconservation des ovocytes pour des patientes dont les sérologies ont été contrôlées négatives avant la prise en charge en AMP. En l'état actuel de l'évaluation de la technique, seuls les systèmes ouverts conviennent pour vitrifier les ovocytes.
Enfin, l'évaluation globale des actes d'AMP reste bien entendu un sujet d'actualité et en particulier en ce qui concerne le suivi de la santé des enfants, ce que nous nous attachons à faire à l'hôpital Saint Joseph avec une évaluation rétrospective depuis le début de notre activité en 1994. C'est bien en ce sens que nous avons proposé une évaluation de la technique de vitrification avec publication de cette Recherche BioMédicale, comme le suggère le Pr Van Steirteghem dans son éditorial que vous avez cité, qui nous éclairera sur la faisabilité de cette technique au sein de notre laboratoire d'une part, mais également sur les risques éventuels par un suivi des enfants nés. La Fondation Saint Joseph est directement impliquée dans cette recherche dont elle assume la promotion comme elle s'investit dans le suivi de la santé des enfants issus d'AMP.

M. Jean-François MATTEI

Les données animales peuvent-elles d'ores et déjà permettre le passage à l'homme ? Qu'en est-il de l'éventuelle toxicité des cytoprotecteurs utilisés ?

Oui, les données animales et précliniques sont nombreuses, elles sont réunies dans un ouvrage publié en 2007 édité par Tucker et Liebermann chez Informa Healthcare dont le titre est Vitrification in assisted reproduction. Les cryoprotecteurs ne représentent qu'un aspect de la technique de vitrification. Ils servent à déshydrater la cellule au même titre que ceux utilisés au quotidien en congélation lente et les molécules utilisées sont bien souvent les mêmes. Si l'on pouvait comparer les concentrations de cryoprotecteurs à l'intérieur des cellules des embryons surnuméraires conservés par congélation lente, on observerait probablement des concentrations finales au moins aussi élevées qu'après utilisation de la méthode de vitrification. En congélation lente, la cristallisation de l'eau intracellulaire induit une osmolarité de plus en plus forte ayant pour résultante une augmentation progressive des concentrations des cryoprotecteurs. En vitrification, la concentration initiale des cryoprotecteurs est plus élevée mais les temps d'expositions sont extrêmement brefs avant le passage à l'état solide ce qui peut faire considérer que la concentration finale restera identique contrairement à la congélation lente.

M. Jacques BATTIN

L'indication du syndrome de Turner dans la préservation du capital ovocytaire sera-t-elle demandée, sachant que 20 % de ces patients, grâce entre autres, au traitement par GnRh ont des pubertés spontanées et des ovaires fonctionnels de durée limitée ?

Les applications de cette technique au titre de l'autoconservation et de la préservation de la fertilité féminine restent à définir mais pourront être envisagées, les traitements stérilisants en sont un autre exemple. En tout état de cause, les bénéfices pour les femmes qui auront recours à cette autoconservation sont nombreux. La vitrification des ovocytes ne manquera pas de transformer profondément nos pratiques, diminuant probablement également ainsi les risques pour la santé des femmes qui ont recours aux pratiques d'AMP.

M. Georges DAVID

Votre présentation est l'occasion de souligner les ambiguïtés de la catégorie des Produits thérapeutiques annexes (PTA) dans leur emploi en AMP. Cette catégorie recouvre, en l'occurrence, les milieux de culture. Or ces milieux ne restent pas exclusivement externes aux gamètes et à l'embryon. Ainsi dans l'ICSI ils sont introduits avec le spermatozoïde dans l'ovocyte, se trouvant de ce fait en position intraembryonnaire, ce qui pourrait les faire assimiler à des médicaments. Ne faudrait-il pas revoir ce cadre mal défini ?

Aucun des produits utilisés quotidiennement en AMP n'a reçu le statut de PTA à ce jour. Cela concerne aussi bien les milieux de culture que les solutions de congélation. Les produits utilisés en AMP doivent recevoir le marquage CE pour leur commercialisation et le statut de PTA a été abandonné. Il ne nous appartient pas ici de reprendre ce vaste débat qui touche toutes les étapes biologiques de l'AMP. Nous ne pouvons que faire appel une fois encore à notre préoccupation quotidienne des répercussions de nos actes médicaux par le suivi attentif de la santé des enfants comme nous l'avons organisé avec la Fondation. Une de nos pistes de travail en la matière est l'étude de la croissance des enfants qui est un bon moyen de surveillance de la survenue de troubles qui traduiraient des risques épigénétiques comme cela est parfois évoqué.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1127-1145, séance du 26 mai 2009

COMMUNICATION

L'immunothérapie spécifique aux allergènes ou désensibilisation des maladies allergiques

MOTS CLÉS : ALLERGÈNES. ASTHME. IMMUNOTHÉRAPIE. RHINITE ALLERGIQUE SAISONNIERE

Allergen-specific immunotherapy or desensitization

KEY WORDS (Index medicus) : ALLERGENS. ASTHMA. IMMUNOTHERAPY. RHINITIS, ALLERGIC, SEASONAL

Pascal DEMOLY **, François-Bernard MICHEL *

RÉSUMÉ

L'immunothérapie spécifique, aux allergènes ou désensibilisation des maladies allergiques, constitue un traitement étiologique des maladies allergiques respiratoires. Introduite en 1911, elle fut longuement et largement décriée jusqu'à ce que ses moyens et modalités aient été améliorés et son efficacité démontrée par des essais en double insu contre placebo, tant dans le traitement de la rhino-conjonctivite allergique que dans celui de l'asthme allergique. Ses indications sont précisées par des consensus et sa pratique respecte un certain nombre de règles. L'amélioration de la qualité des extraits allergéniques par leur standardisation, la meilleure compréhension des mécanismes d'action de cette thérapeutique, l'arrivée des voies d'administration en comprimés et la rationalisation de sa prescription, permettent de renforcer sa place dans la stratégie globale de prise en charge thérapeutique des allergies respiratoires.

SUMMARY

Allergen-specific immunotherapy or desensitization represents an etiological treatment option for patients with allergic respiratory diseases. First introduced in 1911, it was widely disparaged until its mechanism of action was better understood and its efficacy on both allergic rhinoconjunctivitis and allergic asthma was demonstrated in double-blind placebo-controlled studies. Its indications are now widely agreed and practical rules have been established. Several factors have contributed to its increasing use in patients with respiratory allergies, including better-quality allergen extracts, better understanding of the mechanism of action, the introduction of oral tablet forms, and rationalization of prescriptions. Specific immunotherapy can benefit patients with severe allergic respiratory diseases in whom pharmacological treatment is ineffective or poorly accepted. Further well-designed and strictly conducted randomized trials in adults and children with allergic rhinitis and asthma are needed, using patient-important endpoints. More information is also needed on patient selection, the treatment duration, and dosing schedules.

* Unité d'Exploration des Allergies, Maladies Respiratoires — Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier et Inserm U657, 34295 Montpellier Cedex 5 — France

Tirés à part : Professeur Pascal DEMOLY, même adresse, et e-mail : pascal.demoly@inserm.fr
Article reçu le 24 mars 2009, accepté le 11 mai 2009

L'immunothérapie spécifique (ITS) ou désensibilisation consiste à administrer des quantités répétées d'allergène à un sujet allergique, afin d'induire une tolérance clinique et immunologique vis-à-vis de cet allergène [1, 2]. Tandis que l'organisme tolère de façon active les allergènes, les maladies allergiques sont actuellement considérées comme une rupture de cette tolérance. Le principe de l'ITS est donc de revenir à un état normal de tolérance en forçant ce corps « déficiant » à tolérer cette source d'allergènes. Elle agit dans la durée en améliorant les symptômes dès les quatre premiers mois de traitement, a un effet maintenu après l'arrêt du traitement et peut empêcher la progression de la maladie allergique [1, 2]. Son mécanisme d'action est de mieux en mieux connu. On a longtemps tenté d'expliquer les effets de l'ITS sous-cutanée par la réduction de la production des IgE et l'augmentation de celle des IgG (agissant alors comme anticorps bloquants) ou de ses sous-classes [1, 2]. Les travaux les plus récents indiquent que le mécanisme prédominant réside dans une modification des réponses cellulaires T [3], que ce soit par un phénomène de déviation immunologique (stimulation des lymphocytes Th0/Th1), par anergie lymphocytaire T (diminution des Th2/Th0) ou plutôt induction de tolérance (apparition de lymphocytes T régulateurs). L'ITS réduit l'inflammation allergique spécifique de l'allergène. Par ailleurs, des actions non spécifiques sont de plus en plus mises en avant. Ainsi, non seulement la quantité d'allergène nécessaire à une réaction de l'organe ciblé est accrue, mais aussi le recrutement des cellules inflammatoires, leur degré d'activation et le taux de leurs médiateurs sont réduits (histamine, PGD2 et protéines cationiques de l'éosinophile notamment).

Introduite en 1911 par Noon et Freeman pour traiter la « pollinose » ou rhinite allergique aux pollens [4], l'ITS reste le seul traitement étiologique des maladies allergiques. C'est donc une méthode de traitement séculaire, qui s'emploie actuellement à fournir des preuves de son efficacité selon la méthodologie des essais cliniques contrôlés en double aveugle contre placebo. Nous verrons que le développement clinique de ces thérapeutiques n'est pas simple. Les études disponibles, à petits effectifs, ont fait l'objet de méta-analyses qui ont montré une nette efficacité, particulièrement en ce qui concerne l'allergie aux graminées. Les essais cliniques récents utilisant la nouvelle forme galénique des comprimés sublinguaux répondent eux aux critères de la médecine basée sur les preuves. L'ITS améliore la qualité de vie des patients allergiques [1, 2], elle s'adresse aux patients les plus sévères ou refusant les traitements pharmacologiques dont elle devrait permettre une forte épargne de consommation. C'est le seul traitement dont l'effet persiste après l'arrêt (au bout de trois à cinq ans d'ITS) [1, 2], qui permet d'altérer le cours naturel de la rhinite pollinique, c'est-à-dire qui permet d'entraîner des rémissions de longue durée. Enfin, il est possible que l'ITS évite l'apparition de nouvelles sensibilisations et l'apparition d'un asthme. **Plutôt que de rentrer d'emblée dans le détail de chacune des études cliniques avec leurs points forts et leurs points faibles, et de façon à ne pas perdre le lecteur, nous avons souhaité mettre en avant l'analyse qu'en font les experts des recommandations internationales et nationales en tout début d'article.**

Base documentaire disponible

Recommandations internationales

Plusieurs directives sur l'ITS aux pneumallergènes ont été publiées [1, 2] ces dernières années par l'Organisation Mondiale de la Santé, l'European Academy of Allergy and Clinical Immunology, le Rapport de consensus international sur l'asthme, la Stratégie globale de traitement et de prévention de l'asthme, le Rapport de consensus international sur la rhinite, la British Society for Allergy and Clinical Immunology, l'American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, l'American College of Allergy, Asthma and Immunology et la World Allergy Organization.

L'EMEA (*European Medicines Agency*) a émis des guides fin 2008, applicable au 1er janvier 2009, pour le développement des essais thérapeutiques d'ITS des maladies allergiques [5]. Elle reconnaît les particularités de l'ITS (Tableau 1).

Tableau 1. — Recommandations de l'EMEA pour les essais thérapeutiques d'ITS (d'après la référence [5])

- Les études de phase I classiques chez le sujet sain ne sont en général pas possibles. Déjà à ce stade précoce du développement des patients allergiques doivent être inclus.
- Les études pharmacocinétiques et pharmacodynamiques ne sont pas possibles non plus, du fait de la nature des produits, indétectables dans le sérum. Des tests biologiques spécifiques (réponse IgG, réponse lymphocytaire T) peuvent être réalisés au cours des essais. Pas toujours corrélés à la réponse clinique, ils ne se substituent pas à l'analyse de la réponse clinique.
- Les études de phase II sont parfaitement envisageables et un effet dose doit être recherché/démontré.
- Du fait de la variabilité des taux d'allergènes d'une année et d'un site à l'autre et du biais de mémorisation, la recherche d'un niveau symptomatique de base les saisons précédentes n'est pas possible. Seule une évaluation prospective du niveau des symptômes avant tirage au sort est possible, mais elle souffre de limites aussi.
- Pour les mêmes raisons associées à la variabilité inter-individuelle de la réponse clinique, les essais de non-infériorité ne sont pas envisageables : seuls des essais de supériorité en double aveugle contre placebo (ou tout autre comparateur) sont recevables. Le placebo doit si possible contenir de l'histamine pour maintenir le double aveugle ; il n'est pas éthique dans le traitement par ITS des anaphylaxies (aux venins d'hyménoptères par exemple).
- Les taux d'allergènes saisonniers doivent être documentés, au plus proche des patients. La saison (période pendant laquelle les symptômes seront évalués) doit être définie de façon précise.
- Les effets sont recherchés toujours à long terme (une saison pollinique ou période symptomatique minimum). L'analyse des effets prolongés et éventuellement rémanents (sur les symptômes ou la prévention de la survenue d'asthme ou de polysensibilisations) à l'arrêt de l'ITS se fait au mieux dans des essais séparés, sans analyse intermédiaire.
- Enfin le score utilisé doit prendre en compte les symptômes et les médicaments de secours dont l'utilisation impacte clairement sur l'intensité des symptômes. Un score combiné validé, non existant actuellement, est souhaité.*

* *Pour se faire les laboratoires Stallergènes ont développé un score symptôme ajusté en fonction de la prise de traitement de secours Ce nouveau score a été mis au point via un groupe d'experts indépendants et a été validé par l'EMEA afin d'être appliqué en tant qu'objectif principal dans les études cliniques à venir de ce laboratoire.*

Recommandations nationales

Toutes les recommandations nationales, que ce soient celles de la Société Française d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie de la Face et du Cou (sur la prise en charge des rhinites chroniques), celles de la Société de Pneumologie de Langue Française (sur la place de l'ITS dans l'asthme allergique) et celles à venir de la Société Française d'Allergologie (sur la prise en charge des rhinites allergiques) **sont basées sur** le document ARIA [2].

Ces rapports donnent des indications pour mieux comprendre l'usage de l'ITS.

Concernant la rhinite allergique, le récent document français [6] prend position (Tableau 2).

Tableau 2. — Recommandations de la SFA sur l'ITS (d'après la référence [6])

- L'ITS réduit l'inflammation induite spécifiquement par l'allergène visé en agissant de façon étiologique sur le système immunitaire (accord professionnel).
- La voie sous-cutanée est efficace mais non dénuée de risques (anaphylaxie, exacerbation d'asthme) (grade A).
- La voie sublinguale est efficace et beaucoup plus sûre (grade A).
- Seuls certains allergènes ont bénéficié des études permettant des recommandations (accord professionnel). Pour ces allergènes, l'ITS est efficace (grade A).
- Aucune ITS ne peut être démarrée en l'absence de diagnostic précis de sensibilisation allergénique et de poids de cette sensibilisation dans les symptômes du patient (accord professionnel).
- Il faut respecter les règles strictes de sécurité si la voie sous-cutanée est utilisée (accord professionnel). Tous les effets indésirables, y compris pour la voie sublinguale, doivent être rapportés (accord professionnel).
- Cette ITS doit être réévaluée après un an afin de juger de son efficacité, de sa tolérance et de la nécessité ou non de poursuivre le traitement (accord professionnel).

Niveaux de preuves de l'efficacité de l'ITS

Efficacité et sécurité de l'ITS sont régulièrement évaluées et il existe sept méta-analyses dans le domaine reprenant la totalité des publications de qualité méthodologique suffisante publiées ces vingt dernières années : deux avec l'ITS sous-cutanée [7, 8] et cinq [9-13] avec l'ITS sub-linguale. Le niveau de preuve retenu dans le document ARIA [2] est donc le plus élevé (Ia) mais l'hétérogénéité des études est grande (diverses sources et natures d'extraits allergéniques, divers modes d'évaluation, rhinite et/ou asthme, adultes *vs* enfants) et les effectifs de ces études sont souvent petits.

La base documentaire disponible est donc conséquente et sera sujet à ajustements au vue des résultats des nombreuses études ITS comprimés en cours. Ces études intéressent un grand nombre de patients et permettront de trancher les questions encore en suspens, non résolues du fait de l'hétérogénéité des études précédentes incluses dans les méta-analyses. En effet, plus de dix études de phase III concernant les allergènes les plus prévalents sont récemment publiées ou en cours. Elles s'intéressent aussi bien à l'efficacité sur les symptômes et la consommation de médica-

ments d'appoint qu'aux données de sécurité, la satisfaction et la qualité de vie des patients, qu'à l'optimisation des protocoles (durée du traitement pré-saisonnier pour l'ITS aux pollens de graminées par exemple). Les grands effectifs permettent des analyses en sous-groupes, la durée répondra à la question de l'effet rémanent après arrêt du traitement. Ces études concernent actuellement les acariens, les pollens de graminées, les pollens de bouleau qui représentent 90 % des prescriptions d'ITS en Allemagne et 80 % en France. Elles permettront de préciser ces données pour la médecine basée sur les preuves, intégrant non seulement la preuve scientifique mais aussi les préférences du patient, l'expérience clinique et les conditions d'exercice du médecin.

Synthèse des données épidémiologiques

Asthmes et allergies sont parmi les maladies chroniques les plus fréquentes. La prévalence de " l'asthme actuel " (symptômes les douze mois précédents) a été estimée à 2,6 % chez les enfants, entre 2,6 et 6,6 % chez les adolescents et entre 2,9 et 4,6 % chez les adultes en France [14]. La moitié des asthmes de l'adulte sont allergiques et au moins deux tiers de ceux de l'enfant. Les allergies respiratoires concernent 23 % de la population générale en Europe [15]. Un sujet sur sept souffre de la forme clinique la plus répandue appelée rhinite aux pollens de graminées ou « rhume des foins ». Dans cette même étude, les auteurs ont démontré que 52 % des sujets testés avaient des IgE spécifiques aux pollens de graminées, 49 % aux acariens de la poussière de maison, 33 % aux pollens d'arbres, 27 % aux pollens d'herbacées, 26 % aux phanères d'animaux et 10 % aux moisissures. Plusieurs études démontrent clairement que la prévalence de la rhinite allergique double tous les huit à dix ans [2] ! L'OMS estime à quatre cent millions dans le monde le nombre de sujets souffrant de rhinite allergique sans asthme et deux cent millions avec asthme [2].

La plupart de ces patients ont des symptômes légers, n'altérant pas leur qualité de vie, ou des symptômes facilement contrôlables par les médicaments disponibles (par exemple anti-histaminiques et corticoïdes nasaux pour la rhinite allergique) dont ils sont souvent satisfaits [16]. Cependant, au moins 20 % des patients ne voient aucune ou peu d'amélioration avec ces traitements ou encore souhaitent une approche non symptomatique mais plus curative de leur maladie ; ces patients là peuvent alors bénéficier de l'ITS. Celle-ci ne leur est proposée que dans moins de 1 % des cas en France où elle concerne actuellement cent mille nouveaux patients par an soit trois cent mille patients sous ITS pour une année donnée (50 % avec des extraits d'acariens, 30 % de pollens de graminées, 5 % pour les pollens de bouleau et 2 % de pollens de cyprès).

L'impact socio-économique de la rhinite allergique doit prendre en compte sa morbidité et ses co-morbidités. La rhinite allergique ne tue pas bien sûr et n'amène pas aux urgences de l'hôpital, contrairement à l'asthme. Cependant, le nombre d'heures de travail perdues à cause de la rhinite allergique se chiffre en millions. Elle est source d'échecs scolaires [1, 2] en perturbant le sommeil réparateur [1, 2]. Les

maladies associées à la rhinite allergique (asthme et sinusite) nécessitent souvent des traitements additionnels [2].

Standardisation des allergènes

La qualité des extraits d'ITS est essentielle à la fois pour le diagnostic et pour le traitement des maladies allergiques respiratoires. Seuls des extraits ayant une activité allergénique et une durée de conservation connues doivent être utilisés [1, 2]. Les extraits les plus courants utilisés en allergologie clinique sont désormais disponibles sous forme standardisée ou sont en cours de standardisation. Il est probable que des allergènes recombinants fourniront dans un proche avenir les étalons nécessaires à l'analyse des allergènes, et que de nouveaux produits de diagnostic et de traitement seront ainsi développés [2].

Les extraits allergéniques sont étiquetés [1, 2] en unités biologiques, sur la base de tests cutanés. Les méthodes ne sont pas les mêmes en Europe et aux États-Unis. Chaque fabricant définit des unités et concentrations spécifiques, et on trouve tout un éventail de noms d'unités spécifiques, sans aucun lien entre eux, sur les étiquettes des produits commercialisés : UI (unité internationale), HEP (équivalent histamine pour les tests cutanés), AU (unité d'allergie), BAU (unité d'allergie biologique), BU (unité biologique), IR (indice de réactivité), TU (unités thérapeutiques)... Même lorsque la même méthodologie est utilisée (directives des pays nordiques par exemple), les extraits produits par différents laboratoires et portant les mêmes unités sur les étiquettes peuvent avoir une puissance différente en raison de différences dans la sensibilité de la population de patients choisie, du nombre relativement faible de patients testés et de différences méthodologiques [2].

La mesure des principaux allergènes en vue de leur standardisation est aujourd'hui un but réaliste et souhaitable [1, 2]. Les fabricants d'allergènes pourraient indiquer la teneur en allergènes majeurs représentatifs dans leurs produits en unités de masse (μg/ml), même si la comparaison entre les différents fabricants n'est pas encore possible en raison des différences dans les essais et les méthodes de mesure des allergènes majeurs [1, 2].

Dans la Pharmacopée européenne, les préparations d'allergènes pour l'ITS peuvent être [2] :

- des extraits non modifiés (extraits naturels) ;
- des extraits modifiés chimiquement ;
- des extraits modifiés par adsorption « dépôt » ;
- des extraits modifiés et adsorbés développés pour rendre l'ITS plus efficace et réduire le risque d'effets secondaires,
- et des allergènes recombinants.

Les extraits allergéniques, pour autant que leur activité, leur composition et leur stabilité soient documentées, se répartiraient de la manière suivante :

- **extraits** provenant d'une seule matière première

- mélanges d'extraits allergéniques apparentés et réagissant entre eux, tels que les extraits contre les pollens de graminées, les pollens d'arbres, les pollens d'ambroisie et les extraits contre les acariens, ou
- mélanges d'autres extraits allergéniques, à condition que des données de stabilité [22] et d'efficacité clinique soient disponibles. Dans le cas des mélanges, la quantité relative de chaque composant du mélange doit être précisée.

La Société Française d'Allergologie, a établi un processus décisionnel permettant de définir une liste de pneumallergènes validée sur le plan clinique et pharmacologique répondant aux exigences du décret relatif à la préparation et la délivrance des allergènes préparés spécialement pour un seul individu (décrets nº 2004-188 du 23 février 2004 et nº 2005-1682 du 28 décembre 2005). Les sources d'allergènes ont été classées en trois groupes. Seul le groupe trois est accepté. Il liste quatre catégories de sources d'allergènes classées selon la qualité des études d'ITS publiées : 3a en cas d'absence de publication (trente-sept sources d'allergènes dont cobaye, rat, *acarus siro* et pollens de peuplier), 3b en cas de données insuffisantes (cheval, chien, blatte, moustique, latex, pollen d'armoise, de frêne, acarien *Lepidoglyphus destructor*), 3c si données partielles (chat, moisissure *Alternaria alternata,* pollen de pariétaires de Judée et officinale, de cyprès d'Italie et de l'Arizona, de seigle, d'olivier), 3d si bonne qualité des données (pollens de dactyle, flouve, ivraie, fléole, cynodon, pâturin, ambroisie à feuilles d'armoise, bouleau blanc, aulne glutineux, noisetier, acariens *Dermatophagoides pteronyssinus* et *farinae)*. Les extraits allergéniques concernés dans cette revue appartiennent aux groupes 3c et 3d.

Immunothérapie sous-cutanée

Efficacité

L'efficacité clinique de l'ITS sous-cutanée (ITSC) est bien établie pour la rhinite et l'asthme, et des méta-analyses de cette efficacité sur l'asthme [7] et la rhinite [8] sont disponibles.

L'ITSC soulève des problèmes d'efficacité et de tolérance contrastées suivant le dosage. A faible dose, elle est inefficace [1, 2] et les doses élevées d'extraits allergéniques peuvent susciter un taux élevé et inacceptable de réactions systémiques [1, 2]. Des doses optimales ont donc été proposées pour l'utilisation d'extraits dosés en unités biologiques ou en allergènes majeurs [1]. La dose optimale, définie comme la dose d'extrait allergénique induisant un effet cliniquement adéquat chez la majorité des patients sans provoquer d'effets secondaires indésirables, est considérée comprise entre 5 et 20 μg d'allergène majeur par injection pour la plupart des extraits allergéniques [2].

Dans la rhinite allergique, l'efficacité clinique (en termes de réduction des symptômes et/ou du besoin en médicaments) a été confirmée [1, 2] avec les pollens de graminées, les pollens de bouleau, l'ambroisie, les pollens de pariétaire, les acariens et les poils de chat. On notera que trois de ces études ont clairement démontré que

l'effet clinique était dépendant de la dose [2]. La qualité de vie des patients recevant une ITS est améliorée [1, 2]. Une méta-analyse Cochrane récente [8] a repris 51 de ces études publiées de 1984 à 2006 et impliquant 2871 patients. Un effet global statistiquement significatif a été retrouvé sur les symptômes de rhinite (15 études, 1063 patients, taille de l'effet : –0,73 [IC95 % : –0,97, –0,50]), les symptômes de conjonctivite (3 études, 345 patients, taille de l'effet : –1,80 [IC95 % : –3,28, –0,31]), la consommation médicamenteuse [13 études, 963 patients, taille de l'effet : –0,57 [IC95 % : –0,82, –0,33]), l'amélioration de la qualité de vie (5 études, 571 patients, taille de l'effet : –0,52 [IC95 % : –0,69, –0,34]).

Dans l'asthme allergique, l'efficacité de l'ITS a été démontrée dès 1995 [17] par une méta-analyse, réactualisée en 1999 [18] et 2003 [7]. La dernière mise à jour a recensé soixante-quinze études effectuées entre 1954 et 2001 (et vingt-trois nouvelles depuis la dernière méta-analyse) et incluant plus de 3 000 patients asthmatiques allergiques. Un effet global statistiquement significatif a été retrouvé sur les symptômes d'asthme (28 études, 1064 patients, taille de l'effet : taille de l'effet : –0,72 [IC95 % : –0,99, –0,33]), la consommation médicamenteuse (quinze études, six cent-huit patients, taille de l'effet : –0,80 [–1,13, –0,48]), l'hyperréactivité bronchique spécifique (seize études, quatre cent-trente patients, taille de l'effet : 0,51 [0,41, 0,63]) et non spécifique (cinq études, cent vingt et un patients, taille de l'effet : 0,47 [0,31, 0,70]) mais pas sur la fonction respiratoire. Tous les six essais cliniques ayant utilisé des mélanges d'extraits allergéniques ont été négatifs. L'effet était significatif dans le sous-groupe des patients allergiques aux acariens (trente-six essais) et aux pollens (vingt essais concernant graminées, bouleau, ambroisie), mais pas pour les allergènes animaux (dix essais). La méta-analyse Cochrane sur l'effet de l'ITSC dans la rhinite allergique [8] a également analysé les effets sur les symptômes bronchiques à partir de cinq études et quatre cent vingt-neuf patients, et obtenu une taille de l'effet : –0,59 [–1,06, –0,11].

La durée de l'ITS doit en général être de trois ans pour garantir son efficacité à long terme après son arrêt [1, 2].

Deux études ont montré que les extraits d'allergènes recombinants contre les pollens de graminées [19] et de bouleau [20] étaient efficaces sur les symptômes de rhinite. De nouvelles formes d'immunothérapie sous-cutanée ultra-rapide utilisant le lipide A monophosphorylé ont récemment été testées [21]. Des extraits adjuvés aux séquences d'ADN CpG sont également à l'essai, mais il faudra davantage de données pour définir leur efficacité et leur innocuité [2].

Tolérance

L'ITSC est associée à un risque d'effets secondaires systémiques. Ce risque est accru chez l'asthmatique [1, 2]. De nombreuses études publiées récemment font encore état d'effets secondaires avec des extraits standardisés, des allergoïdes ou des allergènes recombinants [1, 2, 8]. La méta-analyse Cochrane sur l'effet de l'ITSC dans la rhinite allergique [8] a également analysé les effets secondaires à partir de trente-trois

études et mille neuf cent-huit patients. Respectivement 8 % et 7 % des patients du groupe traité ont eu des réactions de grades II et III. Concernant les réactions de grade IV, 0,72 % des patients en ont souffert (soit trois patients dans le groupe traité vs 1 dans le groupe placebo) et l'adrénaline a été nécessaire pour 0,13 % des injections (19/14 085 dans le groupe traité vs 1/8 278 dans le groupe placebo). Certains patients peuvent manifester des effets secondaires systémiques avec des injections contenant de 5 à 20 μg d'allergène(s) majeur(s) considérée comme optimale pour la plupart des extraits allergéniques [1, 2]. Des études de surveillance post-commercialisation sont nécessaires.

Les réactions systémiques se différencient en réactions immédiates (dans les trente minutes) et réactions différées (débutant plus de trente minutes après l'injection). Le groupe de travail de l'EAACI sur l'ITS, en collaboration avec l'AAAAI, retravaille sur la classification actuelle de ces réactions, classification basée sur la vitesse d'apparition et la sévérité des symptômes (Tableau 3).

Tableau 3. Classification des réactions systémiques induites par l'ITS (d'après la référence [2])

0 : Aucun symptôme, ou aucun symptôme imputable à l'immunothérapie
I : Réactions systémiques bénignes
Symptômes : Urticaire localisée, rhinite ou asthme léger (baisse du débit de pointe < 20 % par rapport aux valeurs habituelles)
II : Réactions systémiques modérées
Symptômes : Déclenchement lent (>15 min) d'une urticaire généralisée et/ou d'un asthme modéré (baisse du débit de pointe < 40 % par rapport aux valeurs habituelles)
III : Réactions systémiques sévères (sans risque vital)
Symptômes : Survenue rapide (<15 min) d'une urticaire généralisée, d'un angiœdème ou d'un asthme sévère (baisse du débit de pointe > 40 % par rapport aux valeurs habituelles)
IV : Choc anaphylactique
Symptômes : Réaction immédiate de prurit, rougeur, érythème, urticaire généralisée, stridor (angiœdème laryngé), asthme immédiat, hypotension, etc.

Il a été démontré qu'un prétraitement par anti-H1 par voie orale au cours de la phase d'induction réduisait la fréquence et la gravité des effets secondaires systémiques [2].

Indications

Les recommandations internationales [1, 2] proposent de recourir à la désensibilisation spécifique dans la pollinose lorsque celle-ci est sévère et/ou prolongée, qu'elle est mal contrôlée par le traitement pharmacologique adéquat ou que ce traitement est refusé par le patient ou entraîne des réactions secondaires importantes. Dans la rhinite persistante, la désensibilisation est surtout indiquée lorsqu'il existe un asthme léger ou modéré associé.

Un certain nombre de conditions préalables à la mise sous ITS doivent être remplies (Tableau 4).

Tableau 4. — Considérations pour la mise en place d'une immunothérapie (adapté selon les références [1, 2])

1. Présence d'une maladie IgE médiée diagnostiquée :
   Tests cutanés positifs et/ou présence d'IgE sériques spécifiques
2. Démonstration de l'intervention d'une sensibilité spécifique dans les symptômes :
   Exposition aux allergènes déterminés par les tests d'allergie associée à l'apparition des symptômes
   Au besoin, test de provocation aux allergènes en question et aide récente des IgE recombinantes
3. Caractérisation d'autres facteurs déclenchants pouvant être impliqués dans les symptômes
4. Sévérité et durée des symptômes
   Symptômes subjectifs
   Paramètres objectifs, par ex. absentéisme au travail ou scolaire
   Fonction respiratoire (essentielle chez les asthmatiques) : exclusion des patients atteints d'asthme sévère
   Surveillance de la fonction respiratoire
5. Réponse des symptômes à la pharmacothérapie
6. Disponibilité d'extraits standardisés ou de bonne qualité
7. Contre-indications
   Traitement par les β-bloquants
   Autre maladie immunologique
   Observance impossible (des injections ou de la surveillance pendant trente minutes après chaque injection)
   Début d'une immunothérapie avec des pneumallergènes pendant une grossesse connue
8. Facteurs socio-économiques : Coût
   Activité professionnelle du candidat
9. Preuves objectives d'efficacité de l'immunothérapie à l'allergène sélectionné (disponibilité d'études contrôlées randomisées)

Les indications de l'immunothérapie sous-cutanée n'ont pas changé par rapport à celles publiées en 1998 [1] et 2008 [2] (Tableau 5). Les indications et contre-indications de l'ITS sont les mêmes pour les enfants de plus de cinq ans que pour les adultes [1, 2].

Tableau 5. — Indications de l'immunothérapie sous-cutanée (d'après la référence [2])

Patients présentant des symptômes induits principalement par l'exposition aux allergènes
Patients ayant une saison prolongée ou présentant des symptômes induits par des saisons polliniques successives
Patients souffrant de rhinite et d'atteintes des voies respiratoires inférieures pendant le pic d'exposition aux allergènes
Patients chez lesquels les antihistaminiques et les glucocorticoïdes locaux à dose modérée ne suffisent pas à bien contrôler les symptômes
Patients qui ne souhaitent pas suivre une pharmacothérapie constante ou de longue durée
Patients chez lesquels la pharmacothérapie induit des effets indésirables

Les médecins, infirmières et personnels de santé doivent être formés notamment sur la surveillance et le traitement d'urgence des réactions anaphylactiques systémiques. Une réserve d'adrénaline doit être facilement disponible.

L'évaluation économique de l'ITS par rapport au traitement symptomatique de la rhinite allergique a été modélisée en Allemagne et en France [22, 23]. L'ITS s'est avérée plus économique grâce à ses effets à long terme.

Histoire naturelle de la maladie allergique

L'ITSC modifie le cours naturel de la maladie allergique [1, 2]. Son efficacité persiste au long cours après l'arrêt du traitement [24]. Chez les enfants monosensibilisés, elle peut empêcher le développement de nouvelles sensibilisations [25] et l'apparition de l'asthme chez les patients souffrant de rhinite dans une étude ouverte avec dix ans de suivi après arrêt de l'ITS [26]. Une étude rétrospective chez l'adulte porteur de rhinite allergique va également dans le même sens [27].

Immunothérapie sublinguale

L'immunothérapie sublinguale (ITSL) est actuellement commercialisée dans de nombreux pays : Europe, Argentine, Brésil, pays du Golfe Persique et Afrique du Sud. La plupart des extraits sont standardisés par des méthodes biologiques ou immunologiques, et les taux du ou des allergènes majeurs par microgramme sont indiqués. L'administration peut se faire sous forme de gouttes ou de comprimés. Les deux comprimés de pollens de graminées ont obtenu une Autorisation de Mise sur le Marché en Europe.

Efficacité

Dans la rhinite allergique, l'efficacité de l'ITSL a été démontrée par trois méta-analyses [9, 10, 12]. La première [9] a recensé vingt-deux études publiées entre 1990 et 2002 et incluant 979 patients. Un effet global statistiquement significatif a été retrouvé sur les symptômes (vingt et une études, 959 patients, taille de l'effet : –0,42 [IC95 % : –0,69, –0,15]) et la consommation médicamenteuse (dix-sept études, 803 patients, taille de l'effet : –0,43 [–0,63, –0,23]). Cet effet n'a pas été retrouvé dans le sous-groupe des cinq études pédiatriques. Une récente actualisation par le même groupe de la Cochrane Collaboration a inclus trente-neuf études publiées de 1990 à 2006 et 2 746 patients [12]. Elle confirme les résultats de la première étude avec un intervalle de confiance plus étroit : –0,43 [taille de l'effet, IC95 % : –0,57, –0,28] sur les symptômes et –0,41 [taille de l'effet, IC95 % : –0,55, –0,28] sur la consommation médicamenteuse. Le nombre suffisant cette fois-ci d'études a permis l'analyse en sous groupes démontrant cet effet aussi bien dans la rhinite allergique saisonnière que perannuelle et quelle que soit la durée du traitement ; cependant, les durées de traitement d'au moins un an ont donné des résultats supérieurs (-0,70 [taille de l'effet, IC95 % : –1,19, –0,21] sur les symptômes et –0,44 [taille de l'effet, IC95 % : –0,84, –0,04]). Une méta-analyse s'est spécifiquement intéressée aux études pédiatriques [10]. Dix études en double aveugle contre placebo, publiées entre 1990 et 2004, et 484 enfants ont été inclus. Cette méta-analyse a démontré un effet statisti-

quement significatif à la fois sur les symptômes (taille de l'effet : –0,56 [IC95 % : –1,01, –0,10]) et la consommation médicamenteuse (–0,76 [–1,46, –0,06]). Les études d'une durée de traitement d'au moins dix-huit mois étaient plus efficaces.

L'arrivée sur le marché des comprimés d'ITSL change complètement la donne. Les grandes études de phase III publiées et en cours pour asseoir leurs efficacité et sécurité devraient permettre de lever l'hétérogénéité retrouvée dans les études avec l'ITSL en gouttes. Avec un protocole quasi identique (en ce qui concernent les critères d'inclusion, le début du traitement quatre mois avant la saison pollinique supposée et une durée de traitement d'un an), des études cliniques pivots portant sur plus de 1 200 patients chez l'adulte [28-30] et sur plus de 500 patients chez l'enfant [31, 32], ont démontré de façon convaincante que l'ITSL avec des comprimés était efficace dans le traitement de l'allergie aux pollens de graminées (Tableau 6). La qualité de vie des patients sous ITSL est apparue améliorée [30, 33]. La taille de ces études permet des analyses en sous groupes montrant par exemple que l'effet est identique chez les patients mono et polysensibilisés, et entre ceux avec ou sans asthme associé [34]. D'autres études à grands effectifs de confirmation, d'optimisation des protocoles et d'analyse des effets rémanents de l'ITSL comprimés aux pollens de graminées sont en cours. A la lumière de ces études, il est intéressant de noter qu'une faible dose (25 000 SQ-T, 100 IR équivalent de 5-7 μg d'allergène Phl p. 5 par jour) est inefficace et qu'il faut une dose quotidienne d'environ 15-25 μg d'allergène majeur Phl p 5 pour obtenir un résultat. Une dose plus élevée (de 33-40 μg d'allergène majeur Phl p 5 par jour) n'a pas été plus efficace dans une étude [30].

Dans l'asthme allergique, vingt-cinq études publiées de 1991 à 2005 portant sur 1 706 patients ont été incluses dans une méta-analyse de l'ITSL [11]. Il est apparu que l'ITSL réduisait significativement la sévérité de l'asthme si l'on analysait toutes les compositions de paramètres par résultats catégorisés, a fortiori si on fusionnait l'ensemble des symptômes allergiques respiratoires hauts et bas (taille de l'effet : –1,18 [IC95 % : –1,93, –0,43]). L'effet sur l'asthme lui-même n'était pas statistiquement significatif, à la fois sur les symptômes (taille de l'effet : –0,38 [IC95 % : –0,79, 0,03]) et la consommation médicamenteuse (taille de l'effet : –0,91 [IC95 % : –1,94, 0,12]). La méthodologie de cette étude est remise en question. Une récente méta-analyse s'est focalisée sur l'asthme allergique de l'enfant âgé de trois à dix-huit ans [13]. Neuf études publiées entre 1990 et mai 2006 ont été incluses et concernaient 441 patients. L'effet était significatif à la fois sur les symptômes d'asthme (taille de l'effet : –1,14 [IC95 % : –2,10, –0,18]) et la consommation médicamenteuse pour asthme (taille de l'effet : –1,63 [IC95 % : –2,83, –0,44]). Là encore l'hétérogénéïté entre les études est importante et nous attendons les résultats des grandes études en cours avec des comprimés d'ITSL (d'extraits d'acariens). L'effet sur les symptômes d'asthme saisonnier aux pollens de graminées a été analysé dans l'étude pédiatrique sus-citée [31] : une réduction de 64 % par rapport au groupe placebo a été observée.

TABLEAU 6. — Résultats des grandes études pivots d'ITSL comprimés aux pollens de graminées

Nbre patients ITSL/placebo	**Dose**	**Age** (moy)	**Symptômes**[1] (moy SLIT)	**Symptômes**[1] (moy placebo)	**Réduction** (moy)	**Sympt**[2] (médiane)	**Réduction médic**[2] (médiane)	**Référence**
Adultes								
153/150	75000SQ-T	36,5	2,47	2,93	-16		-28	29
316/318	75000SQ-T	34,5	2,85[3]	4,14[3]	-31[3]	-34[3]	-53[3]	28
155/156	300IR	29,1	3,58	4,93	-28[3]	-37	-63[3]	30
Enfants								
126/127	75000SQ-T	10,1	3,36	4,29		-28	-65	31
131/135	300IR	10,9	3,25	4,51	-28	-39	-49	32

[1] La saison pollinique est définie de façon variable selon les études. Sont montrés ici les symptômes pendant la saison pollinique définie par plus de 30 grains/m^3 d'air ;
[2] % par rapport au placebo ;
[3] Ces chiffres ont été revus dans le dossier d'AMM par les autorités

Tolérance

La bonne tolérance de l'ITSL a été démontrée chez l'adulte et l'enfant par plusieurs publications [2, 35], leur méta-analyse [9-13] et par les données de surveillance post-commercialisation [36].

Des effets secondaires locaux ont été décrits au cours des essais cliniques chez 60-85 % des patients, notamment des démangeaisons et un gonflement des lèvres et du plancher de la bouche, de courte durée (quatre à dix jours). Ces effets ne sont pas toujours plus fréquents dans les études à haute dose : 5 000 versus 25 000 SQ-T par jour [29] mais pas davantage entre 25 et 75 000 SQ-T par jour [29] ou 100 versus 300 et même 500 IR par jour [30]. En règle générale, ils ne sont pas sévères, ne nécessitent pas de traitement médicamenteux ni de modification de la dose, et disparaissent souvent au cours du traitement.

Dans quelques essais cliniques, des réactions systémiques telles que de l'urticaire ou de l'asthme ont été observées, avec toujours une résolution spontanée. Ces réactions peuvent dépendre de la dose et de l'allergène [2]. Quatre cas cliniques de réaction anaphylactique consécutive à une ITSL ont été publiés [2]. Cependant, l'un concernait un cas d'immunothérapie au latex, l'autre un extrait multiallergénique mal défini et un troisième un surdosage manifeste.

Dans la mesure où l'ITSL est administrée au patient à domicile, il importe de prendre les précautions suivantes [2] :

- donner au patient (ou aux parents dans le cas d'enfants) des instructions écrites claires et simples [37] sur la conduite à tenir en cas de réaction indésirable, et
- conserver les comprimés ou gouttes d'allergènes en lieu sûr, hors de portée des enfants.

Indications

L'ITSL est efficace sur la rhinite et l'asthme induits par les pollens (bouleau, cyprès, graminées, olivier, pariétaire) et par les acariens. Le Tableau 7 donne les indications de l'ITSL.

Tableau 7. — Indications de l'immunothérapie sublinguale (d'après référence [2])

L'immunothérapie sublinguale spécifique à forte dose peut être indiquée dans les cas suivants :
• Patients précisément sélectionnés souffrant de rhinite, de conjonctivite et/ou d'asthme causés par une allergie aux pollens ou aux acariens
• Patients insuffisamment contrôlés par la pharmacothérapie conventionnelle
• Patients ayant manifesté des réactions systémiques lors d'une immunothérapie spécifique par injections
• Patients ayant des problèmes d'observance pour l'immunothérapie par injections, ou refusant les injections

Confrontation des immunothérapies sublinguale et sous-cutanée

Les études comparant les deux modes d'administration sont rares [2]. Seules deux études étaient en double aveugle et placebo mais une seule avec double placébo (*double dummy*) [38] menée chez des patients atteints de rhinoconjonctivite causée par les pollens de bouleau. Dans cette étude, une différence significative a été mise en évidence entre les deux groupes actifs et le groupe placebo, en termes d'importance des symptômes et de prise de médicaments, mais le nombre de sujets étudiés ne permettait pas de détecter une éventuelle différence entre les deux groupes actifs.

Les doses cumulées d'allergène utilisées en ITSL dans ces différentes études s'échelonnaient entre quatre vingt-six et deux cent dix-neuf fois [38] celles utilisées en ITSC. A la lumière des grandes études ITSL comprimés il est maintenant démontré que des doses cumulées 17 [28] à 27 [29] fois la dose utilisée en ITSC sont efficaces.

Histoire naturelle de la maladie allergique

L'ITSL peut aussi avoir un effet sur le cours naturel de la maladie [2], démontré par la présence d'un effet rémanent à l'arrêt de l'ITSL [39, 40], la prévention d'un asthme chez le rhinitique [41] et le frein au développement de nouvelles sensibilisations [42], mais des travaux supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces données.

Deux grandes études ITSL comprimés pollens de graminées sont en cours afin de répondre de façon certaine à la question de l'effet rémanent après arrêt du traitement.

CONCLUSION

Les résultats récents des grandes études d'ITSL comprimé vont au delà des études et méta-analyses d'études antérieures. Ces résultats renforcent la notion selon laquelle l'ITS doit faire partie de l'arsenal thérapeutique de prise en charge des maladies allergiques respiratoires. Un positionnement explicite de l'ITS, certainement pour les patients rhinitiques les plus sévères, mal contrôlés par les traitements pharmacologiques, et dont l'asthme est soit absent soit léger à modéré doit être trouvé. 300 000 patients sont concernés actuellement en France avec 100 000 nouveaux patients par an. Un positionnement étroit de l'ITS sur un besoin thérapeutique non adressé par les traitements symptomatiques devrait permettre de mieux aborder la notion de coût.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Bousquet J., Lockey R., Malling H.J. — and the who panel members. — Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A who position paper. *J. Allergy Clin. Immunol.,* 1998, *102*, 558-562.

[2] Bousquet J., Khaltaev N., Cruz A.A. *et al.* — Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy*, 2008, *63*, S8-160.

[3] Akdis C.A., Akdis M. — Mechanisms and treatment of allergic disease in the big picture of regulatory T cells. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2009, *123*, 735-746.

[4] Noon L. — Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet,* 1911, *i,* 1572-1573.

[5] EMEA. — Guideline on the clinical development of products for specific immunotherapy for the treatment of allergic diseases. London, 20 November 2008. Doc. Ref. CHMP/EWP/18504/2006. http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/ewp/1850406enfin.pdf

[6] Braun J.J., Devillier P., Wallaert B. *et al.* — Rhinite Allergique : recommandation pour le diagnostic et la prise en charge (épidémiologie et physiopathologie exclues) RPC : RA 2007-2009. *Rev. Fr. Allergol.,* 2009, sous presse.

[7] Abramson M.J., Puy R.M., Weiner J.M. — Allergen immunotherapy for asthma. *Cochrane Database Syst. Rev.,* 2003, *4*, CD001186.

[8] Calderon M.A., Alves B., Jacobson M., Hurwitz B., Sheikh A., Durham S. — Allergen injection immunotherapy for seasonal allergic rhinitis. *Cochrane Database Syst. Rev.,* 2007, *1*, CD001936.

[9] Wilson D.R., Lima M.T., Durham S.T. — Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis: systematic review and meta-analysis. *Allergy*, 2005, *60*, 4-12.

[10] Penagos M., Compalati E., Tarantini F. *et al.* — Efficacy of sublingual immunotherapy in the treatment of allergic rhinitis in pediatric patients 3 to 18 years of age: a meta-analysis of randomized, placebo-controlled, double-blind trials. *Ann. Allergy Asthma Immunol.,* 2006, *97*, 141-148.

[11] Calamita Z., Saconato H., Pela A.B., Attalah A.N. — Efficacy of sublingual immunotherapy in asthma: systematic review of randomized-clinical trials using the Cochrane Collaboration method. *Allergy*, 2006, *61*, 1162-1172.

[12] Radulovic S., Calderon M., Wilson S., Durham S. — Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis: An updated Cochrane systematic review and meta-analysis. *Allergy*, 2007, *62*, 263.

[13] Penagos M., Passalaqua G., Compalati E. *et al.* — Metaanalysis of the efficacy of sublingual immunotherapy in the treatment of allergic asthma in pediatric patients, 3 to 18 years of age. *Chest*, 2008, *133*, 599-609.

[14] Neukirch F., Pin I., Knani J. *et al.* — Prevalence of asthma and asthma-like symptoms in three French cities. *Respir. Med.,* 1995, *89*, 685-692.

[15] Bauchau V., Durham S.R. — Prevalence and rate of diagnosis of allergic rhinitis in Europe. *Eur. Respir. J.,* 2004, *24*, 758-764.

[16] Demoly P., Didier A., Mathelier-Fusade P. *et al.* — Physician and patient survey of allergic rhinitis in France perceptions on prevalence, severity of symptoms, care management: and specific immunotherapy. *Allergy*, 2008, *63*, 1008-1114.

[17] Abramson M., Puy R., Weiner J. — Is allergen immunotherapy effective in asthma? Ameta-analysis of randomised controlled trials. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.,* 1995, *151*, 969-974.

[18] Abramson M., Puy R., Weiner J. — Immunotherapy in asthma: an updated systematic review. *Allergy*, 1999, *54*, 1022-1041.

[19] Jutel M., Jaeger L., Suck R., Meyer H., Fiebig H., Cromwell O. — Allergen-specific immunotherapy with recombinant grass pollen allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.,* 2005, *116*, 608-613.

[20] Pauli G., Larsen T.H., Rak S. *et al.* — Efficacy of recombinant birch pollen vaccine for the treatment of birch-allergic rhinoconjunctivitis. *J. Allergy Clin. Immunol.,* 2008, *122*, 951-960.

[21] McCormack P.L., Wagstaff A.J. — Ultra-short-course seasonal allergy vaccine (Pollinex Quattro). *Drugs*, 2006, *66*, 931-938.

[22] Schadlich P.K., Brecht J.G. — Economic evaluation of specific immunotherapy versus symptomatic treatment of allergic rhinitis in Germany. *Pharmacoeconomics*, 2000, *17*, 37-52.

[23] Omnes L.F., Bousquet J., Scheinmann P. *et al.* — Pharmacoeconomic assessment of specific immunotherapy versus current symptomatic treatment for allergic rhinitis and asthma in France. *Eur. Ann. Clin. Immunol.,* 2007, *39*, 148-156.

[24] Durham S.R., Walker S.M., Varga E.M. *et al.* — Long-term clinical efficacy of grass-pollen immunotherapy. *N. Engl. J. Med.,* 1999, *341*, 468-475.

[25] Des-Roches A., Paradis L., Ménardo J.-L., Bouges S., Daurès J.-P., Bousquet J. — Immunotherapy with a standardized Dermatophagoides pteronyssinus extract. VI. Specific immunotherapy prevents the onset of new sensitizations in children. *J. Allergy Clin. Immunol.,* 1997, *99*, 450-453.

[26] Niggemann B., Jacobsen L., Dreborg S. *et al.* — Five-year follow-up on the PAT study: specific immunotherapy and long-term prevention of asthma in children. *Allergy*, 2006, *61*, 855-859.

[27] Polosa P., Al-Delaimi W.K., Russo C., Picillo G., Sarvà M. — Greater risk of incident asthma cases in adults with allergic rhinitis and effect of allergen immunotherapy: a retrospective cohort study. *Respir. Res.,* 2005, *6*, 153.

[28] Dahl R., Kapp A., Colombo G. *et al.* — Efficacy and safety of sublingual immunotherapy with grass allergen tablets for seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *J. Allergy Clin. Immunol.,* 2006, *118*, 434-440.

[29] Durham S.R., Yang W.H., Pedersen M.R., Johansen N., Rak S. — Sublingual immunotherapy with once-daily grass allergen tablets: a randomized controlled trial in seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *J. Allergy Clin. Immunol.,* 2006, *117*, 802-809.

[30] Didier A., Malling H.J., Worm M. *et al.* — Optimal dose, efficacy, and safety of once-daily sublingual immunotherapy with a 5-grass pollen tablet for seasonal allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.,* 2007, *120*, 1338-1345.

[31] Bufe A., Eberle P., Franke-Beckmann E. *et al.* — Safety and efficacy in children of an SQ-standardized grass allergen tablet for sublingual immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol.,* 2009, *123*, 167-173.

[32] Wahn U., Tabar A., Kuna P. *et al.* — Efficacy and safety of 5-grass-pollen sublingual immunotherapy tablets in pediatric allergic rhinoconjunctivitis. *J. Allergy Clin. Immunol.,* 2009, *123*, 160-166.

[33] Rak S., Yang W.H., Pedersen M.R., Durham S.R. — Once-daily sublingual allergen-specific immunotherapy improves quality of life in patients with grass pollen-induced allergic rhinoconjunctivitis: a double-blind, randomised study. *Qual. Life Res.,* 2007, *16*, 191-201.

[34] Malling H.J., Montagut A., Melac M., Patriarca G., Panzner P., Seberova E., Didier A. — Efficacy and safety of 5-grass pollen sublingual immunotherapy tablets in patients with different clinical profiles of allergic rhinoconjunctivitis. *Clin. Exp. Allergy,* 2009, *39*, 387-393.

[35] André C., Vatrinet C., Galvain S., Carat F., Sicard H. — Safety of sublingual-swallow immunotherapy in children and adults. *Int. Arch. Allergy Immunol.,* 2000, *121*, 229-234.

[36] Di Rienzo V., Pagani A., Parmiani S., Passalacqua G., Cananica G.W. — Post-marketing surveillance study on the safety of sublingual immunotherapy in pediatric patients. *Allergy*, 1999, *54*, 1110-1113.

[37] Demoly P., André C. — Information and consent forms for sublingual immunotherapy. *Clin. Allergy Immunol.*, 2008, *2*, 527-534.

[38] Khinchi M.S., Poulsen L.K., Carat F., André C., Hansen A.B., Malling H.J. — Clinical efficacy of sublingual and subcutaneous birch pollen allergen-specific immunotherapy: a randomized, placebo-controlled, double-blind, double-dummy study. *Allergy*, 2004, *59*, 45-53.

[39] Di Rienzo V., Marcucci F., Puccinelli P. *et al.* — Long-lasting effect of sublingual immunotherapy in children with asthma due to house dust mite: a 10-year prospective study. *Clin. Exp. Allergy*, 2003, *33*, 206-210.

[40] Ott H., Sieber J., Brehler R. *et al.* — Efficacy of grass pollen sublingual immunotherapy for three consecutive seasons and after cessation of treatment: the ECRIT study. *Allergy*, 2009, *64*, 179-186.

[41] Novemnbre E., Galli E., Landi F. *et al.* — Coseasonal sublingual immunotherapy reduces the development of asthma in children with allergic rhinoconjunctivitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004, *114*, 851-857.

[42] Marogna M., Spadolini I., Massolo A., Canonica G.W., Passalacqua G. — Randomized controlled open study of sublingual immunotherapy for respiratory allergy in real-life: clinical efficacy and more. *Allergy*, 2004, *59*, 1205-1210.

DISCUSSION

M. Christian NEZELOF

Avez-vous observé des modifications des taux circulants de T.Régulateur ?

L'apparition de lymphocytes T régulateurs, principalement $CD4^+CD25^+$ a en effet été démontrée et est considérée comme le mécanisme principal d'action de l'immunothérapie spécifique.

M. Claude DREUX

Pensez-vous que l'éducation thérapeutique permettant une amélioration de l'observance, est d'un grand intérêt dans l'immunothérapie spécifique aux allergènes appliqués aux rhinites allergiques, à l'asthme ?

L'éducation est un élément clé de la prise en charge thérapeutique de toutes les maladies chroniques. Rhinite et asthme allergiques sont parmi les maladies chroniques les plus fréquentes et l'observance thérapeutique n'est pas meilleure ici que pour d'autres maladies chroniques. Ainsi, lorsqu'un traitement sophistiqué comme une immunothérapie spécifique est proposé, il doit être particulièrement expliqué et les outils de l'éducation thérapeutique sont les bienvenus.

M. Pierre DELAVEAU

Vous êtes-vous préoccupé de plusieurs plantes dont la Pariétaire, l'Olivier et l'Ambroisie, particulièrement étudiées dans la région lyonnaise ?

Plusieurs études en double aveugle contre placébo ont bien montré l'efficacité de l'immunothérapie spécifique chez des patients souffrant de rhinite allergique aux pollens de Pariétaire, d'Olivier et d'Ambroisie, pollens extrêmement invalidants dans plusieurs régions d'Europe.

M. Jean-Pierre NICOLAS

L'immunothérapie spécifique présente-t-elle des effets secondaires et des facteurs de risque ? Si tel est le cas, quelles recommandations préconisez-vous ?

La voie sous-cutanée est source d'anaphylaxie et d'asthme, parfaitement contrôlables lorsque les indications, non indications et précautions d'emploi sont respectées. L'immunothérapie spécifique par voie sublinguale est nettement moins génératrice de tels effets secondaires systémiques, et notamment aucun choc anaphylactique n'a été décrit dans les études cliniques et les études post-AMM. Il convient cependant de maintenir la vigilance pharmacologique habituelle a fortiori si cette thérapeutique se répand.

M. Bernard PESSAC

Que sait-on du processing moléculaire des allergènes administrés par voie sublinguale ?

Les cellules dendritiques buccales expriment le récepteur de forte affinité aux IgE et sont parfaitement capables de prendre en charge les allergènes déposés et de les présenter aux lymphocytes T régionaux.

M. Claude MOLINA

Que pensez-vous de l'immunothérapie multi-allergénique (avec deux ou trois allergènes distincts), comme de nombreux allergologues la pratiquent ? Dans la prise en charge globale du traitement des maladies allergiques, que pensez-vous de la polémique concernant les mesures d'éviction (contre la poussière et les acariens par exemple, dont l'efficacité et l'utilité sont mises en doute) ?

Les études n'ont pas démontré l'efficacité d'une telle association thérapeutique, pourtant répandue. Cependant, aucune étude n'a vraiment cherché à répondre correctement à cette question. Les doubles allergies aux pollens d'arbre et de graminées sont par exemple fréquentes et à défaut d'avoir démontré correctement l'efficacité d'une double immunothérapie, certaines ont démontré l'absence d'effets secondaires surajoutés.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1147-1164, séance du 12 mai 2009

INFORMATION

Une introduction à la médecine évolutionniste. L'évolution biologique, grande absente de l'enseignement médical

Mots-clés : Évolution. Infection. Maladies auto-immunes. Hypersensibilité. Obésité. Interleukine-10. Diabète. Sociobiologie

Evolutionary medicine an introduction. Evolutionary biology, a missing element in medical teaching

Key-words (Index medicus) : Evolution. Infection. Autoimmune diseases. Hypersensitivity. Obesity. Interleukine-10. Diabetes mellitus. Sociobiology

Bernard SWYNGHEDAUW *

RÉSUMÉ

Le but de cette brève mise au point est d'essayer de réconcilier médecine et évolution biologique et de contribuer à la promotion de ce type d'enseignement. Par médecine évolutionniste on entend tout ce qui résulte du conflit entre notre génome tel qu'il a été façonné par un environnement souvent hostile durant des millions d'années et l'environnement actuel qui a été modifié par l'activité humaine dans ce qu'elle a à la fois de bénéfique mais aussi de délétère. L'évolution biologique est un processus irréversible, en cours, discontinu, caractérisé par des périodes de stase, suivies de ponctuations. Elle a un déterminant, les mutations géniques, et procède de deux manières, par pression sélective Darwinienne et au hasard des dérives génétiques. Le fait médical peut être considéré comme étant le résultat d'un conflit génome/environnement. Il peut n'être que génétique dans certaines maladies monogéniques, ou n'être qu'environnemental, après un accident grave par exemple. Néanmoins dans la très grande majorité des maladies dites communes le tableau clinique est défini par un conflit entre ces deux critères, le critère génétique étant généralement incomplètement décrypté. Trois exemples en ont été choisis. — Les conséquences médicales de l'effet de serre. L'absence de surmortalité après les récentes vagues de chaleur

* Membre correspondant de l'Académie nationale de médecine
DM, DSc, AIHP, Directeur de Recherches émérite à l'INSERM
INSERM U942. Hôpital Lariboisière, 41 Bd de la Chapelle, 75475, Paris Cedex 10
Bernard.Swynghedauw@inserm.fr

Tirés à part : Professeur Bernard Swynghedauw, même adresse
Article reçu le 15 janvier 2009, accepté le 11 mai 2009

suggère que l'élément déterminant en a été le coup de chaleur et l'âge. Les effets au long cours de l'élévation globale de la température mettent au premier plan la physiologie de la thermolyse, chapitre mal connu de la physiologie. — L'hypothèse hygiéniste postule l'existence d'un relation inverse entre la diminution des infections et l'accroissement exponentiel de l'incidence des maladies auto-immunes et allergiques. L'un des mécanismes proposé met en cause des éléments contre-régulateurs comme IL-10. — L'épidémie d'obésité et de diabète type 2 qui se développe en ce moment dans nos pays doit être considérée comme résultant d'un conflit entre un environnement trop riche en calories et des variants des gènes régulant l'appétit, variants qui sont en train d'être recensés par « genome-wide analysis », GWA. Considérer le fait médical à la lueur de l'évolution peut être une nouvelle manière d'établir les prémices d'une politique de santé globalisée.

SUMMARY

The aim of this brief review article is to help to reconcile medicine with evolutionary biology, a subject that should be taught in medical school. Evolutionary medicine takes the view that contemporary ills are related to an incompatibility between the environment in which humans currently live and their genomes, which have been shaped by different environmental conditions during biological evolution. Human activity has recently induced acute environmental modifications that have profoundly changed the medical landscape. Evolutionary biology is an irreversible, ongoing and discontinuous process characterized by periods of stasis followed by accelerations. Evolutionary biology is determined by genetic mutations, which are selected either by Darwinian selective pressure or randomly by genetic drift. Most medical events result from a genome/environment conflict. Some may be purely genetic, as in monogenic diseases, and others purely environmental, such as traffic accidents. Nevertheless, in most common diseases the clinical landscape is determined by the conflict between these two factors, the genetic elements of which are gradually being unraveled. Three examples are examined in depth: — The medical consequences of the greenhouse effect. The absence of excess mortality during recent heat waves suggests that the main determinant of mortality in the 2003 heatwave was heatstroke and old age. The projected long-term effects of global warming call for research on thermolysis, a forgotten branch of physiology. — The hygiene hypothesis postulates that the exponential rise in autoimmune and allergic diseases is linked to lesser exposure to infectious agents, possibly involving counter-regulatory factors such as IL-10. — The recent rise in the incidence of obesity and type 2 diabetes in rich countries can be considered to result from a conflict between a calorie-rich environment and gene variants that control appetite. These variants are currently being identified by genome-wide analysis. Biological evolution should be taken into account in future holistic health policies.

INTRODUCTION

Comprendre le fait médical à travers l'évolution biologique, réconcilier la médecine avec ce que la biologie a de plus essentiel est une démarche récente, quelques pionniers l'ont entreprise en jetant les bases d'une nouvelle discipline, la médecine évolutionniste (aussi qualifiée de darwinienne) [1-3]. Néanmoins enseigner l'évolution biologique n'est pas entré dans les mœurs pédagogiques des facultés de médecine en général [4] et des nôtres en particulier. Le but de cette brève mise au point est

d'essayer de réconcilier médecine et évolution biologique et surtout de contribuer à la promotion de ce type d'enseignement. Par médecine évolutionniste on entend tout ce qui résulte du conflit entre notre génome tel qu'il a été façonné par un environnement souvent hostile durant des millions d'années et l'environnement actuel qui a été modifié par l'activité humaine dans ce qu'elle a à la fois de bénéfique (suppression des famines, augmentation de la durée de vie...) mais aussi de délétère (suralimentation, effet de serre, pollution...).

« Rien en biologie n'a de sens en dehors de l'évolution » disait Dobzhansky [5] dans un aphorisme célèbre repris par SC Stearns dans son traité [6]. La théorie de l'évolution n'est plus une théorie mais une loi ou, si l'on préfère, un fait [7], et pour le médecin, le problème n'est pas d'émettre une nouvelle théorie évolutionniste comme cela a pu être fait [8-10], mais de replacer le fait médical dans ce cadre pour tenter de hiérarchiser le torrent d'informations biologiques qui nous submerge depuis l'avènement de la génomique [11]. C'est aussi une manière transversale de comprendre le fait médical en isolant les mécanismes les plus anciens et les plus essentiels, démarche riche en conséquences autant pour la pratique médicale que pour la recherche thérapeutique et pharmacologique.

Une vue purement Darwinienne de toute l'évolution basée sur la seule pression sélective et l'adaptation est maintenant difficile à défendre. — L'évolution neutre non adaptative, due au seul hasard, par simple dérive génétique, représente très probablement une partie importante du processus évolutif [12]. — Il y a des maladies génétiques, comme la drépanocytose, qui confèrent à ceux qui en souffrent un certain avantage, mais seulement dans un certain environnement (les pays d'endémie paludéenne pour la drépanocytose). — La complexité des interférences gènes/environnement et gènes/gènes, rend caduque toute tentative de simplification radicale, il faut par exemple tenir compte des symbioses que nous établissons avec les bactéries, parasites et virus qui nous infectent et dont les génomes évoluent et peuvent s'incorporer au génome humain ou en compléter l'activité sur un plan métabolique [13, 14]. — On connaît maintenant des mécanismes, en partie transmissibles, sans altérations de la structure du génome, les mécanismes épigénétiques. Ils jouent un rôle important dans le développement mais aussi dans nombre d'affections [15, 16].

Pour toutes ces raisons, médecine évolutionniste paraît préférable à médecine Darwinienne (terme généralement utilisé par les anglo-saxons) car, si géniale que fut l'intuition de Charles Darwin, le concept darwinien ne recouvre très probablement pas la totalité du fait évolutif et des relations entre médecine et évolution biologique.

L'évolution biologique en peu de mots

L'évolution biologique repose sur des fondements scientifiques solides et les controverses soulevées par les créationnistes ne sont pas de nature scientifique (voir la discussion in [7 et 17]) nonobstant le souhait de leurs initiateurs. Les preuves en sont

nombreuses, la preuve absolue étant l'existence d'un code génétique commun à tous les êtres vivants.

L'évolution est un processus irréversible, en cours, discontinu, caractérisé par des périodes de stase, suivies de ponctuations. L'évolution dépend directement d'un facteur génétique, les mutations, la sélection se faisant soit par la pression sélective Darwinienne, soit par le hasard soit par les deux [12]. L'expression phénotypique est pilotée par trois types de changements environnementaux : les variations climatiques, les grandes catastrophes d'origine volcanique ou météoritique (au moins cinq, la dernière il y a soixante-cinq millions d'années, Ma) qui aboutissent à l'extinction massive de nombreuses espèces, et les mouvements tectoniques des continents. Le temps est ici un facteur majeur. La vie est apparue sur Terre il y a 3,6-3,8 milliards d'années, Ga, et il a fallu encore quelques Ma, pour qu'apparaisse la première radiation, celle qui a donné naissance aux trois grands règnes du vivant, les Archeae, les Bactéries et les Eucaryotes [18]. Il a fallu ensuite plus de 3 Ga pour que se façonnent les premiers mammifères. La très grande majorité des espèces vivant actuellement datent de l'explosion cambrienne (-530 Ma). On peut calculer qu'il faut en moyenne 1 Ma pour qu'apparaisse une mutation fonctionnellement efficace.

Évolution et médecine

Le génotype n'est jamais que la manière dont chacun d'entre nous répond à son environnement, et la maladie n'est jamais qu'un phénotype résultant d'un conflit entre notre génome et son environnement. Le concept de norme de réaction génotypique [1], cher aux biologistes de l'évolution et aux généticiens [19], est un outil que l'on peut adapter à l'étude de la physiopathologie sous l'éclairage de l'évolution. Pour les biologistes de l'évolution, cet outil permet de quantifier la plasticité d'un phénotype face à des changements d'environnement, comme la température externe, et d'analyser ces effets sur différents génotypes (**Fig 1 b**). En médecine, le phénotype, ce peut être le trait clinique, qui dépend toujours des interactions entre génotype et environnement dont ils ne sont que l'expression, la maladie apparaissant pour un certain seuil (**Figure 1b**).

Il est des conditions dans lesquelles la pression génétique est tellement forte qu'elle détermine d'emblée la maladie pratiquement sans intervention de l'environnement, c'est le cas des maladies monogéniques homozygotes à pénétrance forte. A l'inverse une infection massive tuera par septicémie quelque soit les gènes de résistance que possède l'individu. La médecine de tous les jours ce sont tous les intermédiaires, les maladies dites communes (**Fig 1a**).

Les biologistes de l'évolution ont remarqué que, par exemple, la taille de la tête des *Daphnées* variait selon la lignée étudiée mais aussi en fonction de facteurs environnementaux comme les saisons. Ils avaient surtout remarqué que la réponse à l'effet

1. Ou « reaktion norm » (Woltereck 1909), on peut en trouver des dizaines d'exemple dans le livre de DeWitt (2004).

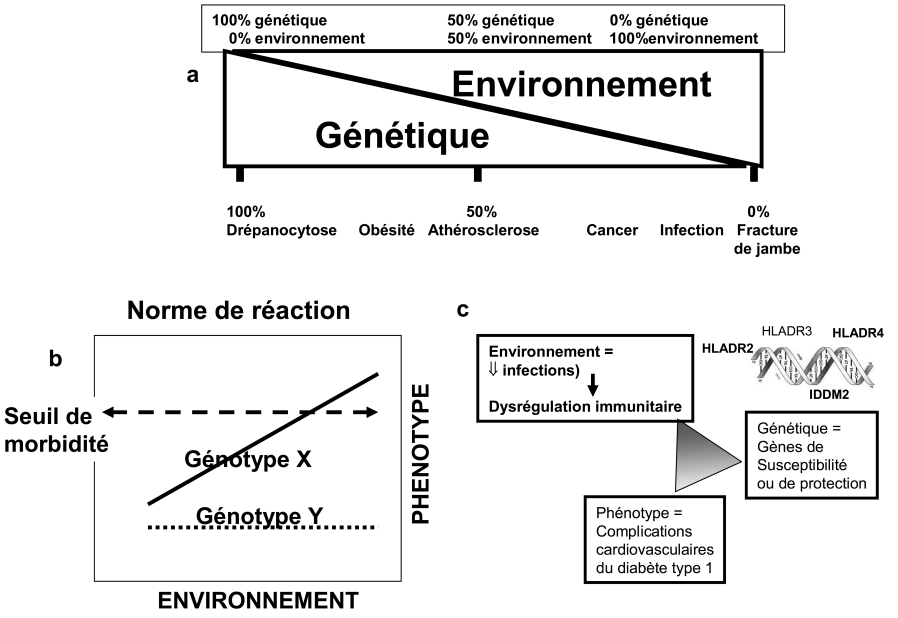


Fig. 1. — Le conflit génome/environnement est à la base de l'approche évolutionniste. (a) La pathologie courante se situe entre deux extrêmes, le tout génétique comme dans la drépanocytose ou la mucoviscidose, le tout environnemental comme dans la fracture de jambe. Les facteurs génétiques additifs jouent un rôle variable dans la pathologie courante, 60 % dans l'obésité, au moins 50 % dans la plupart des maladies autoimmunes, 30 % dans l'hypertension artérielle, un peu moins dans le cancer, encore moins dans la sensibilité aux infections. (b) Cette courbe schématise une norme de réaction, c'est-à-dire la relation phénotype/environnement propre à chaque génotype. En biologie de l'évolution, de telles courbes sont utilisées par exemple pour analyser les modifications apportées par exemple aux ailes des papillons en fonction de la température externe, ou encore, chez la Drosophile, celles de la forme de l'abdomen en fonction de l'état nutritionnel, il y en a des milliers d'exemples (De Witte 2004). La maladie, le diabète de type 1 par exemple, peut être conçue comme témoignant de l'existence d'un seuil, la dysrégulation du système immunitaire, à partir duquel apparaissent les signes cliniques. Le niveau de ce seuil dépend du génome et de sa structure. C'est l'objet actuel des recherches basées sur la « genome-wide analysis », GWA, qui permettent une analyse de l'ensemble du génome. (c) La triple relation phénotype/environnement/génotype dans le diabète de type 1. L'hypothèse hygiéniste postule que l'élément qui déclenche l'apparition des complications cardiovasculaires, est une dysrégulation du système immunitaire secondaire à la réduction de l'incidence des infections (au sens large du terme) (Bach 2002, Wills-Karp 2001, Yazdanbakhsh 2002). Ces complications n'apparaissent que dans un contexte génétique particulier lequel est en train d'être décrypté et dont quelques éléments sont figurés sur ce schéma (Nejentsev 2007, Todd 2007, The Wellcome Trust 2007).

environnemental n'était pas la même d'une lignée à l'autre. Woltereck [20], le premier, proposa pour décrire ces réponses de dresser des courbes phénotypiques ou normes de réaction (phénotype en fonction de l'effet environnemental pour différents génotypes). On peut, aussi bien en théorie qu'en pratique, définir, pour une variation environnementale donnée, des cas où les deux génotypes sont insensibles à l'environnement, d'autres où les deux génotypes réagissent de la même manière, d'autres où ils réagissent de façon opposée, d'autres enfin où seul l'un des génotypes réagit et pas l'autre. La nature offre des exemples dans tous les cas d'espèce [21]. On peut facilement transcrire ce type de courbes pour décrire le trépied génotype/environnement/phénotype (en médecine le phénotype c'est le trait clinique) (**Fig 1c**).

Des changements considérables dûs à l'activité humaine sont survenus dans l'environnement dans lequel nous baignons. Ils sont à la base de la médecine évolutionniste. On en donnera ci-après, quelques exemples en commençant par le plus simple, les conséquences de l'effet de serre, et en continuant par les plus fréquents à savoir l'explosion épidémique des maladies auto-immunes et allergiques et celle de l'obésité et du diabète de type 2. Il en est bien d'autres qui ne seront qu'évoqués par manque de place [22].

Conséquences médicales du réchauffement climatique

Données cliques et épidémiologiques

Le réchauffement climatique et son origine anthropogénique ne font plus guère de doute [23]. Ses conséquences médicales en termes épidémiologiques sont assez bien connues (le détail des références se trouve in [24 et 25]). — La simple élévation de la température moyenne du globe s'accompagne, en règle, d'une augmentation de la mortalité et de la morbidité globale. La courbe mortalité/température externe est une courbe en J, mais la pente de la branche chaude du J est plus prononcée que celle de la branche froide, ces données étant très dépendantes du niveau de vie. Une étude récente portant sur cinquante villes a confirmé que la mortalité globale, cardiovasculaire en particulier, augmente aux températures extrêmes. — Les effets des vagues de chaleur comme celle qui a touché la France en Août 2003 [26] et d'autres pays [27], ont fait l'objet de plusieurs études détaillées. Le fait que la mortalité due aux grosses vagues de chaleur d'Août 2003 n'ait pas (ou peu) été suivie d'une diminution de la mortalité (*harvesting effect*) suggère qu'il s'est agi d'un effet thermique direct, le coup de chaleur [28], indépendant du niveau de santé antérieur mais fortement lié à l'âge [29], et que, en d'autres termes, une telle mortalité reflète surtout les limites de nos capacités d'adaptation. — Les variations climatiques ont modifié la répartition (surtout en altitude) et la virulence des agents pathogènes parasites (dengue, paludisme...) et surtout de leurs vecteurs, cette modification a pu revêtir un aspect exponentiel dû à la biologie de certains parasites. — Les effets indirects dûs aux variations extrêmes du cycle de l'eau, aux changements dans la fréquence et l'intensité des cyclones tropicaux, aux changements de la biodiversité et de l'écosystème

ont eu et auront des conséquences en termes de pauvreté, facteur de risque médical considérable.

Mécanismes

Ces données posent un certain nombre de questions purement biologiques rarement soulevées. Le métabolisme des êtres vivants a en effet été façonné par un environnement relativement froid et les limites de son adaptation à un changement thermique, brutal à l'échelle de l'évolution, sont inconnues. La régulation de la température interne se fait dans l'immédiat au moyen de la sudation et de la vasodilatation cutanée laquelle en élevant le débit cardiaque peut expliquer les accidents cardiologiques dus à la chaleur. La régulation à long terme dépend essentiellement des nombreux mécanismes de découplage de l'oxydation phosphorylante mitochondriale [30]. A cela s'ajoutent les éléments responsables du coup de chaleur et en particulier la libération de cytokines pro-inflammatoires récemment mise en évidence [28]. Le degré d'adaptabilité de ces mécanismes à une élévation thermique est pour le moment totalement inconnu.

L'épidémie de maladies auto-immunes et allergiques

En réponse à une blessure, une infection ou un stress les tissus mettent en œuvre toute une batterie de signaux dont la finalité est la réparation du dommage causé et le rétablissement de l'homéostasie perturbée [31-34]. L'inflammation a été sélectionnée au cours de l'évolution parcequ'elle est d'abord adaptative, mais la réaction peut avoir des conséquences délétères surtout lorsqu'elle passe à la chronicité dans un environnement différent de celui pour lequel elle a été sélectionnée [34].

Données environnementales

L'incidence de maladies allergiques comme l'asthme, le rhume des foins ou la dermite atopique, et celle des maladies auto-immunes comme le diabète type 1, l'iléite de Crohn et le cadre très général des maladies inflammatoires de l'intestin, la sclérose en plaques a pratiquement doublé ou triplé depuis 1950. Géographiquement, l'incidence des maladies auto-immunes et allergiques diminue du Nord vers le Sud. Ce gradient est attribué à la conjonction statut économique faible + températures extérieures élevées. L'influence de l'environnement y est majeure. Le diabète de type 1 est par exemple une rareté au Pakistan (1 pour 100 000), par contre, il est devenu aussi fréquent chez les immigrants Pakistanais en Grande-Bretagne que chez les Britanniques d'origine (autour de 10-11 pour 100 000). L'incidence du diabète de type 1, comme celle de la sclérose en plaques et de l'asthme, sont très significativement corrélées au Produit Intérieur Brut, et ceci est lié à la qualité des soins et à la prévention des infections. La protection apportée par des infections extérieures, par exemple helminthiques, est également bien documentée. Une étude récente faite en Allemagne, Autriche et Suisse, dans une population rurale, a

démontré le lien causal existant entre le contact bactérien et l'incidence des maladies allergiques [35-40].

L'hypothèse hygiéniste repose sur la constatation que l'augmentation récente et massive de l'incidence des maladies auto-immunes et allergiques dans les pays développés est associée à la réduction des infections bactériennes, virales et/ou parasitaires. Elle a fait l'objet d'une revue très complète récente. Cette relation est négative et réversible. L'anti-parallélisme est à la fois chronologique et géographique et plusieurs mécanismes biologiques, crédibles, ont été proposés pour l'expliquer [35].

Tout le monde ne fait pas d'asthme ou de maladie de Crohn, il faut pour cela posséder un certain nombre de facteurs génétiques que l'on commence à connaître, même si le bilan en est encore incomplet [41]. Donnons-en deux exemples.

Données génétiques

Les maladies inflammatoires de l'intestin (dont la colite ulcérant et l'iléite de Crohn) ont toutes une composante génétique qui semble bien être responsable de la spécificité de l'affection [42-45]. Les progrès effectués en matière d'hygiène favoriseraient ce type d'affection en rendant la barrière intestinale moins préparée aux agressions et aux entrées bactériennes, mais l'association avec un ou plusieurs facteurs génétiques parait indispensable, et leur recensement est actuellement en cours. Les récents développements des techniques de « *Genome-Wide Analysis* », GWA, ont mis en évidence plusieurs associations fortes avec de nombreux partenaires de la cascade inflammatoire (surtout *NOD2,* mais aussi le récepteur de l'interleukine 23, *IL23R, MAGUK*, *OCTN1* et *2*, plusieurs composants du complexe majeur d'histocompatibilité, comme *HLA-DRB1*0103* et *DRB1*1502*, certains gènes contrôlant l'immunité innée comme *TLR4, TLR5* et CARD4, *ATG16L1* qui fait partie de l'autophagosome, et le récepteur des prostaglandines, *PTGER4*) [45-48].

Les gènes de susceptibilité liés au diabète de type 1 sont surtout les gènes du système *HLA* (génotype *IDDM1*, pour « *insulin dependent diabetes mellitus* », au locus *HLA-DR* et - *DQ (*chromosome 6p21-31), responsable de 50 % de la susceptibilité, et génotypes *IDDM2* pour le gène *insulin*, et *IDDM12* pour *CTLA-4*, responsables de 15 % de la susceptibilité ; la liste n'est pas limitative). Certains de ces gènes peuvent conférer une relative résistance au diabète. Deux études récentes, l'une *genome-wide* [49], l'autre centrée sur le système HLA [50] ont permis de préciser les gènes de susceptibilité nécessaires et suffisants pour que ce type de diabète apparaisse, HLA-A et HLA-B paraissant, pour l'instant, les plus déterminants [2].

Mécanismes

Le pourquoi de cette relation négative se doit de tenir compte de plusieurs facteurs comme la concentration et de la durée d'exposition, mais surtout il faut également

2. Le même type de résultats a été observé avec l'asthme. Le Lancet a consacré un numéro spécial entier à cette nouvelle manière de considérer cette affection [51, 52].

articuler le facteur environnemental à la composante génétique dont on ne connaît encore que partiellement les déterminants [35-40]. Une dysrégulation des mécanismes responsables de l'homéostasie immunitaire portant sur les mécanismes contre-régulateurs semble être l'explication privilégiée, ce n'est sûrement pas la seule [35, 53-55]. Toute infection chronique ou répétée entraîne la production (par plusieurs types de cellules différents) de composés contre-régulateurs dont le mieux documenté est IL-10 [3], mais il en est d'autres comme le monoxyde d'azote, NO et TGF-β. Ces contre-régulateurs vont d'une part réguler la réponse inflammatoire normale et d'autre part empêcher les réponses auto-immunes ou allergiques [37, 39].

La flore intestinale (ou microbiome, l'analyse de son « méta-génome » est en plein développement [13]) est un lieu privilégié pour une telle confrontation, et les cellules intestinales endothéliales sont une des sources majeurs d'IL-10. Les souris chez qui, par exemple, l'expression de cette cytokine a été bloquée par manipulation transgénique développent spontanément des inflammations intestinales chroniques en réponse à la flore intestinale normale, tout comme chez l'homme dans l'iléite de Crohn. Deux exemples peuvent en être donné parmi bien d'autres : chez des enfants parasités par les schistosomes il y a parallélisme entre la production de ce contre-régulateur et l'infection parasitaire ; le contenu en IL-10 du liquide de lavage bronchique des asthmatiques allergiques est particulièrement bas ; à l'inverse l'infection helminthique, le BCG augmentent la production de cette cytokine.

Pratiquer une hygiène excessive ou, à l'inverse, vivre par exemple dans une ferme peut, en principe, favoriser ou protéger contre les maladies allergiques mais ceci demande des précisions en termes de durée d'exposition et de type d'agression antigénique. Ces précisions manquent pour le moment. L'hypothèse hygiéniste a d'abord été proposée pour expliquer l'incidence des maladies allergiques, mais récemment il est devenu évident que les maladies auto-immunes et allergiques étaient jumelles et présentes chez un même patient et que leur origine était commune à la fois sur un plan épidémiologique et mécanistique [35, 37, 53, 54, 56] [4].

L'épidémie d'obésité sous l'angle évolutionniste

Données environnementales

Un consensus existe en 2009 pour recommander un régime alimentaire hypocalorique, pauvre en lipides et en sel associé à une activité physique régulière, lesquels sont en bien des points comparables au régime de nos lointains ancêtres, le régime dit

3. La synthèse d'IL-10 par les monocytes, les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules T et D est activée par la plupart des bactéries, cette cytokine est un signal « anti-danger » multivalent qui a de nombreux effets régulateurs complexes mais majoritairement anti-inflammatoires agissant à la fois sur les systèmes immunitaires innés et acquits.
4. Il existe par exemple une forte corrélation entre l'incidence du diabète type 1 et l'asthme. « La démarcation entre auto-immunité et allergie devient floue » [59].

« paléolithique » [5]. Cette ressemblance semble bien traduire une évolution vers une adaptation de l'environnement alimentaire à notre génome tel qu'il a été façonné par des millions d'années de disette et par l'absence de moyens de transport [57].

Chacun sait combien la nutrition est une discipline complexe, variable selon les cultures, une proie facile pour les charlatans. C'est aussi une science médicale en progrès, le point de rencontre de multiples facteurs psychologiques, familiaux, génétiques. La discipline est une des cibles de la biologie systémique par l'intermédiaire de la nutrigénomique (voir le numéro spécial de Nutrition, et [58]). En termes évolutionnistes, plutôt que nutrition, il faudrait mieux utiliser thermodynamique et parler ici de balance énergétique régulée par la satiété pour les entrées, par l'activité physique pour les sorties et par le tissu adipeux comme régulateur. Cette balance a, de fait, été complètement modifiée, tout au moins dans les pays développés, les entrées devenant régulières et illimitées voir excessives et les sorties étant réduites. Le tissu adipeux, régulateur du processus, devient prédominant, et l'obésité et toutes ses conséquences sont devenus un problème épidémiologique majeur. L'insulinorésistance est une des conséquences les plus connues de l'obésité [60].

Les nouvelles conditions de la nutrition sont au centre de la médecine évolutionniste. L'homme en 2006 doit se nourrir conformément à son capital génétique non seulement le capital métabolique qui a été sélectionné par le processus évolutif pendant des milliards d'années mais aussi le capital génétique de sa flore intestinale. Il n'y a pas d'aliments *a priori* meilleurs que les autres, il n'y a que des aliments que nous sommes à même de mieux métaboliser. On ne connaît ce capital génétique que depuis peu et personne ne s'est encore préoccupé de caractériser nos capacités métaboliques à partir de là.

Par contre, on a une idée assez précise des menus du paléolithique [57, 60, 61]. Les données dites « paléolithiques » sont à la fois issues de travaux faits par les paléontologues (on peut compter les graines ou les ossements animaux sur des sites paléolithiques) et par les ethnologues enquêtant sur des populations dont le mode de vie peut être considéré comme analogue à celui des hommes de l'âge de pierre. Les publications sur le sujet ont porté sur prés de soixante populations technologiquement primitives et ont démontré qu'en moyenne ces populations avaient une alimentation faite de 35 % de viande et de 65 % de végétaux et de quantités très faibles de sel.

Les humains sont les seuls êtres vivants ayant la capacité de domestiquer d'autres vivants à leur usage, minimisant de cette façon l'exercice physique normalement indispensable à la survie. Cette situation s'est aggravée, nous l'expérimentons tous les jours, et représente une donnée évolutive, récente à cette échelle, qui entre en conflit frontal avec la structure d'un génome façonné par des milliards d'années

5. Documenté par des analyses faites d'une part autour des tombes de nos ancêtres, d'autre part par en étudiant l'alimentation de plus d'une cinquantaine de groupes humains vivants encore sur un mode « paléolithique », on trouvera une étude très détaillée dans le travail de référence d'Eaton [57].

d'exercice physique [63]. L'étude des vestiges osseux confirme bien que nos ancêtres, avant l'agriculture, étaient plus robustes, avec un système musculaire et squelettique beaucoup plus sollicité plus par une activité importante [6].

Un modèle bioénergétique a été créé, basé à la fois sur la structure du squelette, l'environnement climatique et les outils disponibles. Ce modèle considère que nos ancêtres avaient une dépense énergétique totale (TEE) de l'ordre de 7.600 kJoules, kJ, pour un métabolisme basal (RMR) de 4.800 kJ, et une activité physique de 76 kJ par kg par jour, ce qui donne un rapport TEE/RMR de 1,6 ; chez l'homme contemporain dont l'activité physique ne dépasse pas les 30 kJ/kg/j ce même rapport est de 1,37 [64]. Les mesures de la consommation maximum d'oxygène à l'effort (VO_2max) confirment cette façon de voir [61, 65].

Les effets bénéfiques de l'exercice physique chez l'homme et en médecine expérimentale sont très bien documentés, aussi bien en prévention primaire pour ralentir le vieillissement, ou prévenir athérosclérose, hypertension artérielle ou cancer, qu'en prévention secondaire et il y a maintenant un consensus indiscutable pour recommander 30 minutes de marche à bon pas tous les jours... toute la vie [63]. C'est clairement le retour aux sources.

Données génétiques

La masse corporelle est en partie héréditaire, avec une héritabilité d'environ 50-60 % [66], et les déterminants génétiques de l'obésité humaine sont aussi nombreux que ceux de la satiété. Les études de liaison génétique ont, par exemple, mis en évidence de façon assez concordante dans deux populations distinctes, l'une mexicaine, l'autre française, une liaison forte entre leptine plasmatique et chromosome 2, c'est le locus où se trouve une des cibles neuronales de la leptine [67]. Par contre les études *GWA,* et en particulier celle de Framingham [68], utilisant la masse corporelle et portant sur l'ensemble du génome ont identifié de très nombreux loci, ce qui indique que plusieurs gènes ou allèles sont en cause (une quarantaine environ chez l'homme, plus de 70 chez la souris).

Le premier des candidats est bien entendu la leptine ou son récepteur. Ce candidat est souvent le coupable chez la souris, mais pas chez l'homme où les mutations à ce niveau sont exceptionnelles. Il est d'autres gènes candidats, et il existe chez l'homme de nombreuses obésités monogéniques [69]. Bien d'autres gènes ont été identifiés, par exemple *FTO*, *fat mass and obesity associated* (étudié chez 38 759 personnes, les 16 % d'homozygotes pour *FTO* ont un risque élevé d'être obèses [70].

Mécanismes

L'hypothèse évolutionniste est ancienne et postule que l'épidémie d'obésité actuelle résulte d'un conflit entre un patrimoine génétique façonné par des millénaires de

6. Ce type d'activité et d'endurance entraîne une production de chaleur importante, ce qui expliquerait peut-être pourquoi les hommes sont parmi les rares êtres vivants à pouvoir suer.

restriction alimentaire et suréquipé en gènes « économes » [71], et un environnement récent caractérisé par une surabondance alimentaire. Un des sous-types de cette hypothèse concerne le sel et l'hypertension artérielle. Dans ce schéma l'obésité apparaît comme une affection cachée qui se révèle à l'occasion d'un événement nouveau, l'événement nouveau étant la disponibilité alimentaire, l'accès facile aux MacDonald, l'absence d'exercice... Dans nos pays la fréquence de l'obésité est de 15 % chez les hommes et de 22 % pour les femmes (étude MONICA). La prévalence de ce syndrome augmente fortement et son coût global est croissant.

Le risque cardiovasculaire a récemment été sacralisé sous forme d'un syndrome, le syndrome métabolique qui est un conglomérat de signes cliniques ou paracliniques dont l'association est facteur de risque. L'association qui définit ce syndrome [72], et regroupe obésité abdominale, insulino-résistance, hypertension artérielle, et hyperlipidémie. Il existe quelques rares formes héréditaires monogéniques de ce syndrome ainsi que plusieurs modèles expérimentaux [73-76]. On commence à mieux comprendre le déroulement des opérations et à hiérarchiser les quatre éléments qui constituent ce syndrome. Enfin, une voie explicative nouvelle vient d'être ouverte, celle de l'épigénétique [15]. Obésité, syndrome inflammatoire, insulino-résistance et diabète, hypertension, dyslipidémie, oui, mais dans quel ordre?

Inflammation et tissu adipeux

Il est bien entendu utile de subdiviser la médecine en général, et la médecine évolutionniste en particulier, en chapitres, comme nous l'avons fait, cette manière de faire obère le fait que l'évolution ne porte pas sur des fonctions séparées, mais sur des organismes entiers, voire des organismes multiples fonctionnant en symbiose. Les relations entre obésité et inflammation en sont un exemple parmi bien d'autres. L'obésité, « maladie inflammatoire » [77], s'accompagne en effet d'une augmentation dans la circulation et dans le tissu adipeux lui-même, de nombreux marqueurs de l'inflammation [78-79].

Preadipocytes et macrophages ont la même origine mésodermique, ils se différencient assez tôt au cours de l'embryogenèse pour suivre, pour le premier, la lignée hématopoiétique, pour le second, le destin des cellules mésenchymateuses. Tous deux sont très sensibles aux agents infectieux et aux cytokines inflammatoires grâce à une nuée de récepteurs dont l'activation déclenche la cascade inflammatoire. Il existe des passerelles dans le sens préadipocytes vers macrophages, la différentiation pouvant être induite par les cytokines secrétées par les adipocytes matures.

Les structures fonctionnelles qui contrôlent les clefs du métabolisme et la fonction immune proviennent d'un ancêtre commun, le corps adipeux de la *Drosophile* qui contient tout à la fois des structures comparables à celles du foie, du système immun et du système hématopoiétique du mammifère. Durant l'évolution, chez les insectes, ce système immunitaire possède un Toll récepteur pour les agressions bactériennes qui active en cascade la synthèse des différents mécanismes de défense. À un moment

Tableau 1. — Médecine évolutionniste. Quelques exemples

Condition	**Mécanismes évolutionnistes**
Effets bénéfiques de l'exercice physique (prévention primaire et secondaire)	C'est le retour aux conditions de vie de nos ancêtres avant l'avènement des animaux de trait [63]
Effets bénéfiques d'un régime hypocalorique et pauvre en lipides	Le régime dit paléolithique, régime de référence [57]
Maladies autoi-immunes et allergiques	La diminution des infections libère les mécanismes contre régulateurs (IL-10, TNF α. ..) [Hypothèse hygiéniste] [35]
Obésité, diabète de type 2, certaines hyperlipémies	Les épisodes de famine et d'abondance ont alterné longtemps, sélectionnant des gènes « économes », on a maintenant les gènes mais aussi l'abondance [71]
Hypertension artérielle dépendante du sel	Le sel a été longtemps rare, sélectionnant des gènes retenant le sel, on a maintenant les gènes mais aussi le sel [86]
Insuffisance cardiaque chronique	Longtemps infectieuse (Bouillaud, endocardite), l'insuffisance cardiaque était d'origine simplement mécanique. L'augmentation de la durée de vie, la fréquence du diabète, de l'obésité et de l'ischémie myocardique on complexifié le tableau [88]
Maladie athéroscléreuse	La réaction inflammatoire est, avec la lipidémie, le second élément déterminant ; c'est probablement le reflet d'une réaction immune contre le dépôt lipidique [83]
Cancers	Certaines mutations activent les processus prolifératifs et ce faisant confèrent aux cellules cancéreuses un avantage évolutif [89]. La réaction inflammatoire est un des nouvelles marques de fabrique [90]
Pharmacogénomique	Les médicaments sont métabolisés par des mécanismes anciens, sélectionnés depuis longtemps pour métaboliser les toxiques venus de l'extérieur et les substances non protéiques comme les hormones [91]

donné de l'évolution les vertébrés ont répartis ce mécanisme d'autodéfense entre le foie et le tissu adipeux [7] [80-82].

Dans le syndrome métabolique, les complications cardiovasculaires de nature athéroscléreuse sont précédées par un syndrome inflammatoire et les biomarqueurs de l'inflammation ont valeur pronostique, par ailleurs le risque coronarien est accru dans des maladies inflammatoires. « Cholestérol et inflammation sont partenaires du même crime » [83], mais alors que l'on voit bien comment fonctionne le premier, le mode d'action du second est moins évident, et, même si la proximité de la graisse périvasculaire peut favoriser les échanges [84], les données en faveur de cette hypothèse topographique sont encore éparses [85].

Évolution et politiques de santé

Les trois exemples précédents ne sont pas seuls. On trouvera de nombreux autres exemples dans plusieurs ouvrages [2, 3, 22] ainsi que dans le Tableau 1. Réconcilier

7. D'autres arguments renforcent cette vue comme le fait que la résistine, hormone impliquée dans le métabolisme glucidique, a une origine adipocytaire chez les rongeurs, alors qu'elle est secrétée par les macrophages chez l'homme.

la médecine avec l'évolution peut avoir un impact qui peut surprendre, cet impact concerne la politique de santé et les prévisions qu'elle se doit de faire. Les exemples que nous avons donné concernent en effet trois groupe de données de santé public dont on peut prédire sans peine qu'ils seront à la une de nos préoccupations futures. Sauf changement radical dans les politiques mondiales concernant les émissions à effet de serre, on peut en effet s'attendre à une aggravation des changements climatiques dans les années qui vont suivre, aussi bien la biologie de thermogenèse que la physiopathologie du choc thermique seront rapidement des priorités, ce qu'ils ne sont pas actuellement. L'évolution des résistances bactériennes, parasitaires et virales aux agents anti-infectieux, celle de l'efficacité des vaccins et de l'ensemble d'une politique de l'hygiène se doivent d'être considérés en tenant compte de la dysrégulation du système immunitaire qu'elles ne peuvent manquer d'induire. La prévention de l'obésité et la promotion de l'activité physique régulière sont déjà des objectifs de santé, par contre les facteurs de risque génétiques ne sont-ils pas encore devenus les indicateurs qu'ils pourraient être. L'évolution pourrait constituer le socle scientifique d'une politique de santé plus rationnelle.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Nesse R.M., Williams G. — *Why we get sick: the new science of Darwinian medicine (*Times Books. New York), 1994.

[2] Stearns S.C., Koella J.C. — *Evolution in health and disease*. (2d ed. Oxford University Press Edit.), 2007.

[3] Trevathan W.R., Smith E.O., McKenna J.J. — *Evolutionary medicine. New perspectives* (2d ed. Oxford University Press Edit.) 2007.

[4] Maccallum C.J. — Does medicine without evolution make sense? *PLoS Biology* 2007, *5*, e112-e114.

[5] Dobzhansky T. — Nothing in biology makes sense except in the light of evolution. *American Biology Teach.* 1973, *35*, 125-129.

[6] Stearns S.C., Hoekstra R.F. — *Evolution: an introduction (2d ed.* Oxford University press) 2005.

[7] Ridley M. — *Evolution (*Blackwell Publ. Malen US/Oxford UK) 2004.

[8] Lazar M.A. — How obesity causes diabetes: not a tall tale. *Science* 2005, *307*, 373-375.

[9] Hugues K.A., Reynolds R.M. — Evolutionary and mechanistic theories of aging. *Ann. Rev. Entomol.* 2005, *50*, 421-445.

[10] Gavrilov L.A., Gavriloova N.S. — Evolutionary theories of aging and longevity. *Scientific World J.* 2002, *2*, 39-356.

[11] Editorial. — Next-generation genome. *Nature Methods* 2008, *5*, 989.

[12] Lynch M. — The frailty of adaptive hypotheses for the origins of organismal complexity. *Proc. Natl. Acad. S*ci. *USA* 2007, *104*, 8597-8604.

[13] Gill S.R., Pop M., Deboy R.T. *et al.* — Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 2006, *312,* 1355-1359.

[14] Goldenfeld N. — Biology's next revolution. *Nature,* 2007, *445*, 369.

[15] Junien C., Gallou-Kabani C., Vigé A., Gross M-S. — Épigénomique nutritionnelle du syndrome métabolique. *Med. Sci. (Paris),* 2005, *21*, 396-404.

[16] Black B.L. — A single mutation causes a spectrum of cardiovascular defects: the potential role of genetics modifiers ; epigenetic influences, and the stochastic events in phenotypic variability. *J. Mol. Cel.Cardiol*., 2006, *40*, 201-204.

[17] Barton N.H., Briggs D.E.G., Eisne J.A. *et al.* — eds (2007) *Evolution.* (Cold Spring Harbor Laboratory Press Edit. New York), 2007.

[18] Nisbel EG, Sleep NH. — The habitat and nature of early life. *Nature,* 2001, *409*, 1083-1091.

[19] Griffiths A.J.F., Wessler S.R., Lewontin R.C. *et al.* — *Introduction à l'analyse génétique.* (4éme ed. De Boeck Edit. Bruxelles) 2006.

[20] Woltereck R. — Weitere experimentelle untersücgen über artveränderung, spezielle über das wesen quantitativer artunterschiede bei daphniden. *Verhandlungen Deutschen Zooligischen Gesellschaft*,1909, *19,* 110-172.

[21] Dewitt TJ, Scheiner SM. — *Phenotypic plasticity. Functional and conceptual approaches* (Oxford University Press Edit. New York), 2004.

[22] Swynghedauw B. — Quand le gène est en conflit avec son environnement. Introduction à la médecine darwinienne. De Boeck pub. Bruxelles, 2009.

[23] Editorial. — Light at the end of the tunnel. *Nature,* 2007, *445*, 567.

[24] Swynghedauw B. — Conséquences médicales de l'effet de serre. *La Presse Médicale,* 2009, *38*, 551-561.

[25] Besancenot J-P. — *Notre santé à l'épreuve du changement climatique*. (Delachaux et Niestlé), 2007.

[26] Valleron AJ, Boumendil A. — Épidémiologie et canicules: analyses de la vague de chaleur 2003 en France. *C.R. Biologie (Paris)*. 2004, *327*, 1125-1141.

[27] Basu R, Samet JM. — Relation between elevated ambient temperature and mortality: a review of the epidemiologic evidence. *Epidemiol. Rev*. 2002*, 24,* 190-202.

[28] Bouchama A, Knochel JP. — Heat stroke. *N. Engl. J. Med*. 2002, *346*, 1978-1988.

[29] Pandolf KB. —Aging and human heat tolerance. *Exp. Aging Res.* 1997, *23*, 69-105.

[30] Silva J.E. — Thermogenic mechanisms and their hormonal regulation. *Physiol. Rev.* 2006, *86*, 435-464.

[31] Coussens L.M., Werb Z. — Inflammation and cancer. *Nature* 2002, *420*, 860-867.

[32] Calvano S.E., Xiao W., Richards D.R. *et al.* — A network-based analysis of systemic inflammation in humans. *Nature* 2005, *437*, 1032-1037.

[33] Gurtner G.C., Werner S., Barrandon Y. *et al*. — Wound repair and regeneration. *Nature* 2008, *453*, 314-321.

[34] Medzhitov R. — Origin and physiological roles of inflammation. *Nature,* 2008, *454*, 428-435.

[35] Bach JF. — The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N. Engl. J. Med*., 2002, *347*, 911-920.

[36] Kallioméki M., Kirjavainen P., Eerola E. *et al*. — Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J. Allergy Clin. Immunol.,* 2001, *107*, 129-134.

[37] Wills-Karp M., Santeliz J., Karp C.L. — The germless theory of allergic disease: revisting the hygiene hypothesis. *Nature Rev. Immunol.,* 2001, *1*, 69-75.

[38] Braun-Fahrlander C., Riedler J., Herz U. *et al*. — Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N. Engl. J. Med*., 2002, *347*, 869-77.

[39] Yazdanbakhsh M., Kremaner P.G., Van Ree R. — Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science,* 2002, *296*, 490-494.

[40] Kitagaki K., Businga T.R., Racila D. *et al.* — Intestinal helminths protect in a murine model of asthma. *J. Immuno,.* 2006, *177*, 1628-1635.

[41] The Wellcome trust case control consortium. — Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature,* 2007, *447*, 661-678.

[42] Faybush E.M., Blanchard J.F., Rawsthorne P. *et al.*- Generational differences in the age at diagnosis with inflammatory bowel disease: genetic anticipation, bias, or temporal effects. *Am. J. Gastroent*., 2002, *97*, 636-640.

[43] Baumgart D.C., Carding S.R. — 1. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet,* 2007*, 369,* 1627-1640.

[44] Baumgart D.C., Sandborn W.J. — 2. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet* 2007, *369*, 1641-1657.

[45] Cho J.H. — Inflammatory bowel disease: genetic and epidemiologic considerations. *World J. Gastroenterology* 2008, *21*, 338-347.

[46] Shanahan F. — Crohn's disease. *Lancet,* 2002, *359*, 62-69.

[47] MacDonald T.T., Monteleone G. — Immunity, inflammation, and allergy in the gut. *Science,* 2005, *307*, 1920-1925.

[48] Gaya D.R., Russell R.K., Nimma E.R. *et al*. — New genes in inflammatory bowel disease: lessons for complex diseases? *Lancet,* 2006, *367*, 1271-1284.

[49] Todd J.A., Walker N.M., Cooper J.D. *et al.* — Robust associations of four new chromosome regions from genome-wide analyses of type 1 diabetes. *Nature Gen.* 2007, *39*, 857-864.

[50] Nejentsev S, Howson JMM, Walker NM *et al*. — Localization of type1 diabetes susceptibility to the MHC class I genes HLA-B and HLA-A. *Nature,* 2007, *450*, 887-892.

[51] Ober C, Hoffjan S. — Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery. *Genes Immunity,* 2006, *7,* 95-100.

[52] Wenzel SE. — Asthma: defining of the persistent adult phenotypes. *Lancet,* 2006, *368*, 804-813.

[53] Rook GA. — The hygiene hypothesis and the increasing prevalence of chronic inflammatory disorders. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg*., 2007*, 101,* 1072-1074.

[54] Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science,* 2002, *296*, 490-494.

[55] Johnson RJ, Hurtado A, Merszei J *et al.* — Hypothesis: dysregulation of immunologic balance resulting from hygiene and socioeconomic factors may influence the epidemiology and cause glomerulo nephritis woldwide. *Am. J. Kidney Dis.,* 2003, *42*, 575-581.

[56] Stene LC, Nafstadt P. — Relation between occurrence of type 1 diabetes and asthma. *Lancet,* 2001, *357*, 607-608.

[57] Eaton SB, Konner M. — Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *N. Engl. J. Med.,* 1985*, 312*, 283-289.

[58] Ommen van B. — Nutrigenomics: exploiting systems biology in the nutrition and health arenas. *Nutrition,* 2004, *20*, 4-8.

[59] Benoist C, Mathis D. — Mast cells in autoimmune disease. *Nature* 2002*, 420,* 875-878.

[60] Eaton S.B, Eaton S.B. — III. Paleolithic vs modern diets — selected pathophysiological implications. *Eur. J. Nutr.,* 2000, *39*, 67-70.

[61] Eaton S.B., Konner M., Shostak M. — Stone agers in the fast lane: chronic degenerative diseases in evolutionary perspective. *Am. J. Med.,.* 1988, *84*, 739-749.

[62] Eaton S.B., Strassman B.I., Nesse R.M. *et al*. — Evolutionary health promotion. *Rev. Preventive Med.,* 2002, *34*, 109-118.

[63] Booth F.W., Chakravarthy M.V., Gordon S.E. *et al*. — Waging war on physical inactivity : using modern molecular ammunition against an ancient enemy. *J. Appl. Physiol.* 2002, *93*, 3-30.

[64] Cordain L., Gotshall R.W., Eaton S.B. — Evolutionary aspects of exercise. *World Rev. Nutr. Diet*., 1997*, 81*, 49-60.

[65] Carrier D.R. — The energetic paradox of human running and hominid evolution. *Cur. Anthropo.,* 1984, *25*, 483-495.

[66] Boomsma D., Bujsjahn A., Peltonen L. — Classical twin studies and beyond. *Nature Rev. Genetics,* 2002, *3*, 872-882.

[67] Hager J., Dina C., Francke S. *et al.* — A genome-wide scan for human obesity reveals a major susceptibility locus on chromosome 10. *Nature Genetics,* 1998, *20*, 304-308.

[68] Fox C.S., Heard-Costa N., Cupples L.A. *et al*. — Genome-wide association to body mass index and waist circumference: the Framingham Heart Study 100K project. *B.M.C. Medical Genetics,* 2007, *8(suppl I),* S18.

[69] Barsh G.S., Farooqui I.S., O'Rahilly S. — Genetics of body-weight regulation. *Nature,* 2000, *404,* 644-651.

[70] Frayling T.M., Timpson N.J., Weedon M.N. *et al*. — A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Scien*ce, 2007, *316,* 889-893.

[71] Wendorf M., Goldfine I.D. — Archaeology of NIDDM. Excavation of the " thrifty " genotype. *Diabetes,* 1991*, 40*, 161-165.

[72] Kahn R., Buse J., Ferrannini E. *et al.* — The metabolic syndrome : time for a critical appraisal : joint statement from the ADA and the EASD. *Diabetes Care,* 2005, *28,* 2289-2304.

[73] Hegele R.A. — Monogenic forms of insulin resistance: apertures that expose the common metabolic syndrome. *Trends Endocrinol. Metab.,* 2003 ; *14*: 371-377.

[74] Armitage J.A., Khan I.Y., Taylor P.D. *et al*. — Developmental programming of the metabolic syndrome by maternal nutrition imbalance: how strong is the evidence from experimental models in mammals? *J. Physiol.,* 2004, *561*, 355-377.

[75] Eckel R.H., Grundy S.M., Zimmet P.Z. — The metabolic syndrome. *Lancet,* 2005, *365*, 1415-1428.

[76] MacMillen C., Robinson J.S. — Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiol. Rev*., 2005, *85*, 571-633.

[77] Nathan C. — Epidemic inflammation: pondering obesity. *Mol. Med.,*. 2008*, 14,* 485-492.

[78] Xu H., Burnes G.T., Yang Q. *et al.* — Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.,* 2003, *112,* 1821-1830.

[79] Weisberg S.P., McCann D., Desai M. *et al*. — Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.,* 2003, *112*, 1796-1808.

[80] Wellen K.E., Hotamisligil G.S. — Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J. Clin. Invest*., 2003, *112,* 1785-1788.

[81] Lehrke M., Lazar M.A. — Inflammed about obesity. *Nature Med.,* 2004, *10* , 126-127.

[82] Lazar M.A. — How obesity causes diabetes: not a tall tale. *Science,* 2005, *307*, 373-375.

[83] Steinberg D. — Atherogenesis in perspective: hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime. *Nature Med.,* 2002, *8*, 1211-1217.

[84] Yudkin J.S., Eringa E., Stehouwer C.D.A. — " Vasocrine " signalling from perivascular fat: a mechanism linking insulin resistance to vascular disease. *Lancet,* 2005, *365*, 1817-182.

[85] Berg A.H., Scherer P.E. — Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ. Res.,* 2005, *96,* 939-949.

[86] Meneton P., Jeunemaître X., De Wardener H.E., Graham A. — Links between dietary salt intake, blood pressure, and cardiovascular diseases. *Physiol. Rev*., 2005, *85*, 679-715.

[87] Swynghedauw B. — Le remodelage ventriculaire gauche. Un problème biologique complexe autour de trois paradigmes simples. *Bull. Acad. Natle Méd. (Paris),* 1998, *182,* 665-683.

[88] Swynghedauw B., Besse S., Assayag P. — Biologie du vieillissement cardiaque et vasculaire. *Bull. Acad. Natle Méd. (Paris),* 2006*, 190*, 9-18.

[89] Goymer P. — The evolution of cancer. *Nature,* 2008, *454,* 1046-1048.

[90] Mantovani A., Allavena P., Sica A. *et al*. — Cancer-related inflammation. *Nature,* 2008, *454*, 436-444.

[91] Nebert D.W. — Polymorphisms in Drug-Metabolizing Enzymes: what is their clinical relevance and why do they exist? *Am. J. Human Genet.,* 1997, *60*, 265-271.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1165-1180, séance du 12 mai 2009

INFORMATION

Médecine thermale : actualités médicales et scientifiques

MOTS CLÉS : STATIONS THERMALES. BALNÉOTHÉRAPIE. EAU MINÉRALISÉE/UTILISATION THÉRAPEUTIQUE

Crenobalneotherapy : a medical and scientific update

KEY-WORDS (Index medicus) : BALNEOTHERAPY. HEALTH RESORTS. MINERAL WATERS/THERAPIE. USE

Christian-François ROQUES *, Xavier de BOISSEZON *, Patrice QUENEAU **

RÉSUMÉ

Ces trois dernières années la littérature internationale répertoriée dans la base pubmed permet d'identifier environ quatre-vingts articles scientifiques concernant la médecine thermale ; les revues qui les publient sont trois fois sur quatre affectées d'un facteur d'impact. Ces travaux confirment l'action des produits thermo-minéraux (eaux, boues, vapeurs et gaz) sur les systèmes biologiques en particulier marqueurs biologiques de l'inflammation, du système anti-oxydatif, nombreux systèmes cytokiniques, le contrôle douloureux. L'ingestion d'eau minérale a des effets sur les métabolismes des glucides, lipides, minéraux. Les produits thermo-minéraux, essentiellement par leur chaleur, sont susceptibles d'avoir un retentissement circulatoire, problématique dans un nombre très limité de situations. Les produits dermo-cosmétologiques montrent un intérêt réel. Le bénéfice pour la santé des patients qui font une cure thermale est manifeste dans les affections ostéo-articulaires, veineuses, gynécologiques, ORL, le psoriasis cutané, le trouble d'anxiété généralisée. Beaucoup d'études contrôlées présentent un niveau méthodologique insuffisant. La recherche clinique en médecine thermale se heurte à des difficultés de méthodologie, de financement, d'enrôlement des patients. L'organisme de recherche thermale mis en place en France vise à apporter une aide à la réalisation d'essais bien conduits.

* Service de Médecine Physique & de Réadaptation, CHU de Toulouse, 31 Toulouse
** Membre de l'Académie nationale de médecine, Paris

Tirés à part : Professeur Christian-François ROQUES, même adresse
Article reçu le 3 novembre 2008, accepté le 16 février 2009

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1165-1180, séance du 12 mai 2009

SUMMARY

The PubMed database contains about eighty scientific papers on crenobalneotherapy (i.e. medical balneology or spa therapy) published in the last three years, mostly in journals with an impact factor. These studies focus on the actions of thermomineral products (waters, muds, gases, steam) on biological systems (immune system, antioxidant system, cytokine networks, nociception, etc.). Hot mineral waters can have an action on the circulatory system. Ingested mineral water can act on carbohydrate, lipid and mineral metabolism. Dermocosmetologic mineral products have shown real benefits. Medical benefits of thermal treatment have been observed in patients with rheumatic conditions, psoriasis, venous insufficiency, ENT conditions, gynecolgical disorders, and anxiety. Unfortunately, many publications in this area suffer from methodological flaws. Clinical investigations of thermal medicine encounter difficulties of a methodological and financial nature, and problems of patient recruitment. The aim of the French thermal research institute is to provide support and advice for teams wishing to conduct well-designed controlled trials.

Thérapeutique millénaire, la médecine thermale s'est structurée comme une approche sanitaire scientifique dans la deuxième moitié du XVIII^e siècle avec en particulier, en France, les travaux de Théophile de Bordeu (1722-1776) ; la création de l'Académie nationale de médecine (ANM) en 1820 allait lui donner des bases scientifiques strictes puisque celle-ci allait devoir évaluer les mille deux cents sources d'eaux minérales répertoriées dans le pays, s'assurer de leur composition, de leur qualité et établir leur utilité pour la santé. Le mouvement scientifique thermal a été très prégnant jusque vers les années 1960. Depuis quelques années, dans de nombreux pays, l'intérêt scientifique pour le thermalisme s'est renouvelé avec une production scientifique digne d'intérêt et de qualité parfaitement recevable. Nous allons envisager les principaux aspects de la production scientifique actuelle dans le domaine.

POSITION DU PROBLÈME

Des données récentes concernant la pratique thermale en France, fournissent des renseignements d'ordre épidémiologique et économique ; une enquête effectuée auprès de 112 000 curistes permet d'identifier l'opinion des patients. Ceci permet d'avoir une idée de la nature et de la dimension des problèmes posés.

Données épidémiologiques

En 2007 en France 490 000 personnes (dont 17 % de primo-curistes) ont bénéficié d'une cure thermale dans l'un des cent-cinq établissements thermaux qui existent dans notre pays et qui utilisent les produits thermo-minéraux validés par l'ANM : eaux minérales (de 400 des 1 200 sources répertoriées et reconnues à un moment donné par l'ANM) ; boues thermo-minérales, gaz et vapeurs thermaux. 65 % des curistes étaient des femmes ; l'age était pour 1 % moins de 16 ans, 31 % de 17 à 59 ans, 37 %

de 60 à 70 ans et 31 % au-delà de 70 ans ; 77 % des curistes étaient des inactifs. La prévalence des douze orientations thérapeutiques était: rhumatologie 83 %, voies respiratoires et ORL 17 % , phlébologie 13 %, appareil digestif et troubles métaboliques 6 %, dermatologie 4 %, maladies cardio-artérielles 4 %, neurologie 3 %, affections psycho-somatiques 2 %, voies urinaires et troubles métaboliques afférents 2 %, affections des muqueuses buccales 1 %, gynécologie 0,4 % et troubles du développement de l'enfant 0,1 % (35 % des curistes effectuent une double cure) [63, 71].

Données économiques

Quatre-vingt-quinze pour cent de l'activité des établissements thermaux relèvent de l'intervention de l'Assurance maladie. La dépense globale a été de 270 millions d'euros pour l'Assurance maladie en 2007, toutes dépenses et tous régimes confondus ; le produit brut de l'activité thermale a été chiffré à un Milliard d'euros ; 110 000 personnes travaillent pour l'activité thermale (soit 55 000 équivalents temps plein — ETP) au titre des emplois directs, indirects, induits par les achats et autres emplois induits. Il a été établi que le coût moyen des dépenses occasionné par une cure thermale est de l'ordre de 1 500 euros dont environ 500 euros remboursés par l'assurance maladie, le solde étant à la charge du patient, soit environ 1 000 euros.[63]

Opinion des patients

Le Conseil National des Etablissements Thermaux (syndicat professionnel qui regroupe 98 % de l'activité thermale française) a souhaité connaître l'opinion des curistes. Après validation préalable, 300 000 exemplaires d'un questionnaire fermé de quatorze rubriques (TNS-SOFRES Healthcare) a été mis à la disposition des curistes pendant cinq mois de la saison thermale 2006. 112419 questionnaires ont été retournés par les curistes et ont pu être exploité ; un lissage les a rendu parfaitement représentatifs des diverses orientations thérapeutiques du thermalisme et de l'activité des divers établissements [71].

La cure avait été proposée par leur médecin traitant (47 %), par un médecin spécialiste (21 %), à partir d'une cure précédente (14 %), sur leur initiative propre (13 %).

Les principaux bénéfices de la cure que venaient d'effectuer les patients étaient : moins de douleurs physiques (71 %), consommation moindre de médicaments (50 %).

97 % des patients qui avaient préalablement bénéficié de cure ont rapporté, pour cette précédente cure, l'existence d'un bénéfice durable (au moins six mois de durée). Il s'agissait de moins de douleur physique (74 %), moins de consommation médicamenteuse (54 %), meilleure qualité de vie (52 %), moins de consultations médicales (44 %) (deux réponses possibles).

La cure thermale est décrite comme un thérapeutique naturelle (63 %), médecine complémentaire (55 %), soulageant la douleur (46 %), et donnant peu d'effets secondaires (39 %) ; 49 % des curistes la jugent aussi efficace et, 46 % plus efficace que les médicaments pour soulager la douleur ; 93 % des curistes souhaitent des actions d'éducation : école du dos (60 %), activité physique (49 %), nutrition (38 %), maladies cardio-vasculaires (38 %), troubles de la mémoire (34 %), prévention des chutes (14 %).

REVUE DE LA PRODUCTION SCIENTIFIQUE RÉCENTE

Données quantitatives et qualitatives

L'investigation bibliographique a porté essentiellement sur la base de données pub Med, pour « les trois dernières années » avec les mots clefs suivants : « spa therapy, balneology, balneotherapy, thermal therapy, thermalism, crenotherapy, muds, mineral waters, peats ». Après identification des titres et lecture des résumés et/ou des articles, soixante-dix-sept articles, en anglais et en français principalement, ont été retenus comme entrant dans le champ du thermalisme. Leur caractéristiques (nature, année de parution, pays d'origine, domaines cliniques) sont rapportés dans le tableau 1 ; on y voit que les thématiques sont variées mais largement dominées par la rhumatologie, à un moindre degré la dermatologie. Les soixante dix sept articles ont été publiés dans cinquante cinq journaux différents dont ¾ ont un facteur d'impact dont la médiane est de l'ordre de 2 (tableau 2).

Domaines d'investigation et finalité de la recherche

Les études contribuent à connaître la nature des produits thermaux sur le plan physico-chimique, microbiologique notamment, leurs actions physiologiques en particulier sur le système de contrôle douloureux, les systèmes de défense de l'organisme (réaction inflammatoire et cicatrisation, système immunitaire, système anti-oxydatif, ...) et leurs mécanismes moléculaires (cytokines notamment), le système cardio-vasculaire, les divers métabolismes, ... Les études de sécurité concernent les ressources, les produits, les traitements, les établissements, les patients. La démonstration du bénéfice sanitaire attendu et de la place du traitement thermal par rapport aux autres thérapeutiques existantes pour une pathologie considérée s'envisage aussi bien sur le plan clinique que sur le plan médico-économique. Dans diverses situations la réalisation d'un double-aveugle permet de comparer le produit thermo-minéral à un produit équivalent neutre et d'examiner le caractère spécifique de l'action thermo-minérale, introduisant alors une dimension « explicative ». Ainsi études biologiques, études observationnelles, essais cliniques, études médico-économiques représentent l'essentiel de l'investigation scientifique thermale. Certains articles peuvent relever de plusieurs de ces rubriques (tableau 3).

TABLEAU 1. — **Données de l'enquête bibliographique**

Nature des études	humaines	68
	animales	5
	Cultures de tissus ou de cellules	4
Thérapeutiques investiguée	Cure thermale	67
	Ingestion d'eaux minérales	6
	Dermo-cosmétologie médicale	4
Année de parution	2005	18
	2006	12
	2007	23
	2008 (fin septembre)	24
Pays d'origine	Italie	20
	France	9
	Turquie	8
	Japon	7
	Allemagne, Hongrie	6
	Pays-bas, Israël	4
	USA, Royaume Uni	3
	Autriche, Espagne	2
	Bulgarie, Estonie, Suède, Suisse, Taïwan	1
Domaines cliniques	Rhumatologie	Polyarthrite rhumatoïde : 2, spondylarthropathies : 5 ; fibromyalgie : 7 ; lombalgie : 4 ; arthrose : 12
	Dermatologie	Psoriasis : 4, autre : 4
	ORL	4
	Appareil digestif maladies vasculaires	4 4
	Gérontologie Métabolisme	2 2
	Cancérologie, gynécologie, psychiatrie, urologie	1 chaque

TABLEAU 2. — **Facteur d'impact**

Facteur d'impact	**0**	**0-1**	**>1 ≤2**	**>2 ≤3**	**>3 ≤4**	**>4 ≤6**	**>6**
Nombre d'articles	21	10	27	8	4	5	2
Nombre de revues	14	9	15	8	4	3	2

Tableau 3. — **Typologie des études**

Domaines d'investigation/ Type d'études	**Biologie Physiologie**	**Sécurité**	**Spécificité**	**Bénéfice Médical**
Études « biologiques »	8	3	7	
Études observationnelles	4	5		8
Études cliniques contrôlées Méta-analyses	8		9	37 4

Principaux résultats obtenus

Ils concernent les actions biologiques et physiologiques, la sécurité, les effets cliniques de la cure thermale, de l'ingestion d'eaux minérales ou de l'utilisation dermocosmétologique de produits thermo-minéraux.

Approche biologique et physiologique

On a confirmé l'impact de la cure thermale ou des produits thermo-minéraux sur l'humeur par l'augmentation du taux de la sérotonine plaquettaire [46] et sur les marqueurs biologiques du stress [73, 74] ; la proprioception de la cheville est améliorée en balnéation thermale [8] ; l'action chondroprotectrice des médicaments anti-arthrosiques serait également potentialisée [6, 12] ; la réalité comme la spécificité de l'action anti-oxydative des produits thermo-minéraux a été confirmée chez l'homme et sur des modèles animaux [6, 21]. Le traitement thermal agit sur diverses cytokines : accroissement spécifique du Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) qui favorise une néo-capillarogénèse dans l'ischémie expérimentale des membres chez l'animal [38] ; accroissement du Tumour Growth Factor (TGF) beta dans la spondylarthrite ankylosante [68] ; augmentation de l'expression du Tumour Necroziting Factor (TNF) alpha, de l'interleukine 6, de l'interleukine 8, de la cytokératine (CK) 16 chez les patients porteurs de psoriasis [15, 24] ; diminution de l'interleukine 1, de la Prostaglandine E2, du leucotriène B4 dans la fibromyalgie [3]. L'arthrite à adjuvant du rat est améliorée par des thérapeutiques faisant appel à des eaux minérales [14, 22, 51]. L'ion H2S, présent dans de nombreuses eaux minérales est doté de propriétés anti-inflammatoires qui s'exercent aussi bien sur les polynucléaires [62] que sur les lymphocytes circulants [50].

Ingestion d'eau minérale naturelle

L'eau minérale ingérée réduit, de manière spécifique, la lipémie post-prandiale (triacylglycérols du sérum et des chylomicrons) [66], augmente la sensibilité à l'insuline [67], réduit le risque de récidive de lithiase urinaire uratique ou oxalocalcique [41]. Par ailleurs les eaux minérales améliorent les symptômes de la dyspepsie gastrique et du syndrome du colon irritable, accroît le débit gastrique et la vitesse du péristaltisme intestinal [35). Le magnésium des eaux minérales est bien absorbé lors de la boisson, les concentrations sériques sont comparables à celles de

l'ingestion de magnésium pharmaceutique [53, 40]. Enfin, la consommation d'eau minérale par les personnes présentant une sécheresse cutanée est susceptible d'améliorer l'hydratation de la peau [45].

Utilisation dermo-cosmétologique

Les produits thermo minéraux ont un réel intérêt. Si l'adjonction de l'utilisation de sels de la mer morte à la photo-thérapie n'a pas d'impact sur les lésions cutanées du psoriasis [25], les produits cosmétiques élaborés en utilisant les substances de la mer morte réduisent l'agression cutanée ou muqueuse observé après irradiation des lésions cancéreuses de la tête et du cou [48]. Cependant l'identification de métaux toxiques (plomb, arsenic, cadmium) dans les boues de la mer morte pourrait inciter à la prudence [1]. L'utilisation d'une eau minérale faiblement minéralisée s'avère plus efficace sur la kératose actinique que celle d'une eau plus fortement minéralisée [36] ; un gel anti-brûlure réalisé à partir d'eau minérale stérilisée est aussi efficace et mieux toléré que la trolamine dans les dermatoses par irradiation [61].

Sécurité des produits et techniques thermo-minéraux

Des auteurs japonais ont montré que le risque de mort subite était accru avec la température du bain, la pression hydrostatique et l'existence d'un temps froid [16] ; la durée optimale de bain, à ne pas dépasser est de cinq minutes entre 38 et 41° C et dix minutes si la température n'excède pas 38° C [42]. Les modifications cutanées de la pélothérapie ont peu de retentissement cardio-vasculaire chez le sujet sain [17]. Les bactéries qui se développent dans les eaux minérales après embouteillage sont principalement des betaproteobactéries et non, comme on le pensait, des gammaproteobactéries [44]. Si la cure thermale est peu génératrice d'évènements indésirables, les patients peuvent présenter des effets secondaires d'origine médicamenteuse [29] ; par ailleurs la balnéation peut être à l'origine de céphalées hyperalgiques graves [78]. La cure thermale réalisée après cancer du sein est parfaitement tolérée, le CA 15-3 demeure stable, les patientes sont améliorées en terme de douleurs, fonction, qualité de vie [70].

Bénéfice sanitaire des cures thermales

Il est apprécié par les essais cliniques contrôlés, assez nombreux mais de faible puissance statistique. La **rhumatologie** vient en tête : on a ainsi confirmé l'amélioration des douleurs lombaires [59] spécifiquement liée à l'action de la balnéation minérale [5] ou des douleurs cervicales [30, 31, 56] ; les patients fibromyalgiques voient leur situation fonctionnelle mais aussi physique s'améliorer [3, 26, 28, 49, 81] pour un coût acceptable [82]. La situation fonctionnelle et/ou la qualité de vie des gonarthrosiques est améliorée par la cure thermale [4, 11, 27, 32, 54] ; la durée de soins peut être variable [39, 76]. Plus globalement la cure thermale améliore la qualité de vie des personnes âgées arthrosiques [34, 47]. Les patients porteurs d'une polyarthrite rhumatoïde peuvent, lorsque l'inflammation est contrôlée, tirer béné-

fice des traitements thermaux [18, 33] ; il en est de même des malades atteints de spondylarthrite ankylosante [19, 23, 80] et on a même pu montrer que les patients acceptaient volontiers de payer pour obtenir ce bénéfice [9]. La dermatologie trouve dans le thermalisme d'utiles ressources [43, 72] ; l'amélioration des **lésions cutanées** psoriasiques est parfois irrégulière [20] et s'obtient en général en association avec la photothérapie [10, 58, 59]. Le **trouble d'anxiété généralisée** est amélioré par la cure thermale [64], le traitement thermal s'avère supérieur au traitement médicamenteux à la huitième semaine ; l'amélioration se maintient au sixième mois après la cure. Les eaux ferrugineuses améliorent de manière spécifique les **états inflammatoires gynécologiques chroniques** [80]. En **ORL**, la cure thermale améliore les rhino-sinusites chroniques [56] de manière spécifique car l'utilisation de spray d'eau minérale pour les irrigations nasales s'avère supérieure à l'utilisation du sérum physiologique [57] ; les suites de chirurgie endoscopique des sinus chez les patients allergiques sont améliorées par des irrigations d'eau thermale [69] ; le traitement thermal pourrait apporter une réelle contribution à la prévention de la surdité rhinogénique [75]. En **phlébologie**, l'hydro-massage thermal améliore l'œdème de manière plus efficace que l'hydro-massage conventionnel [37] et la cure associée à l'éducation thérapeutique améliore les troubles trophiques cutanés [13].

ÉTAT ET PROBLÈMES DE LA RECHERCHE EN FRANCE

L'Association Française de Recherche Thermale (AFRETH)

L'AFRETH a été créée en Novembre 2004. Elle dispose d'une enveloppe annuelle de recherche de 1,3 Million d'euros abondée par le Conseil National des Etablissements Thermaux (deux tiers) et l'Association Nationale des Maires de Communes Thermales (un tiers). A ce jour quatre appels d'offres complets ont eu lieu (tableau 4), le cinquième est en cours. Le conseil d'administration prend la décision de financer ou non les projets validés scientifiquement par le conseil scientifique. Le conseil scientifique est indépendant, il est constitué de dix personnes qualifiées (dont deux membres de l'ANM), il examine la validité scientifique des projets soumis dans le cadre de l'appel d'offres qu'il administre ; ses décisions sont prises sur la base de l'avis des rapporteurs et des conclusions des expertises scientifiques indépendantes extérieures (129 avis au total : 54 méthodologiques, 38 cliniques, 4 biologiques, 5 économiques, 24 éthiques). Sont actuellement achevés deux essais cliniques en cours de publication : l'un a montré l'intérêt de la cure thermale dans le trouble de l'anxiété généralisé, l'autre dans la gonarthrose. Une étude biologique n'a pu établir l'incorporation dans une culture de chondrocytes d'oligo-éléments présents dans certaines eaux thermales. Une étude microbiologique de boues thermales a permis de fixer les conditions optimales de prélèvement et de cultures pour assurer la sécurité microbiologique de la pélothérapie. Sept études sont en cours de déroulement : essais cliniques contrôlés (surcharge pondérale, sinusite de l'adulte, otite de l'enfant), études médico-économiques (arthrose, insuffisance veineuse) et études de faisabilité

TABLEAU 4. — **Résultats des appels d'offres 2005, 2006, 2007, 2008**

	Avant-projets reçus	**Avant-projets éligibles**	**Protocoles complets soumis**	**Validité scientifique** (conseil scientifique)	**Retenus au financement** (conseil d'administration)
Bénéfice Médical	57	43	38	21	14
Sécurité	4	3	3	3	2
Biologie	7	3	3	3	1
TOTAL	68	49	44	27	18

TABLEAU 5. — **Qualité des essais cliniques publiés (Boissel et col. 2006)**

Score de Jadad	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
Lombalgie chronique	1	3	2		1
Arthrose	1	3	4	2	1
Rhumatismes inflammatoires	2	5	2		1
Fibromyalgie	4	3	2		
Maladies artérielles pérphériques	1				1
Insuffisance veineuse	1	2			

(suites de cancer du sein, syndrome métabolique, éducation thérapeutique de l'insuffisant veineux, sevrage de médicaments psychotropes). Un essai clinique sur les douleurs péri-articulaires d'épaule est en cours de mise en place. Une méta-analyse des essais cliniques thermaux publiés a été demandée par le CNETH ; l'Afreth a organisé l'appel d'offres remporté par le CRIC@T de la faculté de Médecine Laennec de Lyon [52]. Au terme de cette méta-analyse on pouvait établir un niveau méthodologique limite pour nombre d'études (tableau 5) avec en particulier un manque de puissance statistique qui expliquait le défaut d'études concluantes (études cliniques bien conduites avec résultat positif pour un critère de jugement principal clinique). Ceci se retrouve dans les observations des autres méta-analyses ou revues de la littérature [32, 49, 59, 77]. Ainsi le niveau de preuve global est-il celui de la présomption scientifique (niveau II). Cependant le calcul des tailles d'effet a permis de montrer des effets appréciables sur des paramètres cliniques pertinents (tableau 6) qui témoignent de l'intérêt de la thérapeutique thermale et fournissent une utile base pour les investigations ultérieures.

Problèmes mis en évidence

L'analyse des dossiers présentés, le suivi de la mise en place, puis du déroulement des études et de leur exploitation a permis de mieux appréhender certaines difficultés concernant la méthodologie, le recrutement, le financement.

Difficultés méthodologiques

Elles sont complexes. Pour la démarche de démonstration du bénéfice clinique, il faut réduire au minimum les biais par la méthodologie la plus appropriée à l'hypo-

TABLEAU 6. — **Présentation de quelques tailles d'effet démonstratives et cliniquement pertinentes (Boissel et col. 2006)**

Taille d'effet	De .4 à .8	De .8 à 2	> 2
Lombalgie chronique	Consommation médicamenteuse Anxiété et dépression	Douleur à la palpation Raideur Lasègue Incapacité Opinion du patient	Sensibilité et contracture des muscles lombaires Opinion du médecin
Arthrose	Qualité de vie	Descente des escaliers	Womac : incapacité, opinion du médecin, du patient
Polyarthrite Rhumatoïde	Raideur matinale		Fréquence des douleurs, opinion du médecin et du patient
Spondylarthrite	Douleur	Raideur matinale, incapacité	
Rh. psoriasique	Vitesse de sédimentation	PASI	Opinion du patient
Fibromyalgie	Douleur à la pression (algomètre)	Douleur Spontanée	FIQ N de points douloureux Amélioration du seuil douloureux
Artériopathie chronique des members inférieurs			Périmètre de marche
Insuffisance veineuse		Douleur, Crampes, Prurit, Œdème.	

thèse testée. Les problèmes se rencontrent à toutes les étapes. **La randomisation** expose à des difficultés : l'effet liste d'attente et/ou l'insatisfaction liée au groupe thérapeutique choisi sont d'autant plus forts que l'image de la cure comme ses contraintes sont marquées ; les changements de bras ou à les sorties d'étude deviennent rapidement problématiques en analyse en intention de traiter. Le **critère de jugement principal** pour les essais cliniques doit être un critère clinique c'est-à-dire directement perceptible par le patient ; c'est sur la base de ce critère et à partir de l'hypothèse testée (équivalence, supériorité), des risques de première et deuxième espèce retenus, que l'on calcule l'**effectif** qui est corrigé de la prévision du taux de perdus de vue ; ce dernier élément peut varier sensiblement selon les affections considérées. L'**approche médico-économique** peut se concevoir dans le cadre d'un essai clinique où l'on introduit un critère de jugement de type économique, le plus souvent de type consommation de bien de santé ; on peut aussi envisager une approche à la fois plus large et plus spécifique, essentiellement par des études de cohortes. Le problème est ici de parvenir à une représentativité acceptable de ces cohortes. L'AFRETH a diligenté un consensus d'experts en méthodologie des essais

cliniques (septembre 2006-Mars 2007) dont la synthèse a été publiée [2] et qui s'inscrit dans la perspective des travaux de l'ANM. Il s'agissait alors pour l'Académie, de proposer des **critères méthodologiques** pour l'obtention des preuves scientifiques qui devaient lui être présentées à fin qu'elle puisse apporter une réponse argumentée dans les questionnements qui lui sont règlementairement soumis (demande d'une nouvelle orientation thérapeutique, demande de mise en œuvre d'une nouvelle technique de soins, demande d'utilisation d'une nouvelle eau) [60]. Les **problèmes de recrutement** se sont avérés très réels : abandon de deux études par les investigateurs, transformation de deux essais contrôlés en simples études pilotes. On a pu observer que pour assurer l'inclusion de trois à quatre centaines de sujets dans un essai, il était nécessaire que les équipes d'investigateurs soient très fortement impliquées, qu'elles aient mis en place une structure d'inclusion d'accès facile, réduisant au minimum la tâche des praticiens voire directement accessibles aux patients informés par les média ; le recrutement a été d'autant plus efficient que les patients pouvaient être pris en charge par des stations proches de leur domicile, favorisant les études réalisées dans des stations implantées sur des bassins de population de taille significative.

Problèmes financiers

Le financement des études a vite fait apparaître un coût très significatif car il incluait les frais de recherche comme les frais thermaux (soins, surveillance médicale, déplacement et hébergement — ces derniers calculés selon le barème le plus avantageux de la Sécurité Sociale) et que les effectifs à inclure dans l'étude pour qu'elles aient la puissance statistique suffisante étaient très supérieurs à ce qu'on observait dans les études jusque là publiées ; ainsi passait-on de quelques dizaines de patients à plusieurs centaines. Les frais de recherche s'avèrent d'autant plus conséquents que l'AFRETH exige de l'investigateur le soutien méthodologique d'une structure compétente publique (Université, CIC de CHU, Inserm, ...) et l'existence d'une équipe opérative suffisamment étoffée pour pouvoir mener à bien les inclusions de patients, le déroulement de l'étude, le suivi, l'établissement et la valorisation des résultats.

Perspectives de développement

L'Afreth a été créée pour permettre de valider le service médical rendu par la cure thermale, elle doit également accompagner le développement du thermalisme qui vise notamment à enrichir l'offre de soins mais aussi à une participation à l'accompagnement du vieillissement, à des actions de prévention, à une implication dans les soins de suite et dans la recherche en santé publique.

CONCLUSION

Ces dernières années, la recherche scientifique en milieu thermal connaît un réel essor aussi bien sur le plan qualitatif que sur le plan quantitatif. Les autorités académiques, les professionnels de santé, les décideurs politiques et économiques ne doivent pas ignorer cette réalité. Ces éléments contribuent au maintien du statut de médecine scientifique acquis, depuis de nombreuses décennies, par l'hydrologie médicale et la médecine thermale, et tout particulièrement, dans notre pays, en raison de l'implication sans faille de l'ANM et ce depuis sa création en 1820.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Abdel-Fattah A., Pingtore NE. — Low levels of toxic elements in Dead Sea black mud and mud-derived cosmetic products. *Environ. Geochem. Health*, 2008, in press.

[2] Afreth — Recommandations en vue de l'évaluation des cures thermales. *Press. Therm. Climat.*, 2007, *144*, 7-37.

[3] Ardiç F., Ozgen M., Aybek H., Rota S., Cubukçu D., Gökgöz A. — Effects of balneotherapy on serum IL1, PGE2 and LTB4 levels in fibromyalgia patients. *Rheumatol. Int*., 2007, *27*, 441-446.

[4] Balint G., Buchanan WW., Adam A. *et al.* — The effect of the thermal mineral water of Nagybaracska on patients with knee joint osteo-arthritis — a double blind study. *Clin. Rheumatol.,* 2007, *26*, 890-894.

[5] Balogh Z., Ordögh J., Gasz A., Német L., Bender T. — Effectiveness of balneotherapy in chronic low back pain — a randomized single-blind controlled follow-up study. *Forsch. Komplementarmed. Klass. Naturheilkd.,* 2005, *12*, 196-201.

[6] Bellometti S., Richelmi P., Tassoni T., Bertè F. — Production of matrix metalloproteinases and their inhibitors in osteoarthritic patients undergoing mud therapy. *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.,* 2005, *25*, 77-94.

[7] Bender T., Bariska J., Vaghy R., Gomez R., Kivacs I. — Effect of balneotherapy on the anti-oxidant system — a controlled pilot study. *Arch. Med. Res*., 2007, *38*, 86-89.

[8] Berger L., Martinie P., Livain T., Bergeau J., Rougier P. — Immediate effects of physiotherapy sessions of lower limb balneotherapy on postural control. *Ann. Readap. Med. Phys.,* 2006, *49*, 37-43.

[9] Boonen A., Severens JL., Van Tubergen A. *et al.* — Willingness of patients with ankylosing spondylitis to pay for inpatient treatment is influenced by the treatment environment and expectations of improvement. *Ann. Rheum. Dis.,* 2005, *64*, 1650-1652.

[10] Brockow T., Schiener R., Franke A., Resch KL., Peter RU. — A pragmatic randomized controlled trial on the effectiveness of highly concentrated saline spa water baths followed by UVB compared to UVB only in moderate to severe psoriasis. *J. Altern. Complement. Med*., 2007, *13*, 725-732.

[11] Cantarini L., Leo G., Giannitti C. *et al.* — Therapeutic effect of spa therapy and short wave therapy in knee osteoarthritis : a randomised, single blind, controlled trial. *Rheumatol. Int.,* 2007, *27*, 523-529.

[12] Caraglia M., Beninati S., Giuberti G. *et al.* — Alternative therapy of earth elements increases the chondro-protective effects of chondroitine-sulfate in mice. *Exp. Mol. Med.,* 2005, *37*, 476-481.

[13] Carpentier PH., Satger B. — Evaluation of balneotherapy associated with patient education in patients with advanced chronic venous insufficiency: a randomized controlled trial in the spa resort of La Léchère. *J. Vasc. Surg.,* 2009*, 49*, 163-170 (on line en septembre 2008).

[14] Chen H., Shoumura S., Emura S., Isono H. — Tibetan medicated bath therapy may improve adjuvant arthritis in rat. *ECam advance acces (ecam.oxforjournals)*, 2007, november 12.

[15] Chiarini A., Dal Pra I., Paschiana R. *et al.* — Comano's (Trentino) thermal water interferes with interleukin-6 production and secretion and with cytokeratin-16 expression by cultured human psoriatic keratinocytes: further potential mechanisms of its ant-psoriatic action. *Int. J. Mol. Med.,* 2006, *18*, 1073-1079.

[16] Chiba T. — Risk factors of sudden death in the Japanese hot bath in the senior population. *Forensic Sci. Int.,* 2005, *149*, 151-158.

[17] Clijsen R., Taeymans J., Duquet W., Barel A., Clarys P. — Changes of skin characteristics during and after local parafango therapy as used in physiotherapy. *Skin Res. Technol*., 2008, *14*, 237-242.

[18] Codish S., Abu-Shakra M., Flusser D., Friger M., Sukenik S. — Mud compress therapy for the hands of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol. Int.,* 2005, *25*, 49-54.

[19] Codish S., Dobrovinsky S., Abu-Shakra M., Flusser D., Sukenik S. — Spa therapy for ankylosing spondylitis at the Dead Sea. *Isr. Med. Assoc. J.*, 2005, *7*, 443-446.

[20] Cohen AD., Van-Dijk D., Naggan L., Vardy DA. — Effectiveness of climatotherapy at the Dead Sea for psoriasis vulgaris: a community-oriented study introducing the " Beer Sheva Psoriasis Severity Score ". *J. Dermatol. Treat.,* 2005, *16*, 308-313.

[21] Constantino M., Giuberti G., Caraglia M. *et al.* — Possible antioxidant role of SPA Therapy with chlorine-sulphur-bicarbonate mineral water. *Amino Acids*, 2008, *35*, nº 116 (on line).

[22] Cozzi F., Carrara M., Sfriso P., Todesco S., Cima L. — Anti-inflammatory effect of mud bath applications on adjuvant arthritis in rats. *Clin. Exp. Rheumatol*., 2004, *22*, 163-166.

[23] Cozzi F., Pdsiawek M., Cardinale G. *et al.* — Mud-bath treatment in spondylitis associated with inflammatory bowel disease — a pilot randomised clinical trial. *Joint Bone Spine*, 2007, *74*, 436-439.

[24] Dal Pra I., Chiarini A., Paschiana R. *et al.* — Comano's (Trentino) thermal water interferes with tumour necrosis factor-alpha expression and interleukin-8 production and secretion by cultured human psoriatic keratinocytes: yet other mechanisms of its ant-psoriatic action. *Int. J. Mol. Med.,* 2007, *19*, 373-379.

[25] Dawe RS. Yule S., Cameron H. *et al.* — A randomized controlled comparison of the efficacy of Dead Sea salt balneophototherapy vs. narrowband ultraviolet B monotherapy for chronic plaque psoriasis. *Br. J. Dermatol*., 2006, *154*, 613-619.

[26] Dönmez A, Karagülle MZ, Tercan N. *et al.* — SPA Therapy in fibromyalgia: a randomised controlled clinic study. *Rheumatol. Int*., 2005, *26*, 168-172.

[27] Evcik D., Kavuncu V., Yeter A., Yigit I. — The efficacy of balneotherapy and mud-pack therapy in patients with knee osteoarthritis. *Joint Bone Spine*, 2007, *74*, 60-65.

[28] Fioravanti A., Perpignano G., Tirri G. *et al.* — Effects of mud-bath treatment on fibromyalgia patients : a randomized clinical trial. *Rheumatol. Int*., 2007, *27*, 1157-1161.

[29] Fontanel F., Durrieu G., Damase-Michel C., Montastruc JL. — Drug prescription and paharmacovigilance in spa therapy : a comparative study at a 20-year interval (1987 versus 2007). *Therapie*, 2008, *63*, 135-140.

[30] Forestier R., Françon A., Saint-Arromand F. *et al.* — Are spa therapy and pulsed electro-magnetic field therapy effective for chronic neck pain ? Randomised clinical trial first part : clinical evaluation. *Ann. Readapt. Med. Phys*., 2007, *50*, 140-147.

[31] Forestier R., Françon A., Saint-Arromand F. *et al.* — Are spa therapy and pulsed electro-magnetic field therapy effective for chronic neck pain ? Randomised clinical trial second part : medicoeconomic approach. *Ann. Readapt. Med. Phys*., 2007, *50*, 148-153.

[32] Forestier R., Françon A. — Crenobalneotherapy for limb osteoarthritis: systematic literature review and methodological analysis. *Joint Bone Spine*, 2008,*75*, 138-48.

[33] Franke A., Reiner L., Resch KL. — Long-term benefit of radon spa therapy in the rehabilitation of rheumatoid arthritis: a randomised, double-blinded trial. *Rheumatol. Int*., 2007, *27*, 703-713.

[34] Gaal J., Varga J., Szekanecz Z. *et al.* — Balneotherapy in elderly patients: effects on pain from degenerative knee and spine conditions and on quality of life. *Isr. Med. Assoc. J.,* 2008, *10*, 365-369.

[35] Gasbarrini G., Candelli M., Grazosetto RG. — Evaluation of thermal water in patients with functional dyspepsia and irritable bowel syndrome accompanying constipation. *World J. Gastroenterol*., 2006, *12*, 2556-2562.

[36] Goldman MP, Merail-Kieny C., Nocera T., Mery S. — Comparative benefit of two thermal spring waters after photodynamic therapy procedure. *J. Cosmetol. Dermatol*., 2007, *6*, 31-35.

[37] Ippolito E., De Luca S., Sommaruga S., Grasselino V., Nappi G. — Experimental-clinical study of the effects of hydromassage with Thermae Oasis's salsobromoiodine water in chronic venous stasis disease of the lower limb. *Minerva cardioangiol*., 2008, *56*, 401-408.

[38] Irie H., Tatsumi T., Takamyia M. *et al.* — Carbon dioxide-rich water bathing enhances collateral blood flow in ischemic hindlimb via mobilization of endothelial progenitor cells and activation of NO-cGMP system. *Circulation*, 2005, 111, 1523-1529.

[39] Karagülle M., Karagülle MZ., Karagülle O, Dönmez A., Turan M. — A 10-day course of SPA therapy is beneficial for people with severe knee osteoarthritis. A 24-week randomised, controlled pilot study. *Clin. Rheumatol.,* 2007, *26*, 2063-2071.

[40] Karagülle O., Klecza T., Vidal C. *et al*. — Magnesium absorption from mineral waters of different magnesium content in healthy subject. *Forsch. Komplement. Med*., 2006, *13*, 9-14.

[41] Katagülle O., Smorag U., Candir F. *et al.* — Clinical study on the effect of mineral waters containing bicarbonate on the risk of urinary stone formation in patients with multiple episodes of CaOx-urolithiasis. *World J. Urol*., 2007, *25*, 315-323.

[42] Kataoka Y., Yoshida F. — The change of hemodynamics and heart rate variability on bathing by the gap of water temperature. *Biomed. Pharmacother*., 2005, *59*, s1 92-99.

[43] Kazandjieva J., Grozdev I., Darlenski R., Tsankov N. — climatotherapy of psoriasis. *Clin. Dermatol.,* 2008, *26*, 477-485.

[44] Loy A., Beisker W., Meier H. — Diversity of bacteria growing in natural mineral water after bottling. *Appl. Environment. Microbiol*., 2005, *71*, 3624-3632.

[45] Mac-Mary S., Creidi P., Marsaut D. *et al.* — Assessment of effects of an additional dietary natural mineral water uptake on skin hydratation in healthy subjects by dynamic barrier function measurements and clinic scoring. *Skin Res. Technol*., 2006, *12*, 199-205.

[46] Marazziti D., Baroni S., Giannaccini G. *et al.* — Thermal balneotherapy induces changes of the platelet serotonin transporter in healthy subject. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2007, *31,* 1436-1439.

[47] Masiero S. — Thermal rehabilitation and osteo-articular diseases of the elderly. *Aging Clin. Exp. Res.,* 2008, *20*, 189-194.

[48] Matceyevsky D., Hanoshen NY., Vexler A. *et al.* — Assessing the effectiveness of Dead Sea products as prophylactic agents for acute radiochemotherapy-induced skin and mucosal toxicity in patients with head and neck cancers: a phase 2 study. *Isr. Med. Assoc. J.,* 2007, *9*, 439-442.

[49] McVeigh JG., McGaughey H., Hall M., Kane P. — The effectiveness of hydrotherapy in the management of fibromyalgia syndrome: a systematic review. *Rheumatol. Int*., 2008, *29*, 119-130.

[50] Mirandola P., Gobbi G., Sponzili I. *et al.* — Exogenous hydrogenic sulfide induces functional inhibition and cell death of cytotoxic lymphocytes subsets. *J. Cell. Physiol*., 2007*, 213*, 826-833.

[51] Nagai N., Fukuhata T., Ito Y. *et al.* — Preventive effect of water containing magnesium ion on paw edema in adjuvant-induced arthritis rat. *Biol. Pharm. Bull*., 2007, *30*, 1934-1937.

[52] Nony P., Cucherat M., Boissel JP. — Effets thérapeutiques des cures thermales : une méta-analyse des études avec tirage au sort. *1er Symposium Thermal Européen*, Aix les Bains, 15-17 Novembre 2006.

[53] Normén L., Arnaud MJ., Carlsson NG., Andersson H. — Small bowel absorption of magnesium and calcium sulphate from a natural mineral water in subjects with ileostomy. *Eur. J. Nutr*., 2006, *45*, 105-112.

[54] Odabasi E., Turan M., Erdem H., Tekbas F. — Does mud therapy have any chemical effect? A randomized controlled trial. *J. Altern. Complement*. Med., 2008, *14*, 559-565.

[55] Oláh M., Molnár L., Dobai J. *et al*. — The effects of weightbath traction hydrotherapy as a component of complex physical therapy in disorders of the cervical and lumbar spine: a controlled pilot study with follow-up. *Rheumatol Int*., 2008, *28*, 749-756.

[56] Passali D., Lauriello M., Passali GC. *et al.* — Clinical evaluation of the efficacy of Salsomaggiore (Italy) thermal water in the treatment of rhinosinusal pathologies. *Clin. Ter*., 2008, *159*, 181-188.

[57] Passali FM., Crisanti A., Passali GC. *et al.* — Efficacy of inhalation therapy with water of salsomaggiore (Italy) in chronic and recurrent nasosinusal inflammation treatment. *Clin. Ter.,* 2008, *159*, 175-180.

[58] Peroni A., Gisondi P., Zanoni M., Girolomi G. — Balneotherapy for chronic plaque psoriasis at Comano spa in Trentino, italy. *Dermatol. Ther*. 2008, *21*, s31-38.

[59] Pittler MH., Karagülle MZ., Karagülle M., Ernst. E. — Spa therapy and balneotherapy for treating low back pain : meta-analysis of randomized trials. *Rheumatology*, 2008, 45, 880-884.

[60] Queneau P., Graber-Duvernay B., Boudène C. — Bases méthodologiques de l'évaluation clinique thermale. *Bull. Acad. Natle Méd*., 2006, 190, *233-235*.

[61] Ribet V., Salas S., Levecq JM. *et al*. — Interest of a sterilised anti-burning gel in radiation dermatitis : results of a comparative study. *Ann. Dermatol. Venereol*., 2008, s1, 5-10.

[62] Rinaldi L., Gobbi G., Pambianco M. *et al.* — Hydrogen sulfide prevents apoptosis of human PMN via inhibition of p38 and caspase 3. *Laboratory Investigation*, 2006, *86*, 391-397.

[63] Roques CF. — Le thermalisme, la médecine que la terre nous a donnée. *Géophysique*, 2007, *7*, 74-79.

[64] Salomon R., Germain C., Olié JP., Dubois O. — Evaluation of the effectiveness of crenotherapy in treating generalized anxiety disorder. *Santé Publique*, 2008, *20*, 105-112.

[65] Schiener R., Brockow T., Franke A. et *al.* — Bath PUVA and saltwater baths followed by UV-B phototherapy as treatments for psoriasis: a randomized controlled trial. *Arch. Dermatol*., 2007, *143*, 647-649.

[66] Schoppen S., Sanchez-Muniz FJ., Carbajal A. *et al.* — Sodium bicarbonated mineral water decreases lipaemia in post-menopausal women compared to a low mineral water. *Br. J. Nutr*., 2005*, 94*, 582-587.

[67] Schoppen S., Sanchez-Muniz FJ., Pérez-Granados M. *et al.* — Does bicarbonated mineral water rich in sodium change insulin sensitivity of post-menopausal women. *Nutr. Hosp*., 2007, *22*, 538-544.

[68] Shehata M., Scharzmeier JD., Hilgarth M. *et al.* — Effect of combined spa-exercise therapy on circulating TGF-beta 1 levels in patients with ankylosing spondylitis. *Wien Klin. Wochenschr*., 2006, *118*,266-272.

[69] Staffieri A., Marino F., Staffieri C. *et al* — The effects of sulfurous-arsenical-ferrugineous thermal water nasal irrigation in wound healing after functional endoscopic sinus surgery for chronic rhinosinusitis: a prospective randomized study. *Am. J. Otolaryngol*., 2008*, 29*, 223-229.

[70] Strauss-Blasche G., Gnad E., Ekmekcioglu C., Hladschik B., Marktl W. — Combined inpatient rehabilitation and Spa therapy for breast cancer patients : effects on quality of life and CA 15-3. *Cancer Nurs*., 2005, *28*, 390-398.

[71] Tabone W., Dunand C., Auzanneau N., Lammerain E. — Spa therapy judged by persons taking the waters : data from the return of 112,419 questionnaires. 36th Congress of the International Society of Medical Hydrology & Climatology, Porto, 2008 June 25-28.

[72] Taub AF. — Procedures offered in the medical spa environment. *Dermatol. Clin*., 2008, *26*, 341-358.

[73] Toda M., Morimoto K., Nagasawa S., Kitamura K. — Changes in salivary physiological stress markers by spa bathing. *Biomed. Res*., 2006, *27*, 11-14.

[74] Toda M. — Health effects of a long term stay in a spa resort. *Arch Environ. Occup. Health*, 2006, *61*, 131-137.

[75] Tozzi A., Blancasio AC., Basagni C. *et al*. — Prevention of rhinogenous deafness at the thermal baths " Bagni delle Galleraie ". *J. Prev. Med. Hyg.,* 2006, *47*, 146-150.

[76] Vaht M., Birkenfeldt R., Ubner M. — An evaluation of the effect of differing lengths of spa therapy upon patients with osteoarthritis (OA). *Compl. Ther. Clin. Pract.,* 2008, *14*, 60-64.

[77] Verhagen A., Bierma-Zeinstra S, Lambeck J. *et al.* — Balneotherapy for osteoarthritis. A Cochrane review. *J. Rheumatol.,* 2008, *35*, 1118-1123.

[78] Wang SJ., Fuh JL., Wu ZA., Chen SP., Lirng JF. — Bath-related thunderclap headache : a study of 21 consecutive patients. *Cephalalgia*, 2008, *28*, 524-530.

[79] Yurkturan M., Ay A., Karakoç Y. — Improvement of the clinical outcome in Ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine*, 2005, 72, 283-285.

[80] Zambo L., Dékany M., Bender T. — The efficacy of alum-containing ferrous thermal water in the management of chronic inflammatory gynaecological disorders — a randomized controlled study. *Eur. J. Obstet. Gynecol*., 2008, *140*, 252-257.

[81] Zijlstra TR., Van de Laar MA., Bernelot Moens HJ. *et al* — Spa treatment for primary fibromyalgia syndrome: a combination of thalassotherapy, exercise and patient education improves symptoms and quality of life. *Rheumatology*, 2005*, 44*, 539-546.

[82] Zijlstra TR., Braakman-Jansen LM., Taal E, Rasker JJ., Van de Laar MA. — Cost-effectiveness of Spa treatment for fibromyalgia: general health improvement is not for free. *Rheumatology*, 2007, *46*, 1454-1459.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1181-1184, séance du 19 mai 2009

COMMUNIQUÉ

Recommandations

Au nom de la Commission VI (Addictions)

Boissons alcooliques : responsabiliser le consommateur

Mots-clés : Consommation d'alcool. Boissons alcoolisées. Alcoolisme, prévention et contrôle. Troubles liés à l'alcool. Santé publique.

Roger NORDMANN *

Les boissons alcooliques font actuellement l'objet d'informations multiples et souvent contradictoires. Ces messages, plus polémiques que sanitaires, ne facilitent pas l'adoption d'une attitude responsable, tenant compte des données validées sur les conséquences sanitaires, sociales et économiques de l'usage et du mésusage d'alcool.

L'Académie nationale de médecine s'est prononcée à de nombreuses reprises depuis 2003 [1] pour délivrer un message clair de santé publique à destination du consommateur afin de lui éviter un mésusage d'alcool.

En dépit de ces mises en garde ainsi que de celles des instances gouvernementales et associatives, la prévalence d'un tel mésusage demeure cependant inquiétante. En effet, selon des données récentes [2, 3] 37 % de la tranche 18-74 ans de la population française présenteraient une consommation d'alcool à risque.

Cette forte prévalence peut être liée, pour partie du moins, à la méconnaissance par le public des circonstances au cours desquelles l'alcool doit être totalement proscrit, ainsi qu'à l'ignorance par les consommateurs réguliers de leur positionnement par rapport à l'échelle des risques encourus. [1, 4]

L'Académie nationale de médecine émet donc deux recommandations :

Intensifier la diffusion des messages précisant les circonstances au cours desquelles toute consommation d'alcool est dangereuse et doit être proscrite

* Membre de l'Académie nationale de médecine. Président de la Commission « Addictions ».

- Grossesse et allaitement (la consommation d'alcool par la femme enceinte représente un risque à la fois pour le bon déroulement de la grossesse et pour l'enfant à naître, l'alcool étant la cause majeure de retard mental d'origine non génétique ainsi que d'inadaptation sociale de l'enfant) [5-7].
- Enfance et préadolescence (période fragile de maturation cérébrale et de développement de la personnalité) [8].
- Association avec la prise d'autres substances psychoactives ou de certains médicaments, en particulier psychotropes ou antihistaminiques.
- Ponctuellement (en raison des effets de l'alcool sur la vigilance et l'attention) dans les heures précédant et pendant la conduite de véhicules [9], l'usage de machines dangereuses ou l'affectation à un poste de sécurité (l'alcool au volant est devenu, depuis 2006, la première cause de mortalité routière devant la vitesse, le défaut de port de ceinture et l'usage de téléphone portable [10]).

Préconiser à tout consommateur régulier de pratiquer périodiquement une auto-évaluation individuelle et volontaire des effets qu'il encourt en s'astreignant à une journée « zéro alcool ».

C'est l'occasion pour lui de se poser des questions simples qui lui permettront de tester (sans recourir d'emblée à une consultation médicale ou des examens biologiques complémentaires) si sa consommation demeure ou non dans le domaine du simple usage (pour lequel le risque, s'il n'est pas nul, apparaît acceptable pour l'individu et la société) et non du mésusage (caractérisé par des dommages prévisibles ou déjà présents d'ordre médical, psychologique ou social) [11] :

- Supporte-t-il sans aucun problème de vie personnelle ou professionnelle et sans aucun état de manque apparent cette abstention de vingt-quatre heures ?
  Cette éventualité n'implique pas de modifier à court terme l'usage de boissons alcooliques, mais ne dispense pas de rester vigilant, en particulier en renouvelant à intervalles réguliers la pratique d'une journée sans alcool et le questionnement sur son ressenti.
- Éprouve-t-il, au contraire, une quelconque gêne, un désagrément ou une sensation d'être privé d'un élément qui semble concourir à son bien-être ? Son entourage lui signale-t-il un comportement inhabituel au cours de cette journée sans alcool ?

  Ces éventualités traduisent, presque à coup sûr, un mésusage d'alcool qui doit conduire à modifier profondément sa conduite d'alcoolisation.

  Des conseils et un soutien sont alors indispensables. Ils peuvent être obtenus grâce à des lignes d'écoute téléphoniques spécialisées [12] et à des

brochures destinées à faire le point sur la consommation d'alcool [13]. Le recours à un médecin généraliste ou à une consultation spécialisée en alcoologie s'avère cependant la méthode la plus efficace pour responsabiliser le consommateur face à l'alcool.

Le praticien pourra, en effet, détailler, sans culpabiliser, les conditions d'usage d'alcool dont les conséquences dépendent de multiples facteurs (sensibilité individuelle, modalités de consommation, nombre d'unités d'alcool consommées quotidiennement, relation avec les repas, etc.). Il pourra alors donner des conseils adaptés à chaque cas particulier, recommandant soit l'abstention, soit une consommation responsable en faisant appel, si nécessaire, à des consultations spécialisées, dont la disponibilité sur tout le territoire national a fortement progressé grâce notamment aux plans gouvernementaux 2004-2008 et 2008-2011 de lutte contre les drogues et les toxicomanies [14], ainsi qu'au plan 2007-2011 de prise en charge et de prévention élaboré par le Ministère de la Santé et des Solidarités [15]. Le praticien pourra également prendre en compte une éventuelle consommation associée d'autres produits psychoactifs, comme le tabac ou le cannabis, afin de mieux guider une démarche de responsabilisation globale. Il pourra aussi conseiller, le cas échéant, d'entrer en contact avec des associations particulièrement concernées par le mésusage d'alcool.

La responsabilisation du consommateur à l'aide du test d'auto-évaluation préconisé devrait contribuer à réduire la prévalence des conduites d'alcoolisation à risque dont les conséquences individuelles et sociétales demeurent considérables.

Une évaluation de l'efficacité des présentes recommandations devrait être réalisée à court terme.

BIBLIOGRAPHIE

[1] www.academie-medecine.fr/sites_thematiques /alcool/default.htm

[2] Baromètre Santé 2005. www.inpes.sante.fr

[3] Bilan du plan gouvernemental de lutte contre les drogues illicites, le tabac et l'alcool 2004-2008. www.drogues.gouv.fr

[4] Hillemand B. — Le message préventif de modération, un piège. Alcoologie et Addictologie, 2008, 30, 59-66.

[5] Recommandations de la Société française d'alcoologie : Les conduites d'alcoolisation au cours de la grossesse. Alcoologie et Addictologie, 2003, *25 (2 Suppl.),* 47S-50S.

[6] Nordmann R. — Consommation d'alcool, de tabac ou de cannabis au cours de la grossesse. Bull. Acad. Natle. Méd., 2004, *188,* 519-521.

[7] Guillemont J., Rosilio T., David M., Leon C., Arwidson P. — Connaissances des Français sur les risques liés à la consommation d'alcool pendant la grossesse. Évolutions, nº 3, octobre 2006. www.inpes.sante.fr

[8] Nordmann R. — Évolution des conduites d'alcoolisation des jeunes : motifs d'inquiétude et propositions d'action. Bull. Acad. Natle. Méd., 2007, *191*, 1175-1184.

[9] Cara M. — Sur la médecine face aux accidents de la route. Bull. Acad. Natle. Méd., 2003, *187,* 1169-1170.

[10] Borloo J-L. et Bussereau D. — Alcool au volant : premier facteur de mortalité. Communiqué 18/12/2008. www.securite-routiere.gouv.fr

[11] Paille F. — Alcool : épidémiologie, étiologie, clinique. In : Addictologie (Lejoyeux M., Dir.), Masson, 2008, p. 71-112.

[12] Écoute Alcool : 0 811 91 30 30.

[13] Guide pratique pour faire le point sur votre consommation d'alcool. www.inpes.sante.fr

[14] Plan gouvernemental 2004-2008 et 2008-2011 de Lutte contre les Drogues et les Toxicomanies. www.drogues.gouv.fr

[15] La prise en charge et la prévention des addictions. Plan 2007-2011. Ministère de la Santé et des Solidarités. www.drogues.gouv.fr

*
* *

L'Académie, saisie dans sa séance du mardi 19 mai 2009, a adopté le texte de ce communiqué moins une voix contre et une abstention.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1185-1194, séance du 19 mai 2009

COMMUNIQUÉ

Au nom d'un groupe de travail **

Recommandations de l'Académie nationale de médecine concernant le traitement des tumeurs malignes des tissus mous

MOTS-CLÉS : TUMEURS DES TISSUS MOUS. CHIRURGIE.

Recommendations of the French National Academy of Medicine on the treatment of soft-tissue sarcomas

KEY-WORDS (Index medicus) : SOFT TISSUE NEOPLASMS. SURGERY.

Jacques ROUËSSÉ *

RÉSUMÉ

Les sarcomes des tissus mous sont définis comme les tumeurs malignes développées aux dépens du tissu conjonctif commun extra-squelettique : tissu adipeux, tissu musculaire, vaisseaux et système nerveux périphérique. L'entité « sarcomes des tissus mous » recouvre une cinquantaine de types et sous types histologiques différents. Leur prise en charge initiale est défectueuse dans plus de la moitié des cas ce qui a des conséquences fâcheuses sur le pronostic. L'exérèse chirurgicale correctement effectuée d'emblée, c'est-à-dire passant partout en tissu sain au-delà des îlots tumoraux, est de loin le facteur pronostique essentiel pour la survie de ces malades. Les rattrapages radiothérapiques et/ou chimiothérapiques ne sont pas satisfaisants ni pour la survie ni pour la fonction. Ceci entraîne donc les recommandations suivantes : toute tumeur des tissus mous susceptible d'être maligne, soit parce que survenant chez un enfant, soit parce que profonde, soit parce que de taille supérieure à trois centimètres nécessite un examen IRM avec injection, suivi d'une biopsie effectuée selon les critères oncologiques reconnus, La prise en charge inclue l'envoi des lames à un laboratoire compétent référent, car ces tumeurs sont fréquemment d'interprétation et de classement difficiles. Ce n'est qu'après ces examens qu'un geste chirurgical adapté pourra être effectué en accord ou au sein d'un centre référent, comme cela se passe déjà ou devrait se passer pour les tumeurs osseuses malignes dans la quasi totalité de notre pays.

* Membre correspondant de l'Académie nationale de médecine

** Constitué de : J. ROUËSSÉ, J. DUBOUSSET, J.M. BLAY, S. BONVALLOT, J.M. COINDRE, J.M. GUINEBRETIÈRE, A. LECESNE, G. MISSENARD, C. NEZELOFF, I-L. RAY-COQUARD, S. TAIEB et D. VANEL.

SUMMARY

Soft tissue sarcomas are malignant tumors that develop from resident cells of non skeletal connective tissues. These include non specialized cells, fibroblasts and fibrocytes, and specialized connective tissue cells such as lipoblasts, smooth muscle cells and endothelial cells. Soft tissue sarcomas comprise more than 50 different histotypes and >150 different molecular types. Because they are infrequent, these tumors are poorly documented and their initial management often fails to follow clinical practice guidelines, potentially resulting in an increased risk of relapse and death. Standard management includes a multidisciplinary evaluation at every step, from initial diagnostic biopsy to surgery, which must be undertaken en bloc with negative histological margins. Adjuvant radiotherapy is often indicated, while the place of adjuvant chemotherapy is controversial. Importantly, these two treatments cannot replace surgery, which remains indispensable. For these reasons the Academy of Medicine makes the following recommendations. Any soft tissue mass potentially corresponding to a malignant tumor (arising in childhood, deep-seated, or > 3 cm) must be examined by MRI with contrast material injection, followed by biopsy performed according to clinical practice guidelines (including multidisciplinary assessment). Histological examination must be performed by an experienced laboratory with expertise in soft tissue tumors. Only after these different steps should the type of surgery be considered, with a further multidisciplinary assessment of the file. Treatment should ideally be undertaken in a reference center, as is already the case for bone sarcoma in France and most other European countries.

Dans notre pays, la prise en charge des tumeurs malignes des tissus mous est défectueuse dans 50 % des cas. Souvent ces tumeurs paraissent limitées par une « pseudo-capsule » qui, en fait, n'empêche pas la présence d'îlots de cellules malignes à quelques millimètres, voire à quelques centimètres au-delà.

Une exérèse chirurgicale correctement effectuée d'emblée, c'est-à-dire passant partout en tissu sain au-delà des îlots tumoraux, est le facteur pronostique essentiel pour la survie de ces malades. Les rattrapages radiothérapiques et/ou chimiothérapiques ne sont pas satisfaisants, ni pour la survie ni pour la fonction.

L'Académie nationale de médecine recommande que toute tumeur des tissus mous susceptible de malignité, c'est-à-dire survenant chez un enfant, ou de situation profonde, ou de taille supérieure à trois centimètres, nécessite un examen IRM avec injection, suivi d'une biopsie effectuée selon les critères oncologiques reconnus. La prise en charge inclut l'envoi des lames à un laboratoire compétent référent, car ces tumeurs sont fréquemment d'interprétation et de classement difficiles.

Ce n'est qu'après ces examens, qu'un geste chirurgical adapté pourra être effectué soit au sein d'un centre référent, soit en accord avec lui, ainsi que cela se passe déjà dans la quasi totalité des cas pour les tumeurs osseuses malignes.

TABLEAU 1. — types et sous-types de STM

1 - Liposarcome
liposarcome bien différencié (lipoma-like, sclérosant, inflammatoire)
liposarcome dédifferencié
liposarcome myxoïde
liposarcome à cellules rondes
liposarcome mixte
liposarcome pléomorphe
liposarcome SAI

2 - Leiomyosarcome

3 - Rhabdomyosarcome
rhabdomyosarcome embryonnaire — type conventionnel
rhabdomyosarcome embryonnaire — type botryoïde
rhabdomyosarcome embryonnaire — type à cellules fusiformes
rhabdomyosarcome alvéolaire
rhabdomyosarcome sclérosant
rhabdomyosarcome pléomorphe
rhabdomyosarcome à cellules fusiformes
rhabdomyosarcome SAI

4 - Sarcomes fibro-myofibroblastiques
myxofibrosarcome
sarcome fibromyxoïde de bas grade
fibrosarcome sclérosant épithélioïde
tumeur fibreuse solitaire maligne/hémangiopéricytome malin
sarcome myofibroblastique de bas grade
sarcome fibroblastique myxo-inflammatoire
dermatofibrosarcome de Darier Ferrand
fibroblastome à cellules géantes
fibrosarcome type adulte
fibrosarcome infantile

5 - Tumeur maligne des gaines des nerfs périphériques MPNST
(Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor)
tumeur maligne des gaines des nerfs périphériques conventionnel
schwannome malin épithélioïde
tumeur Triton maligne
schwannome malin glandulaire
schwannome malin mélanocytaire

6 - Sarcomes vasculaires
angiosarcome
hémangioendothéliome épithélioïde
sarcome de Kaposi
hémangioendothéliome kaposiforme
hémangioendéthéliome rétiforme
angioendothéliome papillaire intra-lymphatique
hémangioendothéliome composite

7 - Sarcomes avec différenciation osseuse / cartilagineuse
ostéosarcome extra-squelettique
chondrosarcome myxoïde extra-squelettique
chondrosarcome mésenchymateux
chondrosarcome SAI

8 - Sarcomes divers
synovialosarcome monophasique
synovialosarcome biphasique
synovialosarcome peu différencié
synovialosarcome SAI
ewing / PNET : (Primitive Neuro-Ectodermal Tumor)
sarcome épithélioïde
sarcome alvéolaire des parties molles
sarcome à cellules claires
histiocytofibrome angiomatoïde
tumeur fibro-histiocytaire plexiforme
tumeur maligne à cellules granuleuses
tumeur glomique maligne
mésenchymome malin
tumeur rhabdoïde extra-rénale
tumeur desmoplastique à cellules rondes
sarcome intimal
sarcome pléomorphe / histiocytofibrome malin
autre sarcome / sarcome SAI

TABLEAU 2. — Fréquence relative des sarcomes des tissus mous et des viscères

1. **Sarcomes « fréquents » : 4 types représentent les 2/3 des cas de sarcomes**
   a. GIST (gastro-intestinal stromal tumors)
   b. Sarcomes peu différenciés : anciens MFH (Malignant Fibro Histiocytoma)
   c. Leiomyosarcomes
   d. Liposarcomes bien différenciés et/ou dédifférenciés

2. **Entre 5 et 10 % des cas par type**
   a. Dermatofibrosarcome de Darier et Ferrand
   b. Sarcome de Kaposi
   c. Sarcomes du stroma endométrial

3. **Entre 1 et 4 % par type**
   a. Angiosarcomes
   b. Myxofibrosarcomes
   c. Synovialosarcomes
   d. Liposarcomes myxoïdes/à cellules rondes
   e. Sarcome d'Ewing extra-squelettique
   f. MPNST (Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor)
   g. Rhabdomyosarcomes embryonnaires

4. **Tous les autres types représentent moins de 1 % des sarcomes des tissus mous**

Importance de la prise en charge thérapeutique initiale des sarcomes des tissus mous

Les **sarcomes des tissus mous** sont définis comme les tumeurs malignes développées aux dépens du tissu conjonctif commun extra-squelettique : tissu adipeux, tissu musculaire, vaisseaux et système nerveux périphérique.

Fréquence

L'incidence des sarcomes est habituellement sous estimée. Une étude récente [1] réalisée en Région Rhône-Alpes a montré une incidence de 5,9 nouveaux cas de sarcome pour 100 000 habitants avec 3,5 cas de sarcomes des tissus mous ; 2,4 cas de sarcomes des viscères dont 1,3 cas de tumeurs stromales du tube digestif (GIST), soit environ 4 000 cas de sarcomes, et 900 cas de GIST par an en France.

Anatomie-pathologique

L'entité « sarcomes des tissus mous » recouvre une cinquantaine de types et sous types histologiques différents dont la liste des principaux est reportée par ordre de fréquence sur les tableaux nº 1 et 2 [2]. Les difficultés du diagnostic histologique expliquent les discordances entre pathologistes généralistes et pathologistes spécia-

lisés dans ce type de tumeurs [3, 4]. Généralement cependant, le pathologiste généraliste identifie bien les cas à problème. Ainsi, dans une étude en cours dans le cadre d'un réseau européen, on constate une discordance diagnostique de 41 %, dont 17 % de discordances importantes (sarcome versus tumeur bénigne ou versus autre tumeur maligne de type carcinome, mélanome ou lymphome) lorsque le pathologiste local demande un avis spécialisé (soit environ une fois sur deux) et de 17 % avec moins de 2 % de discordances importantes lorsque le pathologiste local ne demande pas d'avis spécialisé, les discordances étant alors mises en évidence lorsque le centre référent demande la communication des lames.

Les discordances sont beaucoup plus importantes quand il s'agit d'établir le grade de la lésion qui guide le pronostic, l'importance et la nature du traitement. Dans une autre étude réalisée en Aquitaine sur l'impact des seconds avis diagnostiques en anatomie pathologique [5], il s'avère que 10 % des cas de tumeurs adressées avec le diagnostic présumé de sarcome correspondent en fait à une tumeur bénigne avec les importantes conséquences éventuelles qui peuvent s'ensuivre sur des traitements injustifiés (reprise chirurgicale, radiothérapie, chimiothérapie) et le coût de la prise en charge. Si l'on extrapole les données recueillies en Aquitaine à l'ensemble de la France, on peut penser qu'environ 4 500 cas de tumeurs des tissus mous devraient être adressées à un pathologiste spécialisé dont environ 450 cas de tumeurs bénignes prises à tort pour un sarcome. Du fait de la non prise en charge financière de ces second avis, seulement 2 000 cas sont actuellement adressés pour avis avec pour conséquence environ 250 patients traités à tort pour un sarcome par an.

Environ 40 % des sarcomes sont porteurs d'une anomalie génomique spécifique : amplification des gènes MDM2 et CDK4 dans les liposarcomes différenciés et/ou dédifférenciés et translocations dans environ une douzaine de types de sarcomes (tableau nº 3). La mise en évidence de ces anomalies est d'une aide importante pour le diagnostic et la prise en charge thérapeutique. C'est souligner l'importance de disposer de fragments congelés obtenus de préférence lors de la biopsie initiale ou à défaut lors de l'exérèse et de la mise en place en France des tumorothèques et des plate-formes de génétique tumorale.

Imagerie

L'imagerie est un élément essentiel du diagnostic différentiel entre lésion bénigne et maligne, sans pour autant avoir la précision de l'histologie. Elle est indispensable pour l'élaboration de la stratégie diagnostique et thérapeutique [6].

Les clichés standards et l'échographie permettent d'éliminer une pseudo-masse, une lésion osseuse étendue dans les parties molles et une origine articulaire. Ils font le diagnostic d'une atteinte osseuse de continuité, de dépôts calciques, de l'absence de lésions osseuses. Mais ces examens ne permettent pas d'avoir une idée précise de la taille de la lésion ni de son extension et peuvent donner la fausse impression de bénignité d'une érosion osseuse. Outre la précision de la localisation, ils vont cependant permettre de préciser la nature solide ou liquide et éventuellement la

Tableau 3. — Anomalies génétiques des sarcomes

• **PNET (Ewing)**	**t (11 ; 22) ; t (21 ; 22) ;...**
• **Synovialosarcome**	**t (X ; 18)**
• **Rhabdomyosarcome alvéolaire**	**t (2 ; 13) et t (1 ; 13)**
• **Liposarcome myxoïde**	**t (12 ; 16) et t (12 ; 22)**
• **Chondrosarcome myxoïde**	**t (9 ; 22)**
• **Sarcome à cellules claires**	**t (12 ; 22)**
• **Sarcome fibromyxoïde bas grade**	**t (7 ; 16) et t (11 ; 16)**
• **T. desmoplastique à cellules rondes**	**t (11 ; 22)**
• **Darier et Ferrand**	**t (17 ; 22)**
• **Fibrosarcome infantile**	**t (12 ; 15)**
• **Sarcome alvéolaire des parties molles**	**t (X ; 17)**
• **T. myofibroblastique inflammatoire**	**t (2 ; 19) ; t (1 ; 2) ;...**
• **Histiocytofibrome angiomatoïde**	**t (12 ; 16) ; t (12:22)**

vascularisation de la lésion. Ils peuvent permettre le diagnostic de kystes synoviaux, de kystes sébacés, de lésions vasculaires, (anévrysme, varices, angiome), de ganglions ou de lipome superficiels, d'œdème et de cellulite.

En cas de lésions solides de plus de trois centimètres ou de taille moindre mais en situation profonde, il importe de compléter les investigations d'imagerie par une IRM [7]. Celle-ci, doit comporter des séquences en pondération T1, T2 et une injection de produit de contraste (sels de gadolinium). Des séquences complémentaires : saturation de graisse, étude dynamique seront réalisées si besoin. La spécificité du diagnostic de sarcomes des parties molles varie selon les auteurs de 25 à 92 %. Néanmoins toutes les lésions superficielles de plus de cinq centimètres ou profondes de plus de trois centimètres sont suspectes de correspondre à un STM jusqu'à preuve histologique du contraire et ce notamment si elles comportent une composante nécrotique. La qualité des limites tumorales n'est pas un critère absolu. En revanche, la localisation tumorale est un critère plus fiable : au-dessus de l'aponévrose il s'agit généralement d'un processus bénin. La taille est elle aussi un élément important : au dessous de trois centimètres la valeur prédictive en faveur d'un processus bénin est de 93 % alors qu'une taille supérieure à cinq centimètres est très en faveur d'un processus malin (spécificité de 74 % et précisions de 66 %) [8-11]. L'IRM a, d'autre part, le mérite de préciser d'éventuelles extensions loco-régionales, vasculo-nerveuses, voire ganglionnaires. Ces dernières certes sont peu fréquentes mais on peut les détecter en cas de rhabdomyosarcomes embryonnaires, de sarcomes à cellules claires ou de sarcomes épithéloïdes de haut grade.

Enfin l'échographie et/ou la TDM vont permettre la pratique d'une biopsie au tru-cut de 18 ou 16 G dont le trajet devra être déterminé en accord avec le chirurgien. La biopsie doit comporter systématiquement un fragment frais congelé pour étude biomoléculaire et sera réalisée au mieux dans une structure spécialisée.

Importance de la prise en charge thérapeutique initiale

La chirurgie d'exérèse

La qualité du traitement local initial est ici, comme dans de nombreuses autres pathologies cancéreuses, un élément capital du pronostic. Cette qualité repose sur celle de la chirurgie d'exérèse qui doit être monobloc, la tumeur ne devant pas être vue, doit emporter le trajet de la biopsie et passer en zone saine en étant au besoin « compartimentale », la quantité et la qualité de la marge (barrière anatomique : aponévrose, périoste, épinèvre) étant des éléments importants. Le pronostic local et vital est lié à la taille minimale de la marge de tissu sain [12, 13].

L'adjonction d'une thérapeutique complémentaire (radiothérapie et/ou chimiothérapie et/ou reprise chirurgicale) ne peut au mieux que pallier, généralement incomplètement et bien souvent au prix d'une importante morbidité, les insuffisances d'une chirurgie initiale qui pour une raison ou une autre ne respecterait pas les critères de qualité.

L'intérêt discutable de la chimiothérapie adjuvante et de la radiothérapie

Les essais thérapeutiques randomisés comparant des malades traités par chirurgie suivie ou non d'une chimiothérapie adjuvante comportant des anthracyclines, ne démontrent pas de façon significative l'intérêt de celle-ci. (tableau nº 4). La méta-analyse publiée en 1997 [14] regroupant douze essais randomisés concernant des adultes dont le plus important celui de l'EORTC avec 468 patients [15] montre que la chimiothérapie réduit essentiellement le risque de rechute locale. En 2001, les résultats d'un essai randomisé italien incluant 104 patients adultes mettaient en évidence, au contraire, l'intérêt de la chimiothérapie adjuvante tant en termes de survie sans rechute que de survie globale [16]. Ces résultats n'ont pas été confirmés par le deuxième essai de l'EORTC [17] incluant 351 patients, différent du précédent essai mené par cette organisation par l'utilisation d'une chimiothérapie mieux adaptée. Ses résultats sont, en effet, négatifs en termes d'amélioration de la survie tant globale que sans rechute. La comparaison de l'étude italienne et de celle de l'EORTC met en évidence une différence très notable entre les courbes de survie des patients du bras sans chimiothérapie pouvant témoigner indirectement de la nécessité de la qualité de l'acte chirurgical initial. Les courbes de survie avec ou sans chimiothérapie sont équivalentes dans l'essai de l'EORTC et comparables à celle des patients italiens ayant reçu la chimiothérapie adjuvante [18].

La chimiothérapie adjuvante ne se substitue pas à une chirurgie initiale inadaptée et n'améliore pas le pronostic des patients ayant bénéficié d'une chirurgie optimale [19]. Elle risque d'avoir un effet négatif à plus ou moins long terme.

Les résultats de la radiothérapie complémentaire vont dans le même sens [20]. La radiothérapie diminue l'incidence des récidives locales sans modifier la survie globale. Elle ne pallie pas une chirurgie inadaptée : dans ce cas il faut discuter une

TABLEAU 4. — Résultats des principales études randomisées de chimiothérapie adjuvante vs pas de chimiothérapie adjuvante

SMAC	Chimiothérapie	N cas	Résultats
Méta-analyse 1997 (10)	Variée	**1.555**	**> SSR = SG**
Frustaci (16)	**EPI 120 mg/m² IFO 9 g/m²-GCSF**	**104**	**> SSR > SGS**
EORTC 62771	**CYVADIC (CPM / Dox / DTIC)**	**468**	**> SSR = SG**
EORTC 62931	**DOX 75 mg/m² IFO 5 g/m² — GCSF**	**351**	**= SSR = SG**

SSR : survie sans rechute
SG : survie globale
Doxo : doxorubicine, EPI : 4 épiadriamycine, IFO : ifosphamide,
CYVADIC protocole associant cyclophosphamide, vincristine, doxorubicine, DTIC

reprise d'exérèse élargie. Certains patients présentant un sarcome de bon pronostic pourraient éviter la radiothérapie mais cela doit être validé par une étude prospective (étude en cours GSF GETO).

L'analyse conjointe des deux essais de chimiothérapie adjuvante de l'EORTC [19] rassemblant plus de 400 patients met en évidence que le principal critère pronostique est la qualité de la chirurgie initiale.

Cette qualité est assurée essentiellement dans les institutions spécialisées dans la prise en charge de cette pathologie qui sont, de ce fait, amenées, à traiter un nombre suffisant de patients. Qu'il s'agisse des localisations rétro-péritonéales ou des membres, leurs résultats en termes de survie sont, en effet, supérieurs à ceux des autres [21-24].

Les bonnes pratiques

En cas de petite tumeur (la taille doit être rapportée à la localisation) dont une reprise d'exérèse élargie paraît possible, une exérèse sans effraction tumorale (correspondant à une énucléation) est réalisée et une reprise élargie est pratiquée si l'anatomie-pathologique confirme le diagnostic de sarcome. En cas de tumeur de grande taille ou dont la localisation ne permet pas une reprise chirurgicale élargie une biopsie préalable est nécessaire. Cette biopsie « première » a l'intérêt de permettre un diagnostic précis dont les conséquences thérapeutiques sont importantes puisque l'on disposera d'éléments permettant de porter le diagnostic de malignité, d'apprécier l'agressivité du sarcome et d'avoir une notion sur son éventuelle chimiosensiblité. La qualité de la prise en charge chirurgicale commence à la biopsie. Celle-ci doit être, au mieux, effectuée sous scanner (plusieurs carottes au trocart de 18 ou 16 G) sur le trajet de la future exérèse. Si la biopsie doit être chirurgicale, l'incision doit être petite et dans l'axe du membre. On doit éviter les zones de nécrose.

Il est nécessaire de tatouer le site de ponction. La quantité de matériel doit être vérifiée. Un prélèvement doit être fait pour une congélation. Tout drainage doit être évité.

La prise en charge initiale (incluant la biopsie) sera discutée et décidée lors d'une réunion pluridisciplinaire comportant le chirurgien, l'oncologue médical, le radiothérapeute, le spécialiste en imagerie et l'anatomopathologiste. Elle concernera la chirurgie et son type, précédée éventuellement d'une chimiothérapie locale (perfusion isolée de membre) ou générale. Une autre réunion pluridisciplinaire est indispensable au vu des résultats définitifs post chirurgicaux de l'anatomo-pathologie [23, 24]

CONCLUSION

Le respect de règles diagnostiques strictes doit permettre un traitement local d'emblée optimal, améliorant également la survie.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Ducimetière F., Lurkin A., Ranchère D. *et al.* — Prospective incidence of sarcoma after systematic review of pathological diagnosis: new findings. Proceeding of the CTOS 14th meeting, 2008 (abstract).

[2] Fletcher C.D.M., Unni K., Mertens M. — Pathology and Genetics of Tumours of Soft Tissue and Bone (World Health Organization Classification of Tumours S.), Oxford University Press, 2002).

[3] Arbiser Z.K., Folpe A.L., Weiss S.W. — Consultative (expert) second opinions in soft tissue pathology. Analysis of problem-prone diagnostic situations. *Am. J. Clin. Pathol.*, 2001, Oct., *116 (4),* 473-6.

[4] Lurkin A., Ducimetière F., Ranchère Vince D. *et al.*, — Prospective evaluation of concordance between initial diagnosis and central pathology review by expert in a comprehensive series of sarcoma patients diagnosed in the Rhone-Alpes region in 2005. Proceeding of the CTOS 14th meeting, 2008 (abstract).

[5] Lapeyrere N., Parrens M., Coindre J.M. *et al.* — Impacts des avis diagnostiques de cancérologie en Aquitaine. Etude quantitative, qualitative (tumeurs conjonctives, lymphoïdes et mélaniques) et médico-économique rétrospective sur une année. *Ann. Pathol.*, (accepté pour publication).

[6] Clark M.A., Fischer C., Judson I. *et al.* — Soft-Tissue Sarcomas in Adults. *N. Engl. J. Med.*, 2005, *353*, 701-11.

[7] Belli P., Costantini M., Mirk P. *et al.* — Sonographic diagnosis of distal biceps tendon rupture: a prospective study of 25 cases *J. Ultrasound Med.*, 2001*, 20*, 587-595.

[8] De Schepper A.M., De Beuckeleer L., Vandevenne J.— Magnetic resonance imaging of soft tissue tumors. *European radiology,* 2000, *10(9),* 1423-33.

[9] Crim J.R. — Diagnosis of soft tissue masses with MR imaging: Can benign be differentiated from malignant one? *Radiology*, 1992, *185*, 581-6.

[10] Datir A., James S.L., Ali K. — MRI of soft tissue masses: the relationbship betweeen lesion size, depht, and diagnosis. *Clinical Radiology*, 2008, *63*, 373-8.

[11] Harish S., Lee J.C., Ahammad M. *et al.* — Soft tissue masses with " cyst-like " appearance on MR imaging: distinction of benign and malignant lesions. *Eur. Radiol.*, 2006, *16*, 2652.

[12] Sastre-Garau X., Coindre J.M., Leroyer A. *et al.* — Predictive factors for complete removal in soft tissue sarcomas: a retrospective analysis in a series of 592 cases. *Journal of surgical oncology*, 1997, *65(3),* 175-82.

[13] Stojadinovic A., Leung D.H.Y., Hoos A. *et al.* — Analysis of the Prognostic Significance of Microscopic Margins in 2,084 Localized Primary Adult Soft Tissue Sarcomas. *Annals of Surgery*, 2002, 235, *3*, 424-34.

[14] Sarcoma Meta-analysis Collaboration. Adjuvant chemotherapy for localised resectable soft tissue sarcoma in adults: meta-analysis of individual patient data. *Lancet*, 1997, *350*, 1647-54.

[15] Bramwell V., Rouëssé J., Steward W. *et al.* — Adjuvant Cyvadic chemotherapy for adult soft tissue sarcoma — reduced local recurrence but no improvement in survival : a study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer soft tissue and bone sarcoma group. *J. Clin. Oncol.*, 1994, *12*, 1137-1149.

[16] Fruscati S., Gherlizoni F., De Paoli A. *et al.* — Adjuvant chemotherapy fot Adult Soft Tissue Sarcomas of the extremities and Girdles : Results of the Italian Randomized Cooperatve Trail. *J. Clin. Oncol.*, 2001, *19*, 1238-47.

[17] Woll P.J., Van Glabbeke M., Hohenberger P. *et al.* — Adjuvant chemotherapy (CT) with doxorubicin and ifosfamide in resected soft tissue sarcoma (STS): Interim analysis of a randomised phase III trial. *Journal of Clinical Oncology*, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol. 25, No. 18S (June 20 Supplement), 2007, 1000.

[18] Cormier J.N., Huang X., Xing Y. *et al.* — Cohort Analysis of Patients With Localized, High Risk, Extremity Soft Tissue sarcoma Treated at Two Cancer Centers ; Chemotherapy-Associated Outcomes. *J. Clin. Oncol.*, 2004, *22*, 4567-74, 1, *19*, 1238-47.

[19] Lecesne A., Van Glabbeke P., Wool P.J.*et al.* — The end of adjuvant chemotherapy era with doxorubicin-based regimen in resected high-grade soft tissue sarcoma: pooled analysis of the two STBSG-EORTC phase III clinical trials. *J. Clin. Oncol., 26*, 2008 (May 20 suppl. Abstr. 10525).

[20] Tepper J.E., Suit H.D. — Radiation therapy of soft tissue sarcomas. *Cancer* 1985 May 1, *55(9 Suppl),* 2273-7.

[21] Van Dalen T., Hennipman A., Van Coevorden F. *et al.* — Evaluation of a Clinically Applicable Post-Surgical Classification System for Primary Retroperitoneal Soft-Tissue Sarcoma. *Ann. Surg. Oncol.*, 2004, May, *11(5)*, 483-90.

[22] Gutierrez J.C., Perez E.A., Moffat F.L. *et al.* — Should soft tissue sarcomas be treated at high-volume centers? An analysis of 4205 patients. *Ann. Surg.*, 2007 Jun., *245(6),* 952-8.

[23] Wunder J.S., Nielsen T.O., Maki R.G. *et al.* — Opportunities for improving the therapeutic ratio for patients with sarcoma. *Lancet Oncol.*, 2007 Jun., *8(6),* 513-24.

[24] Ray-Coquard I., Thiesse P., Ranchère-Vince D. *et al.* — Conformity to clinical practice guidelines, multidisciplinary management and outcome of treatment for soft tissue sarcomas. *Ann. Oncol.*, 2004, *15*, 307-315.

*
* *

L'Académie, saisie dans sa séance du mardi 19 mai 2009, a adopté le texte de ce rapport à l'unanimité.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1195-1196, séance du 26 mai 2009

COMMUNIQUÉ

À propos de l'utilisation des cabines à bronzer

MOTS-CLÉS : CANCÉROGÉNÈSE. RAYONNEMENTS ULTRAVIOLETS/EFFETS SECONDAIRES. ESTHÉTIQUE.

Jean CIVATTE * et Jacques BAZEX *

Les experts du Centre de Recherche sur le Cancer du Royaume Uni (Cancer Research Centre, UK) viennent de rappeler à nouveau que le mélanome est le cancer de la peau le plus grave et que sa fréquence est actuellement supérieure à celle du cancer du col de l'utérus chez les anglaises de moins de 50 ans ; ils insistent surtout sur la mise en cause des expositions aux rayons ultraviolets (RUV) des cabines de bronzage. En Grande Bretagne, on dénombre actuellement 9 000 nouveaux cas par an de mélanome, chiffre qui pourrait atteindre 15 500 cas annuels d'ici quinze années. Cette augmentation serait essentiellement liée à la fréquentation croissante des centres de bronzage en cabine à R.U.V. : l'étude du Cancer Research Centre du Royaume Uni précise en effet que 80 % des utilisatrices de cabines recourent à ce bronzage artificiel avant l'âge de 35 ans et que 9 % des jeunes filles de 11 à 17 ans l'ont déjà recherché [1].

En France, le mélanome est l'une des tumeurs dont l'incidence a le plus augmenté ces vingt dernières années : sa fréquence a été multipliée par quatre chez les hommes et par trois chez les femmes. Considérant que ce problème relevait de sa responsabilité, l'Académie nationale de médecine a mis en garde nos concitoyens à plusieurs reprises d'abord contre les excès d'exposition solaire puis contre les expositions intempestives aux rayons UV artificiels initialement considérés à tort comme peu agressifs.

Mais, malgré les mises en garde de l'Académie nationale de médecine, notamment dans son rapport intitulé « La prévention des effets nocifs des rayons ultraviolets » adopté le 2 décembre 1997, la fréquentation des salons à bronzer ouverts au public n'a fait qu'augmenter, et ceci grâce à une intense publicité.

On sait depuis longtemps qu'il n'y a aucun bénéfice à attendre pour la santé d'expositions répétées aux rayons ultraviolets artificiels en plus des expositions naturelles au soleil. Il est au contraire largement prouvé que les expositions aux

* Membre de l'Académie nationale de médecine

rayons ultraviolets A et ultraviolets B sont responsables de la recrudescence des cancers cutanés dont le nombre double tous les dix ans. Il est bon de rappeler que les rayons UV A, autrefois considérés comme inoffensifs, sont en réalité aussi agressifs que les rayons UV B et ont une part déterminante dans la carcinogenèse, ce que vient encore confirmer le rapport cité en référence [1].

La législation, en réalité faussement protectrice de l'individu, laisse croire que, sous réserve d'une stricte observance des recommandations émises par les pouvoirs publics et d'un encadrement de cette activité par un personnel qui n'est formé qu'en quelques heures, l'utilisation des cabines émettant des rayons UV resterait acceptable [2].

Or, selon les enquêtes conduites par les associations de consommateurs, les recommandations, qui, en réalité, ne mettent pas à l'abri de risques réels, ne sont jamais respectées.

D'autre part, toutes les études sérieuses montrent que, bien avant que n'apparaisse la pigmentation attendue par l'utilisateur des cabines à UVA, des altérations de la peau sont déjà présentes et, pour certaines, définitives ; en outre, point qui n'est jamais signalé par les gestionnaires des centres de bronzage, la pigmentation obtenue n'aura aucune action protectrice lors de futures expositions au soleil.

C'est pourquoi l'Académie nationale de médecine regrette vivement que les pouvoirs publics

— n'aient pas pris en compte ses recommandations,
— refusent de modifier la législation actuelle et de signaler qu'une telle pratique est dangereuse pour tous les individus,
— tolèrent que des chaînes nationales de télévision acceptent d'assurer la promotion de cette pratique et que des messages publicitaires puissent être présentés dans des salles de cinéma et autres lieux publics sans un avis défavorable du Conseil Supérieur de l'Audiovisuel ;
— elle ne peut donc que manifester à nouveau sa très forte opposition à une pratique dont le caractère dangereux est manifeste.

RÉFÉRENCES

[1] *Ireland sees 75 % rise in melanoma in women under 50.* Cancer Research UK News & Resources News archives (13 mai 2009)

[2] Décret 97-617 du 30 mai 1997

*
* *

L'Académie, saisie dans sa séance du mardi 26 mai 2009, a adopté le texte de ce communiqué à l'unanimité.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1197-1201

PRÉSENTATION D'OUVRAGES

Séance du 19 mai 2009

Monet J. — *La naissance de la kinésithérapie.* Préface de Denys Pellerin, Paris, Éditions Glyphe, 2009, 420 p.

Jacques Monet, kinésithérapeute est directeur de l'Association pour le Développement et la Recherche en Rééducation fonctionnelle) (ADERF). Ayant soutenu en 2003 une thèse en sociologie sur « *l'Historique de la kinésithérapie, une spécialité médicale impossible* », il en a tiré un ouvrage préfacé par Denys Pellerin. La kinésithérapie s'est toujours trouvée mal à l'aise entre la médecine physique et la rééducation. Jacques Monet, reprenant son histoire, explique ce malaise que le développement incontrôlé de l'ostéopathie (contre lequel l'Académie s'est clairement exprimée) est venu aggraver.

Le terme « kinésithérapie » fut créé en 1847 par le gymnaste suédois A. Georgii pour désigner le traitement des maladies de l'appareil de soutien par des mouvements imposés passifs et actifs combinés à des massages. Stapfer, en 1891, le préféra à « massothérapie » et à « gymnastique médicale ». A la fin du XIX^{e} siècle, l'essor de la physiologie, de la médecine expérimentale et de la biologie, allait de pair avec celui de la médecine hospitalière qui tendait à se spécialiser. La question des médecines parallèles se fit jour, c'était celle des charlatans, mais aussi celle des magnétiseurs et des rebouteux qui étaient parfois appelés à l'aide par les médecins. Dans le même temps, les masseurs étaient sollicités par les hôpitaux. Le renouveau de la thérapeutique physique et manuelle qui marque cette époque va de l'hydrothérapie, au thermalisme, à la climatothérapie, à l'électrothérapie pour en venir à la gymnastique individuelle ou collective (suivant le modèle suédois), sans oublier la mécanothérapie. A l'étranger le masseur était médecin mais, en France les médecins pensaient que c'était déchoir « de s'occuper de ces manœuvres qu'il fallait laisser aux mains des gens subalternes », d'où l'efflorescence d'un exercice illégal de la médecine. L'association « agents physiques-gymnastique raisonnée » était prônée par l'école de la Salpetrière. On vit apparaître, dans cette mouvance, la profession de masseur magnétiseur calquée sur la profession de chirurgien dentiste ! Dans le même temps l'orthopédie neurologique vit le jour avec des appareils qui persistent dans l'arsenal orthopédique de nos jours. Même si les médecins masseurs, les médecins de gymnastique apparaissaient dans les grands hôpitaux, la gymnastique médicale se développait difficilement en France alors qu'elle était largement répandue dans les pays nordiques.

La société de kinésithérapie, née en 1900 eut Lucas Championnière comme premier président et Marey, comme président d'honneur. Elle rassemblait des médecins qui se réunissaient pour confronter leurs observations et discuter des aspects déontologiques de la spécialité suivant quatre pôles : massage, gymnastique, gymnastique gynécologique et rééducation. Elle s'opposait à l'Ecole française d'orthopédie et de massage (EFOM 1895) qui, dès 1896, délivrait des diplômes d'aide masseur, activité dont il était spécifié qu'elle devait être ordonnée par un médecin et à la Faculté libre des Sciences magnétiques délivrant un diplôme de masseur-magnétiseur qui devait être rejeté par le corps médical. Le différend médecin-masseur et masseur de ville non diplômés ou diplômés d'une école de massage était une affaire de clientèle, d'où une lutte contre les diplômes délivrés par des écoles peu ou pas contrôlées par la hiérarchie médicale.

La guerre de 14-18 entraîna la création de centres de physiothérapie et de récupération pour permettre aux blessés d'accéder à la rééducation fonctionnelle. Le flou des institutions persistera jusqu'à la loi du 30 avril 1946 qui crée la profession de masseur-kinésithérapeute nécessitant pour être exercée un diplôme d'Etat et ne pouvant être pratiquée que sur ordonnance médicale.

Jean Dubousset

Séance du 26 mai 2009

Larcan A. et Ferrandis G.G. — *Le Service de Santé aux Armées pendant la Première Guerre Mondiale*. Paris, LBM édit., 2008, 596 p.

Parmi les nombreuses publications qui ont marqué en 2008 le 70e anniversaire de l'armistice de 1918 manquait un ouvrage consacré spécifiquement à l'action du Service de Santé pendant la Première Guerre Mondiale : c'est à cette histoire que s'adresse le livre de notre confrère le Professeur A. Larcan en collaboration avec le Médecin en chef JJ. Ferrandis, Conservateur honoraire du Musée du Service de Santé du Val de Grâce.

S'il était besoin de souligner l'importance cruciale de ce service, les chiffres rappelés par les auteurs méritent d'être cités dans leur brutale sécheresse : 8 400 000 personnes furent mobilisées entre 1914 et 1918, laissant 1 300 000 morts, 3 595 000 blessés et 2 000 000 d'invalides.

Dans cet ouvrage, tous les principaux aspects du Service sont successivement évoqués et d'abord son organisation. Au début de la guerre, celle-ci reposa malheureusement sur une conception tactique partiellement erronée, celle d'une guerre courte avec comme conséquence technique l'évacuation des blessés au plus vite, au plus loin et par tous les moyens. Malheureusement les conditions de ramassage souvent aléatoires, les évacuations trop lentes et dans de mauvaises conditions

aboutirent à un véritable désastre sanitaire en 1915. La leçon en fut vite tirée et l'histoire du Service va devenir celle de l'adaptation successive et permanente des structures avec en particulier la création de postes de secours permettant les premiers soins et un triage des blessés avec la possibilité d'un traitement plus complet au plus près de la ligne de Front grâce à un service d'ambulances chirurgicales mobiles.

Cette évolution technique s'accompagne d'une modification profonde des rapports avec le pouvoir politique et militaire avec la création d'un Sous-Secrétariat d'Etat du Service de Santé en 1915, mais qui n'acquit une autonomie complète qu'en 1917. Ceci permit d'éviter ou tout au moins d'atténuer la concurrence stérile entre médecins d'active et de réserve.

Près du tiers de l'ouvrage est consacré aux progrès techniques, d'abord à ceux de la chirurgie de guerre confrontée à de nouveaux types de blessures. Aux classiques plaies par balle des conflits précédents va se substituer progressivement la très grande prédominance des lésions par éclats d'obus, de grenades et de bombes atteignant 58 % des cas en 1918. L'atteinte des membres était de loin la plus fréquente (environ 60 %), avec le risque de surinfection (en particulier gangrène gazeuse) nécessitant des méthodes spécifiques de traitement. La survenue de graves blessures de l'extrémité céphalique entraîna le développement de nouvelles spécialités telle la neurochirurgie et, surtout, la chirurgie maxillo-faciale. Mais si la pathologie chirurgicale a représenté de loin l'activité essentielle, il ne faut pas méconnaître d'autres problèmes pathologiques majeures telles les complications respiratoires liées à l'utilisation des gazes de combat, l'existence de maladies infectieuses (fièvre typhoïde, grippe espagnole, paludisme pour l'armée d'Orient).

Enfin l'importance du retentissement psychologique des combats entraîna l'apparition d'une véritable psychiatrie de guerre, allant du simple syndrome subjectif à de véritables psychoses nécessitant la création de centres spécialisés pour traiter les patients et reconnaître les pithiatiques.

Ainsi, s'il est exact qu'au début de la guerre le Service de Santé fut totalement débordé, à la fin du conflit il avait acquis une quasi-perfection et rempli parfaitement son rôle, à l'exception d une défaillance majeure, mais limitée, lors de l'offensive du Chemin des Dames en avril 1917. Tout en ayant payé un lourd tribut en morts et en blessés (1 600 médecins, 150 pharmaciens, 9 200 brancardiers périrent en accomplissant leur métier), il a contribué de façon remarquablement efficace à réduire la mortalité, les complications et les séquelles de ce conflit à nul autre pareil.

Outre de nombreux documents et une iconographie de près de quatre cent-cinquante illustrations, dont beaucoup sont inédites, ce livre apporte un témoignage irremplaçable de ce que fut le Service de Santé durant la Première Guerre Mondiale, allant des conceptions les plus générales de son organisation jusqu'aux histoires les plus simples, telles qu'elles furent vécues au fond des tranchées.

Jacques PHILIPPON

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1197-1201

Bazin H. — *L'histoire des vaccinations*. Montrouge, John Libbey eurotext, 2008, 471 p.

Nous sommes, dans cette enceinte, plusieurs anciens élèves de l'Institut Pasteur, plusieurs Pasteuriens, plusieurs enseignants de microbiologie ou de maladies infectieuses et sans doute croyons-nous bien connaître l'histoire des vaccinations. La lecture de l'ouvrage d'Hervé Bazin, membre correspondant de notre Compagnie, (*L'Histoire des vaccinations publiés chez John Libbey*) devrait nous remplir d'humilité et nous conduire à mesurer l'indigence insoupçonnée de notre information. Il est vrai qu'avec ce livre, nous avons affaire à une œuvre de véritable historien. L'ouvrage a certes été écrit par un scientifique, mais également par un humaniste féru d'histoire. Hervé Bazin sait, en effet, développer les aspects sociologiques, culturels, religieux que soulève l'histoire des vaccinations, notamment lors de ses premières étapes. Il sait également apporter des commentaires personnels qui, avec l'extraordinaire richesse de la documentation contribuent à rendre la lecture de ce livre singulièrement intéressante.

L'histoire commence, comme il se doit, par celle de la petite vérole et de la variolisation importées en Europe par Lady Montagu, épouse de l'Ambassadeur de Grande-Bretagne à Constantinople. Elle se poursuit tout naturellement par la vaccination jennérienne et par le rôle de la vache et de la génisse dans la vaccination de l'homme. L'Académie nationale de médecine était, à l'origine, rue des Saints Pères et le rôle joué par notre Compagnie dans la diffusion de cette vaccination est très justement développé par l'auteur.

Quant à l'épopée pasteurienne, elle est traitée avec justesse, loin des hagiographies trop fréquentes, mais loin aussi des thèses systématiquement hostiles. Hervé Bazin nous fait partager les polémiques qui ont passionné l'époque et dont certaines ont été vécues au sein même de notre Compagnie. Notamment la rivalité avec Toussaint, jeune professeur à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse pour l'immunité anticharbonneuse, celle avec Galtier, Professeur à l'Ecole Vétérinaire de Lyon et membre de notre Compagnie, pour le vaccin antirabique. Véritable précurseur dans le domaine de la vaccination contre la rage, Galtier avait reçu en 1907 une invitation de l'Institut Karolinska de Stockholm lui demandant d'adresser l'ensemble de ses travaux, en vue d'une proposition pour le Prix Nobel de physiologie et de médecine de 1908. Galtier mourut hélas cette même année.

Hervé Bazin a su, dans ce livre, nous faire apprécier les immenses qualités de Louis Pasteur, sans pour autant nous cacher ses périodes de doute et les difficultés qu'il a pu rencontrer. Il met notamment en lumière les extraordinaires qualités de grand communicant qu'était notre génie national.

C'est aussi, pour le vétérinaire, scientifique et historien auteur du livre, l'occasion, sans y insister, de rappeler que toute l'histoire pasteurienne de la vaccination est animale: la poule avec son choléra, le mouton avec le charbon, le chien et le lapin avec la rage, le rouget avec le porc. Si on y ajoute la vache de Jenner, on vérifie ainsi la constance de la présence animale dans l'histoire des vaccinations.

L'auteur n'oublie pas de nous rappeler les progrès récents de la biologie moderne et le chemin qui nous reste à parcourir pour préserver l'humanité des maladies qui la menacent.

Œuvre de précision, appuyée sur une bibliographie d'une extraordinaire richesse, puisant à la source, notamment dans les cahiers de laboratoire de Pasteur, *''L'histoire des vaccinations''*, écrite par Hervé Bazin, constitue désormais la référence incontournable de ce chapitre particulier et passionnant de l'histoire de la médecine.

Charles PILET

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1203-1204

VIE DE L'ACADÉMIE

Pierre Choubrac (1916-2009)

Charles HAAS *

Pierre Choubrac, membre correspondant honoraire de l'Académie nationale de médecine, nous a fait de la peine, pour la première fois, en quittant ce monde le 16 mai 2009, à l'âge de 93 ans.

Externe en 1936, interne des Hôpitaux de Paris en 1942, il fut chef de clinique de Mollaret en 1946-1947 (à Claude Bernard) et de Lian en 1947-1948 (à la Pitié), où Pierre Godeau fut un de ses stagiaires. Nommé Médecin des hôpitaux de Paris en 1955, il fut chef de service à la consultation de l'Hôtel Dieu en 1963, puis à l'hôpital Laennec en 1965. À Laennec, il avait la charge d'un grand service de médecine interne qui comptait initialement quatre salles communes et plus de cent vingts lits. Par la suite, le service fut modernisé, en grande partie grâce à sa diplomatie, et ne comportait plus, à son départ à la retraite, en octobre 1981, que des chambres confortables à un ou deux lits. La salle Grisolle fut la première à Laennec, en 1971, à bénéficier de cette transformation.

Initialement pneumologue, Pierre Choubrac était aussi devenu interniste. Il était aidé dans sa tâche par de fidèles assistants : J. Certain, R. Reboul, P. Vignolet, internistes, Ortega et P. Pasquier, pneumologues, C. Guérin, rhumatologue, Vasselin, cardiologue, et G. Tinel, neurologue et psychiatre. Chacun dans ce service, quelle que soit sa fonction, était heureux de travailler dans une exceptionnelle harmonie, car les qualités du Patron étaient contagieuses. Ce qui dominait en lui, c'était la droiture intellectuelle, la droiture morale et la joie de vivre. Il n'admettait que la clarté et la limpidité. Guidé par un jugement sain, une logique tranquille et le sens aigu de discerner l'essentiel, il faisait jaillir la lumière des difficultés les plus obscures.

Ses travaux (plus de cent soixante-cinq publications), allient la profondeur de la pensée à la clarté du style. Se sachant profond, il s'efforçait d'être clair, à la différence de beaucoup qui, parce qu'ils voudraient sembler profonds, s'efforcent d'être obscurs. Ses pôles d'intérêt ont d'abord été la pneumologie et de phtisiologie. Il faut rappeler qu'il fut en France, dès 1945, un des pionniers de l'angiographie pulmonaire. En 1953, il analysait avec M. Bariéty, les résultats de 150 angiopneumographies au congrès de la Société française de médecine et chirurgie thoraciques. Il

* Membre correspondant de l'Académie nationale de médecine.

publia chez Masson, en 1961, un *Traité des Maladies Respiratoires* (939 pages), qui fit longtemps autorité et que l'on peut consulter encore avec profit. Par la suite, et de plus en plus, ses travaux abordèrent les sujets les plus divers de la médecine. Il n'est pas possible de les détailler ici.

Pierre Choubrac adorait l'enseignement et il y excellait. Élu Professeur au Collège de Médecine des Hôpitaux de Paris en 1965, il en fut le président en 1979-1980. Dès 1966, il s'était intéressé à l'enseignement médical post-universitaire. Membre du comité directeur de l'union médicale post-universitaire, il participa à l'organisation de la FMC dans les hôpitaux. Dans son service de Laennec, où les praticiens étaient accueillis à bras ouverts, il avait institué, chaque mercredi matin, une séance d'enseignement destinée aux médecins de famille du quartier et aux médecins du service. Nombreux sont les membres de l'Académie nationale de médecine qui ont contribué au succès de ces réunions.

Très assidu aux séances, alors hebdomadaires, de la Société Médicale des Hôpitaux de Paris (SMHP), il en fut le président en 1983.

Il n'avait pas opté pour le plein temps hospitalo-universitaire pour ne pas abandonner sa clientèle privée. Ses malades, publiques et privés, l'adoraient, car il savait leur donner confiance dans l'avenir, tant son aptitude au bonheur était contagieuse. Rabelais, notre Confrère, voulait que le médecin eût cette « face joyeuse, sereine, gracieuse, plaisante qui réconforte celui qui souffre ». Le voir ne réconfortait pas seulement ses malades. Le doute de l'interne, l'inquiétude de l'assistant, l'angoisse de l'agrégé s'apaisaient dès qu'il paraissait, car il semblait ne pas en ressentir le poids.

Pierre Choubrac avait, au plus haut degré, la faculté d'enthousiasme. Il aimait la vie active et s'intéressait à tout. L'histoire, les mathématiques, le progrès des techniques, le sport, les voyages lointains, l'art de la navigation surtout, figuraient parmi ses violons d'Ingres.

Après sa retraite hospitalière, il continua longtemps ses consultations privées, tout en participant aux activités du service de Jacques Chrétien à Laennec, puis de Gérard Huchon à Ambroise Paré et à l'Hôtel Dieu. Il était très assidu à la SMHP et à l'Académie où il avait de nombreux amis. Depuis un an du fait de la maladie qui devait l'emporter, sa présence était devenue irrégulière. Il s'est éteint entouré de l'amour de son épouse Jacqueline, de sa fille Nicole et de son fils Jean-Pierre. Il avait trois petites-filles dont il était fier et dont l'une, Mathilde, s'est engagée dans la carrière illustrée par son grand-père.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1205-1208, séance du 6 mai 2009

Séance commune Académie d'Agriculture de France — Académie nationale de médecine, le mercredi 6 mai 2009, à l'Académie d'Agriculture de France

Présidée par Jean Dunglas, *Président de l'Académie d'Agriculture de France, et* Géraud Lasfargues, *Président de l'Académie nationale de médecine*

Les pesticides. Raison d'être, connaissance et gestion des risques

Coordinateur : le Professeur Alain Rerat
(Membre de l'Académie d'Agriculture de France, et de l'Académie nationale de médecine)

RÉSUMÉ

Alain RERAT *

La réunion annuelle commune à l'Académie nationale de médecine (ANM) et à l'Académie d'Agriculture de France (AAF) s'est tenue le 6 mai 2009 sur le thème : « *Les pesticides. Raison d'être, connaissance et gestion des risques* »

Pesticides, c'est le terme communément employé pour désigner les produits phytopharmaceutiques utilisés en vue de protéger les cultures vis-à-vis des dégâts occasionnés par les agresseurs d'origine végétale, animale ou microbienne. Ces substances représentent des atouts pour la production agricole, mais sont soupçonnées de présenter des risques pour la santé de l'homme et pour son environnement. Le but de cette séance était ainsi d'analyser les avantages et les inconvénients de leur usage, d'en examiner les critères de choix et les modalités d'emploi afin d'en améliorer les performances et d'en gommer les défauts, et enfin de prospecter des stratégies de substitution.

Les pesticides sont les « médicaments » des plantes cultivées. Leur emploi rationnel permet de prémunir ces végétaux de la concurrence des adventices et de prévenir les dégâts occasionnés par les ravageurs animaux et les maladies bactériennes, fongiques et virales, à l'origine de pertes très élevées en plein champ et durant le stockage. En l'absence de toute protection des cultures, ces pertes supprimeraient entre la moitié et les cinq sixièmes de la production mondiale. Malgré les traitements, ces pertes représentent encore plus de 40 % de la production mondiale, ce qui offre une

* Membre de l'Académie nationale de médecine

marge importante d'amélioration dans l'avenir. A leur niveau actuel, ces dommages sont susceptibles, dans certaines régions du globe, de provoquer une insuffisance d'apports alimentaires, qui risque de s'aggraver à l'avenir. A cet égard, il faut rappeler que la population mondiale qui comptait six milliards d'individus (dont plus de huit cent cinquante millions de personnes dénutries) en l'an 2000, atteindra neuf milliards environ en 2050.

Couvrir les besoins alimentaires liés à l'évolution démographique tout en améliorant les apports aux personnes dénutries exigera ainsi le doublement des ressources actuelles d'ici à 2050. Les « réserves » en nouvelles terres arables sous des climats propices à l'agriculture étant réduites, c'est surtout dans l'augmentation des rendements effectifs sur les terres actuellement cultivées qu'il faudra trouver l'indispensable accroissement de la production vivrière. Outre l'amélioration du potentiel génétique des végétaux et de leur nutrition hydrique et minérale, la réduction maximale des pertes liées aux agents pathogènes constitue un des moyens pour y parvenir ; ce qui souligne le rôle majeur des pesticides. C'est ce rôle qui a été analysé dans une première partie de la séance par deux représentants de l'Académie d'Agriculture de France. Cependant, l'amélioration de la santé végétale et l'augmentation des productions vivrières rendue possible par l'amélioration des rendements ne doivent être obtenues ni aux dépens de la santé des hommes (consommateur ou applicateur), ni au détriment de la qualité des denrées agricoles, ni au prix de la dégradation des milieux naturels. Le maniement des pesticides est donc sur le fil du rasoir : être efficace pour limiter les dégâts des bio agresseurs sans pour autant entraîner d'effets négatifs irréversibles pour la santé de l'être humain et son environnement. Ces effets négatifs, potentiels ou réels, sont très variables selon la famille chimique et les conditions d'utilisation. Ont été ainsi analysées dans une deuxième partie, par deux représentants de l'ANM et un représentant de la Mutualité Sociale Agricole, les relations entre l'utilisation de ces substances ou la présence .de leurs résidus et la santé humaine.

La première partie de la séance, modérée par Jean Dunglas, président de l'AAF, a débuté avec un exposé de Jean-Louis Bernard, correspondant de l'AAF intitulé « *Du produit phytopharmaceutique au « pesticide » ; conception de la pharmacopée et évolution de son emploi en agriculture* » A partir d'un bref historique et d'une fresque des différentes familles de pesticides, le rapporteur a décrit l'évolution de leur utilisation tant dans ses méthodes que dans la pratique, mettant en évidence une forte baisse des tonnages utilisés dans notre pays au cours des dernières années (120 500 tonnes en 1999, 71 600 tonnes en 2006) en raison de l'utilisation de produits plus efficaces et d'un emploi mieux raisonné. Ce changement a été précédé il y a trente-cinq ans par le retrait des organochlorés, substances reconnues comme présentant des effets inacceptables sur la santé et l'environnement dans leurs conditions d'emploi de l'époque. Au cours des dix dernières années, l'application de la Directive Européenne 91/414 a en outre conduit à l'élimination de 60 % des substances inscrites et pourrait ne laisser sur le marché que deux cent-cinquante d'entre elles en 2010. Le rapporteur a aussi souligné les conséquences néfastes pour la

production agricole que pourrait induire une réduction trop drastique : moindre capacité à maîtriser les aléas pathologiques, baisse des rendements, augmentation des coûts alimentaires, crises à répétition de la qualité des produits (développement des mycotoxines), délocalisation de certaines productions de fruits et légumes, importation de produits élaborés avec des substances interdites aux producteurs de l'UE. Une réduction des quantités de substances phytopharmaceutiques est toutefois envisageable au travers des systèmes de protection intégrée ou par le recours à des plantes génétiquement modifiées dont certaines sont susceptibles, dès maintenant, de permettre une économie sensible de pesticides. Jean-Louis Rivière, correspondant de l'AAF, dans un exposé intitulé « *Pesticides : risques sanitaires er expérimentaux/ Etat des lieux et perspectives* » a ensuite évoqué l'encadrement réglementaire et justifié l'existence de la nécessaire évaluation des risques (notamment celui de contamination de l'eau) qui est un préalable à toute mise en marché. Mais, cette évaluation ne constitue pas une fin en soi et doit être complétée par un suivi comportant des mesures de la contamination environnementale et de la qualité des milieux (qualité physicochimique et biologique, notamment espèces non cibles) et appuyée sur des approches épidémiologiques. Dans l'état actuel des choses, en matière de résidus dans les fruits et légumes, la limite maximum de résidus (LMR), au-delà de laquelle la denrée végétale n'est plus marchande et fixée avec un très large cœfficient de sécurité, n'a été atteinte, selon une étude européenne sur huit ans, que pour 4 à 5 % des produits frais, la grande majorité d'entre eux ne contenant aucun résidu décelable. Ce qui remet à leur juste place les craintes engendrées par les média quant aux aliments « bourrés » de pesticides.

Dans la deuxième partie de la séance, modérée par le Roger Henrion, Vice-Président de l'ANM, l'impact sanitaire de ces substances a été analysé dans deux exposés, d'abord par André Aurengo et Roland Masse, membres de l'ANM « *Impact sanitaire des pesticides* », puis par Jean-Luc Dupupet « *Pesticides et Santé* » de la Mutualité Sociale Agricole (MSA). qui ont fait état des statistiques de la MSA à travers son réseau de toxico vigilance agricole Phyt'attitude, des travaux du Centre International de Recherches sur le Cancer (CIRC), du projet COSMOP et de l'étude de cohorte AGRICAN. Leurs effets sanitaires potentiels sont des effets non cancérogènes mais beaucoup d'études ont été entreprises sur l'éventualité des risques cancérogènes dont elles pourraient être responsables. Les effets non cancérogènes sont liés à des expositions aiguës ou chroniques à ces substances dont la toxicité peut être très élevée, modérée ou légère. Il faut préciser que les retraits récents de près de 60 % d'entre elles concernent d'abord les plus toxiques qui existaient sur le marché. Pour 20 % des applicateurs, l'une d'entre elles a été la cause, un jour ou l'autre, de troubles de santé consécutifs à leur emploi. La toxicité aiguë résultant d'une mauvaise utilisation des pesticides est bien définie dans ses causes et ses manifestations, mais ne représente qu'une faible proportion des maladies professionnelles. La toxicité chronique, plus difficile à identifier, se traduit par des effets à long terme de diverses natures : troubles neurologiques (sans toutefois de données convaincantes sur l'incidence de la maladie de Parkinson), troubles de la reproduction (spermato-

genèse) et du développement, perturbations endocriniennes. Par ailleurs, l'étude de la cancérogénicité des pesticides se heurte à la diversité de ces substances et des cancers étudiés ainsi qu'au caractère hétérogène de l'exposition des personnes suivies. En outre les études cas-témoins fondées sur l'évaluation rétrospective des expositions présentent bien des lacunes que n'ont pas les études de cohorte, malheureusement peu nombreuses. Les effets cancérogènes en sont donc actuellement au stade d'hypothèses non confirmées. Le risque, pour la plupart des pesticides, même vis-à-vis des personnes les plus exposées, serait très faible, à la limite des possibilités de mise en évidence par l'épidémiologie. Il est évidemment exclu de fournir une conclusion universelle.

Le Secrétaire perpétuel de l'Académie d'Agriculture de France, Guy Paillotin, a tiré les conclusions de cette séance commune à l'Académie nationale de médecine et l'Académie d'Agriculture de France en examinant les diverses voies permettant éventuellement d'obtenir une réduction d'emploi de ces substances sans qu'en souffre la production agricole en quantité et en qualité.

Les divers exposés de cette séance sont rapportés sous forme de résumés et/ou de textes complets sur les sites de l'Académie d'Agriculture de France, de l'Académie nationale de médecine, et de l'Académie Vétérinaire de France.

PROGRAMME

Introduction : pourquoi cette séance ?
Alain Rérat (ANM/AAF)

Protection des cultures. Qu'est-ce que les pesticides ? Mode d'emploi
Jean-Louis Bernard (AAF)

Risques sanitaires et environnementaux : état des lieux et perspectives
Jean-Louis Rivière (AAF)

Impact sanitaire des pesticides ; effets cancérogénes, intoxications aiguës et chroniques
André Aurengo (ANM) et Roland Masse (ANM)

Les pesticides et la santé humaine, statistiques
J.l. Dupupet (Mutualité sociale agricole MSA)

Peut-on diminuer l'emploi des pesticides et dans quelles conditions (limites, choix, conséquences favorables et /ou défavorables...) ?
Guy Paillotin (AAF)

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1209-1210, séance du 14 mai 2009

Séance commune Académie nationale de médecine (France) Academia Nacional de Medicina (Brésil) Jeudi 14 mai 2009 à Rio de Janiero

INTODUCTION

Gérard LASFARGUES *

La rencontre entre l'Académie nationale de médecine de France et l'Academia Nacional de Medicina du Brésil a eu lieu à Rio de Janeiro du 13 au 17 mai 2009.

Elle s'est déroulée dans d'excellentes conditions et dans une atmosphère particulièrement agréable de sympathie et de convivialité.

Trois moments méritent d'être retenus :

La séance commune entre les deux Académies, le jeudi 14 mai.

Elle a comporté :

Une rencontre des deux bureaux, marquée par le discours des deux présidents et l'étude d'une collaboration plus étroite entre les deux Académies, avec échange entre la France et le Brésil de deux à trois étudiants ou chercheurs chaque année. Un document écrit, préparé par l'Académie nationale de médecine du Brésil va nous être envoyé car une solution paraît exister.

Une séance scientifique de grande qualité, marquée du côté français par un remarquable exposé de Joël Menkès sur la fibromyalgie, faite en portugais et par une très novatrice intervention de Jean Dubousset sur le vieillissement locomoteur.
Du côté Brésilien, nous avons entendu Rubens Belfort, Ophtalmologiste, parler du vieillissement de l'œil et rendre hommage à Yves Pouliquen.
Ivo Pitanguy a parlé et montré les résultats de ses milliers d'interventions esthétiques sur le nez, les seins, l'abdomen et les hanches.

Un cocktail très brillant dans un espace détente superbe a prolongé la soirée.

La réception chez le Consul de France, Hugues Goisbault. Magnifique résidence donnant sur la Baie de Rio. Ambiance très conviviale. Discours officiel du Consul.

* Président de l'Académie nationale de médecine

La réception de Jorge Alberto Costa e Silva à IPANEMA avec discours de Charles-Joël Menkès, Jean Natali, Jacques-Louis Binet et Géraud Lasfargues, suivis des remerciements de notre hôte.

La délégation de l'Académie nationale de médecine a pu admirer le paysage unique de Rio avec ses constructions aux architectures novatrices, en particulier le splendide musée d'Art contemporain de Niemeyer.

Elle a pu mieux faire connaître notre Académie et aussi aimer notre pays.

PROGRAMME DE LA SÉANCE COMMUNE

Présidée par Marcos F. Moraes
(Président de l'Academie Nacional de Medicina — Brésil)

Allocutions

Marcos F. Moraes et de Géraud Lasfargues

Communications

Um ma do seculo dificil de classificar e tratar : a fibroialgia
Un mal du siècle difficile à classer et à traiter : la fibromyalgie)
Charles-Joël Menkès, Pierre Godeau (ANM France)

Envelhecimento ocular
Vieillissement oculaire
Rubens Belfort Jr (ANM Brésil)

Aparelho locomotor e envelhecimento
Appareil locomoteur et vieillissement
Jean Dubousset (ANM France)

O corpo e o tempo
Le corps et le temps
Ivo Pitanguy (ANM Brésil)

Conclusion

Marcos F. Moraes

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1211-1221, séance du 14 mai 2009

COMMUNICATION À L'ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA RIO DE JANEIRO (BRÉSIL)

Le vieillissement de l'appareil locomoteur : avec une attention spéciale au vieillissement du rachis

MOTS-CLÉS : VIEILLISSEMENT. APPAREIL LOCOMOTEUR. COLONNE VERTEBRALE. PRÉVENTION PRIMAIRE

Aging of the locomotor system with a focus on the spine

KEY-WORDS (Index medicus) : AGING. MUSCULOSKELETAL SYSTEM. SPINE. PRIMARY PREVENTION

Jean DUBOUSSET *

RÉSUMÉ

Le vieillissement est un phénomène physiologique qui touche tous les tissus d'un individu de manière plus ou moins intense et rapide. Il commence le jour de notre naissance. Il se traduit par une augmentation significative de la durée de la vie dont les prévisions font penser qu'il y aura 17 % de la population constituée de personnes de plus de 75 ans à l'horizon 2050. Le vieillissement de l'appareil locomoteur est particulièrement important car il touche l'un des facteurs majeurs de l'indépendance fonctionnelle. Il représente 75 % des problèmes de santé majeurs des plus de 75 ans dont un quart sont d'origine rachidienne. L'atteinte osseuse se caractérise principalement par l'ostéoporose, facteur de fragilité osseuse responsable des fractures fréquentes des membres et du rachis chez le sujet âgé. La surveillance de l'ostéoporose est recommandée par l'ostéo-densitométrie en particulier dès la ménaupose chez la femme dès 70 ans sur l'ensemble de la population. Sa prévention est améliorée de près de 50 % par une activité physique modérée et régulière. Le vieillissement du cartilage articulaire est dépendant de multiples facteurs morpho-génétiques, mais aussi de l'obésité et des microtraumatismes répétés engendrés par le travail ou le sport. Malheureusement le cartilage articulaire ne régénère pas et c'est pourquoi la chirurgie de remplacement articulaire prothétique est devenue si fréquente aussi bien au niveau de la hanche que du genou(respectivement 8 % et 4 % de la population). La diminution de la force musculaire souvent consécutive à la baisse de l'activité est estimée de 20 % à70 ans et de 40 % à 80 ans, avec histologiquement une dégénérescence graisseuse des fibres musculaires. Elle est atténuée par la pratique régulière d'une activité physique comme par exemple la marche qui devrait être de une demi-heure par jour à 80 ans, de même que la prévention de l'obésité se

* Membre de l'Académie nationale de médecine

traduit par un régime alimentaire ne dépassant pas 2 200Kg/cal par jour à 80 ans. L'atteinte dégénérative du système nerveux central ou périphérique, spécialement au niveau visuel, vestibulaire, cérébelleux et de la proprioception est un autre facteur majeur du vieillissement de l'appareil locomoteur expliquant la fréquence des chutes et des fractures qui en découlent, avec un facteur de mortalité non négligeable de 10 %. La prise en charge de cette traumatologie du sujet âgé s'est nettement améliorée au cours de la dernière décade grâce à l'anesthésie locorégionale en particulier rachidienne (évitant la générale souvent facteur de confusion et de désordres cérébraux post opératoires), grâce aussi à la chirurgie d'ostéosynthèse et de prothèses. Une activité cérébrale et intellectuelle suffisante restant une arme efficace pour lutter contre le vieillissement. L'application de ces éléments étiologiques fondamentaux au niveau de la colonne vertébrale explique comment celle ci ne va pas vieillir de manière identique chez tous les individus. La part de l'équilibre spatial dans les trois dimensions donnée par notre génétique individuelle sera un facteur essentiel dans la genèse de ce vieillissement, souvent aggravé par la pratique excessive de certains sports générateurs d'impact répétitifs sur les structures mobiles des unités fonctionnelles rachidiennes. Ceci se traduit par une dégénérescence discale, articulaire et musculaire entraînant de manière plus ou moins rapide et intense des phénomènes de sténoses canalaires et/ou foraminales, responsables des Lombo Rachialgies plus ou moins invalidantes, en fonction des compressions nerveuses qu'elles engendreront et de leur association ou non à des fractures tassement vertébrales ostéoporotiques. Là encore leur prévention passera par la pratique modérée d'une activité physique. Une fois établis ces troubles pourrons nécessiter des traitements chirurgicaux spécifiques dont les indications devront être mûrement réfléchies en fonction des dégradations cardiovasculaires ou métaboliques associées, mais aussi du risque de la cascade thérapeutique souvent elle aussi chirurgicale que l'échec de ces traitements peut entraîner avec leur mauvais pronostic non seulement fonctionnel mais parfois vital. Il est certain que le développement de nouveaux appareils d'imagerie tels EOS, à basse dose d'irradiation, scannant la patient de la tête aux pieds en position debout fonctionnelle, et la pratique régulière de l'ostéo-densitométrie permettent de suivre et même de prévoir l'évolution de ces troubles du vieillissement de l'ensemble du squelette et donc de proposer les méthodes thérapeutiques au moment le plus propice.

SUMMARY

Aging is a physiological phenomenon affecting all body tissues. By 2050, it is predicted that 17 % of the French population will be over 75 years old. Locomotor dysfunction is a major determinant of dependency, representing 75 % of major health problems among people over 75 years old, one-quarter being related to spinal disorders. Osteoporosis is responsible for a large proportion of fractures of the limbs, pelvis and spine. Bone mineral density must be measured routinely after age 70 years, and starting at the menopause in women. Moderate daily exercise, such as walking for 30 minutes, can reduce the risk by 50 % in an 80-year-old person. Aging of joint cartilage depends on morphogenetics, body weight and microtrauma oncurred during work or sport. As we do not yet know how to regenerate cartilage, prosthetic joints are necessary: respectively 8 % and 4 % of the population require hip and knee replacement surgery. Obesity must also be prevented, with a maximum daily intake of 2200 kg/cal/day for an 80-year-old. Muscle activity declines by about 20 % at 70 years and 40 % at 80 years. also with fatty degeneration well demonstrated by MRI. Degenerative disorders of the brain and peripheral nerves can affect visual, vestibular, cerebellar and proprioceptive functions, increasing the risk of falls (fractures), which are responsible for about 10 % of deaths in old age, despite major improvements in anesthesia (loco-regional instead of

general), surgery and early rehabilitation. Morphogenetics is a primary cause of variations in the aging of spinal discs, facets and muscles. Autoimmune disorders also play a significant role. Intensive practice of certain sports can stress the discs, joints and ligaments. This creates a vicious circle leading to spinal and foraminal stenosis and nerve compression. Osteoporosis can result in compression fractures and kyphosis, another source of spinal disability. Moderate and regular physical activity can have a preventive effect. Persistent lower back pain may require surgical treatment if conservative measures fail, but it must be decided only after assessing the patient's general, cardiovascular and metabolic status. Failure of initial surgery can lead to a cascade of repeat operations with poor and sometimes life-threatening outcomes. New imaging methods as EOS total body standing scanning with ultralow dose radiation and BMD scanning should help to manage these problems.

INTRODUCTION

On commence à vieillir le jour de sa naissance et on prépare une bonne santé pour sa vieillesse pendant l'enfance. La longévité a présenté un accroissement constant depuis l'époque romaine le XVI^e^ siècle et durant le XX^e^ siècle aussi bien pour l'homme que pour la femme avec un léger avantage pour celle-ci. Les courbures démographiques prévisionnelles prévoient un accroissement significatif pour les 60 ans et plus au cours des cinquante prochaines années où 17 % de la population sera constitué de personnes de plus de 75 ans en 2 050. Il en résultera des problèmes économiques et sociaux inévitables.

Le vieillissement intéresse tous les niveaux du corps humain et en particulier le système locomoteur facteur majeur d'indépendance. Celle-ci réclame par ordre d'importance : les organes des sens vision et ouie, locomotion et marche exigeant des articulations mobiles, une force musculaire suffisante et un équilibre neurologique satisfaisant. Toutes les études statistiques montrent que les problèmes de santé majeurs de 75 ans et plus touchent l'appareil locomoteur dans 75 % des cas (43 % chez les hommes, 57 % chez les femmes) avec en moyenne un quart de cette population ayant des problèmes rachidiens. La destruction articulaire due à l'obésité, nécrose, trauma, etc. est de plus en plus invalidante.

Les progrès sont venus de quatre éléments. La prise en charge préventive médicale, l'anesthésie en particulier rachidienne, les techniques chirurgicales en traumatologie et chirurgie prothétique voire arthrodèses, enfin la rééducation fonctionnelle précoce.

PHYSIOPATHOLOGIE DU VIEILLISSEMENT

Le vieillissement s'observe à différents niveaux, cellulaire tissulaire, métabolique.

Au niveau cellulaire

On sait qu'une cellule vivante a une durée de vie prédestinée par exemple pour une hématie l'ordre est de quatre mois alors que pour certaines cellules de la peau ou de

leucocytes l'ordre est de quelques jours ou semaines. La possibilité de division cellulaire est aussi limitée, soixante jours pour les fibroblastes, cent jours pour les cellules de la moelle osseuse. Les agents oxydatifs cellulaires comme les radicaux libres entraînent une répétition d'altération du DNA dont les facilités de réparation génétique diminuent avec l'âge. Les altérations des systèmes antioxydatifs amènent à l'apoptose et le nombre de cellules souches diminue avec l'âge. C'est pourquoi les agents antioxydatifs comme les vitamines ACE et d'autres contenues dans les légumes et les fruits sont bien connues pour avoir un effet protecteur contre le vieillissement.

Au niveau tissulaire

La cascade de constitution d'un tissu partant de cellules souches pour en arriver aux cellules fonctionnelles et au tissu est connue avec les trois types de tissu :

— à prolifération rapide (comme la peau et la moelle osseuse)
— à prolifération lente (comme le foie et la thyroïde)
— apparemment sans prolifération (comme le tissu nerveux) mais l'on connaît les possibles divisions et régénération tardive sous certaines conditions.

Pour tout tissu le vieillissement normal va donc entraîner une perte de capacité à proliférer, une diminution de la vascularisation et à la désorganisation tissulaire en raison d'une mauvaise communication intercellulaire. Mais, si la diminution du nombre de cellules est progressive avec l'âge, la détérioration de la fonctionnalité cellulaire est souvent brutale. La vitesse de vieillissement est différente pour chaque tissu (la plus rapide est pour le tissu élastique). Enfin cette accélération ou son ralentissement peuvent être changés par des facteurs externes (nutrition, radiations UV, tabagisme, sports, etc.).

Au niveau métabolique
En particulier pour l'appareil locomoteur les facteurs osseux vont être au premier plan.

L'altération de l'équilibre ostéoblaste-ostéoclaste dans leur fonctionnement, l'hyper-parathyroïdie secondaire à une déficience vitamino-calcique vont agir sur le métabolisme de l'os. Après 40 ans la masse osseuse diminue de 3 % chez l'homme et 8 % chez la femme tous les dix ans. La densité osseuse diminuant entraîne l'ostéoporose et le risque de fracture augmente après 70 ans (col du fémur et vertèbre). L'activité physique modérée empêche une telle évolution et diminue le risque de fracture de 50 %. Chez la femme le traitement hormonal substitutif ainsi que les bisphosphonates peuvent prévenir l'ostéoporose post-ménauposique. L'ostéo densitométrie est très utile pour détecter et suivre l'effet des traitements.

Le vieillissement du cartilage articulaire

C'est un mécanisme majeur de l'altération de l'appareil locomoteur et son altération est plus ou moins constante dans la population âgée ou très âgée. La plupart des

tissus régénèrent le cartilage articulaire non. On ne connaît pas le moyen de le faire se régénérer et proliférer les cellules cartilagineuses, c'est pourquoi souvent la seule solution possible est le remplacement prothétique. Paradoxalement on sait aussi que la pratique extensive voire excessive du sport pendant la vie amène une détérioration plus rapide des articulations qu'elles soient portantes ou non. Les raisons pour l'établissement des lésions dégénératives et l'arthrose quelles que soient leur localisation sur le corps humain (et en l'absence de séquelles de traumatisme sérieux ou de maladies ostéo-articulaires dans l'enfance) sont liées à trois principaux facteurs :

— La morphologie individuelle et la génétique
— L'obésité
— Les microtraumatismes répétés (travail ou sport)

Leurs conséquences seront des lésions invalidantes progressives qui conduiront dans presque 50 % des cas à une lésion chirurgicale, telle que 8 % de la population aura une prothèse de hanche et 3 % une prothèse de genou.

Le vieillissement au niveau du tissu musculaire

Est le plus souvent consécutif à la baisse de l'activité, l'atrophie s'accompagnant d'une perte de la force musculaire estimée à 20 % à 70 ans et 40 % à 80 ans. Le nombre des myocytes et des fibres musculaires diminue remplacés progressivement par du tissu graisseux. L'examen IRM est évident et utile pour non seulement montrer mais quantifier le changement. La conséquence sur le plan prévention et traitement est la nécessité du maintien d'une activité physique minimum, (par exemple une demi-heure de marche quotidienne à 80 ans).

Influence du poids et de l'obésité : cela va entraîner une augmentation permanente des forces et des stress sur les articulations et en particulier le cartilage articulaire et accélérer sa dégénérescence. L'indice de masse corporelle doit se situer enter 18,5 et 25 soit pour un homme de 1,75 un poids inférieur à 77 kg. Son élévation accélère la perte progressive de l'activité. La prévention de l'obésité est nécessaire avec pour une personne de 80 ans pas plus de 2 200 kg/cal par jour associés à une heure par jour de marche c'est l'idéal ou un jour sur deux c'est le minimum.

L'atteinte dégénérative du système nerveux central et périphérique et de l'équilibre

est un autre facteur majeur du vieillissement au niveau de l'appareil locomoteur. La fonction cérébrale a une influence majeure sur la qualité du vieillissement.

— Perte de mémoire, diminution de l'attention, troubles du sommeil, diminution de facultés intellectuelles sont tous facteurs péjoratifs.
— La fonction cérébrale exécutive reste intacte pendant longtemps seule la vitesse d'exécution se ralentit progressivement.

Ces troubles peuvent être prévenus par l'entraînement, l'exercice, le travail et le maintien d'activité intellectuelles autour d'une source d'intérêt quelle qu'elle soit.

Ce sont les troubles de l'équilibre qui sont le plus gênant en ce qui concerne l'appareil locomoteur car ils vont apparaître et s'aggraver avec l'âge et ceci pour trois raisons :

— Troubles visuels mais aussi vestibulaires et de l'oreille interne,
— Troubles cérebelleux,
— Insuffisance musculaire et son corollaire, perte progressive du feed back articulaire permettant normalement une adaptation rapide de l'équilibre grâce à la proprioception. Des mesures précises de l'appui monopode possible les yeux fermés montrent que s'il est de vingt-cinq secondes à 30 ans il n'est plus que de dix secondes à 50 ans et souvent de zéro seconde à 80ans. De plus à la marche si la vitesse diminue régulièrement, la longueur du pas en fait autant. Ceci explique la fréquence des chutes pour la population âgée : une fois par an chez 50 % de la population de plus de 80 ans en France dont deux-tiers chez les femmes. N'oublions pas aussi que toutes les pathologies associées (cardiovasculaire, métabolique, usage des médicaments) sont des facteurs favorisants la chute. Une statistique récente en France montre que plus de 92 000 personnes au-delà de 75 ans ont été traitées pour traumatisme consécutif à des chutes entraînant 10 % de décès. Le risque majeur sont des fractures des membres supérieurs ou inférieurs nécessitant un traitement chirurgical dans 80 % des cas. Il faut noter l'amélioration des traitements opératoires qui ont entraîné dans la dernière décade une diminution de 35 % de la mortalité.

LA PRÉVENTION DE CES TROUBLES REPOSE SUR QUATRE FACTEURS

— Le maintien d'une activité physique suffisante.
— Des exercices quotidiens pour l'équilibre antéro-postérieur et latéral.
— Une attention aux facteurs environnementaux (sol, plancher, chaussures, ...)
— Des exercices pour apprendre à se relever quand on est à terre.

L'AMÉLIORATION DES SOINS EN CE QUI CONCERNE LE SUJET ÂGÉ

La prévention

Activité physique modérée mais quotidienne
La nutrition
L'activité cérébrale et intellectuelle suffisante

Le développement considérable de l'anesthésie en particulier locorégionale, rachianesthésie ou péridurale ou blocs périphériques qui permettent d'éviter souvent l'anesthésie générale, facteurs de troubles confusionnels ou plus graves secondaires à cette anesthésie générale.

Bien évidemment aussi ***le développement des techniques chirurgicales***, soit pour la traumatologie, soit pour les désordres dégénératifs pourra favoriser un retour rapide à l'activité par la chirurgie prothétique.

Enfin la rééducation précoce et adaptée pour favoriser l'indépendance

LE VIEILLISSEMENT DE LA COLONNE VERTÉBRALE

Il y a des **facteurs prédisposants** qui vont favoriser la dislocation du rachis avec l'âge. Pour cela il faut se rappeler que la station érigée est une caractéristique de l'espèce humaine. L'évolution de cette station érigée va mettre en évidence des relations tout à fait privilégiées entre la situation relative du bassin et du rachis. Les quadrupèdes ont un bassin très horizontal qui va se redresser progressivement au fur et à mesure de l'évolution vers la station érigée. L'anatomie du bassin va changer de manière très nette en particulier sur le plan sagittal où la variation de l'angle d'incidence qui détermine la morphologie antéro-postérieure du bassin va expliquer une bonne partie de cette évolution. Rappelons que cet angle (entre la perpendiculaire au plateau sacré et la ligne reliant le centre de ce plateau à celui de la tête fémorale) est variable d'un individu à l'autre et va déterminer la quantité de lordose et de cyphose nécessaire à une station debout équilibrée et donc aussi la quantité d'efforts qui vont survenir sur l'unité fonctionnelle rachidienne ainsi que d'efforts musculaires pour la maintenir.

L'évolution pré et post natale et pendant la période de croissance des courbures sagittales du rachis est bien connue. L'installation des lordoses cervicales et lombaires avec la cyphose thoracique concorde avec l'évolution de l'angle d'incidence pelvienne. Grande incidence = grande lordose lombaire et l'inverse est vrai petite incidence pelvienne lordose pelvienne diminuée.

Il faut bien comprendre aussi que chaque individu a sa propre nature anatomique déterminée génétiquement dans sa station érigée.

Il y a longtemps, étudiant le bassin oblique paralytique j'avais développé le concept de la vertèbre pelvienne qui étant donné sa situation intercalaire entre membre inférieur et rachis jouait un rôle important dans l'adaptation posturale aussi bien sur la station debout qu'assise. De même la tête avec son poids expliquant la formation de pendule inversé qui convient à l'espèce humaine dans sa position érigée et je l'avais appelé vertèbre céphalique ! Ceci réalise une vraie « Chaîne de l'équilibre », depuis le polygone de sustentation jusqu'à la tête. Donc le bassin dans sa morphologie propre génétiquement déterminée et dans ses facultés d'adaptation posturale va expliquer notre morphologie variable d'un individu à l'autre cherchant de toute façon à économiser au maximum le travail musculaire. C'est la raison pour laquelle on peut déterminer des facteurs anatomiques et des facteurs posturaux

(anté ou rétroversion) qui aboutiront en pratique à quatre grands types de posture dans le plan sagittal avec la corrélation incidence pelvienne lordose lombaire cyphose dorsale. **Le but étant de placer la ligne de gravité en arrière des têtes fémorales pour permettre l'économie** au prix de diverses bascules du bassin voir de la flexion des genoux.

Les conséquences biomécaniques sur les divers éléments de l'unité fonctionnelle rachidienne aboutiront en cas de dos plat à l'augmentation des contraintes antérieures et donc une usure ou dégénérescence prédominant sur les disques. Au contraire en cas de lordose exagérée les contraintes seront plutôt postérieures et entraîneront des lésions de surcharge ou de dégénérescence arthrosiques sur les apophyses articulaires que l'on peut classer en quatre grades en fonction de l'importance de la destruction.

La colonne lombaire est la portion du rachis la plus atteinte par le vieillissement

La dégénérescence discale fait perdre de la hauteur au disque et entraîne un effondrement rachidien avec arthrose articulaire postérieure de plus en plus grave et une hypertrophie des apophyses épineuses. C'est l'hypertrophie des apophyses articulaires qui va être le facteur majeur de **sténose du canal rachidien** d'autant plus important que l'on part d'un canal qui peut être congénitalement ou génétiquement déjà étroit. Cette sténose va pouvoir entraîner de compressions nerveuses centrales et foraminales qui peuvent entraîner à leur tour des phénomènes sensitifs et/ou paralytiques. Mais en même temps peuvent apparaître du fait de l'atteinte discale et des apophyses articulaires des ***phénomènes d'instabilité rotatoire*** pouvant conduire à des dislocations partielles rotatoires de l'unité fonctionnelle. Celles-ci surviennent d'autant plus que la lésion se trouve à une zone jonctionnelle de la colonne lombaire au niveau L3-L4. Cette instabilité peut survenir à n'importe quel âge et dans la forme majeure peut créer une véritable scoliose de novo apparue à l'age adulte parfois avancé sur une colonne vertébrale préalablement parfaitement droite.

Ces scolioses dégénératives d'origine purement discale au démarrage sont aussi appelées souvent « de Novo ».

Ces phénomènes ostéo-articulaires vont de pair avec des altérations tissulaires de la fonction musculaire rachidienne. Les fibres musculaires s'altèrent localement (lésions en *cible*, ou en *haillons*). Elles vont diminuer en nombre et seront progressivement remplacées par du tissu graisseux. L'IRM est un examen de choix pour analyser et quantifier ces phénomènes. Hadar a laissé son nom à une classification simple en pourcentage du volume atteint.

Tous ces éléments aboutissent au cercle vicieux :

Lombalgies avec +/- de radiculalgies et +/- de paralysies entraînent atrophie musculaire, gène à la marche. La claudication intermittente à la marche est un signe

d'appel pour l'existence d'une sténose canalaire lombaire. La gène à la marche augmente, les genoux se fléchissent pour maintenir l'équilibre, l'enraidissement se produit, les douleurs augmentent, la faiblesse musculaire aussi et voilà donc le cercle vicieux qui s'installe.

Les facteurs favorisants sont de trois types comme pour tout l'appareil locomoteur
Génétiques et constitutionnels

Sans pathologie décelée pendant l'enfance, par exemple canal congénitalement étroit sur un rachis sans déformation apparentes et qui fera parler de lui seulement à la sénescence. Avec pathologie décelée pendant l'enfance, malformations congénitales, chondrodystrophies, maladies neuro-musculaires, métaboliques, du tissu conjonctif, ou idiopathique, ...entraînant des déformations dans les trois dimensions, soit évoluant spontanément, soit après des essais de correction pendant l'enfance. Le message le plus important pour les orthopédistes pédiatres traitant ces enfants est d'être plus attentif à la zone non fusionnée du rachis, où l'équilibre des disques sus et sous jacents dans les trois dimensions de l'espace est plus important que la valeur absolue de correction de l'angle de Cobb (comment être certain qu'une correction étendue paraissant meilleure mais donnant un enraîdissement important, ne va pas se détériorer plus rapidement au niveau du dernier disque restant qu'une correction moins bonne mais laissant un plus grand nombre de niveaux adaptatifs ?).

Acquis, essentiellement dûs au surmenage articulaire

— soit dès l'enfance par la pratique de certains sports favorisant l'usure précoce des unités fonctionnelles sous l'influence de micro-traumatismes cartilagineux ou osseux (équitation, judo, gymnastique sportive,...)
— soit du fait de l'activité professionnelle : manipulation de charges lourdes, conduite d'engins, usage d'outils pneumatiques, marteaux piqueurs ou machines agricoles, ...
— soit du fait de séquelles de traumatologie ou de maladies infectieuses, paralytiques ou métaboliques acquises tout au long de la vie au niveau vertébral, du bassin ou de n'importe quel niveau du squelette.

Les grands principes du traitement

La base est le traitement conservateur ou médical aussi longtemps que possible ; nombre de dégénérescences discales y compris avec hernie avérée guérissent avec le repos et un traitement anti-inflammatoire modéré. Nombre de déformations rachidiennes dégénératives du sujet âgé en cyphose par exemple sont corrigés et soulagés de leur phénomènes douloureux par le port d'un corset adéquatement construit. **Ce n'est qu'en cas d'échec que l'on envisagera la possibilité d'un traitement chirurgical.** Celui-ci réclame de manière impérative **un bilan médical pré-anesthésique** rigoureux

en particulier cardio-pulmonaire, sanguin, nutritionnel, rénal et métabolique de manière à repérer certaines contre indications et surtout préparer le type d'anesthésie et réanimation nécessaires. Bien évidemment, **un examen rachidien, neurologique, et d'imagerie (Scanner, IRM,...) adapté aux problèmes.**

Il y aura en pratique deux types de situation

Problèmes de lombalgies ou lombo sacralgies pures, résistants au traitement médical, pour lesquels il faudra bien différencier les éléments pathologiques purement discaux de ceux provenant d'une pathologie des arcs postérieurs (apophyses articulaires par exemple).
Problèmes, d'une déformation majeure ou mineure en cyphose, lordose, scoliose, ou cypho-scoliose avec plus ou moins de troubles neurologiques (radiculalgies, compression médullaire, claudication intermittente, etc.).

Dans le cas de lombalgies pures avec une atteinte purement discale avérée et démontrée par l'IRM voire la discographie diagnostique et des facettes articulaires normales ou sub-normales c'est là l'indication finalement rare *d'arthroplastie par prothèse de disque*. Les indications sont limitées à des patients jeunes de moins de 60 ans et avec des articulations postérieures normales. Les divers types de prothèses existant sur le marché ne remplissent pas toutes le cahier des charges pour ce qui concerne la fonction « amortisseur ».

La même problématique se pose au niveau du rachis cervical. Les résultats depuis le début très encadré de l'expérience sont satisfaisants dans les bonnes indications, ce qui ne représente finalement qu'un petit nombre de malades. En réalité le grand risque est l'inflation de ces indications dans un but plus financier que médical, d'où le risque accru des complications, des mauvais résultats avec le risque aussi de l'engrenage des interventions itératives.

Pour le rachis dégénératif avec lésions significatives des facettes articulaires, arthrose, sténose, instabilité, ce n'est que devant l'échec des traitements conservateurs ou bien sûr devant une compression neurologique sévère ou progressive que la chirurgie sera utile en prenant soin d'essayer de libérer les espaces neuraux sans déstabiliser. Souvent *une libération de type recalibrage* peut suffire sans déstabiliser, parfois un système de spacer dynamique ou de ligament artificiel postérieur peut suffire mais *lorsque la libération est très extensive, il faudra stabiliser par arthrodèse avec instrumentation*. Dans certains cas il faudra y associer une arthrodèse antérieure par cages inter-somatiques qui a aussi l'avantage comme les prothèses discales d'élargir les foramens et donc de libérer indirectement les racines.

Enfin **lorsqu'il s'agit d'une scoliose ou cyphoscoliose dégénérative associée à une sténose avéré***e*, si l'état cardiorespiratoire le permet, la chirurgie postérieure avec décompression et instrumentation, à condition que l'équilibre rachidien (en particulier le plan sagittal soit respecté, ou rétabli) donne des résultats surprenants en bien sur le plan fonctionnel. Il est indispensable de bien régler et le niveau supérieur

et la quantité de lordose pour restaurer un équilibre spatial satisfaisant du premier coup. C'est le seul point vraiment fondamental lorsque on entreprend cette chirurgie qui doit tenir compte aussi de la qualité mécanique souvent médiocre de l'os ostéoporotique. En effet les reprises chirurgicales sont difficiles et hasardeuses pour le malade autant que pour le chirurgien.

À propos de l'os osteoporotique qui accompagne souvent les fractures tassements cyphotiques des personnes âgées, à coté des traitements médicaux du type biphosphonates, le développement des cyphoplasties percutanées trans pédiculaire avec relèvement par ballon et injection de ciments actifs hydroxy-apatite ou céramique ou acrylique, fait disparaître les phénomènes douloureux, et évite les cyphoses progressives au prix d'une morbidité très faible.

Enfin **le développement de nouveaux appareils d'imagerie à très basse dose d'irradiation (EOS)**, permet de scanner de la tête aux pieds en position fonctionnelle debout. Ceci apporte une observation du squelette dans les trois dimensions, en étudiant la position spatiale respective d'une articulation par rapport à l'autre, de même que d'une vertèbre par rapport à l'autre et à l'ensemble de l'individu. Ces éléments améliorent considérablement les planifications opératoires pour la chirurgie orthopédique des MI, du Bassin et du Rachis. Enfin les possibilités de l'appareil grâce au protocole en double énergie permet d'appréhender la densité osseuse des membres ou même de chaque vertèbre, tout à fait comparable à celle observée avec DEXA.

LA CONCLUSION CHIRURGICALE pour le rachis dégénératif du sujet âgé repose sur deux constats : le danger de l'inflation non justifiée médicalement des actes chirurgicaux invasifs et le danger des échecs chirurgicaux pour mauvaise indication ou mauvaise exécution, qui risquent d'entraîner un engrenage de chirurgie itérative de plus en plus risqué pour la vie du malade !

BIBLIOGRAPHIE SUCCINCTE

[1] Tubiana M. — *Le bien vieillir, la révolution de l'âge*. 1 vol Ed Le Fallois. Paris. 2003.

[2] *Alternatives à l'arthrodèse lombaire et lombo-sacrée*. Cahiers d'enseignement de la SOFCOT (coordinateur J.M. Vital). 1 vol. Elsevier Ed. Paris. 2007.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1223-1231, séance du 12 mai 2009

ACTES DE L'ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE

Séance thématique du mardi 12 mai 2009

Présidence, Géraud Lasfargues, *président*

« La barrière fœto-placentaire »

Modérateurs : Professeurs Christian Nezelof et Danièle Evain-Brion

---

ORDRE DU JOUR

Introduction par Christian Nezelof.

La différenciation du trophoblaste humain
Danièle Evain-Brion, Jean Guibourdenche, Vassili Tsatsaris, Thierry Fournier (Inserm, Umr 767, Fondation de coopération scientifique PremUp, Faculté des sciences pharmaceutiques — Paris).

Immunité de la gestation : nouveaux concepts
Philippe Le Bouteiller, Hicham El Costa, Maryse Aguerre-Girr, Julie Tabiasco (Hôpital Purpan — Toulouse).

Le passage transplacentaire des médicaments
Élisabeth Elefant, Delphine Béghin (Hôpital Armand Trousseau — Paris).

Les défauts d'implantation placentaire et leurs conséquences sur la fonction endothéliale maternelle
Jean-Michel Foidart, Agnès Noël, Frédéric Chantraine, Sophie Lorquet, Philippe Petit, Carine Munaut, Sarah Berndt, Christel Pequeux, Jean-Pierre Schaaps (CHR de la Citadelle, Liège — Belgique).

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1223-1231, séance du 12 mai 2009

Conclusion

Claude Sureau.

Lola, le petit Prince et Moi (le placenta) : Clip-vidéo sur une idée de Michel Soule par Danièle Evain-Brion.

ACTES

NÉCROLOGIE

Le Président annonce le décès survenu à Camblanes-et-Meynac (Gironde) le 10 mai 2009 du Professeur Eugène Neuzil, Membre correspondant honoraire dans la 3ème division, section des sciences biologiques.

J'ai la tristesse de vous faire part du décès de notre confrère Eugène Neuzil dont les obsèques auront lieu mercredi à Camblanes.

Eugène Neuzil était né en 1921 à Paris. Il était docteur en médecine et docteur en sciences.

Agrégé de Biochimie en 1952, il a été affecté à la Faculté de médecine de Bordeaux d'où il a été détaché en 1954 à l'école nationale de médecine et de pharmacie de Dakar où il a créé le laboratoire de Biochimie.

En 1961, il est nommé professeur titulaire de biochimie médicale, biologiste des hôpitaux du CHU de Bordeaux, fonctions qu'il exercera jusqu'en 1988.

Son esprit éclectique et sa vaste culture scientifique l'amèneront à s'intéresser à plusieurs disciplines : l'immunochimie, la biochimie analytique et la physiologie.

L'ensemble de ses travaux a fait l'objet de 260 publications. Citons en particulier parce que la communauté internationale l'avait appréciée, celle sur les associations moléculaires dans le domaine des lipides avec l'observation des « figures myéliniques ».

Il faut insister sur les qualités humaines de notre confrère, élu correspondant de l'Académie nationale de médecine en 1987 et correspondant honoraire en 2007.

Affable, toujours prêt à l'écoute, de bon conseil, il avait su conquérir l'estime et la confiance de ses collègues, en particulier de Louis Douste-Blazy et de Jacques Polonovski mais aussi Jansen à Amsterdam et Overbeeke à Utrecht.

Eugène Neuzil était officier des Palmes académiques et chevalier de la Légion d'honneur.

J'adresse à tous les siens, au nom de l'Académie nationale de médecine, mes condoléances très attristées.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1223-1231, séance du 19 mai 2009

Séance thématique du mardi 19 mai 2009

Présidence, Géraud LASFARGUES, *président*

Conférence

La mort dans la peinture européenne
Jacques-Louis BINET.

Élections

Dans la 3e division, section des sciences biologiques :
— **d'un membre correspondant étranger** en remplacement de M. Jan MOOR-JANKOWSKI, décédé.

Candidatures dans l'ordre des suffrages recueillis **:** MM. Changgeng RUAN (Suzhou-Chine) et Jean TAMRAZ (Beyrouth-Liban)

Communications

Nosologie et prise en charge des gammapathies monoclonales
Bernard GROSBOIS (Hôpital Sud CHU — Rennes), Olivier DECAUX, Lucienne GUENET, Jean GOASQUEN, Patrick JEGO.

Immunoglobuline monoclonale : quand l'hématologue a-t-il besoin du neurologue ?
Véronique LEBLOND, Marie-Anne HOSPITAL, Andréa TOMA, Sylvain CHOQUET (Hôpital de la Pitié-Salpêtrière — Paris).

Neuropathies périphériques associées à une gammapathie monoclonale : corrélations clinico-immunologiques et perspectives thérapeutiques
Jean-Marc LÉGER (Hôpital de la Pitié-Salpêtrière — Paris), Bénédicte CHASSANDE, Francesco BOMBELLI, Karine VIALA, Lucile MUSSET, Jean NEIL.

Communiqués

Recommandations de l'Académie nationale de médecine concernant les boissons alcooliques : responsabiliser le consommateur
Roger NORDMANN au nom de la commission VI.

Recommandations de l'Académie nationale de médecine concernant le traitement des tumeurs malignes des tissus mous
Jacques Rouëssé au nom d'un groupe de travail.

Présentation d'ouvrage

La naissance de la kinésithérapie par Jacques Monet, préface de Denys Pellerin. Paris : Éditions Glyphe, 2009, 420 p. *Présentation faite par Jean Dubousset.*

ACTES

NÉCROLOGIE

Le Président annonce le décès survenu à Rennes (Ille-et-Vilaine) le 17 mai 2009 du Professeur Jacques Bourguet, Membre correspondant honoraire dans la 2ème division, chirurgie et spécialités chirurgicales.

J'ai la tristesse de vous annoncer le décès de notre confrère le Professeur Jacques Bourguet, Professeur honoraire d'ORL et de chirurgie maxillo-faciale de la faculté de médecine de Rennes.

Né à Toulouse le 10 juillet 1916, il a fait ses études à la faculté de médecine de Paris. Interne des hôpitaux de Paris en 1941, il a effectué son clinicat chez le Professeur Clovis Vincent de 1944 à 1946.

Nommé agrégé en 1953 en ORL, il devient Professeur titulaire de la chaire de Clinique d'ORL et de chirurgie maxillo-faciale de Rennes en 1956, où il effectuera sa carrière.

Jacques Bourguet est l'auteur de plus de 200 publications portant sur la pathologie ORL et maxillo-faciale. Trois axes de recherche ont été privilégiés : en cancérologie il a surtout étudié les cancers du massif ethmoïdo-maxillaire, enseigné par son maître, le Professeur Leroux-Robert, rapportant plus de 320 cas ; en traumatologie, il a traité plus de 3 000 traumatismes majeurs des trois étages de la face. En otologie, il a contribué à la prise en charge et au traitement de la surdité sévère de l'enfant.

À ces activités médicales importantes, Jacques Bourguet a ajouté un travail administratif franco-allemand depuis 1970 à la suite du jumelage de Rennes avec la faculté de médecine d'Erlagnen-Nuremberg. Il a réalisé un protocole d'équivalence des études médicales français et allemand et un enseignement d'allemand à la faculté de médecine d Rennes.

Notre collègue fut d'ailleurs nommé Docteur Honoris Causa de l'Université « Friedrich Alexander » d'Erlagnen-Nuremberg.

Il était commandeur des Palmes académiques, Chevalier de la Légion d'Honneur et Verdienst Kreuz de 1ère classe de la République allemande.

Elu correspondant de l'Académie nationale de médecine dans la 2e division le 16 juin 1981, il était membre correspondant honoraire depuis le 19 novembre 2002.

J'adresse à ses enfants, au nom de l'Académie nationale de médecine et à mon nom personnel, nos condoléances très attristées.

CORRESPONDANCE OFFICIELLE

M. Bernard Accoyer, Président de l'Assemblée nationale, remercie pour l'envoi du rapport concernant les modifications à apporter à la législation sur les centres de ressources biologiques.

Le Dr Michel Legmann, Président du Conseil national de l'Ordre des médecins, remercie pour l'envoi des recommandations de l'Académie à propos de l'échinococcose alvéolaire.

CORRESPONDANCE NON OFFICIELLE

M. Michel Huguier, membre correspondant dans la 2e division, chirurgie et spécialités chirurgicales, pose sa candidature à une place de membre titulaire dans cette même division.

M. Claude Kenesi, membre correspondant dans la 2e division, chirurgie et spécialités chirurgicales, renouvelle sa candidature à une place de membre titulaire dans cette même division.

M. Michel Malafosse, membre correspondant dans la 2e division, chirurgie et spécialités chirurgicales, renouvelle sa candidature à une place de membre titulaire dans cette même division.

M. Michel Lacombe renouvelle sa candidature à une place de membre titulaire dans la 2e division, chirurgie et spécialités chirurgicales.

M. António Poiares Baptista (Coimbra — Portugal) remercie pour son élection au titre de membre correspondant étranger dans la 1ère division, médecine et spécialités médicales.

M. Alain Laugier sollicite, au nom de la Société française de Terminologie et de la Commission de Terminologie et de Néologie du Ministère de la Santé et du Ministère des Affaires sociales, le parrainage de l'Académie pour la journée scientifique annuelle consacrée aux *Mots de la Médecine et de la Biologie,* organisée le vendredi 4 décembre 2009 à l'École Normale Supérieure, 45 rue d'Ulm — Paris 6e. ***Le parrainage est accordé.***

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1223-1231, séance du 19 mai 2009

ÉLECTION

L'ordre du jour appelle l'**élection d'un membre correspondant étranger dans la 3e division, section des sciences biologiques,** en remplacement de M. Jan MOOR-JANKOWSKI, décédé.

M. Jean TAMRAZ (Beyrouth) est élu.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1223-1231, séance du 26 mai 2009

Séance thématique du mardi 26 mai 2009

Présidence, Géraud Lasfargues, *président*

Conférence

Deux peintres de mon cœur
Michel Déon de l'Académie française.

Communications

Information sur une nouvelle technique : la vitrification des ovocytes
Pierre Boyer (Hôpital Saint-Joseph — Marseille). Marie Gervoise-Boyer, Pierre Tourame, Catherine Poirot, Pierre Le Coz

L'immunothérapie spécifique aux allergènes ou désensibilisation des maladies allergiques
Pascal Demoly (Hôpital Arnaud de Villeneuve — Montpellier), François-Bernard Michel.

Communiqué

À propos de l'utilisation des cabines à bronzer par Jean Civatte et Jacques Bazex.

Informations

Une introduction à la médecine évolutionniste. L'évolution biologique, grande absente de l'enseignement médical
Bernard Swynghedauw.

Médecine thermale : actualités médicales et scientifiques
Christian-François Roques, Xavier de Boissezon (CHU — Toulouse), Patrice Queneau.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1223-1231, séance du 26 mai 2009

Présentation d'ouvrages

Le service de santé aux armées pendant la Première Guerre mondiale par Alain Larcan et J.J. Ferrandis. Paris, LBM, 2008, 596 p. *Présentation faite par Jacques Philippon.*

L'histoire des vaccinations par Hervé Bazin. Paris, John Libbey Eurotext, 2008, 471 p. *Présentation faite par Charles Pilet.*

ACTES

NÉCROLOGIE

Le Président annonce le décès survenu à Paris le 16 mai 2009 du Pr Pierre Choubrac, Membre correspondant honoraire dans la 1ère division, médecine et spécialités médicales.

C'est avec une grande peine que j'ai appris le décès de Pierre Choubrac le 16 mai 2009.

Né en 1916, Pierre Choubrac a fait toutes ses études médicales à Paris. Interne des hôpitaux en 1942, puis Chef de Clinique du Professeur Mollaret et du Professeur Lian. Il devint médecin des Hôpitaux de Paris en 1955 puis chef de service à la consultation de l'Hôtel-Dieu en 1964 et enfin chef de service à l'Hôpital Laënnec en 1965, qu'il ne quittera plus jusqu'à sa retraite en 1981.

Pierre Choubrac, Pneumologue, s'est intéressé d'abord à la tuberculose, puis à mesure de sa disparition à la pathologie tumorale thoracique, aux manifestations pulmonaires des maladies générales. Il est aussi devenu un interniste orienté vers la médecine du travail, la médecine légale.

Ses 161 publications concernent tout d'abord la prise en charge de la tuberculose puis s'élargissent aux diverses pathologies pulmonaires.

Mais ce qui frappait chez Pierre Choubrac, comme l'a très bien dit son élève préféré Charles Haas, c'est sa droiture intellectuelle, son sens du bonheur. Il avait une grande faculté d'enthousiasme qui lui faisait aimer les autres et la vie. C'est ainsi qu'en dehors de la médecine il s'intéressait à l'histoire, aux mathématiques et surtout à l'art de la navigation.

Pierre Choubrac avait été élu membre correspondant de la 1ère division en 1992 et membre correspondant honoraire en 2007. Il avait dans notre Académie de nombreux amis et est resté fidèle à nos séances jusqu'à ces derniers mois où il fût empêché par la maladie.

J'adresse, au nom de l'Académie nationale de médecine, et en mon nom personnel mes condoléances très attristées à son épouse et à ses enfants et leur exprime notre profonde sympathie.

Bull. Acad. Natle Méd., 2009, *193*, nº 5, 1223-1231, séance du 26 mai 2009

CORRESPONDANCE OFFICIELLE

M. Xavier Darcos, ministre de l'éducation nationale, remercie pour l'envoi du communiqué *A propos de l'échinococcose alvéolaire* adopté par l'Académie le 31 mars 2009.

CORRESPONDANCE NON OFFICIELLE

MM. André Capron et Jacques Fröchen remercient pour la contribution de l'Académie à l'association GID.

M^me^ Marie-Christine Mouren remercie pour son élection à une place de membre correspondant dans la 1ère division, médecine et spécialités médicales.

M. Nadir Saoudi remercie pour son élection à une place de membre correspondant dans la 1ère division, médecine et spécialités médicales.

M. Jean Tamraz (Beyrouth) remercie pour son élection à une place de membre correspondant étranger dans la 3ème division, section des sciences biologiques.

M. Jacques-Henri Ravina retire sa candidature à une place de membre titulaire dans la 2ème division, chirurgie et spécialités chirurgicales.

M. Didier Mellière retire sa candidature à une place de membre titulaire dans la 2ème division, chirurgie et spécialités chirurgicales.

M. Jean-Louis Mandel (Illkirch) pose sa candidature à une place de membre correspondant (non résidant) dans la 3ème division, section des sciences biologiques.

M. Michel Lagrave, membre correspondant libre dans la 4ème division, pose sa candidature à une place de membre libre dans cette même division, section médecine sociale et membres libres.

M^me^ Claudine Bergoignan-Esper, membre correspondant libre dans la 4e division, pose sa candidature à une place de membre libre dans cette même division, section médecine sociale et membres libres.

M. Stephen C. Cunnane (Sherbrooke — Québec — Canada) pose sa candidature à une place de membre correspondant étranger dans la 3e division, section des sciences biologiques.

M. Francis Desbrosse, Président de l'Académie Vétérinaire de France, propose la création d'un groupe de travail bi-académique dont l'objectif serait d'organiser des réunions communes sur des sujets de pathologie comparée.

Proposition acceptée à condition de réunir seulement des groupes de travail.

Sur la suggestion de Jean Baptiste Paloggi, Daniel Couturier à proposé la création d'un groupe de travail sur l'effet nocébo en médecine.

Cette proposition est acceptée.

BULLETIN DE L'ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le Secrétaire perpétuel et le Secrétaire-adjoint, assistés d'un Comité de Lecture, sont responsables de la publication du *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*. Pour chacun des textes qui ont été acceptés et présentés, la longueur ne doit pas dépasser 10 pages du Bulletin. Chaque page comprend 3320 caractères (45 lignes de 76 caractères où sont compris les espaces et la ponctuation) soit 3320 × 10 pages =33200 caractères maximum. Dans ces 10 pages sont inclus : tableau, iconographie et bibliographie. Tout dépassement sera facturé à l'auteur à raison de 61 € la page éditée.

Le texte fourni en trois exemplaires sera structuré en paragraphes homogènes, en évitant le style télégraphique, l'abus des alinéas, les successions de mots ou de phrases précédées d'un tiret, une numérotation superflue des propositions. Les titres et sous-titres seront détachés. Les signes et abréviations seront explicités lors de leur première apparition dans le texte. Les molécules (médicaments ou non) apparaîtront sous leur dénomination commune internationale.

Les communications seront rédigées suivant la norme scientifique en chapitres distincts : introduction, malades et méthodes, résultats, discussion. Pour les lectures, l'agencement des paragraphes doit faire apparaître la structure de l'exposé et les étapes du raisonnement.

Le titre en français de l'article figurera sur une première page, avec le prénom et le nom des auteurs ainsi que leur adresse et le lieu où pourront être demandés les tirés-à-part. Le résumé français sera accompagné des mots-clés répertoriés à l'*Index Medicus*. Le titre en anglais et un résumé anglais plus détaillé que le résumé français seront joints.

L'iconographie sera limitée à quatre tableaux ou documents photographiques. Chacun portera au dos un numéro et une indication de positionnement. Les légendes seront rédigées sur une feuille indépendante, numérotées suivant leur ordre dans le texte. Les diapositives seront tirées sur papier.

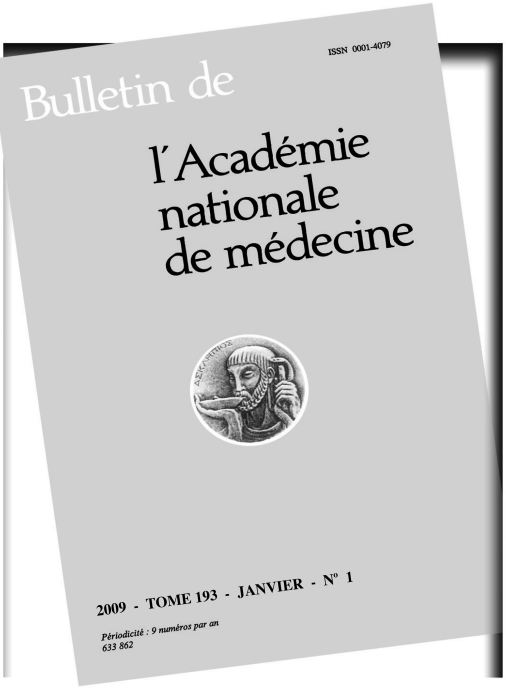
La bibliographie sera classée suivant l'ordre d'apparition dans le texte.

La version définitive devra être transmise par e-mail. La correction des épreuves sera exclusivement d'ordre typographique. Toute modification du texte initial sera facturée à l'auteur.

Trente tirés-à-part seront fournis gratuitement. Des tirés-à-part supplémentaires peuvent être exécutés aux frais des auteurs.

Avant d'entreprendre la rédaction de leur texte, les auteurs sont invités
à se procurer les « Consignes détaillées », à l'adresse ci-dessous

Académie nationale de médecine
16, rue Bonaparte
75272 Paris Cedex 06
Tél : 01.42.34.57.71 — Fax : 01.40.46.87.55
Email : odette.demonts@academie-medecine.fr



Abonnez-vous au Bulletin de l'Académie nationale de médecine

Profitez de nos **facilités de paiement** :

- Optez pour un paiement en **4 fois sans frais** sur une année
- **Abonnez-vous en ligne** sur www.elsevier-masson.fr

*L'accès en ligne est inclus dans l'abonnement particulier et interne/CCA. Il est délivré avec un surcoût dans le cadre de l'abonnement institutionnel.

Bulletin de l'Académie nationale de médecine

Bulletin d'abonnement

À RETOURNER OU À FAXER À Elsevier Masson SAS - Service Abonnements
62 rue Camille Desmoulins - 92442 Issy les Moulineaux cedex - France - Fax : + 33 (0)1 71 16 55 88

❑ **Oui,** je souhaite m'abonner au **Bulletin de l'Académie nationale de médecine** à compter de janvier 2009.

TARIFS — **ABONNEMENT 2009 / 1 AN - 9 N°**

	Particulier*	Institution	Interne, CCA
France TTC	❑ **165 €**	❑ **268 €**	❑ **79 €**
UE TTC**	❑ **168,47 €**	❑ **281,80 €**	
Reste du monde HT	❑ **165 €**	❑ **292 €**	

M09A015A

COORDONNÉES

Nom .....
Prénom .....
Profession/spécialité .....
Adresse .....
.....
Code postal |_|_|_|_|_| Ville .....
Pays .....
Tél .....
Email .....

* Nos conditions spéciales "particuliers" sont réservées strictement à tout nouvel abonné dont le paiement est effectué en son nom propre et l'abonnement à son adresse personnelle.
** Pour bénéficier d'un tarif exonéré, veuillez nous indiquer votre n° de TVA intracommunautaire : .....

Elsevier Masson SAS / Société par actions simplifiée au capital de 675 376 euros / RCS Nanterre B 542 037 031 / Locataire-gérant de la société d' Edition de l'Association d'Enseignement Médical des Hôpitaux de Paris.
Conformément à l'article 27 de la loi Informatique et Libertés, vous disposez d'un droit d'accès et de rectification des données vous concernant. Sauf opposition de votre part, ces informations pourront être utilisées par des tiers.

1 Je choisis de **régler comptant :**

VEUILLEZ

❑ Trouver ci-joint mon chèque d'un montant de .....€ à l'ordre d'Elsevier Masson SAS

❑ Débiter ma carte de crédit (CB, Eurocard, MasterCard ou Visa) d'un montant total de .....€

N° |_|_|_|_| |_|_|_|_| |_|_|_|_| |_|_|_|_| Expire à fin |_|_| |_|_|

Cryptogramme (Notez les trois derniers chiffres du N° inscrit au dos de votre carte, près de la signature) : |_|_|_|

Date et signature

❑ M'adresser une facture acquittée pour ma déclaration de frais professionnels

2 Je choisis de régler en **4 fois sans frais** sur un an ; soit 4 fois .....€

AUTORISATION DE PRÉLÈVEMENT

J'autorise l'Établissement teneur de mon compte à prélever sur ce dernier, si la situation le permet, tous les prélèvements ordonnés par le créancier désigné ci-dessous. En cas de litige sur un prélèvement, je pourrai en faire suspendre l'exécution par simple demande à l'établissement teneur de mon compte. Je réglerai le différend directement avec le créancier.

N° NATIONAL D'EMETTEUR 335 398

NOM, PRÉNOM ET ADRESSE DU DÉBITEUR

NOM ET ADRESSE DU CRÉANCIER

ELSEVIER MASSON SAS
62 rue Camille Desmoulins
92442 Issy les Moulineaux cedex
RCS Nanterre B 542 037 031

COMPTE À DÉBITER

Code établissement	Code guichet	Numéro de compte	Clé RIB

NOM ET ADRESSE DE L'ÉTABLISSEMENT TENEUR DU COMPTE À DÉBITER

Date : Signature (OBLIGATOIRE) :

Prélèvement trimestriel

Prière de retourner cette autorisation de prélèvement en y joignant un relevé d'identité bancaire (RIB), ou postale (RIP) ou de compte d'épargne (RICE)

A échéance, mon abonnement se renouvellera tacitement pour une durée indéterminée. Je pourrai y mettre fin à tout moment par simple courrier recommandé adressé à Elsevier Masson. Je serai prévenu de toute augmentation avec un préavis de deux mois.

Printed in France *Le Directeur de la publication* M. Jacques-Louis BINET.

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés réservés pour tous pays.

Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle, par quelque procédé que ce soit, des pages publiées dans le présent ouvrage, faite sans l'autorisation de l'éditeur ou du Centre Français d'Exploitation du droit de copie (20, rue des Grands-Augustins, 75006 PARIS), est illicite et constitue une contrefaçon. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective, et, d'autre part, les analyses et courtes citations justifiées par le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées (Loi du 1er juillet 1992-art. L 122-4 et L 122-5 et Code Pénal art. 425).

© 2009, Académie de Médecine, Paris

Imprimé par l'Imprimerie F. Paillart
86, chaussée Marcadé 80100 Abbeville
Académie de Médecine, éditeur, Paris — Dépôt légal 4e trimestre 2009 — No 0190.
commission paritaire no 787 AD