

072 Rôle potentiel des cathepsines à cystéine humaines dans la libération et la dégradation d'endostatine

F. Veillard, F. Lecaille, G. Lalmanach

Unité Inserm U618 « Protéases et Vectorisation Pulmonaires », IFR 135, Université François Rabelais, Faculté de Médecine, Tours, France.

Veilla_f@med.univ-tours.fr

Introduction : Lors de BPCO, la réaction inflammatoire est accompagnée d'un déséquilibre de la balance protéases/antiprotéases à l'origine de la dégradation et du remodelage du parenchyme pulmonaire. Des études suggèrent qu'il existe aussi un déséquilibre entre les facteurs pro et anti-angiogéniques conduisant à l'apoptose de cellules du poumon et au blocage de la néo-vascularisation diminuant ainsi la réparation alvéolaire (Proc Am Thorac Soc., 2006 ; 3 : 494-8). D'autres études ont en particulier montré une corrélation entre la sévérité de l'emphysème et le rapport VEGF/endostatine, un facteur anti-angiogénique et pro-apoptotique. Chez la souris, l'endostatine est libérée par la cathepsine L après clivage dans la région charnière de l'extrémité C-terminale du collagène XVIII (EMBO J, 2000 ; 19 : 1187-94). Chez l'homme, bien que plusieurs protéases soient candidates, les (ou la) cathepsines à cystéine (CPs) impliquées dans la libération ainsi que la dégradation d'endostatine ne sont pas encore connues. Le but de cette étude est d'identifier les CPs pulmonaires (cat L, B, S, K, V et H) potentiellement impliquées dans ce phénomène.

Méthodes : Dix peptides chevauchants (possédant un accepteur et extincteur de fluorescence) correspondant à la région charnière sensible à la protéolyse ont été synthétisés. Ces FRET-peptides ont permis d'identifier les sites de clivage des différentes enzymes par spectrométrie de masse et de mesurer les constantes de spécificité (kcat/Km) correspondantes. Dans un deuxième temps, l'hydrolyse de l'endostatine a été étudiée par électrophorèse et western-blot.

Résultats : Cette approche in vitro a permis d'identifier les sites de clivage potentiels des différentes cathepsines correspondant aux formes circulantes d'endostatine, suggérant que les cathepsines K, B, L et V pourraient être impliquées dans sa libération. En parallèle, les cathepsines L, S et V, mais pas la K et la B, pourraient participer à sa dégradation.

Conclusions : Cette étude préliminaire a permis de mettre en évidence le rôle potentiel des cathepsines à cystéine dans la libération et la dégradation d'endostatine. Ces protéases pourraient donc participer au déséquilibre de l'angiogénèse observé en conditions pathologiques. Cette hypothèse sera approfondie en utilisant comme modèles des macrophages (principale source de CPs pendant l'inflammation) et des cellules HUVEC afin de vérifier l'action de ces protéases sur l'endostatine et leur capacité à moduler ses propriétés anti-angiogéniques.

073 Cellules endothéliales et progéniteurs endothéliaux circulants : marqueurs de vasculopathie pulmonaire au cours de l'hypertension artérielle pulmonaire

O. Sanchez^{1,2,3}, D. Smadja^{4,5}, L. Le Cointre^{4,5}, P. Henno², B. Douvry², P. Gaussem^{4,5}, D. Israël-Biet^{1,2,3}

¹ Université Paris Descartes Faculté de Médecine, Paris France.

² UPRES EA4068 UFR Biomédicales des Saints-Pères, Paris France.

³ Service de Pneumologie et Soins Intensifs Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris France.

⁴ Inserm U765, Paris France.

⁵ Service d'Hématologie Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris France.

olivier.sanchez@egp.aphp.fr

Introduction : Il existe au cours de l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) un remodelage de la microcirculation pulmonaire. Un changement progressif de l'équilibre entre les lésions et régénération de l'endothélium pourrait contribuer à ce remodelage. Les cellules endothéliales circulantes (CEC) sont libérées dans le sang périphérique en réponse aux dommages vasculaires tandis que les progéniteurs endothéliaux (PEC) sont les médiateurs des processus régénératifs. L'étude combinée de ces 2 marqueurs du compartiment endothélial pourrait constituer des marqueurs non invasifs de ce remodelage vasculaire pulmonaire. Nous formulons l'hypothèse que ces cellules pourraient être présentes en quantité plus importante au sein même de la circulation pulmonaire.

Méthodes : 25 patients suspects d'HTAP sur les résultats d'une échocardiographie (PAPm > 40 mmHg) ont subi un cathétérisme cardiaque droit. Des prélèvements sanguins ont été réalisés simultanément dans une veine périphérique et dans l'artère pulmonaire afin de quantifier les CEC par immunoséparation magnétique et les PEC par cytofluorométrie en flux (CD34+/CD133+ et CD34+/CD133+/CD146+) et en culture (EndoCult®).

Résultats : Une HTAP a été confirmée après cathétérisme cardiaque droit (PAPm > 25 mmHg) chez 18 patients (HTAP groupe 1 OMS : HTAP idiopathique (n = 4), sclérodémie (n = 4), hypertension portale (n = 2), VIH (n = 1) ; groupe 4 OMS : HTAP postembolique (n = 7), et infirmée chez 7 patients (contrôles). Comparativement aux contrôles, il existe au cours de l'HTAP du groupe 1, une augmentation significative des CEC et une diminution significative des PEC dans les circulations systémiques et pulmonaires. Ces cellules ne sont pas présentes en quantité plus importante au sein même du site où siège le remodelage.

Conclusion : Au cours de l'HTAP idiopathique ou associée, les CEC et les PEC sont des marqueurs périphériques du remodelage vasculaire pulmonaire.

Recherche financée grâce au soutien de l'établissement public Chancellerie des Universités de Paris

	Contrôles (n=7)	HTAP groupe 1 (n=11)	HTAP-PE groupe 4 (n=7)
Âge, ans	52 ± 18	57 ± 17	53 ± 17
PAPm, mmHg	18 ± 5	44 ± 14	47 ± 16
CD34+/CD133+ périph	1177 ± 255	910 ± 170	653 ± 169
CD34+/CD133+ AP	1142 ± 310	856 ± 176	727 ± 185
PEC périph	9,5 ± 7	6,8 ± 2 *	10,3 ± 5
PEC AP	10,5 ± 9	4,4 ± 1 *	13,7 ± 7
CEC périph	3,4 ± 4	14,6 ± 3 *	3,4 ± 1
CEC AP	5,7 ± 7	22,5 ± 6 *	3,4 ± 2

* p < 0,05.