

# Bulletin et Mémoires de l'Académie royale de Médecine de Belgique

Séance publique du 4 septembre 2010

*B. Dan*

Le dialogue neurogénétique illustré par le syndrome du « pantin hilare »  
d'Angelman

*E. Salmon*

« Je ne suis pas fou ! » Etudes de l'anosognosie dans la maladie d'Alzheimer

\*

\* \*

Séance publique et solennelle du 11 septembre 2010

**Rapports scientifiques des boursiers cliniciens –  
chercheurs F.N.R.S. soutenus par l'Académie**

*L. Hue*

Introduction

*M<sup>me</sup> J. Callenaere*

Boursier clinicien – chercheur

*Ph. Lemaître*

Boursier clinicien – chercheur

**Remise des prix et récompenses aux lauréats de l'Académie  
pour l'exercice 2009**

*A. Le Moine*

Prix du concours ordinaire de la 4<sup>e</sup> Section (2007-2008)

*F. Huaux*

Médaille dans le cadre du Prix du concours ordinaire de la 4<sup>e</sup> Section (2007-2008)

*M<sup>me</sup> C. Mascaux*

Prix Alvarenga de Piauhy 2008

*E. Hermans*

Prix quinquennal des Sciences pharmaceutiques et thérapeutiques (2004-2008)

*Ch. Pierreux*

Prix du concours ordinaire de la 1<sup>re</sup> Section (2008-2009)

*A. Florins*

Médaille dans le cadre du Prix du concours ordinaire de la 1<sup>re</sup> Section (2008-2009)

*M<sup>me</sup> A.-C. Servais*

Prix du concours ordinaire de la 5<sup>e</sup> Section (2008-2009)

*J.-F. Collet*

Prix Alvarenga de Piauhy 2009

*M<sup>me</sup> N. Vigneron*

Médaille dans le cadre du Prix Alvarenga de Piauhy 2009

*J.-B. Demoulin*

Prix Docteur Maurice Godin-Maria Savelkoul (2007-2009)

*B. Vanhollebeke*

Prix A. Dubois pour la Pathologie tropicale (2005-2009)

\*

\* \*

Séance publique du 18 septembre 2010

*Th. Krieg, et coll.*

Cell-Cell and Cell-Matrix interactions in the skin – implications for tissue repair  
and chronic wounds

*X. Banse*

Cross-links du collagène et qualité de l'os



VOLUME 165/ANNÉE 2010

Nos 7-8-9

PÉRIODIQUE MENSUEL  
NE PARAISSANT PAS EN AOÛT

PALAIS DES ACADEMIES  
1000 BRUXELLES

# Bulletin et Mémoires de l'Académie royale de Médecine de Belgique

Séance publique du 4 septembre 2010

*B. Dan*

Le dialogue neurogénétique illustré par le syndrome du « pantin hilare »  
d'Angelman

*E. Salmon*

« Je ne suis pas fou ! » Etudes de l'anosognosie dans la maladie d'Alzheimer

\*  
\* \*

Séance publique et solennelle du 11 septembre 2010

**Rapports scientifiques des boursiers cliniciens –  
chercheurs F.N.R.S. soutenus par l'Académie**

*L. Hue*

Introduction

*M<sup>me</sup> J. Callenaere*

Boursier clinicien – chercheur

*Ph. Lemaître*

Boursier clinicien – chercheur

**Remise des prix et récompenses aux lauréats de l'Académie  
pour l'exercice 2009**

*A. Le Moine*

Prix du concours ordinaire de la 4<sup>e</sup> Section (2007-2008)

*F. Huaux*

Médaille dans le cadre du Prix du concours ordinaire de la 4<sup>e</sup> Section (2007-2008)

*M<sup>me</sup> C. Mascaux*

Prix Alvarenga de Piauhy 2008

*E. Hermans*

Prix quinquennal des Sciences pharmaceutiques et thérapeutiques (2004-2008)

*Ch. Pierreux*

Prix du concours ordinaire de la 1<sup>re</sup> Section (2008-2009)

*A. Florins*

Médaille dans le cadre du Prix du concours ordinaire de la 1<sup>re</sup> Section (2008-2009)

*M<sup>me</sup> A.-C. Servais*

Prix du concours ordinaire de la 5<sup>e</sup> Section (2008-2009)

*J.-F. Collet*

Prix Alvarenga de Piauhy 2009

*M<sup>me</sup> N. Vigneron*

Médaille dans le cadre du Prix Alvarenga de Piauhy 2009

*J.-B. Demoulin*

Prix Docteur Maurice Godin-Maria Savelkoul (2007-2009)

*B. Vanhollebeke*

Prix A. Dubois pour la Pathologie tropicale (2005-2009)

\*  
\* \*

Séance publique du 18 septembre 2010

*Th. Krieg, et coll.*

Cell-Cell and Cell-Matrix interactions in the skin – implications for tissue repair  
and chronic wounds

*X. Banse*

Cross-links du collagène et qualité de l'os

VOLUME 165/ANNÉE 2010

N<sup>os</sup> 7-8-9

PÉRIODIQUE MENSUEL

NE PARAISSANT PAS EN AOÛT

PALAIS DES ACADEMIES  
1000 BRUXELLES



Séance publique du 4 septembre 2010

---



## SÉANCE PUBLIQUE DU 4 SEPTEMBRE 2010

---

Au Bureau : M. L. Hue, Président ; MM. J. Frühling, Secrétaire perpétuel, P.-P. Pastoret et W.J. Malaisse, premier et second vice-présidents.

Sont présents :

MM. A. Govaerts, Th. Godfraind, J. van der Stricht, J. Christophe, P. Vanderhoeft, R. Bernard, A. Burny, G. Franck, J.-J. Vanderhaeghen, A. Dresse, membres honoraires ;

MM. M. Lamy, J.-B. Otte, M. Hanocq, J. Boniver, J.-F. Bekcers, A. Ferrant, M<sup>me</sup>F. Meunier, membres titulaires ;

MM. R. Vanwijck, S. Louryan, A. Albert, B. Lengelé, G. Casimir, D. Giet, J.-C. Renauld, membres ordinaires.

\*  
\* \*

MM. R. Görtz, E.H. Betz, J. Bonnal, L. Molle, P. Dumont, M. Abramow, membres honoraires ; J. Brotchi, R. Limet, L. Angenot, Th. de Barsy, M<sup>me</sup> J.-A. Stiennon-Heuson, MM. G. Rorive, M<sup>me</sup> F. Portaels, MM. G. Meulemans, Y. Pirson, R. Kramp, M<sup>me</sup> D. Balériaux, M. J.-C. Henquin, membres titulaires ; J. Crommen, F. Houssiau, D. Lison, E. Sokal, Y. Carlier, O. Devuyst, Ch. Delloye, membres ordinaires, ont exprimé leurs regrets de ne pouvoir assister à la séance.

\*  
\* \*



## Lectures

### I

## LE DIALOGUE NEUROGÉNÉTIQUE ILLUSTRÉ PAR LE SYNDROME DU « PANTIN HILARE » D'ANGELMAN

par

B. DAN (U.L.B.) (\*)

L'approche génomique de la neurologie contribue actuellement de manière essentielle à la compréhension de la physiopathologie de certaines maladies et apporte de nouveaux espoirs thérapeutiques. Parmi les affections pour lesquelles la démarche reliant génétique et clinique est engagée, le syndrome d'Angelman apparaît particulièrement intéressant par la multiplicité de ses manifestations neurologiques et la complexité des mécanismes de biologie moléculaire qu'il implique (Dan 2008).

Le syndrome d'Angelman est une affection neurogénétique caractérisée par un retard de développement, une absence de langage verbal expressif, des troubles moteurs et un comportement particulièrement enjoué (Tableau 1). Il fut reconnu pour la première fois par un pédiatre anglais, Harry Angelman (1965), qui décrit trois enfants présentant ce tableau sous le terme d'« enfants-marionnettes » (*puppet children*). La littérature anglophone donna alors la préférence au terme *happy puppet syndrome* traduit en français par syndrome du pantin hilare par l'équipe qui décrit le premier patient belge (Pelc *et al.*, 1976), pour évoquer à la fois la démarche ataxique et le caractère enjoué des patients. Dès la fin des années 1980, la découverte de délétions du bras long du chromosome 15 chez la plupart des patients et l'identification de particularités électroencéphalographiques facilitèrent nettement le diagnostic. Au vu de sa faible prévalence, entre 1 :10 000 et 1 :40000, le syndrome d'Angelman est considéré comme une 'maladie orpheline'. Il a principalement été décrit chez l'enfant, mais le diagnostic est de plus en plus souvent posé chez l'adulte, principalement institutionnalisé.

(\*) Invité par le Bureau en vertu de l'article 15 §3 du Règlement.



Caractéristiques cliniques du syndrome d'Angelman d'après Williams, *et al.*, 2006).

**A. Caractéristiques constantes** (100 %)

Retard de développement, fonctionnellement sévère.

Troubles moteurs, marche ataxique, tremblements, spasticité.

Comportement particulier : enjoué, hyperactif, excitable.

Trouble du langage : (quasi) pas de mots ; meilleures compétences réceptives, non-verbales.

**B. Caractéristiques fréquentes** (> 80 %)

Microcéphalie

Épilepsie

EEG anormal, pattern caractéristique (Dan & Boyd 2003).

**C. Caractéristiques associées** (20 % – 80 %)

Occiput plat, strabisme, protrusion de la langue, prognathisme, bouche large, dents écartées, sialorrhée, hypopigmentation, troubles du sommeil.

Tableau I

### Manifestations cliniques

Le diagnostic clinique du syndrome d'Angelman repose sur la présence de particularités physiques et comportementales (Tableau I). Les signes crânio-faciaux comprennent une micro-brachycéphalie, un nez pointu, un prognathisme, une bouche large et souriante et des dents écartées (Fig. 1). On peut noter une hypopigmentation des cheveux, de la peau et des yeux. Les patients ont un retard sévère du développement psychomoteur. L'hypotonie axiale est présente dès la naissance. Une spasticité légère à modérée des membres peut apparaître pendant la première année de vie, de même que l'ataxie. La marche est typiquement caractérisée par une rotation interne des membres inférieurs en extension, une base de sustentation élargie et une flexion des coudes. Le comportement est caractéristique : joyeux et très sociable. L'exubérance et l'hyperactivité, à l'avant-plan durant l'enfance, font généralement place à la placidité après l'adolescence. Les aptitudes cognitives sont limitées de manière sévère ou profonde. Le langage verbal expressif est virtuellement absent, mais la plupart des patients invitent constamment à l'interaction par des signes inventés ou appris.



Fig. 1

Aspect caractéristique du visage d'un patient qui a le syndrome d'Angelman. Noter le contact visuel, les yeux clairs, le nez pointu, l'hypoplasie de l'étage moyen de la face, la bouche large, souriante, la position basse et antérieure de la langue, le prognathisme avec mandibule saillante et le reflet indiquant la sialorrhée.

### **Électroencéphalographie**

Bien qu'il ne soit pas essentiel pour poser le diagnostic de syndrome d'Angelman, l'électroencéphalogramme met en évidence des activités rythmiques caractéristiques de grande amplitude (Dan et Boyd 2003). Ces activités apparaissent entre quatre à neuf mois, avant l'apparition de crises d'épilepsie, et elles ne sont pas modifiées par le traitement anticomitial. Par ailleurs, l'électroencéphalogramme peut montrer de l'activité épileptique et son rôle est particulièrement important dans le diagnostic de l'état de mal épileptique non convulsif.

## Génétique

Le syndrome d'Angelman est dû à l'absence fonctionnelle du gène *UBE3A* maternel. Il peut être causé par divers mécanismes affectant le bras long du chromosome 15 d'origine maternelle. Des anomalies de la région correspondante du chromosome 15 d'origine paternelle donnent lieu à une affection tout à fait différente, le syndrome de Prader-Willi, qui associe une hypotonie, un retard mental, une obésité et un hypogonadisme, illustrant le phénomène de l'empreinte génomique, qui se manifeste par l'expression différente de certains gènes selon qu'ils sont situés sur le chromosome d'origine maternelle ou paternelle.

Le mécanisme le plus fréquent (70 % des patients), est une délétion sporadique de la région 15q11-q13. Cette anomalie peut être détectée par hybridation *in situ* avec sondes fluorescentes (FISH) correspondant à cette région. Des mutations du gène *UBE3A* maternel (situé dans la région 15q11-q13) sont retrouvées dans 5-10 % des cas. Le risque de récurrence dans la fratrie peut alors atteindre 50 % et un risque similaire peut exister chez les cousins. Un troisième mécanisme (3-5 %) est le défaut de l'empreinte génomique de cette région du chromosome 15, qui peut être détecté par étude de la méthylation de l'ADN. Il peut être dû à une anomalie, éventuellement héréditaire, d'une région du chromosome 15 déterminant l'empreinte. Le quatrième mécanisme retrouvé est une disomie uniparentale paternelle du chromosome 15 (2-3 %), c'est-à-dire la présence de deux chromosomes 15 provenant du père plutôt qu'un chromosome du père et un de la mère. Plus rarement encore, le syndrome d'Angelman peut être causé par une translocation ou d'autres remaniements du chromosome 15. Enfin, chez une petite proportion des patients satisfaisant aux critères diagnostiques cliniques, aucune cause n'est actuellement mise en évidence.

## Modèle animaux

Il existe actuellement plusieurs modèles murins basés sur l'homologie de gènes entre le chromosome humain 15q11-q13 et le chromosome 7C de la souris. L'équivalent de la délétion de la région 15q11-q13 du chromosome humain comprenant le gène *Ube3a* ne présente pas d'anomalies phénotypiques évidentes mais il n'a pas été étudié finement (Gabriel, *et al.*, 1999). Les souris d'un modèle analogue à la disomie uniparentale paternelle présentent des troubles de la croissance similaires à ceux observés dans le syndrome de Prader-Willi humain (Cattanach, *et al.*, 1997). Elles ont un comportement hyperactif et une marche légèrement ataxique. Les enregistrements électroencéphalographiques indiquent des trains prolongés d'activité delta rythmique survoltée. Les modèles de mutation a fonctionnelle du gène *UBE3A* par inactivation de son homologue murin ont été le mieux étudiés sur le plan neurophysiologique et comportemental. Un de ces modèles présente des anomalies EEG rythmiques, des troubles des apprentissages contextuels et de la potentiation à long terme hippocampique en rapport avec une auto-inhibition de l'activité de la calcium/calmodulin-dépendent protéine kinase II activity (Weeber *et al.*, 2003). L'enregistrement intracérébelleux

d'un modèle similaire a démontré l'émergence d'un potentiel de champ oscillant (ca. 160 Hz) corrélé à une augmentation de décharges rythmiques des cellules de Purkinje (Cheron et al., 2005). Cette oscillation peut être inhibée en bloquant les gap junctions, les récepteurs NMDA ou encore  $GABA_A$ .

Une drosophile n'exprimant pas *Dube3a*, l'homologue d'*UBE3A*, a aussi été proposée comme un modèle du syndrome d'Angelman syndrome : les mouches mutantes présentent des anomalies du comportement moteur, de la mémoire olfactive et de l'activité circadienne, conduisant les auteurs à essayer de relier ce phénotype au syndrome d'Angelman (Wu *et al.*, 2008). Les drosophiles qui n'expriment pas *Dube3a* ont moins de dendrites au niveau des neurones sensitifs du système nerveux périphérique.

### Physiopathologie

Bien que le gène responsable du syndrome ait été identifié il y a déjà treize ans, la physiopathologie du syndrome reste un sujet de spéculation. Le produit du gène, UBE3A, agit en tant qu'ubiquitine-protéine ligase E3 dans la voie de l'ubiquitination, dont le rôle le mieux connu est le marquage de protéines cibles en vue de leur dégradation spécifique dans le protéasome. Cette protéolyse intervient peut-être de manière importante dans plusieurs processus neuronaux, comme la synaptogénèse et les mécanismes de mémoire à long terme. L'ubiquitination est par ailleurs impliquée dans la régulation du nombre de récepteurs au niveau post-synaptique. Nous avons proposé l'hypothèse suivant laquelle l'absence d'UBE3A altérerait la régulation des récepteurs  $GABA_A$  (Dan et Boyd, 2003). Selon cette hypothèse, l'altération de la régulation de récepteurs  $GABA_A$  contenant la sous-unité bêta 3 serait « compensée » en impliquant des isoformes du récepteur, ce qui aurait pour effet de modifier la cinétique du récepteur et ses propriétés de désensibilisation, altérant les mécanismes de synchronie neuronale médiés par la transmission  $GABA_A$ .

### Perspectives

Malgré les nombreux aspects qui restent à éclaircir pour bien le comprendre, le syndrome d'Angelman offre un paradigme potentiellement puissant pour investiguer au moyen de la recherche clinique et fondamentale la complexité de la maturation cérébrale et du développement moteur, cognitif et comportemental.

Il apparaît encore nécessaire d'étudier des séries de patients. En ce qui concerne la neurologie, l'épilepsie a été abondamment étudiée mais il manque des études contrôlées des traitements. D'autres aspects devraient être mieux documentés, notamment le contrôle moteur afin de vérifier les hypothèses impliquant le cortex moteur, le cervelet et les noyaux de la base. Des études neuropsychologiques pourraient renseigner sur les processus cognitifs et les stratégies d'apprentissage en vue d'élaborer des approches pédagogiques mieux adaptées. La neurophysiologie et l'imagerie fonctionnelle peuvent

être mises à profit, notamment pour étudier les aspects langagiers. Il apparaît aussi nécessaire de disposer de matériel neuropathologique (seules deux autopsies ont été publiées).

Les études de biologie moléculaire menées sur l’empreinte génomique et les rôles de l’UBE3A pourraient ouvrir des possibilités de modulation visant à améliorer le fonctionnement neurologique des patients.

## **Conclusion**

En attendant les résultats de ces voies de recherches, plusieurs notions semblent émerger. Premièrement, le déficit en UBE3A dans certaines populations neuronales (et peut-être à certaines périodes du développement) est central à l’expression du syndrome. Les études de régulation de l’expression de l’UBE3A pourraient donc déboucher sur des possibilités thérapeutiques. Deuxièmement, le rôle principal de l’UBE3A semble concerner l’ubiquitination, ce qui pourrait ouvrir la voie à des interventions ciblées. Troisièmement, divers ensembles neuronaux sont affectés, notamment des réseaux corticaux (en particulier l’hippocampe), thalamo-corticaux et cérébelleux. Ces aspects devraient être mieux documentés, notamment dans une perspective développementale. Quatrièmement, le fonctionnement anormal est en relation avec des activités électrophysiologiques rythmiques synchrones. Ces activités interfèrent vraisemblablement avec la gestion physiologique de signaux importants pour les fonctions cognitives, l’adaptation comportementale, le contrôle moteur et certains aspects du sommeil. L’hypersynchronie peut aussi produire l’épilepsie. Les approches de neuromodulation, notamment pharmacologiques, ou de stimulation ou d’inhibition spécifique pourraient permettre d’améliorer le fonctionnement neurologique des patients.

## **RÉSUMÉ**

Le syndrome d’Angelman est une affection neurogénétique caractérisée par un retard de développement, une absence de langage verbal expressif, des troubles moteurs, un comportement exubérant et enjoué et de l’épilepsie. Il peut être causé par diverses anomalies du chromosome 15 affectant l’expression d’un gène aux fonctions multiples qui restent à clarifier. Le diagnostic a des implications cliniques et génétiques importantes, mais il est encore trop rarement posé, malgré sa sévérité et les aspects typiques de sa présentation. Au-delà des situations cliniques individuelles, le syndrome d’Angelman peut représenter un modèle soulevant des questions sur les influences génétiques et épigénétiques en neurologie, le concept du développement psychomoteur, celui de l’infirmité motrice cérébrale, ou encore des phénotypes comportementaux et des syndromes épileptiques. Les progrès récents de la biologie moléculaire et les modèles animaux apportent certaines réponses.

## SUMMARY

Angelman syndrome is a neurogenetic disorder characterized by developmental delay, absence of speech, motor impairment, exuberant and happy demeanour and epilepsy. It may be caused by various abnormalities of chromosome 15q11-13 affecting the expression of a gene whose multiple function still need to be clarified. Precise diagnosis carries clinical and genetic counselling implications. However, many clinicians still seem unfamiliar with it, despite the severity and typical aspects of presentation. Beyond individual situations, Angelman syndrome can serve as a paradigm for clinical and basic research into genetic and epigenetic influences in neurology, neurological development, motor control, behavioural phenotypes and epileptic syndromes. Recent advances in molecular biology and animal models of the syndrome provide new data which must be included in our interpretation of Angelman syndrome.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ANGELMAN H., *'Puppet' Children : a report on three cases*, Dev. Med. Child. Neurol. 7, 681-688 (1965).
2. CATTANACH B.M., BARR J.A., BEECHEY C.V., MARTIN J., NOEBELS J., JONES J., *A candidate model for Angelman syndrome in the mouse*, Mamm. Genome 8, 472-478 (1997).
3. CHERON G., SERVAIS L., WAGSTAFF J., DAN B., *Fast cerebellar oscillation associated with ataxia in a mouse model of Angelman syndrome*, Neuroscience 130, 631-637 (2005).
4. DAN B., *Angelman syndrome*, London, Mac Keith Press, Wiley-Blackwell, 181 pp. (2008).
5. DAN B., BOYD S.G., *Angelman syndrome reviewed from a neurophysiological perspective, The UBE3A-GABRB3 hypothesis*, Neuropediatrics 34, 169-176 (2003).
6. GABRIEL J.M., MERCHANT M., OHTA T, JI Y., CALDWELL R.G., RAMSEY M.J., TUCKER J.D., LONGNECKER R., NICHOLLS R.D., *A transgene insertion creating a heritable chromosome deletion mouse model of Prader-Willi and Angelman syndromes*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96, 9258-9263 (1999).
7. PELC S., LEVY J., POINT G., *« Happy puppet » syndrome ou syndrome du « pantin hilare »*, Helvet Paediatr. Acta 31,183-186 (1976).
8. WEEBER E.J., JIANG Y.H., ELGERSMA Y., VARGA A.W., CARRASQUILLO Y., BROWN S.E., *et al.*, *Derangements of hippocampal calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in a mouse model for Angelman mental retardation syndrome*, J. Neurosci. 23, 2634-2644 (2003).
9. WILLIAMS C.A., BEAUDET A.L., CLAYTON-SMITH J., KNOLL J.H., KYLLERMAN M., LAAN L.A., *et al.*, *Angelman syndrome 2005 : updated consensus for diagnostic criteria*, Am. J. Med. Genet. 140, 413-418 (2006).

\*

\* \*

## Discussion

*M. Ph. Evrard.* – Je remercie le Professeur Bernard Dan pour cette lecture, exceptionnelle à tous égards : contribution fondamentale, recherche clinique et « translationnelle », qualité didactique, dévouement aux malades. Il est vraisemblable que la méthode « CGH array » remplacera la cytogénétique conventionnelle en première intention dans de nombreux centres, sauf pour les translocations équilibrées et pour les explorations de l'infertilité (voir le récent article paru à ce sujet dans *Am. J. Med. Genet A*, avec analyse qualité/coût approfondie). Cela ne dispensera pas dans l'Angelman d'une analyse clinique de qualité ni d'études de la méthylation ni d'autres études en génétique moléculaire en cas d'absence d'anomalie de la méthylation. Toutefois, ce remplacement probable, à terme, de la cytogénétique conventionnelle par la méthode « CGH array » pourrait avoir des conséquences sur le dépistage de syndromes d'Angelman atypiques. Merci, Professeur Dan, de nous dire ce que CGH array peut apporter par rapport à la cytogénétique conventionnelle dans le syndrome d'Angelman et si les méthodes FISH auront encore une place après une analyse CGH array avec des puces de qualité suffisante. La mélatonine a été proposée pour améliorer l'insomnie chronique fréquente dans l'Angelman à certains stades de la maladie. Des expériences randomisées ont été rapportées (e.a. par Braam, *et coll.*, *J. Child Neurol.*). Ces travaux sont-ils solides ? Quelle est votre expérience à ce sujet, tant pour l'analyse de la littérature que dans votre pratique clinique ?

*M. B. Dan.* – Il est en effet possible d'utiliser en première intention l'analyse CGH (par hybridation comparée du génome) à la place du FISH afin de détecter une délétion, présente dans la majorité des cas. Néanmoins, cette technique est assez onéreuse et la confirmation par l'analyse de la méthylation de l'ADN ou le FISH reste (et restera vraisemblablement) nécessaire. Comme vous le soulignez bien justement, le CGH-array ne peut pas détecter les anomalies de la méthylation. La technique est dès lors surtout intéressante pour mettre en évidence de très petites délétions si les autres tests sont négatifs ou s'il est indiqué de rechercher d'autres anomalies chromosomiques. Il se pourrait aussi qu'elle révèle la cause de présentations atypiques. Quant à la mélatonine, elle est envisagée depuis une dizaine d'années dans le traitement des troubles du sommeil de l'enfant en général ou d'enfants présentant diverses pathologies du développement neurologique. Malheureusement, en ce qui concerne le syndrome d'Angelman, la plupart des informations disponibles à ce sujet reposent sur des expériences anecdotiques. Il existe actuellement très peu d'études contrôlées. Celle que vous citez indique une diminution de la latence du sommeil et des éveils nocturnes ainsi qu'une augmentation du temps total de sommeil. Plus d'études sont nécessaires avant que nous puissions éventuellement affirmer que la mélatonine peut être recommandée, quel type de trouble du sommeil elle peut traiter et quelle est la dose optimale.

*M. Ph. Evrard.* – Je remercie Bernard pour ses réponses et je me plais à souligner combien notre compagnie s'honore de l'avoir invité, car il constitue un des leaders internationaux de la jeune génération des neuropédiatres.



*M. S. Louryan.* – Je voudrais féliciter M. Dan pour l'excellence de sa communication, et surtout pour ses qualités pédagogiques remarquables qui lui valurent de recevoir le Prix Socrate de l'U.L.B. récompensant le meilleur Professeur après évaluation par les étudiants. Une petite question : sachant le rôle que joue la mélanine dans la spire vasculaire de l'oreille interne, n'y a-t-il pas une hypoacousie chez ces patients ?

*M. B. Dan.* – A ma connaissance, cette question n'a pas été étudiée spécifiquement. Cependant, l'audition de nombreux patients est évaluée par audiométrie ou par les potentiels évoqués auditifs dans la cadre de la recherche de la cause de l'absence de langage, qui est une préoccupation clinique précoce précédant souvent le diagnostic du syndrome d'Angelman. Ces tests sont presque toujours normaux, à l'exception (souvent transitoire) de patients présentant de nombreuses otites moyennes dans la petite enfance.

*M. G. Moonen.* – Le tremblement orthostatique de l'adulte a, m'a-t-il semblé, une fréquence supérieure à celle du tremblement que vous avez montré. Une autre forme d'ataxie épisodique familiale est la conséquence d'une mutation d'un calcique voltage-dépendant, illustrant que les anomalies du calcium peuvent être responsable d'ataxies.

*M. B. Dan.* – En effet, la fréquence du tremblement orthostatique est plus élevée, entre 12 et 18 Hz, mais l'analogie semble intéressante car cette activité posturale survient également au niveau de muscles engagés dans une contraction isométrique soutenue, facilitée quand ces muscles sont en charge. Votre évocation de l'ataxie épisodique de type 2 illustre effectivement l'importance des signaux calciques. L'acétazolamide, dont l'efficacité est démontrée dans cette ataxie cérébelleuse épisodique, n'a pas eu d'effet notable dans les situations où je l'ai utilisée dans le syndrome d'Angelman.

*M. J.-J. Vanderhaeghen.* – Je vous félicite pour cet exposé qui résume merveilleusement une clinique excellente et des recherches biologiques/fondamentales de haut niveau. La neurotensine présente chez les nouveau-nés serait peut être à actualiser dans l'Angelman.

*M. B. Dan.* – Je vous remercie pour ce commentaire sur le lien essentiel à cultiver entre la clinique et la recherche, comme j'ai la chance de pouvoir le faire à l'Hôpital des Enfants. Et merci pour cette belle idée, que je pense en effet qu'il faudrait pousser plus loin. En plus du cervelet, sur lequel j'ai eu l'occasion d'insister, je penserais à un paradigme clinique et neurophysiologique sur le 'startle reflex' et peut-être la réponse aux neuroleptiques dont on pourrait tester plusieurs aspects chez la souris et chez l'homme.

*M. G. Franck.* – Toutes mes félicitations pour cette remarquable présentation. J'aimerais vous poser trois questions :

- 1) Les crises d'épilepsie sont fréquentes. Quels types de crises peut-on observer ?
- 2) Les anomalies E.E.G. paraissent diffuses. Le sommeil favorise-t-il les crises et si oui, lesquelles ?



3) Enfin, l'imagerie fonctionnelle – et je pense au scanner à émission de positons (PET Scan) a-t-elle pu mettre en évidence des lésions focalisées, éventuellement évolutives dans le temps et susceptibles d'être mises en corrélation avec les symptômes observés. Je vous remercie.

*M. B. Dan.* – Merci. Je vais tenter d'éclaircir ces points importants. De nombreux types de crises peuvent être observés, tant généralisées que focales, notamment des spasmes épileptiques, des absences myocloniques et des crises myocloniques, toniques ou tonico-cloniques. Un peu plus de la moitié des patients présentent plusieurs types de crises. La présentation clinique évoque parfois celle de syndromes épileptiques définis, mais il est important de distinguer cette présentation du syndrome de West ou du syndrome de Lennox-Gastaut, qui ont d'autres implications thérapeutiques. Le syndrome épileptique rare caractérisé comme une épilepsie myoclonique symptomatique d'encéphalopathie non progressive peut, quant à lui, être reconnu dans de nombreux cas. Il s'agit d'une entité syndromique caractérisée par des crises débutant dans la première année, de fréquents états de mal myoclonique, des pointes ondes généralisées à l'électroencéphalogramme et une évolution défavorable avec encéphalopathie sévère. Il est particulièrement important de reconnaître les épisodes, parfois extrêmement prolongés, d'état de mal épileptique non-convulsif. Et bien sûr, l'état de mal convulsif peut survenir. Quant à votre question sur le sommeil, elle souligne l'importance des relations mal élucidées entre troubles du sommeil et épilepsie. Je n'ai jamais vu d'état de mal épileptique électrique pendant le sommeil lent (les 'pointes-ondes continues du sommeil'), mais l'endormissement et l'éveil semblent faciliter la survenue de crises de manière peu spécifique, et il faut réaliser que les enfants, en particulier, présentent des éveils nocturnes fréquents. Enfin, on peut s'étonner à juste titre de la faible documentation en imagerie cérébrale fonctionnelle, étant donné la sévérité de l'épilepsie de nombreux patients. Les études de perfusion en SPECT et de métabolisme en PET au FDG indiquent des anomalies régionales qu'il semble actuellement difficile de systématiser. Les études menées avec des ligands spécifiques du site de liaison des benzodiazépines ont permis de mettre en évidence une diminution de l'expression des récepteurs GABA<sub>A</sub>.

*M. R. Vanwijck.* – Quels sont les médicaments qui peuvent aider ces enfants ?

*M. B. Dan.* – Il n'existe pas de médicaments spécifiques au syndrome, même s'il semble que la lamotrigine (un antiépileptique) augmente l'expression du gène *GABRB3*, qui est impliqué dans la délétion classique et pourrait avoir un rôle dans la physiopathologie du syndrome d'Angelman. Les médicaments (classiques) sont surtout indiqués pour traiter les manifestations telle que l'épilepsie, les troubles du comportement ou du sommeil, ou le reflux gastro-oesophagien. Les limitations d'usage pour les patients présentant des troubles du développement s'appliquent. Il faut néanmoins souligner que certains antiépileptiques (comme la carbamazépine ou le vigabatrin) peuvent détériorer l'épilepsie et faciliter l'apparition de l'état de mal épileptique non-convulsif. Ce dernier doit être reconnu et traité afin d'optimiser le développement déjà compromis des enfants.

*M. L. Hue.* – Il s’agit d’une question relevant de la biochimie. Vous avez mentionné qu’une protéine impliquée dans la dégradation des protéines par le protéasome pouvait être déficiente dans le syndrome d’Angelman ? Connaît-on les substrats de cette protéine et y a-t-il des indications que la demi-vie de ces substrats soit prolongée en cas de déficience de cette protéine ?

*M. B. Dan.* – L’UBE3A a été initialement reconnue par son rôle dans la dégradation de l’oncoprotéine p53. On sait qu’elle ubiquityle également d’autres protéines, comme certains homologues de protéines de levure ou de drosophiles, la kinase du lymphocyte B, l’ECT2 et même l’UBE3A elle-même. Des études menées il y a plus de dix ans ont suggéré que la protéine p53 pouvait s’accumuler dans les cellules de Purkinje des patients, mais ces résultats n’ont pas été confirmés. Il faut souligner que la voie du protéasome peut avoir d’autres fonctions que la protéolyse. Nous avons proposé une hypothèse intégrative impliquant l’ubiquitylation de certains récepteurs GABA-A afin d’en contrôler l’expression au niveau de la membrane du neurone. L’UBE3A pourrait aussi interagir au niveau de la neurotransmission glutamatergique.

*M. A. Albert.* – Félicitations à l’orateur pour la clarté de son exposé. Quelle est la prévalence du syndrome dans la population et y a-t-il un effet de genre ?

*M. B. Dan.* – La prévalence est estimée entre 1:10000 à 1:40000 ; aucune population à risque n’a été identifiée, le syndrome semblant affecter de la même manière toutes les ethnies et les hommes autant que les femmes. Comme d’autres affections en rapport l’empreinte génomique, il semble que le risque d’anomalie soit plus élevé en cas de procréation médicalement assistée, en particulier par l’injection intracytoplasmique de spermatozoïde.

*M. Th. Godfraind.* – Je me joins aux félicitations qui vous ont été adressées à propos de votre présentation. Vous avez signalé que le syndrome d’Angelman est caractérisé par une hypopigmentation de la peau due à une délétion chromosomique. J’aimerais savoir quelle est la situation de ce syndrome chez les albinos ?

*M. B. Dan.* – Le gène *P* présent dans la région de la délétion classique est en effet impliqué dans l’albinisme oculo-cutané de type 2, et l’on peut parfois observer des anomalies des potentiels évoqués visuels qui sont pourtant considérées comme pathognomoniques de l’albinisme. Une hypothèse de ‘second hit’ pourrait expliquer une éventuelle association du syndrome avec l’albinisme et ceci a effectivement été décrit en cas de syndrome de Prader-Willi, dû à une délétion similaire située sur le chromosome 15 d’origine paternelle. A ma connaissance, cette situation n’a pas encore été documentée dans le syndrome d’Angelman.

\*  
\* \*



## « JE NE SUIS PAS FOU ! » ETUDES DE L'ANOSOGNOSIE DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER

par

E. SALMON (U.Lg.), invité (\*)

### **Introduction à l'anosognosie**

L'anosognosie correspond à une situation clinique dans laquelle un sujet n'est pas pleinement conscient de sa maladie. Un exemple connu est le syndrome d'Anton Babinski dans le décours duquel un patient qui présente un accident vasculaire cérébral de la région temporo-pariétale droite ne reconnaît pas son hémiparésie gauche. Cette anosognosie est très perturbante dans la mesure où le patient est convaincu de sa normalité et qu'il risque d'entreprendre des activités qu'il est bien incapable de mener à bien sans se blesser. Il existe cependant différents degrés d'anosognosie. Elle est complètement inconsciente dans les cas décrits par Babinski, et à l'extrême opposé de cette symptomatologie continue, on pourrait associer l'anosognosie à un déni plus ou moins conscient d'une perturbation de l'état de l'individu.

### **Anosognosie et conscience de soi**

Il ressort de ces descriptions que la recherche concernant l'anosognosie est intimement liée à l'exploration de la conscience et particulièrement de la conscience de soi. Plusieurs définitions ont été proposées pour définir la conscience, et on a notamment distingué différents niveaux de conscience. Ces distinctions s'étendent au delà de l'espèce humaine, mais nous limiterons notre discussion à l'homme. On décrit ainsi une conscience fondamentale (« core consciousness ») qui reflète l'intégration automatique des signaux internes de l'individu et lui fournit une représentation de son état corporel et émotionnel. On évoque ensuite un niveau de conscience phénoménologique, qui permet à l'individu d'évoluer dans son environnement et de prendre conscience de cette interaction au moment présent. On parle ensuite de la conscience de soi lorsque le sujet réfléchit à sa propre situation.

La conscience de soi est intimement liée à la définition du « self ». Parmi les modèles les plus aboutis, celui de Conway (1) suppose l'existence d'un administrateur central (« working self »), qui traite le flux d'informations accessibles à l'individu en fonction de ses objectifs actuels, en fonction de ses croyances et de ses schémas de vie, en recourant à la mémoire qu'il possède des événements récents de son existence, mais aussi en recourant à une base de données personnelles accumulées suite à des expériences antérieures, ceci pour prendre les décisions concernant le comportement

(\*) Invité par le Bureau en vertu de l'article 15 §3 du Règlement.

que l'individu va adopter. Dans ce modèle, le « self » fonctionne selon deux grands principes, le maintien de sa continuité et son adaptation aux changements.

### **Maladie d'Alzheimer et anosognosie**

Le syndrome démentiel qui caractérise la maladie d'Alzheimer (MA) est un modèle important de perturbation de la conscience de soi. La démence est caractérisée cliniquement par une détérioration relativement progressive de capacités cognitives (comme la mémoire ou des capacités de réflexion), avec des modifications de l'humeur et du comportement, suffisantes pour perturber la réalisation d'activités de la vie quotidienne. La MA débute de nombreuses années avant que le diagnostic de démence ne soit posé. Sa signature neuropathologique consiste en une dégénérescence neuronale et des dépôts de protéines anormales qui surviennent dans des régions cérébrales particulières.

Une des théories cognitives concernant la démence de type Alzheimer est que le patient voit diminuer ses capacités de contrôle conscient des informations (notamment en mémoire), tandis que ses processus automatiques demeurent plus longtemps préservés. L'anosognosie des symptômes cliniques est variable dans la MA, et cette variabilité permet de rechercher les déterminants principaux de la conscience de leurs propres capacités chez les patients. Le principal modèle de l'anosognosie dans la MA a été développé par Morris pour les troubles de mémoire (2). Il postule que des informations concernant le fonctionnement actuel de la mémoire (« j'ai perdu mes clés ») entrent dans le système de mémoire récente du sujet, puis qu'elles vont être comparées à une base de données personnelles qui contient des souvenirs autobiographiques permettant au sujet d'avoir une représentation de ses capacités en mémoire (« je n'ai jamais été si distrait »). Le résultat de la comparaison sera ensuite envoyé dans un système de prise de conscience, qui permettra d'initier une action appropriée (« dorénavant, je rangerai toujours mes clés dans le tiroir »). Quand la comparaison révèle une discordance, intervient également un processus de mise à jour de la base de données personnelles, qui assimile la nouvelle donnée (« dans certaines circonstances, je peux devenir distrait »).

### **A la recherche de l'anosognosie**

La recherche se heurte d'abord à la difficulté de mesurer le degré d'anosognosie. Une des méthodes consiste pour le chercheur clinicien à évaluer lui-même le degré d'anosognosie d'un patient après un entretien. Une autre approche est basée sur une comparaison de réponses données à un questionnaire par le patient et par un proche. A la question : « êtes-vous distrait ? », on peut par exemple proposer quatre réponses (1 = pas du tout, 2 = un peu, 3 = plutôt, 4 = tout à fait). On considère dans cette approche que le proche est un bon observateur de la vie quotidienne que mène le patient. On calcule alors une différence entre les réponses, qui correspond à un score de divergence. Ce score est utilisé comme une mesure du degré d'anosognosie. Une autre approche encore consiste à confronter l'avis du patient concernant ses capacités cognitives avec

ses performances objectives à un test. Par exemple, on présente une liste de mots en prévenant le sujet qu'il devra ultérieurement les rappeler. Après la lecture de la liste, on demande au sujet de prédire le nombre de mots qu'il pourra retrouver. On compare finalement la prédiction avec la performance pour évaluer le degré de métamémoire, c'est-à-dire la capacité d'évaluer ses propres capacités mnésiques.

### **Divergences de réponses entre patients et proches**

Nous avons mesuré le degré d'anosognosie pour leurs difficultés cognitives d'un grand nombre de patients avec une MA, en utilisant la méthode des scores de divergence (3). Nous avons d'abord montré que l'évaluation faite par un proche est fort bien corrélée au degré de difficultés cognitives mesuré par le chercheur clinicien lors d'un test neuropsychologique.

Nous avons ensuite réalisé une analyse en régression multiple, puis une analyse en régression pas à pas montrant que les variables qui expliquent au mieux le degré d'anosognosie (environ 30 % de la variance) sont le degré de difficulté dans les activités de vie quotidienne, le stade du processus démentiel, et aussi le degré d'apathie que présente le patient. Ce résultat confirme les données de la littérature selon lesquelles l'anosognosie tend à augmenter avec la sévérité de la démence. Il établit de plus une relation entre l'anosognosie pour les difficultés cognitives et la perte d'initiative, notamment la diminution des activités entreprises (notamment intellectuelles). De façon très spéculative, cette perte d'initiative liée à la diminution de conscience de ses propres capacités cognitives pourrait signer un déficit du système administrateur du self dans le modèle de Conway, et un déficit du système exécutif dont fait partie le comparateur du modèle de Morris.

### **Anosognosie et neuroimagerie**

L'analyse suivante a consisté en une recherche de corrélation clinico-métabolique entre le degré d'anosognosie et le niveau d'activité métabolique cérébrale régionale des patients, mesurée par la technique de tomographie à émission de positons avec le (18F)fluorodéoxyglucose. Les principales régions retrouvées dans les expériences qui vont être décrites sont illustrées dans la figure 1. Pour évaluer cette corrélation, nous avons considéré les données « activités de vie quotidienne », « stade de la démence » et « apathie » obtenues dans l'analyse en régression comme des variables confondantes. Le degré d'anosognosie montrait une corrélation avec l'atteinte métabolique des régions temporo-pariétales et du sillon frontal supérieur (SFS) gauche. Le SFS gauche a été mis en relation avec le degré de conscience de soi (self awareness) évalué lors d'un jugement introspectif concernant l'émotion ressentie face à divers stimuli. Il est intéressant d'observer que le SFS fait partie d'un réseau cérébral par « défaut ». On a pu constater de façon systématique que ce réseau voit son activité diminuer lorsqu'un sujet s'engage dans une tâche qui l'oblige à porter son attention sur un stimulus « extérieur ». En revanche, les différentes régions cérébrales qui composent

ce réseau ont une activité qui covarie dans la plupart des situations physiologiques et particulièrement lorsque le sujet pense à lui-même. On retrouve ainsi l'implication du SFS dans la conscience de soi. On peut émettre l'hypothèse que le SFS fasse partie du système de conscience du modèle Morris, qui reçoit une indication du système exécutif comparateur concernant le degré d'adéquation de l'information au self, et qui en prend connaissance en conscience pour décider d'une réponse. Dans ces conditions, le résultat serait en faveur d'un défaut du système de conscience dans la MA, et l'anosognosie devrait s'étendre à d'autres domaines.

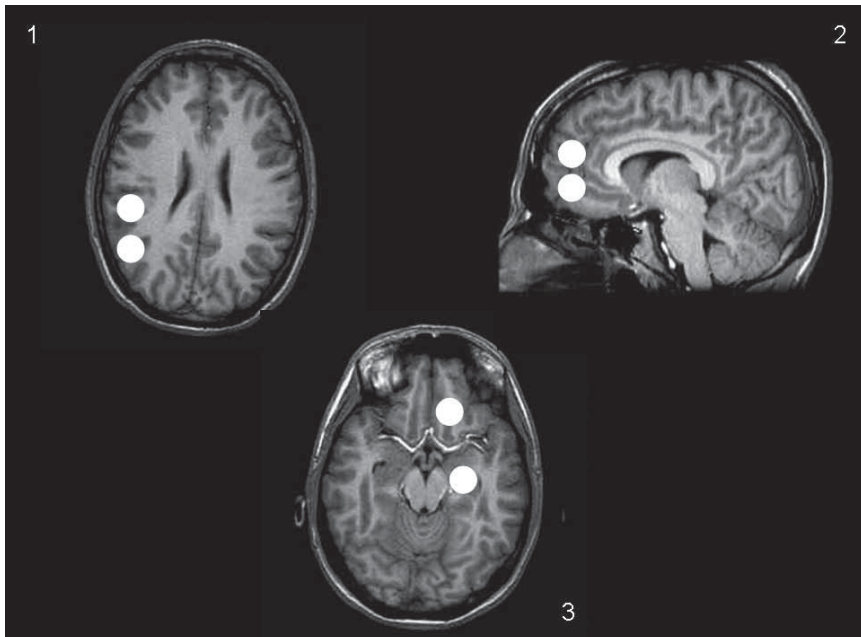


Fig. 1

Représentation sur trois coupes obtenues en IRM des principales régions liées à l'anosognosie des symptômes cliniques dans la maladie d'Alzheimer : (1) le cortex supramarginal gauche et (en arrière) la jonction pariéto-temporale, (2) la région préfrontale médiale, dorsale antérieure et (en dessous) ventromédiale, (3) le cortex orbitofrontal droit et (en arrière) la région hippocampique.

### Méconnaissance de soi et cortex préfrontal médial

Nous avons récemment étudié la capacité que des patients avec MA à un stade léger présentent pour juger si des traits de personnalité les décrivent (ou non). La méthode des scores de divergence a encore été utilisée, en demandant à des proches de décrire la personnalité de « leur patient » au quotidien. Certains patients ont donné des jugements assez éloignés de ceux de leurs proches, et leur métabolisme cérébral a été comparé

à celui de sujets de contrôle et à des patients qui apparaissent plus conscients de leurs traits de personnalité actuels. Les patients anosognosiques présentent une diminution d'activité qui est cette fois localisée dans le cortex préfrontal dorsomédial antérieur gauche. Le cortex préfrontal médial (PFM) est très fréquemment activé lorsqu'un sujet porte un jugement sur lui-même (4). Il existe une différence fonctionnelle entre le cortex PFM antérieur et dorsal et le cortex PFM plus ventral ; le premier serait plus cognitif et impliqué dans une évaluation de la valence personnelle d'une information, tandis que le second serait plus facilement recruté dès que le sujet se crée une représentation de soi. Dans la population que nous avons étudiée, l'atteinte du cortex PFM peut être interprétée comme une dysfonction du système comparateur dans le modèle de Morris : l'anosognosie serait alors liée à une diminution de capacité de comparaison d'un stimulus (un adjectif décrivant un trait de personnalité) avec la base de connaissances personnelles.

Une lésion du module comparateur pourrait aussi se traduire par une difficulté pour comparer les informations propres au patient avec celles que le patient accumule concernant les représentations que les autres se font de lui. C'est ainsi que le cortex PFM a été impliqué dans la théorie de l'esprit, qui permet de se mettre à la place de l'autre pour comprendre sa réaction. Nous avons montré que les patients avec maladie d'Alzheimer éprouvent des difficultés pour prédire le jugement de leur proche (5). Dans ces conditions, ces patients ne parviendraient pas à considérer l'avis des autres pour adapter le jugement qu'ils portent sur eux-mêmes (6).

### **Représentation de soi et régions pariétales**

Les patients anosognosiques, dont les jugements concernant leur propre personnalité s'éloignaient de l'évaluation de leur proche, avaient aussi une diminution d'activité dans le gyrus supramarginal gauche. Cette région est activée lorsqu'un sujet adopte sa propre perspective pour contrôler une action, que ce soit en simulant mentalement une action ou en imitant le geste d'un autre. La même région est plus activée pour imaginer son propre comportement que pour imaginer le comportement d'une autre personne. La région supramarginale gauche est donc importante pour accéder à une représentation de soi. Dans le modèle de Morris, cette région pourrait participer à la base de connaissances personnelles où se trouvent des représentations de nos propres actions et de nos comportements. Il est intéressant de noter que des études récentes ont établi que les lésions cérébrales qui sont le plus souvent responsables de l'anosognosie vis-à-vis d'une hémiparésie gauche sont centrées sur la région insulaire (à droite) et s'étendent au gyrus supramarginal (7).

Chez les patients anosognosiques, concernant leurs propres capacités cognitives, nous avons observé une relation entre le degré de perte de conscience de soi et une diminution d'activité métabolique dans les régions de jonction temporo-pariétale (JTP), bilatéralement (3). La JTP a été impliquée dans la théorie de l'esprit. Nous avons démontré une activation de la JTP gauche lorsque des sujets prennent la perspective de



leur proche pour imaginer le jugement que pourrait porter ce proche (4). L'implication particulière de la JTP dans la prise de perspective en troisième personne, ou dans le fait de se mettre à la place d'un autre pour émettre un jugement notamment sur soi-même, apparaît dans plusieurs observations. Des patients qui présentent une lésion de la JTP gauche montrent des difficultés particulières dans la réalisation de tâches portant sur la théorie de l'esprit, comme l'attribution d'un état mental à une autre personne. La JTP, particulièrement à droite, a été impliquée dans les sensations de « sortie du corps » (out of body experience), durant lesquelles le sujet peut avoir l'expérience d'une vision de son corps selon une autre perspective (8). On a également rapporté que les adolescents dont le « self » se développe incorporent plus fréquemment la perspective des autres (les parents ou les amis) dans leur jugement sur eux-mêmes. Ainsi, lors d'expériences en neuroimagerie, de jeunes adultes recrutent plus particulièrement la JTP gauche quand ils rapportent l'opinion d'une autre personne sur eux-mêmes (prise de perspective en troisième personne sur soi-même ou « reflected self appraisal »), tandis que des adolescents recrutent plus que ces adultes la JTP lorsqu'ils émettent leur propre jugement, selon une perspective demandée en première personne, mais manifestement influencée par l'opinion des proches (9). Il faut bien comprendre que la JTP est relativement plus activée lors d'une prise de perspective en troisième personne, mais que cette région est également recrutée lorsqu'un jugement en première personne sur soi-même est comparé à une décision sémantique (10). Il est intéressant de noter que la JTP est impliquée dans des modèles attentionnels, qui distinguent d'une part des processus d'attention « programmés par l'individu » ou « top-down », et d'autre part des processus de ré-orientation de l'attention vers des caractéristiques importantes des stimuli, soit une attention « bottom-up ». Certains auteurs ont émis l'hypothèse que la capacité de ré-orienter son attention selon un autre point de vue serait un processus fondamental et général, qui pourrait être utilisé au service de la cognition sociale lors d'expériences de prise de perspective (11). La prise en compte du point de vue des proches n'est pas implémentée dans le modèle de Morris concernant l'anosognosie des difficultés cognitives. On peut cependant penser que le point de vue des proches fait partie du module des connaissances personnelles, mais que chez l'adulte et surtout chez certains patients, ce point de vue est considéré comme arrêté, même s'il peut être variable selon les situations. Ce point de vue « arrêté » participe alors à la constance du « self » selon la théorie de Conway. Dans certaines circonstances cependant, lorsque le système comparateur du modèle de Morris détecte une discordance entre l'information nouvelle et les connaissances personnelles, il faut qu'intervienne le principe d'adaptabilité du self, selon la théorie de Conway. Cette adaptabilité particulièrement présente au cours de l'adolescence, devrait pouvoir être recrutée pour considérer un nouveau point de vue et pour mettre à jour la base des données personnelles. Dans la MA, l'anosognosie pour les troubles cognitifs dépendrait en partie d'une incapacité à prendre une autre perspective que la sienne pour analyser des discordances survenues entre des erreurs cognitives (« je ne trouve de nouveau pas mes clés ») et d'une représentation « figée » de soi (« j'ai toujours eu une bonne mémoire »).

### **Le changement du self dans le temps**

Dans le cadre de cette discussion, nous avons mené chez de jeunes adultes une étude en imagerie par résonance magnétique fonctionnelle au cours de laquelle ils devaient juger si des traits de personnalité pouvaient être considérés comme descriptifs de leur caractère actuel ou de leur personnalité cinq ans plus tôt (10). Ils devaient émettre le même type de jugement concernant un ami proche. Le résultat principal est que le jugement concernant la personnalité actuelle active la région préfrontale ventromédiale, la région préfrontale dorsomédiale et le cortex cingulaire postérieur plus que les trois autres conditions, y compris le jugement sur soi se rapportant au passé. Cette étude confirme d'abord l'importance de ces régions médiales pour des jugements se référant à soi. Nous avons montré dans différentes études que ces régions sont atteintes dans les stades précoces de la MA et d'autres auteurs ont démontré que cette atteinte est liée à l'anosognosie pour les capacités cognitives chez des patients avec MA (12). Mais cette étude conforte l'idée que l'on peut avoir plusieurs représentations de soi, et notamment un soi actuel et un soi passé. Selon certaines études, les patients avec une MA pourraient se référer à un soi passé, un soi « pétrifié » lorsqu'on leur demande un jugement sur eux-mêmes. Dans ce cas, le dysfonctionnement de régions cérébrales médiales particulièrement importantes pour avoir une représentation du « self » actuel pourrait participer à l'anosognosie des patients et à leur recours à une représentation ancienne plus « facile » d'accès. Dans l'optique du modèle d'anosognosie de Morris, la région préfrontale ventromédiale pourrait participer à la fonction de comparateur, comme la région dorsomédiale antérieure. Les régions cérébrales médianes sont en relation avec les processus de mémoire autobiographique, et elles participent à l'attribution d'une valence personnelle aux informations traitées par le sujet (10).

### **Jugement sur soi et anosognosie dans la maladie d'Alzheimer**

La principale limitation de la méthode des scores différentiels est qu'elle repose entièrement sur l'avis d'un proche. Dans certains cas, ce proche lui-même peut être extrêmement subjectif, et son jugement ne reflète pas dans ce cas la situation de vie quotidienne réelle.

Pour pallier ce problème, nous avons directement utilisé l'avis du patient concernant son propre fonctionnement cognitif comme mesure de l'anosognosie. Dans ce cas, on part du principe que l'anosognosie est inhérente à la MA et qu'elle se distribue le long d'un continuum. On est également tenu d'introduire des variables confondantes, et ce sont essentiellement l'avis du proche et des mesures de capacités cognitives objectives obtenues lors d'un examen neuropsychologique, comme une performance en mémoire. Lors de cette corrélation entre jugement sur soi et métabolisme cérébral au repos, on observe que les patients qui se montrent les plus conscients de leurs difficultés cognitives ont une activité métabolique relativement préservée dans la région hippocampique antérieure droite et le cortex orbitofrontal dans sa portion moyenne.

Si on se réfère au modèle de Morris, la première explication serait que ces deux régions, reliées par le faisceau inciné, participent au réseau de mémoire épisodique autobiographique. Cependant, dans la mesure où les performances cognitives ont été introduites comme facteurs confondants, une autre hypothèse doit être recherchée. La région hippocampique et le cortex orbitofrontal ont été impliqués dans des fonctions comparatives, essentiellement pour comparer un stimulus « extérieur » avec des informations préalablement stockées qui soient pertinentes. Le rôle particulier des régions orbitofrontales pourrait être de sélectionner les informations pertinentes pour le processus de comparaison. Cependant, le processus de comparaison effectué au sein de ces régions ne serait pas exclusivement lié au self, tandis que les comparaisons réalisées par les régions préfrontales médiales ont essentiellement une connotation liée au self. D'autres études ont montré que ces régions, ainsi impliquées dans la conscience des participants concernant leur propre déficit, sont précocement atteintes dans la maladie d'Alzheimer (13). Ceci conforte notre hypothèse initiale selon laquelle l'anosognosie serait une symptomatologie inhérente à la MA.

### **Activation cérébrale lors de jugement sur soi dans la maladie d'Alzheimer**

Nous avons directement abordé l'exploration des réseaux neuronaux qui accompagnent le jugement sur soi de patients qui présentent une maladie d'Alzheimer lors d'une étude en résonance magnétique fonctionnelle (5). Lorsque les patients doivent émettre un jugement concernant la valence personnelle d'un trait de personnalité, ils ne recrutent pas la région préfrontale ventromédiale, mais ils activent de façon bilatérale la portion moyenne du sillon intrapariétal. Plusieurs études ont démontré que cette même région sous-tend un processus attentionnel fondamental, commun à plusieurs fonctions cognitives. Le sillon intrapariétal est aussi activé lorsqu'on récupère une information avec un sentiment de familiarité. Le sentiment de familiarité correspond à une impression de connaître une information (de connaître le visage d'une personne rencontrée dans la rue), sans pouvoir préciser le contexte dans lequel on a précédemment acquis cette information. Les patients qui présentent une maladie d'Alzheimer ont une atteinte précoce de la mémoire épisodique, la mémoire qui permet de reconnaître une information et de récupérer son contexte. En conséquence, ils basent généralement leur jugement sur un sentiment de familiarité lors de tests neuropsychologiques (14). Notre hypothèse est qu'à défaut de régions hippocampiques ou ventromédiales suffisamment efficaces pour s'engager dans un processus exécutif de comparaison, les patients recourent à un processus attentionnel de base, qui leur confère un « simple » sentiment de familiarité lorsqu'ils émettent un jugement sur eux-mêmes.

### **Conclusions provisoires**

En conclusion, l'anosognosie des patients qui sont à un stade débutant de maladie d'Alzheimer porte sur leurs capacités cognitives et sur leurs changements de personnalité. Plusieurs données expérimentales suggèrent que la méconnaissance que

présentent ces patients est liée à un dysfonctionnement de diverses régions cérébrales. Beaucoup de ces régions appartiennent à des réseaux fonctionnels qui participent au concept du self. Le principal modèle de l'anosognosie des troubles de mémoire semble pouvoir être transposé à l'anosognosie des troubles de personnalité. Les données expérimentales que nous avons présentées confortent l'existence de plusieurs modules et suggèrent que la méconnaissance de diverses facettes du propre fonctionnement des patients peut venir d'un dysfonctionnement de l'un ou l'autre de ces modules. Des études d'activation cérébrale doivent maintenant conforter ces hypothèses, et puis montrer s'il est encore possible de modifier la représentation de soi dans la MA. Mais si l'anosognosie est considérée en clinique comme un défaut d'adaptation à la réalité, il faudra tenir compte dans l'interprétation des résultats d'une fonction importante qui est le maintien d'une continuité du self, malgré la progression de la maladie.

### RÉSUMÉ

L'anosognosie désigne la méconnaissance par un individu de sa propre maladie. La symptomatologie est fréquente dans la maladie d'Alzheimer (MA). Les recherches explorent plusieurs hypothèses, psychologiques (le déni) ou cognitives (une association de troubles mnésiques et exécutifs), et plus récemment, des modèles décrivant la dynamique de la représentation de soi (le self) ont fourni des interprétations très convaincantes. Les modèles du self sont essentiellement modulaires. Ils comportent un administrateur central qui organise le traitement de l'information en fonction des objectifs de l'individu. L'administrateur tient compte des croyances et des schémas sociaux et il recourt à des souvenirs autobiographiques. L'analyse des informations par le système du self conduit à une prise de décision qui repose sur deux grands principes, la continuité du self mais aussi sa capacité d'adaptation. Des études en neuroimagerie ont montré que la réflexion sur soi active des régions cérébrales particulières, dont le cortex préfrontal médial, la portion médiale du cortex pariétal et le cortex cingulaire postérieur, et la portion inférieure du lobe pariétal. D'autres études en neuroimagerie ont montré depuis longtemps que ces mêmes régions sont particulièrement affectées par la MA. Des données expérimentales permettent maintenant d'établir des liens entre la distribution de l'atteinte cérébrale, différentes difficultés de présentation du self et différentes formes d'anosognosie pour la situation clinique chez des patients souffrant de MA.

### SUMMARY

Anosognosia corresponds to a lack of awareness about the own clinical disease of a patient. Anosognosia is frequent in Alzheimer's disease (AD). Researchers explore several hypotheses, psychological (deny) or cognitive (an association of memory and executive impairment), and recently models describing the dynamics of self representation provided convincing interpretations. Self models are modular. They comprise a central executive organising information processing according to subject's objectives. The central executive takes into account personal beliefs and social schemata and it uses autobiographical memory. The analysis of information by the self system leads to decision taking that relies on two principles, self continuity and adaptation. Neuroimaging studies showed that self reflection activates specific brain regions, comprising the ventromedial prefrontal cortex, the medial parietal and posterior cingulate cortex and the inferior parietal lobule. Other studies demonstrated that the same regions are particularly affected by AD. Experimental data currently allows making relationships between regional brain involvement, diverse difficulties in self representation and different forms of anosognosia for clinical status in AD patients.

## BIBLIOGRAPHIE

1. CONWAY M.A., SINGER J.A., TAGINI A., *The self and autobiographical memory : correspondence and coherence*, Social Cognition 22 : 491-529, 2004.
2. HANNESDOTTIR K., MORRIS R.G., *Primary and secondary anosognosia for memory impairment in patients with Alzheimer's disease*, Cortex 43 : 1020-30, 2007.
3. SALMON E., PERANI D., HERHOLZ K., MARIQUE P., KALBE E., HOLTHOFF V., DELBEUCK X., BEUTHIEN-BAUMANN B., PELATI O., LESPAGNARD S., COLLETTE F., GARRAUX G., *Neural correlates of anosognosia for cognitive impairment in Alzheimer's disease*, Hum. Brain Mapp 27 : 588-97, 2006.
4. D'ARGEMBEAU A., RUBY P., COLLETTE F., DEGUELDRE C., BALTEAU E., LUXEN A., MAQUET P., SALMON E., *Distinct regions of the medial prefrontal cortex are associated with self-referential processing and perspective-taking*, J. Cogn. Neurosci. 19 : 935-944, 2007.
5. RUBY P., COLLETTE F., D'ARGEMBEAU A., PETERS F., DEGUELDRE C., BALTEAU E., LUXEN A., MAQUET P., SALMON E., *Perspective taking to assess self-personality : what's modified in Alzheimer's disease?*, Neurobiol. Aging 30 : 1637-51, 2009.
6. SALMON E., RUBY P., PERANI D., KALBE E., LAUREYS S., ADAM S., COLLETTE F., *Two aspects of impaired consciousness in Alzheimer's disease*, Prog. Brain Res. 150 : 287-98, 2005.
7. KARNATH H.O., BAIER B., *Right insula for our sense of limb ownership and self-awareness of actions*, Brain Struct. Funct. 214 : 411-7, 2010.
8. DE RIDDER D., VAN LAERE K., DUPONT P., MENOVSKY T., VAN DE HEYNING P., *Visualizing out-of-body experience in the brain*, N. Engl. J. Med. 357 : 1829-33, 2007.
9. PFEIFER J.H., MASTEN C.L., BOROFSKY L.A., DAPRETTO M., FULIGNI A.J., LIEBERMAN M.D., *Neural correlates of direct and reflected self-appraisals in adolescents and adults : when social perspective-taking informs self-perception*, Child. Dev. 80 : 1016-38, 2009.
10. D'ARGEMBEAU A., FEYERS D., MAJERUS S., COLLETTE F., VAN DER LINDEN M., MAQUET P., SALMON E., *Self-reflection across time : cortical midline structures differentiate between present and past selves*, Soc. Cogn. Affect. Neurosci. 3 : 244-52, 2008.
11. MITCHELL J.P., *Activity in right temporo-parietal junction is not selective for theory-of-mind*. Cereb. Cortex 18 : 262-71, 2008.
12. MIMURA M., YANO M., *Memory impairment and awareness of memory deficits in early-stage Alzheimer's disease*, Rev. Neurosci. 17 : 253-66, 2006.
13. SALMON E., LEKEU F., GARRAUX G., GUILLAUME B., MAGIS D., LUXEN A., MOONEN G., COLLETTE F., *Metabolic correlates of clinical heterogeneity in questionable Alzheimer's disease*, Neurobiol. Aging 29 : 1823-9, 2008.
14. A DAM S., VAN DER LINDEN M., COLLETTE F., LEMAUVAIS L., SALMON E., *Further exploration of controlled and automatic memory processes in early Alzheimer's disease*, Neuropsychology 19 : 420-7, 2005.

(Affiliation : Centre de la Mémoire, C.H.U. de Liège et Centre de Recherches du Cyclotron, Université de Liège.)

\*  
\*   \*

## Discussion

*M. M. Lamy.* – Merci, Eric, pour ce bel exposé qui, à mon avis, mériterait aussi un prix didactique ! Les patients qui ont vécu une « near death experience » rapportent parfois, après une réanimation réussie, une impression de « sortie de leur corps » : ils se sont vus planer et voir, du dessus, leur corps aux mains de réanimateurs affairés. La jonction temporo-pariétale que tu as décrite comme correspondant à la « sortie de son corps » pourrait-elle être impliquée dans ces rares expériences ? Serait-elle plus résistante que d'autres à l'ischémie liée à l'arrêt cardio-respiratoire ?

*M. E. Salmon.* – La symptomatologie de « near death experience » est complexe. Effectivement elle comprend fréquemment une impression de sortie du corps (« out of body experience »), et il est fort probable qu'une « stimulation » de la jonction temporo-pariétale soit impliquée. On peut émettre l'hypothèse qu'une ischémie ou une anoxie de la région soit un phénomène déclencheur de l'expérience des patients.

*M. W.J. Malaisse.* – J'ai trouvé votre exposé passionnant, et souhaite vous poser deux questions. D'abord, quel est le nombre minimal de cellules, ou leur volume, requis pour identifier un site actif ? Par ailleurs, collectez-vous des informations concernant le décours temporel de la réponse ?

*M. E. Salmon.* – La résolution spatiale de notre caméra d'IRM 3 Tesla est de l'ordre d'un millimètre dans les trois plans de l'espace. On collecte effectivement des données temporelles en quelques secondes pour l'ensemble du cerveau. Cela permet d'observer des différences dans la dynamique de réponse de certaines régions cérébrales.

*M. P. Vanderhoeft.* – Je ne suis pas fou, car j'ai pu suivre votre excellent exposé. Mais tout le monde a perdu ses clés. Ce qui est plus grave c'est, en les retrouvant, de ne plus savoir à quoi servent ces clés. Y a-t-il une différence entre la « théorie de l'esprit » et l'empathie ?

*M. E. Salmon.* – On ce qui concerne la perte des objets, cela peut arriver à tout le monde d'être distrait. Le problème survient quand les oublis se répètent, quand bien même la personne fait des efforts pour éviter d'égarer ses clés. En ce qui concerne l'empathie, elle repose sur plusieurs capacités comme la reconnaissance des émotions, l'interprétation des émotions, et effectivement la prise de perspective qui est à la base de la théorie de l'esprit. En revanche, la prise de perspective n'est pas toujours émotionnelle, elle peut être essentiellement « cognitive ».

*M. J.-J. Vanderhaeghen.* – N'existe-t-il pas des anosognosies physiologiques comme le membre fantôme, ou la non-vision des moustaches et lunettes dessinées sur la Joconde vue à l'envers ? Merci pour votre excellent exposé.

*M. E. Salmon.* – Il existe certainement des expériences surprenantes de défaut de perception que ce soit pour des tableaux ou pour des textes dans lesquels les mots sont modifiés à l'insu du sujet (normal). On réserve cependant le terme d'anosognosie à des troubles de conscience de soi observés chez des patients. Ce peut être le cas de

certains patients avec une sensation de membre fantôme, qui évoque la persistance du schéma corporel, et ici encore le degré d'anosognosie est variable selon les patients.

*M. A. Albert.* – Félicitations au candidat. Les questionnaires utilisées pour calculer les scores différentiels entre le sujet et son accompagnant sont-ils standardisés ? Le sujet lui-même est le meilleur comparateur ? Peut-on imaginer qu'on puisse faire passer le questionnaire à un sujet alors qu'il est encore dans un « état normal », information qui pourrait être alors utilisée lorsqu'il présente des symptômes de la maladie d'Alzheimer ?

*M. E. Salmon.* – On utilise selon les cas des questionnaires standardisés ou des outils adaptés à une question de recherche spécifique. Un suivi dans le temps du même sujet est effectivement particulièrement intéressant pour explorer l'évolution de l'anosognosie parallèlement à celle du déficit dont le patient est plus ou moins conscient.

*M. G. Casimir.* – Existe-t-il des travaux étudiant la conscience du soi chez l'enfant en développement, en particulier par les méthodes dynamiques par scanner à positrons que vous avez utilisées ? La conscience du temps est-elle localisée dans une zone identique à celle prise en compte pour la conscience du self ?

*M. E. Salmon.* – Les études de la conscience de soi chez l'enfant sont essentiellement comportementales, et restent difficiles à transposer en neuroimagerie. En ce qui concerne la conscience du temps, elle fait directement partie de la définition de la mémoire épisodique, et plus particulièrement de la mémoire auto-néotique. Le souvenir conscient d'un épisode de vie s'accompagne alors d'un voyage mental dans le temps autobiographique. On a montré par exemple qu'une région cérébrale comme le cortex préfrontal ventromédial est plus impliquée dans la conscience de soi au présent qu'au passé.

\*  
\* \*

## Communications du Bureau

Aux communications du Bureau, le Secrétaire perpétuel annonce la disparition du Prof. Louis Jeanmart, décédé le 26 juillet 2010, à Bruxelles, à l'âge de 80 ans. Professeur de Radiodiagnostic, Président de la Faculté de Médecine de l'U.L.B., et Président de l'A.R.M.B. en 2005, il avait été élu Correspondant le 26 novembre 1988, promu membre titulaire le 30 novembre 1996, et membre honoraire le 13 juin 2008.

Il mentionne que les numéros 1-2 et 3-4 du volume 165/Année 2010 qui ont été envoyés précédemment aux membres, sont soumis à l'approbation de l'assemblée ; aucune observation n'est formulée et les procès-verbaux sont ainsi approuvés.

Il signale que les locaux de l'Académie seront fermés entre le 13 septembre et le 15 octobre 2010 suite à la présidence belge de l'E.U.

Il mentionne que le Prof. G. Primo lui a adressé une lettre en date du 21 juin 2010, exprimant son souhait à renoncer à son droit de vote, qu'il avait conservé en tant que membre titulaire hors cadre, selon les dispositions transitoires des nouveaux Statuts entrés en vigueur en août 2008. Le Bureau a entériné la demande notre Collègue.

Il signale ensuite l'appel aux candidatures pour le Prix Francqui 2011 qui sera attribué dans le domaine des Sciences biologiques et médicales. La date limite d'introduction des candidatures est le 15 octobre 2010.

\*  
\*   \*





Séance publique et solennelle du 11 septembre 2010

---



SÉANCE PUBLIQUE ET SOLENNELLE DU 11 SEPTEMBRE 2010

**REMISE DES PRIX**  
**attribués par l'Académie royale de Médecine de Belgique**  
**à l'échéance du 31 décembre 2009**

---

La séance est ouverte à 10h.15 par le Président L. Hue.

Au Bureau, ont pris place le Président L. Hue et le Secrétaire perpétuel Prof. J. Frühling.

Sont présents :

MM. H. Beaufay, A. Dresse, membres honoraires ;

MM. W.J. Malaisse, M. Wéry, R. Lauwerys, M. Hanocq, G. Rousseau, Th. de Barsey, J. Boniver, E. Pays, J.-L. Vanherweghem, B. Van den Eynde, R. Kramp, A. Ferrant, M<sup>me</sup> F. Meunier, membres titulaires ;

MM. E. Van Schaftingen, J. Crommen, D. Lison, Y. Carlier, B. Lengelé, M<sup>me</sup> D. Bron, MM. P. Coulie, L. Willems, membres ordinaires.

\*  
\* \*

MM. P. Dumont, membre honoraire ; J. Brotchi, G. Rorive, membres titulaires, S. Louryan, A. Albert, membres ordinaires, ont exprimé leurs regrets de ne pouvoir assister à la séance.

\*  
\* \*

**PRÉSENTATION DES RAPPORTS SCIENTIFIQUES  
DES BOURSIERS CLINIENS – CHERCHEURS F.N.R.S. SOUTENUS  
PAR L'ACADÉMIE ROYALE DE MÉDECINE DE BELGIQUE**

---

**ALLOCATION D'OUVERTURE DU PROFESSEUR L. HUE,  
PRÉSIDENT DE L'ACADÉMIE ROYALE  
DE MÉDECINE DE BELGIQUE**

Monsieur le Secrétaire perpétuel,  
Mesdames, Messieurs,  
Chers Collègues, chers amis,

La séance d'aujourd'hui est une des plus importantes de l'année pour notre Académie. En effet, à côté de son rôle de conseil des autorités politiques en matière médicale, l'Académie royale de Médecine de Belgique a dans ses objectifs le soutien actif de l'activité scientifique dans le domaine des sciences biomédicales au sens large. L'avancement des connaissances conditionne en effet les progrès en médecine et le soutien de notre Académie à l'activité scientifique s'inscrit dans cette perspective. Il s'agit là d'une des missions essentielles de l'Académie.

Son soutien s'exprime de deux façons : d'une part, par l'octroi de prix récompensant des chercheurs dont les travaux ont été distingués. Nous aurons l'occasion d'entendre tout à l'heure les lauréats nous décrire leurs travaux. Vous pourrez ainsi constater, Mesdames et Messieurs, la vitalité et la qualité des recherches effectuées dans notre Communauté.

L'engagement financier de l'Académie dans la recherche biomédicale s'exprime également par l'octroi d'un soutien financier sous forme de bourse de doctorat attribuée à des jeunes médecins chercheurs. Ces chercheurs sont sélectionnés par le Fonds National de la Recherche Scientifique et leur mandat est couvert pour moitié par notre Académie, l'autre moitié étant à charge du F.N.R.S.

C'est donc avec grand plaisir que j'ai l'honneur d'ouvrir cette séance solennelle. Nous entendrons d'abord les Drs Julie Callenaere et Philippe Lemaître qui ont bénéficié d'une bourse de recherche de deux ans et qui, avec le même soutien, vont pouvoir poursuivre leurs travaux pendant deux ans. Je les appelle à cette tribune pour nous présenter brièvement leurs travaux.

\*  
\* \*



## RÉPONSES DES CELLULES DENDRITIQUES PLASMACYTOÏDES ADULTES ET NÉONATALES AUX LIGANDS DE TLR7 & 9

par

M<sup>me</sup> J. CALLENAERE<sup>1&2</sup> (U.L.B.), et coll. (\*)

### Introduction

La production des interférons de type I ( $\alpha$  et  $\beta$ , IFNs I) forme un lien entre l'immunité innée et adaptative et représente un processus clé dans l'induction des réponses immunes antivirales et antitumorales.

Bien que bon nombre de cellules puissent synthétiser les IFNs I, les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDCs) en constituent la source la plus importante, avec une production allant de 3 à 10 picogrammes par cellule. (1) En effet, alors que les pDCs représentent à peine 0.1 % des cellules mononuclées du sang périphérique humain, elles sont responsables de la majeure partie des IFNs I produits. (2) Cette synthèse est rapide grâce, e.a. à la présence constitutive dans leur cytoplasme du facteur de transcription IRF7, et est initiée suite à la détection de « PAMPS » (*pathogen associated molecular patterns*) d'origine virale via leurs récepteurs « Toll-like » 7 et 9, situés dans les endosomes. Le TLR7 reconnaît l'ARN simple brin issu de virus tels que l'influenza, ainsi que différentes molécules synthétiques telles que les imidazoquinolines (le Résiquimod « R848 » et l'Imiquimod « R837 »). Le TLR9 reconnaît l'ADN non méthylé contenant des motifs CpG issu de virus tels que le HSV ou le CMV, ainsi que les oligodéoxynucléotides (ODN) synthétiques CpG A, B et C. (3)

La voie de signalisation menant à la production des IFNs I suite à la stimulation du TLR 7 & 9, est caractérisée par la formation d'un complexe cytoplasmique contenant la molécule adaptatrice MyD88 ainsi que plusieurs kinases (IRAK1 & 4, IKK $\alpha$ ) et ubiquitine ligases (TRAF3 & 6). (4) Cette voie mène à la phosphorylation et dimérisation du facteur de transcription IRF7, permettant sa translocation nucléaire et l'activation de la transcription des gènes menant à la synthèse des IFNs I. (5). Les pDCs présentent également une voie de signalisation menant à l'activation du facteur de transcription Nuclear Factor-kappa B (NF-kB), qui est activée par ces mêmes ligands TLR, et qui résulte en la production de cytokines pro-inflammatoires tels le Tumor Necrosis Factor alpha (TNF $\alpha$ ), et l'IL-6 ou 8 et la maturation de la cellule dendritique.

L'immunité néonatale présente différents défauts causant une immaturité importante de ce système et menant à une susceptibilité accrue aux infections liées aux pathogènes intracellulaires (tels que les virus), et une réponse amoindrie aux vaccins en début de vie. Cette immaturité a des conséquences importantes, comme en témoigne la mortalité néonatale annuelle mondiale dont plus d'un quart est de cause infectieuse. Divers travaux menés au sein de notre laboratoire ont mis en évidence une production

(\*) D. De Wit<sup>2</sup>, M<sup>me</sup> F. Willems<sup>2</sup>.



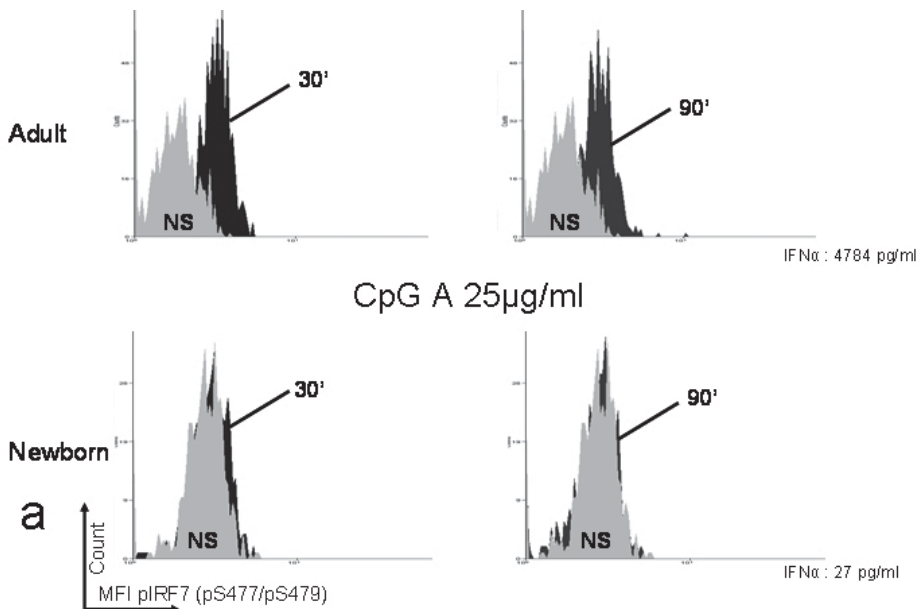
déficiente de cytokines importantes telles que l'IL-12 et les IFNs I par les cellules dendritiques du nouveau-né. (6-7) En effet, les pDCs circulant dans le sang de cordon ombilical présentent un défaut profond de production d'IFNs I en réponse à divers ligands de TLR7 et 9, tels que le CpG, le R848 et les virus HSV et CMV. (8)

Connues pour leurs implications dans la survie et la croissance cellulaire, les kinases, phosphatidylinositol-3-OH kinase (PI3-Kinase) et mTOR (*mammalian target of rapamycin*) semblent également jouer un rôle clé dans le contrôle de l'expression des IFNs I par les pDCs. Des travaux récents ont en effet montré que la production d'IFNs I par les pDCs en réponse au CpG (ligand de TLR 9) et aux virus HSV et influenza est fortement diminuée par traitement avec des inhibiteurs pharmacologiques de la PI3-kinase (le LY294002) et de mTOR (la rapamycine, mieux connue sous le nom de Sirolimus). (9-10) Ces études n'étudient pas, en revanche, l'influence de ces kinases sur la stimulation des pDCs par des molécules synthétiques, ligands stricts de TLR7 (contrairement aux virus, ligands polyvalents).

### Résultats et discussion :

#### 1. Etude des bases moléculaires du défaut d'expression des IFNs I par les pDCs néonatales.

Des travaux menés dans notre laboratoire ont réussi à mettre en évidence l'absence de translocation nucléaire d'IRF7 au sein des pDCs de sang de cordon en réponse aux ligands TLR9 tels que le CpG A et les virus HSV et CMV. (8) Dans le cadre de mon travail, j'ai pu démontrer que ce défaut de translocation est dû à une phosphorylation défectueuse d'IRF7, tant en réponse au CpG A (TLR9) qu'au R848 (TLR7) (Fig. 1).



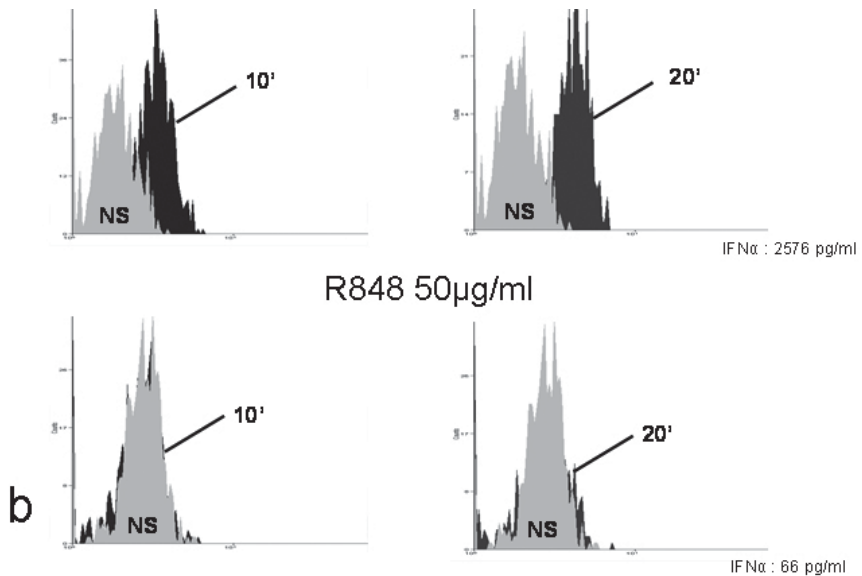


Fig. 1 a et b

La phosphorylation d'IRF7 est absente dans les pDCs du nouveau-né en réponse au CpGA (a) et au R848 (b). Les pDCs du nouveau-né sont représentées dans les histogrammes inférieurs, et les pDCs adultes dans les supérieurs. Histogrammes représentatifs de cinq expériences indépendantes, intensité médiane de fluorescence du pIRF7. La valeur correspondante d'IFNalpha mesurée par ELISA est donnée à titre indicatif pour chaque donneur et stimulant.

Pour ce faire, j'ai mis au point une technique de perméabilisation et marquage intracellulaire des protéines (phosphorylées ou non) par cytométrie en flux au sein des pDCs de sang total. Ceci afin de miniaturiser le processus au vu des quantités réduites de sang de cordon disponibles et de pDCs présentes dans ce sang. L'étude de la phosphorylation d'Akt (substrat de la PI3-kinase) et de l'expression basale d'IRAK4 (constituant du complexe cytoplasmique) et PTEN (enzyme inhibitrice de l'action de la PI3-kinase) n'a par contre pas révélé de différence entre les pDCs adultes et néonatales.

Nous proposons de poursuivre l'étude de cette voie de signalisation, ayant pu déterminer que le défaut néonatal se situe en amont de la phosphorylation d'IRF7. Nous comptons ainsi étudier l'expression basale des autres molécules de cette cascade. Nous proposons également d'étudier l'expression basale des ARNs messagers codant pour ces différentes molécules par RT-PCR.

## 2. Influence des inhibiteurs de PI3-kinase et mTOR sur la production d'IFNs I par les pDCs en réponse aux ligands synthétiques de TLR7.

Le rôle des PI3-kinase et mTOR dans la voie de signalisation strictement dépendante de TLR7 reste à élucider au niveau des pDCs humaines. Nous avons investigué l'influence des inhibiteurs de la PI3-kinase, le LY2940002, et de mTOR, la rapamycine,

sur la production des IFNs I en réponse aux ligands synthétiques de TLR7. Il nous paraissait essentiel de répondre à cette interrogation au vu de l'utilisation fréquente de ces ligands, aussi bien en clinique qu'en recherche. Nous avons ainsi observé que la production d'IFNs I dans ces conditions de stimulation n'est pas affectée par la présence de ces inhibiteurs. Cette observation a pu être confirmée par l'utilisation de plusieurs ligands TLR7 synthétiques (le résiquimod (R848), l'imiquimod (R837) et la loxoribine), ainsi que par diverses méthodes (ELISA en sang total et en pDCs purifiées et par détection intracytoplasmatique de cytokines par cytométrie en flux (Fig 2).

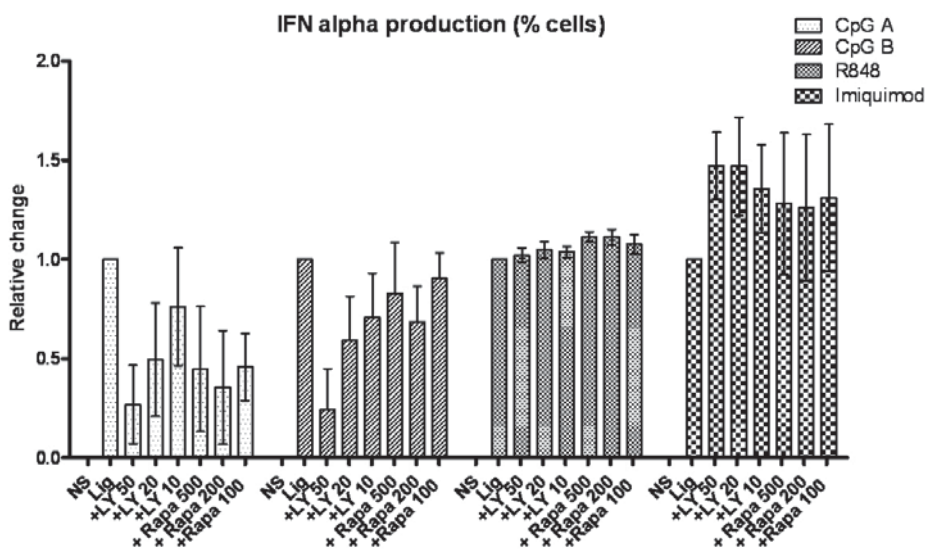


Fig. 2

La production d'IFNalpha par les pDCs en sang total adulte est inhibée suite à l'ajout de LY et rapamycine en réponse aux ligands TLR9, et reste inchangée en réponse aux ligands TLR7. Moyenne et déviation standard de six donneurs (sauf CpG B : 1 donneur), exprimée en unités relatives (%cellules productrices lors de l'ajout de l'inhibiteur/ % cellules productrices lors de la stimulation par le ligand seul).

Nous avons confirmé cette observation au niveau moléculaire en mettant en évidence, par cytométrie en flux, que la phosphorylation d'IRF7 en réponse au CpG A est inhibée suite à l'ajout de LY, alors que celle-ci reste inchangée en cas de stimulation par le R848 (Fig 3).

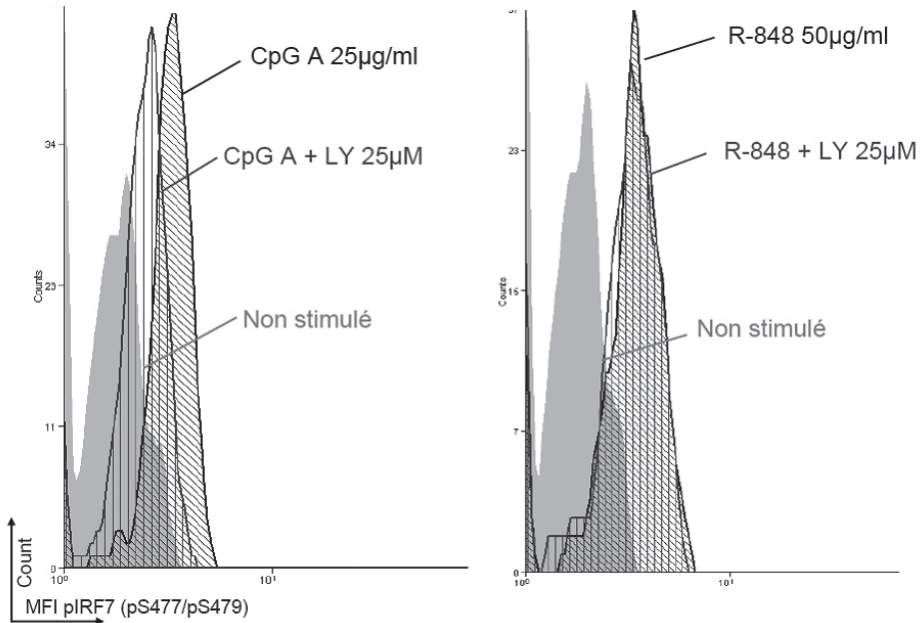


Fig. 3

La phosphorylation d'IRF7 en pDCs de sang total adulte en réponse au CpG A est inhibée par le LY, et reste inchangée en réponse au R848. Histogrammes représentatifs de trois expériences indépendantes, intensité médiane de fluorescence de pIRF7.

Nous obtenons des résultats similaires pour la voie NF- $\kappa$ B, tant au niveau des taux de pDCs productrices de TNF $\alpha$ , que de la phosphorylation du facteur de transcription NF- $\kappa$ B. Suite à ces observations nous formulons plusieurs hypothèses, basées sur l'hypothèse primaire que la spécificité du phénomène serait liée à la spécificité intrinsèque des imidazoquinolines, notamment leur faible poids moléculaire et la cinétique rapide de la stimulation qu'elles entraînent.

Leur faible poids moléculaire pourrait entraîner une dépendance différente des oligodéoxynucléotides envers la PI3-kinase pour leur internalisation dans la cellule. Si l'on juge au contraire que la PI3-kinase et mTOR sont nécessaires à la stabilisation du complexe formé par les différentes kinases des voies de signalisation, on peut émettre l'hypothèse que les imidazoquinolines échappent à ce besoin par leur cinétique ultra-rapide ne nécessitant pas de stabilisation.

Nous proposons d'investiguer ces différentes hypothèses par imagerie confocale, ou par co-immunoprécipitation.

Nous avons tenté de reproduire le phénomène observé en pDCs dans d'autres cellules, telles les HEK293 (après transfection d'IRF7 ou de NF- $\kappa$ B), les THP-1 (lignée de macrophages humains), les RAW (lignée de macrophages murins) et les DCs conventionnelles murines. Ces tentatives n'ont pas été couronnées de succès, indiquant

que le phénomène observé serait spécifique aux pDCs. Nous investiguons actuellement le phénomène en pDCs murines. Si notre observation se répète en pDCs murines, ceci nous permettrait d'avoir accès à des quantités plus importantes de cellules, ainsi qu'à des modèles de souris *knock-out* pour certaines protéines cibles des voies investiguées. Dans le cas contraire, on se trouverait donc face à un phénomène spécifique des pDCs humaines.

Nous travaillons également en ce moment à la génération d'une lignée de pDCs générées *in vitro* à partir de monocytes humains en présence de FIT3, ce qui nous permettrait d'avoir accès à un nombre plus important de cellules, et d'avoir recours à des méthodes d'investigation moléculaire telles que le *Western Blot*. Une lignée tumorale de pDCs nous offrant les mêmes opportunités pourrait aussi nous être accessible.

## RÉSUMÉ

Les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDCs) font partie du système immunitaire inné et sont responsables de la production d'interférons de type I (IFN-I). Ceux-ci sont indispensables pour la défense de l'organisme contre les infections virales et dans les réponses antitumorales. Les nouveau-nés ne sont pas capables de produire ces IFN-I en réponse aux virus suite à une absence de translocation nucléaire du facteur de transcription IRF7 dans leurs pDCs. Nous avons démontré que ceci est dû à une phosphorylation déficiente de ce facteur, et que la voie PI3K-Akt-mTOR est en revanche fonctionnelle. Nous avons aussi démontré, dans les pDCs adultes cette fois, que la voie PI3K-Akt-mTOR, indispensable pour la production d'IFN-I en réponse aux ligands TLR9 et aux virus ARN, étonnamment, n'intervient pas pour la réponse aux ligands synthétiques de TLR7. Ceux-ci sont utilisés en clinique comme adjuvants vaccinaux, agents antiviraux et antitumoraux. Les inhibiteurs de PI3K et mTOR sont utilisés comme immunosuppresseurs et adjuvants chimiothérapeutiques, rendant ces interactions hautement pertinentes en clinique.

## SUMMARY

The plasmacytoid dendritic cells (pDCs) belong to the innate immune system and are responsible for the production of type I interferons (IFN-I). These are crucial for the antiviral and antitumoral responses of the organism. Newborns are unable to produce IFN-I in response to viral infections, due to the absence of nuclear translocation of the transcription factor IRF7 in their pDCs. We have shown that this defect is due to the deficient phosphorylation of this factor, and that the PI3K-Akt-mTOR-pathway, on the other hand is functional. We have also shown, this time in adult pDCs, that the PI3K-Akt-mTOR-pathway, known to be absolutely necessary for the production of IFN-I in response to TLR9-ligands and RNA viruses, is surprisingly not required for this production in response to synthetic TLR7 ligands. These ligands are used in the clinic as vaccine adjuvants, antiviral and antitumoral agents. The inhibitors of PI3K and + mTOR are in use as immunosuppressors and adjuvants for chemotherapy, making these interactions clinically highly relevant.

## BIBLIOGRAPHIE

1. FITZGERALD-BOCARSLY P., DAI J., SINGH S., *Plasmacytoid dendritic cells and type I IFN 50 years of convergent history*, Cytok GF Rev., 19(1) :3-19, 2008.
2. COLONNA M., TRINCHIERI G., LIU Y.J., *Plasmacytoid dendritic cells in immunity*, Nat. Immun., 5(12) :1219-26, 2004.
3. SEVERA M., FITZGERALD K.A., *TLR-mediated activation of type I IFN during antiviral immune responses*, Curr. Top Microbiol. Immunol., 316 :167-92, 2007.

4. HONDA K., OHBA Y., YANAI H., NEGISHI H., MIZUTANI T., TAKAOKA A., TAYA C., TANIGUCHI T., *Spatiotemporal regulation of MyD88-IRF7 signaling for robust type-I IFN induction*, Nat., 434(7036) :1035-40, 2005.
5. GILLIET M., CAO W., LIU Y.J., *Plasmacytoid dendritic cells sensing viral nucleic acids in viral infection and auto-immune diseases*, Nat. Rev. Immun. 8(8) :594-606, 2008.
6. GORIELY S., VAN LINT C., DADKHAH R., LIBIN M., DE WIT D., DEMONTÉ D., WILLEMS F., GOLDMAN M., *A defect in nucleosome remodeling prevents IL-12(p35) gene transcription in neonatal dendritic cells*, JEM, 199(7) :1011-6, 2004.
7. DANIS B., GEORGE T.C., GORIELY S., DUTTA B., RENNESON J., GATTO L., FITZGERALD-BOCARSLY P., MARCHANT A., GOLDMAN M., WILLEMS F., DE WIT D., *Interferon regulatory factor 7-mediated responses are defective in cord blood plasmacytoid dendritic cells*, EJI, 38(2) :507-17, 2008.
8. DE WIT D., OLISLAGERS V., GORIELY S., VERMEULEN F., WAGNER H., GOLDMAN M., WILLEMS F., *Blood plasmacytoid dendritic cell responses to CpG oligonucleotides are impaired in human newborns*, Blood, 103(3) :1030-2, 2004.
9. CAO W., MANICASSAMY S., TANG H., KASTURI S.P., PIRANI A., MURTHY N., PULENDRAN B., *Toll-like receptor-mediated induction of type I interferon in plasmacytoid dendritic cells requires the rapamycin-sensitive PI(3)K-mTOR-p70S6K pathway*, Nat. Imm., 9(10) :1157-64, 2008.
10. GUIDUCCI C., GHIRELLI C., MARLOIE-PROVOST M.A., MATRAY T., COFFMAN R.L., LIU Y.J., BARRAT F.J., SOUMELIS V., *PI3K is critical for the nuclear translocation of IRF7 and IFN1 by human pDC in response to TLR activation*, JEM, 205(2) :315-22, 2008.

(<sup>1</sup>Service de Médecine interne, Hôpital Erasme – U.L.B. – Bruxelles). (<sup>2</sup>Institute for Medical Immunology (IMI) – U.L.B., Charleroi).

\*  
\* \*



## ÉTUDE DES MÉCANISMES DÉPENDANTS DE L'INTERLEUKINE-17 ET DE LEUR MODULATION DANS LE DÉVELOPPEMENT DE LA BRONCHIOLITE OBLITÉRANTE EXPÉRIMENTALE APRÈS TRANSPLANTATION

par

Ph. LEMAÎTRE (Institut for Medical Immunology)

Les patients greffés pulmonaires présentent, au décours de leur transplantation, trois pathologies importantes. D'une part, dans les 72 heures suivant la greffe, ils peuvent développer une dysfonction première du greffon (DPG). Cette pathologie ressemble au SDRA (syndrome de détresse respiratoire aiguë) et est caractérisée par une altération de la fonction pulmonaire ainsi que des infiltrats radiologiques démontrant la présence d'un œdème pulmonaire. Son traitement peut requérir des mesures très lourdes telles que la mise en place d'une circulation extra-corporelle prolongée. Ensuite, peuvent survenir des phénomènes de rejet aigu. Ceux-ci se développent essentiellement durant la première année suivant la greffe. Enfin, au-delà de la première année, les greffés pulmonaires peuvent développer des lésions de rejet chronique. Cette dernière atteinte, appelée bronchiolite oblitérante (BO), est caractérisée par une fibro-oblitération des voies respiratoires de petit calibre. Ces trois phénomènes peuvent survenir de manière indépendante chez l'homme. En d'autres termes, certains patients peuvent développer une BO sans avoir présenté de DPG ni de rejet aigu. Plusieurs articles récents établissent un lien potentiel entre l'interleukine-17 (IL-17) et ces trois atteintes, sans qu'un lien formel ait pu être prouvé. Afin d'étudier de manière précise l'implication de l'IL-17 dans les lésions des voies respiratoires, nous avons développé un modèle de greffe hétérotopique de trachée (GHT) chez la souris. Ce modèle simple consiste à implanter une trachée dans une poche créée sous la peau du dos de la souris receveuse et génère, de manière hautement reproductible, des lésions proches de celles visibles chez l'homme. C'est aujourd'hui le modèle le plus communément admis pour étudier les lésions de l'épithélium respiratoire dans un contexte de transplantation.

Dans un premier temps, nous nous sommes assurés de la validité de ce modèle au sein de notre animalerie et avons simplement étudié l'évolution des lésions au cours du temps (fig. 1). Dans une trachée native, l'épithélium respiratoire est dit pseudostratifié cylindrique cilié. Au niveau de la lamina propria, on retrouve des vaisseaux sanguins ainsi que quelques cellules immunes.

Après transplantation, on note, dans un premier temps, une phase inflammatoire caractérisée par une infiltration de lymphocytes au niveau de la lamina propria et de l'épithélium. Au cours du temps, l'infiltrat lymphocytaire se majore et s'accompagne d'une infiltration de neutrophiles et de macrophages. On remarque également l'apparition de fibroblastes et des dépôts progressifs de collagène qui épaississent la lamina propria et la membrane basale. L'atteinte épithéliale proprement dite se marque tout d'abord par un aplatissement qui évolue *in fine* vers la dénudation complète. Ultiment, lorsque l'épithélium est totalement détruit, les fibroblastes envahissent



la lumière de la trachée greffée qui finit obstruée par un processus fibrotique organisé. Cette évolution lentement péjorative reproduit à l'identique la lésion fibroproliférative de bronchiolite oblitérante visible chez l'homme.

De nombreuses agressions peuvent alimenter la réaction inflammatoire au niveau de la structure greffée. La première est la lésion d'ischémie-reperfusion. Celle-ci est inévitable en transplantation car elle est liée à l'interruption de la vascularisation de l'organe au moment du prélèvement. On pense actuellement que cette lésion de reperfusion constitue le fondement de la DPG. Viennent s'y ajouter les diverses infections encourues par le greffon, les épisodes de rejet aigu ou encore le reflux gastro-oesophagien. Toutes ces atteintes plongent le greffon dans un climat d'inflammation permanente, entretenu au niveau cellulaire par les lymphocytes, les neutrophiles et les macrophages. Toutes ces cellules sont capables de produire de l'IL-17 et donc potentiellement impliquées dans notre modèle. De plus, le récepteur à l'IL-17 présente une distribution très large. Cette cytokine pourrait donc agir directement sur l'endothélium vasculaire du greffon, sur l'épithélium ou encore influencer la transition épithéliale-mésenchymateuse. Ce phénomène, décrit récemment, résulte de la capacité des cellules épithéliales à se différencier, sous certaines conditions. Elles réacquiescent alors la capacité à produire du collagène, ce qui implique la transition épithéliale-mésenchymateuse dans la bronchiolite oblitérante chez l'homme.

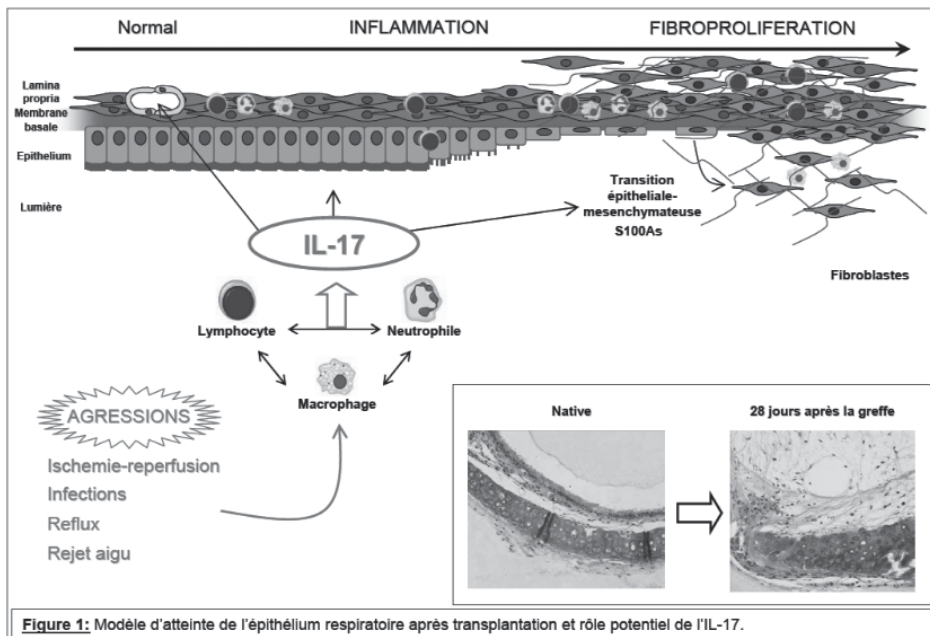


Fig. 1

Le premier but de nos expériences suivantes fut de démontrer l'implication de l'IL-17 dans les lésions de l'épithélium respiratoire (fig. 2A et B). Pour ce faire, nous avons comparé, au moyen d'un score spécifique, des trachées allogéniques greffées à des

souris de souche sauvage ou déficientes pour la production d'IL-17 (IL-17 KO). Après vingt-huit jours de greffe, nous n'avons pas observé de différence entre les trachées greffées à des souris sauvages ou IL-17 KO. Par contre, lorsque les trachées sont greffées pendant huit jours, nous avons mis en évidence une amélioration significative des lésions en l'absence d'IL-17. Afin de renforcer ce résultat, nous avons également étudié l'effet obtenu lors de l'inhibition de l'IL-17. A nouveau, nous avons mis en évidence une amélioration significative des lésions précoces lorsque le receveur est traité au moyen d'un anticorps anti-IL17.

Ces résultats impliquent donc crucialement l'IL-17 dans les lésions aiguës survenant après la greffe.

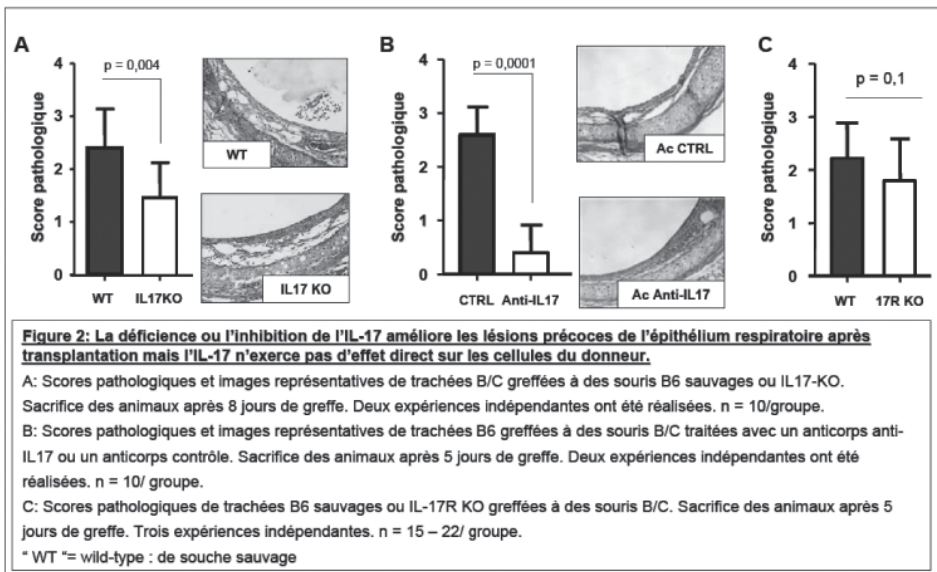


Fig. 2

Nous avons ensuite caractérisé la source cellulaire de l'IL-17 dans le greffon par cytométrie en flux. Cette technique permet une analyse cellulaire très poussée. Des marquages spécifiques démontrent que les cellules présentes dans le greffon sont à 95 % issues du receveur et que l'IL-17 provient exclusivement de ces cellules infiltrant le greffon. D'un point de vue phénotypique, plus de la moitié de ces cellules sont des lymphocytes gammadelta. Ces lymphocytes dit « non conventionnels », sont connus pour être impliqués dans les réponses immunitaires précoces.

Les expériences suivantes nous ont permis de caractériser la cible de l'IL-17 dans notre modèle (Fig. 2C). Pour ce faire, nous avons comparé des greffons prélevés sur des souris sauvages à des greffons prélevés sur des souris déficientes pour le récepteur à l'IL-17. D'un point de vue pathologique, ces greffons insensibles à l'IL-17 présentent autant de lésions que ceux de souche sauvage. Il n'y a donc pas d'effet direct de l'IL-17 sur

le greffon, ce qui oriente nos investigations futures vers un effet de cette cytokine sur le receveur. Elle pourrait donc représenter un médiateur de la réaction inflammatoire générée par la greffe chez le receveur.

Enfin, nous avons voulu savoir si l'inhibition de l'IL-17 engendrait d'autres bénéfices, au-delà de l'amélioration du score pathologique. Pour ce faire, nous avons étudié une population de cellules basales de l'épithélium (figure 3). Ces cellules, caractérisées par l'expression de la cytokératine 14 (CK-14), sont des cellules souches capables de régénérer l'ensemble des populations cellulaires de l'épithélium après une agression. Un marquage CK-14 en immunohistochimie nous a permis de compter ces cellules, qui se retrouvent en nettement plus grand nombre lorsque l'IL-17 est inhibée.

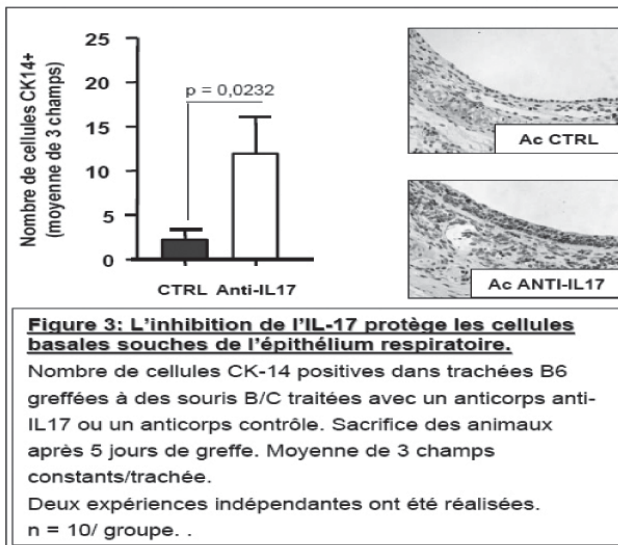


Fig. 3

En conclusion, nous avons démontré que la greffe hétérotopique de trachée est un modèle reproduisant de manière fiable les lésions des voies respiratoires survenant au décours de la transplantation pulmonaire. Ce modèle nous a permis de démontrer l'implication cruciale de l'IL-17 dans les lésions précoces de l'épithélium respiratoire après transplantation. Nous avons caractérisé les cellules productrices d'IL-17 infiltrant précocement le greffon et démontré qu'il s'agit principalement de lymphocytes T gammadelta provenant du receveur. Nous avons ensuite établi que l'insensibilité du donneur à l'IL-17 ne protège pas le greffon de l'atteinte précoce, indiquant que la cible de l'IL-17 provient du receveur. Enfin, l'inhibition de l'IL-17 protège les cellules basales CK-14 positives, capables de régénérer l'intégralité des populations épithéliales après agression.

## RÉSUMÉ

La survie des patients greffés pulmonaires est actuellement limitée par la dysfonction première du greffon, survenant dans les 72 heures après la greffe et par le rejet chronique, qui apparaît plus d'un an après la transplantation. L'interleukine-17 (IL-17) pourrait être impliquée dans ces phénomènes. La greffe hétérotopique de trachée chez la souris reproduit l'atteinte de l'épithélium respiratoire après transplantation. Ce modèle nous permet de démontrer l'implication cruciale de l'IL-17 dans les lésions précoces survenant après la greffe. Les principales cellules productrices d'IL-17 dans le greffon sont des lymphocytes gammadelta dérivés du receveur. Cette cytokine n'exerce cependant pas d'effet direct sur les cellules du greffon. Son inhibition permet néanmoins de protéger des cellules souches exprimant la cytokératine-14, qui sont capables de régénérer l'ensemble des cellules formant l'épithélium respiratoire.

## SUMMARY

Survival of lung transplant recipients is currently limited by the primary graft dysfunction, an acute phenomenon occurring within 72 hours after the transplantation, but also by the chronic rejection that appears more than one year later. IL-17 might be implicated in these two diseases. The heterotopic trachea transplantation in mice generates epithelial lesions mimicking the human pathology. Using this model, we show that IL-17 was crucially implicated in early, but not chronic lesions after transplantation. The main intragraft cellular sources of IL-17 are recipient-derived gammadelta T cells. However, the IL-17-dependent lesions in our model are not mediated by a direct effect of IL-17 on donor-derived cells. Nevertheless, its inhibition protects CK-14+ basal epithelial stem cells that are known to be capable of renewing of the whole epithelium.

## BIBLIOGRAPHIE

1. LEE J.C., CHRISTIE J.D., *Primary graft dysfunction*, Proc. Am. Thorac. Soc. 6 : 39–46, 2009.
2. MARTINU T., CHEN D-F., PALMER S.M., *Acute Rejection and Humoral Sensitization in Lung Transplant Recipients*, Proc. Am. Thorac. Soc. 6 : 54–65, 2009.
3. BELPERIO J.A., WEIGHT S.S., FISHBEIN M.C., LYNCH III J.C., *Chronic Lung Allograft Rejection, Mechanisms and Therapy*, Proc. Am. Thorac. Soc. 6 : 108–121, 2009.
4. BOBADILLA J.L., LOVE R.B., *et al*, *Th17, Monokines, Collagen type V and Primary Graft Dysfunction after Lung Transplantation*, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 177 : 660–668, 2008.
5. VANAUDENAERDE B.M., DUPONT L.J., *et al*, *The role of IL-17 During Acute Rejection after Lung Transplantation*, Eur. Respir. J., 27 : 779–787, 2006.
6. VANAUDENAERDE B.M., DE VLEESCHAUWER S.I., *et al*, *The Role of IL23/IL17 Axis in Bronchiolitis Obliterans Syndrome after Lung Transplantation*, American Journal of Transplantation, 8 : 1911–1920, 2008.
7. BURLINGHAM W.J., LOVE R.B., *et al*, *IL-17-dependent Immunity to Collagen type-V Predisposes to Obliterative Bronchiolitis after Lung Transplantation*, J. Clin. Invest. 117 :3498–3506, 2007.
8. HERTZ M.I., JESSURUN J., *et al*, *Reproduction of the Obliterative Bronchiolitis Lesions after Heterotopic Transplantation of Mouse Airways*, Am. J. Patho., 142 :1945–1951, 1993.
9. HONG K.U., REYNOLDS S.D., *et al*, *Basal Cells are a Multipotent progenitor Capable of Renewing the Bronchial Epithelium*, Am. J. Patho., 164 :577–588, 2004.

\*

\* \*



**REMISE DES PRIX ET RÉCOMPENSES AUX LAURÉATS  
DE L'ANNÉE POUR L'EXERCICE 2009**

---



**PRIX DU CONCOURS ORDINAIRE DE LA 4<sup>e</sup> SECTION  
(période 2007-2008)**

Lauréat : M. le Dr Alain LE MOINE (U.L.B.).

Mémoire : « Implication des lymphocytes régulateurs naturels dans la tolérance d'allogreffe ».

Prix attribué le 25 avril 2009.

**PRÉSENTATION DE M. LE Dr A. LE MOINE,  
LAURÉAT DU PRIX DU CONCOURS ORDINAIRE  
DE LA 4<sup>e</sup> SECTION  
(période 2007-2008)**

par

J. BONIVER, membre titulaire

M. Alain Le Moine est porteur des diplômes de Docteur en Médecine (U.L.B., 1992) et Docteur en sciences (U.L.B., 2000) ; il est également médecin spécialiste en médecine interne / néphrologie. Il collabore depuis 1995 avec le Professeur Michel Goldman et maintenant avec le Professeur Oberdan Leo, au sein de l'Institut d'Immunologie Médicale initialement implanté à l'hôpital Erasme, puis sur le campus de Gosselies. Il a réalisé un stage postdoctoral chez le Professeur H. Waldman à Oxford en 2001. Il est actuellement chercheur qualifié du FNRS à l'U.L.B. et chef de clinique à l'hôpital Erasme, dans le service de néphrologie, dialyse et transplantation. Sa formation médicale l'a mené naturellement à orienter ses recherches vers l'immunologie de transplantation. Ses travaux, qui ont déjà été couronnés par plusieurs prix, ont fait l'objet d'une cinquantaine de publications dans des revues internationales consacrées principalement à l'immunologie et à la transplantation. Dans le cadre de sa candidature au présent prix, M. Le Moine a déposé un bref mémoire accompagné de huit publications qui démontrent le rôle des lymphocytes T régulateurs dans l'immunologie de transplantation, une neuvième venant d'être acceptée dans le Journal of Immunology. C'est en raison de la très haute qualité de ces travaux et de leur impact possible en transplantation humaine que le jury a décidé d'attribuer à M. Alain Le Moine le prix du concours ordinaire de la quatrième Section 2007-2008.

\*

\* \*



**MÉDAILLE DE L'ACADÉMIE  
DANS LE CADRE DU PRIX DU CONCOURS ORDINAIRE  
DE LA 4<sup>e</sup> SECTION  
(période 2007-2008)**

Lauréat : M. le Dr François HUAUX (U.C.L.)

Mémoire : « Immunosuppressive pathways in the pathogenesis of lung fibroses ».

Prix attribué le 25 avril 2009.

**PRÉSENTATION DE M. LE Dr F. HUAUX,  
LAURÉAT DU PRIX DU CONCOURS ORDINAIRE  
DE LA 4<sup>e</sup> SECTION  
(période 2007-2008)**

par

J. BONIVER, membre titulaire

M. François Huaux est titulaire des diplômes de licencié et de docteur en Toxicologie (U.C.L.). Il a réalisé un stage post-doctoral chez le Professeur SH Phan à l'université de Michigan aux USA. Il est actuellement Chercheur qualifié du FNRS à l'U.C.L. Il est l'auteur d'environ trente-cinq publications dans des revues internationales de toxicologie, de pneumologie et d'immunologie. Ses travaux ont déjà été récompensés par plusieurs prix. Dans le cadre de sa candidature au présent prix, M. Huaux a déposé un mémoire accompagné de six publications, consacré au thème : « Immunosuppressible pathways in rthe pathogenesis of lung fibrosis ». Il y démontre le rôle de mécanismes immunitaires complexes dans la fibrose pulmonaire induite par la silice.

Le jury a également reconnu la très haute qualité des travaux présentés ; pour cette raison, il a proposé d'attribuer à M. François Huaux la médaille de l'Académie dans le cadre du concours ordinaire de la quatrième Section 2007-2008.

\*  
\* \*

**PRIX ALVARENGA DE PIAUHY 2008**

Lauréate : M<sup>me</sup> le Dr Céline MASCAUX (U.L.B.).

Mémoire : « Etude de la genèse du carcinome épidermoïde bronchique : évolution de l'expression des protéines, des ARNs messagers et des microARNs à tous les stades du processus de cancérisation ».

Prix attribué le 25 avril 2009.

**PRÉSENTATION DE M<sup>me</sup> le Dr C. MASCAUX,  
LAURÉATE DU PRIX ALVARENGA DE PIAUHY 2009**

par

A. BURNY, membre honoraire

**Introduction :**

Avec plus de sept mille cas diagnostiqués par an en Belgique, le cancer bronchique est l'un des cancers les plus fréquents chez l'homme. Son pronostic est très réservé, la survie à cinq ans tous stades confondus étant inférieure à 15 %. Ce faible taux de guérison s'explique en grande partie par le fait que le diagnostic se réalise généralement à un stade avancé de la maladie. Une méthode de détection précoce, l'endoscopie en autofluorescence, exploite des variations de la fluorescence bronchique sous l'effet d'un laser et permet ainsi de dévoiler des lésions précancéreuses invisibles en lumière blanche. Réalisée à l'Institut Jules Bordet depuis 1996, la photodétection nous a permis de constituer une banque de biopsies d'épithélium bronchique à tous les stades de la carcinogenèse bronchique.

**Hypothèse :**

Nous avons émis l'hypothèse que la compréhension de la genèse du carcinome épidermoïde bronchique par la caractérisation de l'évolution des anomalies moléculaires dans les lésions précancéreuses et cancéreuses de l'arbre bronchique nous permettrait d'identifier de nouvelles cibles de détection et éventuellement de chimioprévention pour le cancer bronchique. L'objectif de nos travaux a donc été de caractériser les modifications moléculaires successives et/ou cumulatives sous-jacentes à la transition entre les différents stades histologiques de la carcinogenèse épidermoïde bronchique (épithélium bronchique normal du fumeur, hyperplasie, métaplasie, dysplasies légère, modérée et sévère, CIS et les carcinomes invasifs). Différentes techniques complémentaires ont été successivement utilisées à cet effet :

- 1) étude de l'expression protéique par immunohistochimie (IHC) et immunofluorescence (IF),
- 2) étude de l'expression des ARNs messagers par microdamiers,
- 3) étude de l'expression des microARNs par RT-PCR quantitative.

**Travaux réalisés.**

Afin de sélectionner les protéines à étudier aux différents stades de la carcinogenèse épidermoïde bronchique, nous avons réalisé des revues systématiques de la littérature, intégrant une méta-analyse de l'impact pronostique en terme de survie, nous permettant

de choisir une série de marqueurs sur base de leur intérêt potentiel chez les patients atteints de cancer bronchique non à petites cellules. Nous avons étudié par IHC l'expression de toute une série de protéines, sélectionnées par ces méta-analyses, dans les lésions précurseurs de CEB et dans les CEB : des récepteurs de facteurs de croissance épithéliale (EGFR et c-erbB-2) et des marqueurs de la prolifération cellulaire (Ki-67), des protéines impliquées dans les voies de l'apoptose dont le suppresseur de tumeur p53, ses voies de contrôle (MDM2, p14<sup>arf</sup> et la nucléophosmine, NPM) et la cyclooxygénase 2 (COX-2). En parallèle à ces travaux, nous avons collecté des biopsies fraîchement congelées aux différents stades de la carcinogenèse épidermoïde pour une analyse du transcriptome par microdamiers, ainsi qu'une étude de l'évolution de l'expression des microARNs au cours de la carcinogenèse bronchique par des RT-PCR quantitatives.

### **Conclusions :**

Nos travaux montrent que les anomalies moléculaires apparaissent aux stades les plus précoces de la transformation maligne de l'épithélium bronchique. L'expression protéique des marqueurs étudiés – p53, MDM2, p14<sup>arf</sup>, NPM, Ki-67, COX-2, c-erbB-2, et EGFR – permet d'affiner la classification des lésions bronchiques précancéreuses et de mieux comprendre les voies de la carcinogenèse précoce. Les profils d'expression des gènes et des microARNs apportent une approche originale des étapes successives du processus de carcinogenèse épidermoïde bronchique et ont mis en évidence, d'une part, de très nombreux marqueurs dont le rôle dans ce processus était inconnu et, d'autre part, des signatures permettant de discriminer les lésions qui sont à très haut risque de progression vers un cancer invasif ou qui sont déjà néoplasiques de celles de meilleur pronostic. Les marqueurs qui constituent ces profils sont des candidats potentiels pour la détection précoce du cancer bronchique.

*(Applaudissements)*

\*  
\* \*

## **PRIX QUINQUENNAL DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET THÉRAPEUTIQUES (période 2004-2008)**

Lauréat : M. le Dr Emmanuel HERMANS (U.C.L.).

Mémoire : « Management of invasive procedures and acute haemarthrosis in patients with haemophilia : literature review, European Survey and recommendations ».

Prix attribué le 25 avril 2009.

**PRÉSENTATION DE M. LE Dr E. HERMANS (U.C.L.),  
LAURÉAT DU PRIX QUINQUENNAL DES SCIENCES  
PHARMACEUTIQUES ET THÉRAPEUTIQUES  
(période 2004-2008)**

par

A. DRESSE, membre titulaire

Le jury du Prix quinquennal des sciences pharmaceutiques et thérapeutiques, constitué des Professeurs Louis Hue, Paul-Pierre Pastoret et Albert Dresse, avait à départager trois candidats.

Le Professeur E. Hermans, que j'ai le plaisir de vous présenter, a été retenu pour la qualité de son mémoire intitulé : « Multiplicity and regulation of G-protein couplings : Biochemical evidence and therapeutic relevance ».

Né en 1968, E. Hermans est diplômé Pharmacien de l'U.C.L. en 1990 (PGD), puis Docteur en 1994, sous la direction du Professeur J.-M Maloteaux (PGD). Il réalise ensuite un post-doctorat à Paris et à Leicester pendant deux ans. Il est agrégé de l'enseignement supérieur en 2003 toujours sous la direction du Professeur Maloteaux. Il réalise une carrière complète au F.N.R.S. (d'aspirant à Directeur de recherche) et dirige actuellement un groupe de recherche en Pharmacologie expérimentale (orientation neuro-transmetteur).

Il est l'auteur de 76 publications dans des revues internationales. Les travaux principaux ayant mené aux nouveaux concepts qu'il va nous décrire ont été présentés dans treize publications princeps et deux articles de revue. L'intérêt de son travail est d'avoir montré, avec d'autres auteurs, que certains récepteurs peuvent être couplés à plusieurs systèmes de protéines G différentes, entraînant une multiplicité de la réponse. Cette plasticité basée sur un déplacement d'équilibre entre différentes formes, induit par l'agoniste, rappelle le modèle allostérique de Monod.

Il ne fait pas de doute que les travaux de E. Hermans ont mené à une nouvelle conception du fonctionnement des récepteurs à protéines G. C'est donc sans hésitation que le jury l'a proposé pour ce prix et c'est avec plaisir que nous allons l'entendre résumer les résultats de ses recherches.

*(Applaudissements)*

\*  
\* \*

**PRIX DU CONCOURS ORDINAIRE DE LA 1<sup>re</sup> SECTION  
(période 2008-2009)**

Lauréat : M. le Dr Christophe PIERREUX (U.C.L.).

Mémoire : « Contribution personnelle à l'étude de la formation d'épithélia » et  
« Formation des épithélia de structures tubulaires ».

Prix attribué le 24 avril 2010.

**PRÉSENTATION DE M. LE Dr Ch. PIERREUX, LAURÉAT  
DU PRIX DU CONCOURS ORDINAIRE DE LA 1<sup>re</sup> SECTION  
(période 2008-2009)**

par

A. FERRANT, membre titulaire

Le jury a considéré que les deux mémoires présentés, œuvrant dans deux domaines de recherche différents, sont de grande qualité, et qu'il est difficile de les départager. Néanmoins, après relecture, ainsi qu'au vu de la présentation du mémoire, de la qualité des recherches, des perspectives présentées, et de la maturité scientifique du candidat, il a été suggéré de placer en premier Christophe Pierreux. Cependant, il y a lieu de soutenir les travaux d'un grand intérêt d'Arnaud Florins. Dès lors, il a été proposé que le prix de la première section soit attribué à Christophe Pierreux, et que la médaille de notre Compagnie couronne la recherche d'Arnaud Florins.

Christophe Pierreux est Docteur en Sciences biomédicales, diplôme obtenu avec brio aux FUNDP. Son doctorat a été réalisé dans l'unité Hormones et Métabolisme à l'Institut de Duve, sous la supervision des Professeurs G. Rousseau et F. Lemaigre et a porté sur le contrôle par les glucocorticoïdes et par l'insuline de gènes transcrits dans le foie. Il a effectué un stage post-doctoral dans le « Developmental signalling Laboratory » sous l'égide de l'« Imperial College Cancer Research Fund » à Londres, où il étudie les signaux de transduction et la régulation transcriptionnelle durant le développement précoce des vertébrés. Il effectue actuellement ses recherches dans l'unité de biologie cellulaire, Institut de Duve à l'U.C.L. Il est chercheur qualifié F.N.R.S.

Ses nombreuses publications sont de haut niveau, dont une a fait l'objet d'un éditorial dans la prestigieuse revue « Gastroenterology ».

Les résultats des études ont permis de proposer un nouveau mécanisme de formation des canaux pancréatiques, ainsi qu'un modèle de maladie polykystique du rein. La pertinence des travaux réalisés au niveau du rein tient du fait que le facteur de transcription ZONAB, en régulant l'équilibre entre différenciation et prolifération, pourrait intervenir dans le développement d'un cancer, le carcinome rénal à cellules claires.

*(Applaudissements)*

\*

\* \*

**MÉDAILLE DE L'ACADÉMIE  
DANS LE CADRE DU PRIX DU CONCOURS ORDINAIRE  
DE LA 1<sup>re</sup> SECTION  
(période 2008-2009)**

Lauréat : M. le Dr Arnaud FLORINS (Fusagx-U.L.B.).

Mémoire : « Homéostasie du compartiment lymphocytaire périphérique au cours de la leucémogenèse induite par le virus de la leucémie bovine ».

Prix attribué le 24 avril 2010.

**PRÉSENTATION DE M. LE Dr A. FLORINS,  
LAURÉAT DU PRIX DU CONCOURS ORDINAIRE  
DE LA 1<sup>re</sup> SECTION  
(période 2008-2009)**

par

A. FERRANT, membre titulaire

Arnaud Florins est ingénieur chimiste et des bioindustries, et effectue ses recherches, qui ont abouti au titre de Docteur en Sciences, dans le service de biologie cellulaire et moléculaire de la Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux. Il a toujours été attiré par les sciences et les mathématiques. L'opération Télévie a été pour lui un élément déclenchant dans le choix de ses études, dont il appréciait les matières, et qu'il espère exploiter pour mieux comprendre la leucémogenèse, et ainsi être utile à ses malheureux concitoyens victimes de cette maladie. C'est ainsi que le thème de la thèse qu'il a présentée est l'étude de la leucémie dans un modèle ovin. Les publications sont nombreuses et de qualité remarquable et enviable. Il est chargé de recherches F.N.R.S.

Le but de ses travaux est d'étudier les facteurs intervenant dans l'homéostasie lymphocytaire chez des moutons infectés par le virus de la leucémie bovine, qui constitue un modèle *in vivo* d'infection par rétrovirus responsable de leucémie, cette leucémie étant apparentée à celle induite par le virus HTLV chez l'homme. Ce modèle est à la base d'approches thérapeutiques élégantes.

(Applaudissements)

\*  
\*   \*   \*

**PRIX DU CONCOURS ORDINAIRE DE LA 5<sup>e</sup> SECTION**

Lauréate : M<sup>me</sup> le Dr Anne-Catherine SERVAIS (U.Lg.).

Mémoire : « Applications de l'électrophorèse capillaire en milieu non aqueux en analyse pharmaceutique et biomédicale ».

Prix attribué le 24 avril 2010.

**PRÉSENTATION DE M<sup>me</sup> le Dr A.-C. SERVAIS, LAURÉATE  
DU PRIX DU CONCOURS ORDINAIRE DE LA 5<sup>e</sup> SECTION**

par

W.J. MALAISSE, membre titulaire

Monsieur le Président, Monsieur le Secrétaire perpétuel, chers Collègues, le Docteur Anne-Catherine Servais a obtenu en 1997 le diplôme de Candidat en Sciences Pharmaceutiques, en 2000 le diplôme de Pharmacien, en 2001 le diplôme de titulaire d'un DEA an Sciences Pharmaceutiques et en 2005 le Diplôme de Docteur en Sciences Pharmaceutiques, chaque fois avec la plus grande distinction à l'Université de Liège. Elle fut successivement aspirant, collaborateur scientifique et enfin chargé de recherches au Fonds National de la Recherche Scientifique. Son curriculum vitae fait état de pas moins que quinze articles publiés dans des revues internationales et dont elle est le premier ou dernier auteur et neuf autres articles dont elle est co-auteur. Son mémoire déposé en janvier 2010 en vue du concours ordinaire à la cinquième Section de l'Académie royale de Médecine de Belgique est intitulé « Applications de l'électrophorèse capillaire en milieu non aqueux en analyse pharmaceutique et biomédicale ». Ce mémoire comporte, outre vingt pages d'introduction, de conclusions et de bibliographie, la copie de seize articles dont le Docteur Servais est neuf fois le premier auteur et quatre fois le dernier auteur, articles qui furent publiés ou sont acceptés pour publication onze fois dans *Electrophoresis*, trois fois dans le « *Journal of Chromatography* » et une fois soit dans le « *Journal of Separation Science* », soit dans le « *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* ». Ses travaux ont notamment trait au dosage des molécules médicamenteuses par électrophorèse capillaire et son application à la séparation et quantification des énantiomères de composés chiraux dont la stéréospécificité peut concerner tant les processus d'absorption, de distribution, de métabolisation et d'excrétion que l'efficacité et la sécurité thérapeutiques. Le Jury du Prix du concours ordinaire à la cinquième Section de l'Académie royale de Médecine de Belgique, composé des Professeurs Jean-Marie Boeynaems et André Scheen, sous la présidence de votre serviteur, a proposé à l'unanimité l'attribution de ce Prix au Docteur Anne-Catherine Servais, que j'invite à présent à exposer l'essentiel de ses travaux.

*(Applaudissements)*

\*  
\* \*

**PRIX ALVARENGA DE PIAUHY 2009  
(période 2009)**

Lauréat : M. le Dr Jean-François COLLET (U.C.L.).

Mémoire : « Un nouveau système protéique protège les cystéines célibataires contre le stress oxydant ».

Prix attribué le 24 avril 2010.

**PRÉSENTATION DE M. le Dr J.-F. COLLET,  
LAURÉAT DU PRIX ALVARENGA DE PIAUHY 2009**

par

L. HUE, membre titulaire

Le jury du Prix était composé des Professeurs P. Coulie, J.O. Defraigne, J. Dumont et de moi-même, en tant que Président. Deux mémoires ont été déposés : le premier par le Professeur J.-F. Collet de l'Institut de Duve, et le second par Madame Nathalie Vigneron de l'Institut Ludwig de Recherche sur le Cancer associé à l'Institut de Duve de Bruxelles. Le mémoire présenté par le Prof. J.-F. Collet résume plusieurs années de travaux. Il s'agit d'une recherche fondamentale consacrée à l'étude du repliement des protéines. Ses travaux ont mené à plusieurs publications dans des revues prestigieuses.

Les membres du jury ont souligné la qualité des travaux proposés et ont attribué à l'unanimité le Prix Alvarenga de Piauhy 2009 au Prof. J.-F. Collet pour les travaux qu'il a dirigés et les découvertes auxquelles ses recherches ont mené. Le Prof. J.-F. Collet est âgé de 38 ans.

Après des études d'Ingénieur Chimiste et des Industries Agricoles à l'U.C.L. (1995), le Prof. J.-F. Collet a réalisé une thèse de doctorat sous la direction du Prof. Emile Van Schaftingen à l'Institut de Duve et a défendu sa thèse en 2000. Ensuite il a effectué un séjour post-doctoral de recherche dans le laboratoire du Prof James Bardwell du Howard Hughes Medical Institute à l'Université de Michigan aux Etats-Unis. C'est là que débutent ses travaux sur l'état redox et le repliement des protéines. En 2004, il rejoint l'Institut de Duve où il dirige une équipe de recherche. Il est nommé Professeur à l'U.C.L. en 2005. Avec le Prof. Joris Messens de la V.U.B., le Prof. J.-F. Collet vient de fonder le « Brussels Center for Redox Biology ». Leurs travaux ont déjà fait l'objet de publication dans la revue Science.

Le Prof. J.-F. Collet a obtenu plusieurs Prix et a présenté une lecture remarquée devant notre Académie. Je le félicite d'emblée pour l'originalité de ses travaux et je l'invite à vous les présenter brièvement.

*(Applaudissements)*

\*  
\* \*



**MÉDAILLE DE L'ACADÉMIE  
DANS LE CADRE DU PRIX ALVARENGA DE PIAUHY 2009**

Lauréate : M<sup>me</sup> le Dr Nathalie VIGNERON (U.C.L.).

Mémoire : « Peptides antigéniques produits par épissage peptidique dans le protéasome ».

Prix attribué le 24 avril 2010.

**PRÉSENTATION DE M<sup>me</sup> LE Dr N. VIGNERON,  
LAURÉATE DU PRIX ALVARENGA DE PIAUHY 2009**

par

L. HUE, membre titulaire

Par ailleurs, les membres du jury ont également décidé de reconnaître la qualité des travaux de M<sup>me</sup> Vigneron en lui attribuant la médaille de l'Académie.

M<sup>me</sup> Nathalie Vigneron est titulaire d'un diplôme de maîtrise en Sciences Biologiques de l'U.Lg. obtenu en 1999. Elle réalise un travail de doctorat sous la direction du Professeur B. Van den Eynde à l'Institut Ludwig de Recherche sur le Cancer. Elle obtient le titre de Docteur en Sciences Biomédicales de l'U.C.L. en 2005. Elle effectue ensuite un séjour post-doctoral de trois ans dans le laboratoire du Professeur P. Cresswell à Yale, où elle poursuit ses travaux sur l'étude de la présentation antigénique. Elle revient dans le laboratoire du Professeur B. Van den Eynde en 2008 et est actuellement chargée de recherche du F.N.R.S.

Le mémoire présenté par M<sup>me</sup> Vigneron est sa thèse de doctorat. Ce travail est consacré à l'analyse des peptides antigéniques exprimés par les cellules tumorales et à l'étude des mécanismes impliqués dans leur synthèse. Il a mené à plusieurs publications prestigieuses.

*(Applaudissements)*

\*  
\* \*

**PRIX DOCTEUR MAURICE GODIN-MARIA SAVELKOUL  
(période 2007-2009)**

Lauréat : M. le Dr Jean-Baptiste DEMOULIN (U.C.L.).

Mémoires : « The fusion proteins TEL-PDGFR $\beta$  and FIP1L1-PDGFR $\alpha$  escape ubiquitination and degradation ». (F. Toffalini, A. Kallin, P. Vandenberghe, P. Pierre, L. Michaux, J. Cools et J.-B. Demoulin).

« KANKI, a candidate tumor suppressor gene, is fused to PDGFRB in an imatinib-responsive myclloid neoplasm with severe thrombocythemia ».

« The transcription of FOXO Genes is stimulated by FOXO3 and repressed by Growth Factors ». (A.Essaghir, N.Dif, C.Y.Marbehant, P.J.Coffier et J.-B.Demoulin).

Prix attribué le 24 avril 2010.

**PRÉSENTATION DE M. LE Dr J.-B. DEMOULIN (U.C.L.)  
LAURÉAT DU PRIX MAURICE GODIN-MARIA SAVELKOUL  
(période 2007-2009)**

par

G. ROUSSEAU, membre titulaire

Le jury, composé des Professeurs J.E. Dumont, G. Vassart, A. Belayew et moi-même (comme Président), a recommandé à l'unanimité l'octroi de ce Prix à M. Jean-Baptiste Demoulin pour son travail intitulé « Rôle des récepteurs du PDGF et du FGF dans les cancers ».

Jean-Baptiste Demoulin, âgé de 39 ans, est Pharmacien et Docteur en Sciences pharmaceutiques de l'U.C.L., deux diplômes obtenus avec la plus grande distinction et les félicitations du jury. Aspirant puis chargé de recherches du F.N.R.S., M. Demoulin a effectué un stage post-doctoral d'un an à l'Institut Ludwig de Bruxelles chez le Professeur Th. Boon, puis un stage de trois ans chez le Professeur Carl-Henrik Heldin à l'Institut Ludwig d'Uppsala. Il est actuellement chercheur à l'Institut de Duve et chargé de cours à la Faculté de médecine de l'U.C.L.

Les découvertes du Dr Demoulin ont fait progresser de manière très significative la connaissance du rôle des récepteurs des facteurs de croissance PDGF et FGF dans l'oncogenèse. Par une approche moléculaire, il a démontré que des réarrangements chromosomiques impliquant les gènes de ces récepteurs ont un impact fonctionnel sur différents cancers. Ses stratégies expérimentales de pointe ont permis de mieux comprendre le rôle, dans des leucémies myéloïdes chroniques, de molécules hybrides résultant de la fusion du récepteur du PDGF avec une autre protéine. Ses expériences ont par ailleurs montré comment l'expression des facteurs de transcription FOXO est inhibée par les facteurs de croissance. Ceci bloque, dans la cellule cancéreuse, une voie qui normalement freine la prolifération et induit l'apoptose.

Les travaux du Dr Demoulin constituent un bel exemple de recherche translationnelle, puisqu'ils s'inscrivent dans l'instauration de meilleures stratégies thérapeutiques pour les patients. M. Demoulin, vous avez la parole.

*(Applaudissements)*

\*  
\* \*

**PRIX DU DOCTEUR A. DUBOIS  
POUR LA PATHOLOGIE TROPICALE  
(2005-2009)**

Lauréat : M. le Dr B. VANHOLLEBEKE (U.C.L.).

Mémoire : « Travaux concernant la trypanosomiase humaine, maladie tropicale africaine en pleine recrudescence ».

Prix attribué le 28 novembre 2009.

**PRÉSENTATION DE M. LE Dr. B. VANHOLLEBEKE (U.C.L.)  
LAURÉAT DU PRIX A. DUBOIS  
POUR LA PATHOLOGIE TROPICALE  
(période 2005-2009)**

par

M. WÉRY, membre titulaire

Après avoir très brillamment complété des études de bioingénieur à l'U.C.L., Benoît Vanhollenbeke a décidé de consacrer son travail de doctorat à une thématique en rapport avec les pays en voie de développement. C'est ainsi qu'il a rejoint le groupe de Parasitologie Moléculaire à l'U.L.B., dirigé par notre Collègue Etienne Pays, pour étudier les relations complexes entre le parasite *Trypanosoma brucei* et l'homme, chez qui cet organisme provoque la maladie du sommeil, un fléau du continent africain. On savait depuis Laveran (1912) que l'homme est intrinsèquement résistant à *Trypanosoma brucei* mais pas à certaines espèces voisines comme *T. b. rhodesiense* qui peuvent néanmoins infecter l'homme et produire la maladie du sommeil en échappant à notre système de défense naturel contre ce parasite.

Le groupe d'Etienne Pays avait montré, en 2003, que la protéine sérique appelée apolipoprotéine 1 était responsable de notre immunité contre *T. brucei*, grâce à sa capacité à tuer très efficacement ce parasite. Nous savions également que l'infection de l'homme par *T. brucei rhodesiense* était due à la neutralisation de l'apoL1 par une protéine spécifique de ce parasite.

La première contribution de Benoît Vanhollenbeke dans ce contexte fut de participer à l'élucidation du mécanisme par lequel l'apoL1 tue *T. brucei*. Ce travail, publié dans le prestigieux journal *Science* en 2005, révéla la faculté inattendue de l'apoL1 de créer des canaux ioniques dans la membrane du lysosome, la vacuole digestive du parasite. Les recherches suivantes du lauréat furent consacrées à l'étude du processus par lequel le parasite absorbe avidement l'apoL1 en dépit de sa toxicité. Cette longue et complexe analyse révéla que l'apoL1 est associée dans certaines particules d'HDL à d'autres protéines dont l'Haptoglobine Related Protein (HPR) ressemblant fort à l'haptoglobine,

qui joue un rôle essentiel dans la capture de l'apoL1 par le trypanosome. En effet, en liant l'hémoglobine comme le fait aussi l'haptoglobine, l'HPR est reconnue par un récepteur de surface du parasite, auquel donc les particules d'HDL porteuses de l'HPR et de l'apoL1 se fixent efficacement. Le doctorant démontra que la fonction originale du récepteur est de fixer le complexe haptoglobine-hémoglobine, pour internalisation de l'hémoglobine dans le parasite et utilisation de l'hème comme facteur de croissance. Dans le sang humain, la présence des particules d'HDL porteuses du complexe HPR-hémoglobine est donc mal comprise par le parasite, qui internalise rapidement ces particules aussi porteuses de la toxine apoL1, ce qui entraîne sa destruction. On peut donc parler d'un système d'attaque de type « cheval de Troie », car le sang humain contient des particules trypanolytiques déguisées sous forme de facteur de croissance pour le parasite. Cette découverte importante, totalement originale, donna lieu à plusieurs publications de haut niveau dans « *Proceedings of the National Academy of Science, New England Journal of Medicine et Science* ».

Plus récemment, le Dr Vanhollebeke contribua de façon décisive à la démonstration qu'en Afrique, de nombreux sujets ont acquis des mutations de l'apoL1 qui leur permettent de résister à l'infection par *T. brucei rhodesiense*, le prix à payer pour cette adaptation étant le développement progressif d'une insuffisance rénale terminale. Ce travail, publié à nouveau dans *Science*, devrait donner lieu à des développements importants, aussi bien dans le contrôle de la maladie du sommeil que dans la compréhension de l'insuffisance rénale chronique, une maladie très fréquente mais largement incomprise.

Benoît Vanhollebeke est un chercheur doué d'une intelligence exceptionnelle et d'une haute compétence technique. Actuellement il effectue un stage post-doctoral aux Etats-Unis, pour lequel son projet de recherche a été classé premier sur 672 par le prestigieux « *Human Frontiers Science Programme* ». Etant donné sa grande valeur reconnue par tous, le Dr Vanhollebeke a obtenu l'exceptionnelle faveur d'être nommé Professeur assistant à l'issue de son travail de thèse. Il ne fait aucun doute que le Prix Dubois est le premier d'une longue série.

(*Applaudissements*)

\*  
\* \*

### **Résumé du travail de M. le Dr B. VANHOLLEBEKE (U.C.L.), Couronné par l'Académie**

#### THE TRYPANOLYTIC FACTOR OF HUMAN SERUM : A TROJAN HORSE

African trypanosomes, the prototype of which is *Trypanosoma brucei*, are protozoan parasites of huge clinical, veterinary and economical importance. They develop in the body fluids of various mammals (including humans) where they face and manipulate many different aspects of the immune system. The extent of this interplay is pivotal

to both host and parasite survival, and depending on parasite virulence and host susceptibility, infection duration ranges from some months to several years. At the end, host survival is invariably compromised.

Humans and few other primates provide however a striking exception to this fatal outcome. They are indeed fully protected against most trypanosome infections through the presence in their blood of a so-called trypanosome lytic factor (TLF). The TLF is known to circulate mainly in the form of a high density lipoprotein particle characterized by the simultaneous presence of two primate-specific proteins : haptoglobin-related protein (Hpr) and apolipoprotein L-I (apoL-I).

We have contributed to delineate the respective roles played by Hpr and apoL-I in the lysis process.

ApoL-I was shown to be the exclusive toxin of the TLF. In its absence humans get fully susceptible to any trypanosome infection. The toxin was shown to kill the parasite after endocytosis through the generation of ionic pores in the lysosomal membrane. Those pores dissipate membrane potential and trigger the influx of chloride ions from the cytoplasm into the lysosomal compartment, leading to an eventually fatal uncontrolled osmotic phenomenon.

ApoL-I efficient delivery to the parasite relies on Hpr. African trypanosomes indeed fulfil their heme nutritional requirements by receptor-mediated internalization of the complex formed by haptoglobin, an evolutionary conserved acute-phase protein, and hemoglobin, resulting from physiological intravascular hemolysis. This heme uptake by the auxotrophic parasites contributes to both growth rate and resistance against host oxidative burst. In human serum, the trypanosome receptor is unable to discriminate between Hp and the closely related TLF-bound Hpr, explaining TLF efficient endocytosis.

As such, the TLF acts as a Trojan horse, killing the parasite from inside the cell after having deceived its vigilance through the high similarity between heme-delivering haptoglobin and toxin-associated Hpr.

\*  
\* \*

Séance publique du 18 septembre 2010

---



## SÉANCE PUBLIQUE DU 18 SEPTEMBRE 2010

---

Au Bureau : M. L. Hue, Président ; MM. J. Frühling, Secrétaire perpétuel, P.-P. Pastoret et W.J. Malaisse, premier et second vice-présidents.

Sont présents :

MM. G. Primo, J. Christophe, Ch. van Ypersele de Strihou, membres honoraires ;

MM. M. Lamy, J.-B. Otte, R. Lauwerys, Y. Pirson, J.D. Born, A. Ferrant, J. Nève, A. Scheen, M<sup>me</sup> Fr. Meunier, membres titulaires ;

MM. J. Content, Y. Carlier, Mme J. Fontaine ; MM. A. Ablert, B. Lengelé, G. Casimir, D. Giet, M<sup>me</sup> A. Noël, MM. M. Hamoir, J.-C. Renauld, membres ordinaires.

\*

\* \*

MM. R. Görtz, E.H. Betz, J. Bonnal, L. Molle, P. Dumont, A. Burny, P. Lefèbre, membres honoraires ; J. Brotchi, L. Angenot, Th. de Barsy, G. Rorive, J. Boniver, G. Meulemans, L. Delattre, J. Melin, membres titulaires ; J. Crommen, F. Houssiau, D. Lison, S. Louryan, E. Sokal, J. Klastersky, Ch. Delloye, R. Reding, membres ordinaires, ont exprimé leurs regrets de ne pouvoir assister à la séance.

\*

\* \*





## Lectures

### I

## CELL-CELL AND CELL-MATRIX INTERACTIONS IN THE SKIN – IMPLICATIONS FOR TISSUE REPAIR AND CHRONIC WOUNDS

par

Th. KRIEG (University of Cologne) (\*), et coll. (\*\*)

During recent years it was increasingly realized by many disciplines that the skin is not only an important organ by itself, but that it functions as an excellent model system and can be used to address many biological and pathological mechanisms of general importance. This is due to the fact that the skin is a complex organ comprising different tissues, which closely interact with one another. The skin also contains different ECM structures, among them the basement membranes and the interstitial connective tissue. The skin is easily accessible for biopsies and most of the cellular constituents of the skin can be grown in culture. All this indicates that the skin is an interesting model that is especially suitable to study cell-cell and cell-matrix interactions.

### STRUCTURE AND COMPOSITION OF THE SKIN

The outermost compartment of the skin is the epidermis with a terminally differentiating epithelial cell system and some other non-abundant, but important cells, like the Langerhans cells, which represent a major immuno-competent cellular system. Cohesion in the epidermis is maintained by several types of junctions that connect keratinocytes, e.g. adherens and tight junctions (Tunggal *et al*, 2005). Several diseases are known, which are due to disruptions of these junctions. The basal keratinocytes sit on the underlying basement membrane (BM) to which they are anchored by a number of different molecules including a family of cellular receptors called the integrins. The BM is a specialized extracellular matrix structure that controls the passage of molecules and cells between dermis and epidermis in both directions. Unlike the epidermis, the dermis contains many different ECM molecules which together form the interstitial connective tissue, which is a strong mechanical barrier in the skin but also has a number of important functional activities. Embedded in this ECM we find fibroblasts, myofibroblasts, blood vessels as well as migrating dendritic cells, mast cells and others.

(\*) Invité par le Bureau en vertu de l'article 15 §3 du Règlement.

(\*\*) M. B. ECKES<sup>1</sup> et M<sup>m</sup>c S. EMING<sup>2</sup>

There is an intense communication between all these different cellular components involving direct cell-cell interactions and indirect communication by released cytokines and growth factors. There is also communication between the cells and the surrounding ECM, which regulates cellular differentiation by outside-in signalling and by modification of the cellular responses to cytokines and growth factors.

## **SKIN WOUND HEALING**

Upon injury, a tissue repair programme is initiated, which is a highly dynamic process involving the regulation of inflammation, mesenchymal tissue regeneration, an intense neoangiogenic response and reepithelialization. All these processes are coordinately orchestrated by a large number of growth factors and cytokines, which determine the communication between all involved cells. Dermal healing is effected by fibroblasts as the major source for generating new extracellular matrix. During the early phase of wound healing, a pro-inflammatory reaction activates tissue resident fibroblasts and probably also lures circulating fibroblastic precursor cells into the injured area. Later, these activated fibroblasts develop a contractile phenotype that expresses  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ SMA) and generates mechanical tension. Apart from expression of this muscle-specific actin isoform, these myofibroblasts are characterized by high ECM synthesis and they are also found in many other fibrotic processes. After the initial phase of repair these myofibroblasts undergo apoptosis and fibroblasts are then responsible for the long term remodelling of the scar tissue. The tightly controlled balance between cellular proliferation, ECM deposition and controlled apoptosis is essential for tissue integrity. Abnormal tissue contraction or excessive ECM deposition are seen in hypertrophic scars and many fibrotic processes. Chronic wounds are further very common examples for an impaired balance between activation of cellular activities, protease mediated tissue destruction and apoptosis of different cellular components.

## **THE EXTRACELLULAR MATRIX IN SKIN**

The ECM consists of many structural proteins, proteoglycans and matricellular proteins. All these components closely interact with each other and build up a large network embedding the cellular components.

The main structural components of the ECM are the collagens, which represent a number of protein families arising from more than 42 genes coding for 28 different collagen subtypes. These collagen molecules consist of three polypeptide chains assembled in a triple helix. They undergo numerous posttranslational modifications, which are enzymatically controlled. The macromolecular organization depends on the molecular structure of each subtype.

The interstitial collagens in skin form fibrils, collagen VI aggregates into microfibrillar structures while collagen IV and VIII form large networks. Collagen VII is the molecular constituent of anchoring fibrils that connect the basement membrane of the skin with the underlying dermis. Further, there are several FACIT collagens (fibril associated with

interrupted triple helices), multiplexins and transmembrane collagens, which are involved in the regulation of fibril formation and in the formation of cell matrix contact sites.

Collagens are proteolytically processed, giving rise to structural domains, which also exert biological activities that can differ from the activities of their parent molecules. Several of these collagen cleavage products have been reported to regulate angiogenesis (Mundel & Kalluri, 2007).

Fibrillin is another large glycoprotein, which aggregates together with the fibulins and elastin in the elastic tissues. One of the best characterized glycoproteins of the ECM is fibronectin, a large adhesive protein with many biological functions. Many of the so-called matricellular proteins are also part of the skin ECM (e.g. thrombospondins) exerting several biological activities and regulating cytokine activity and cellular differentiation.

Certainly, the skin contains basement membrane proteins in the dermo-epidermal junction and also around blood vessels. These include the laminins, collagen IV, perlecan and others.

Research in the past years has come up with new concepts and great advances toward a better understanding of the role of these matrix molecules. It became clear that they profoundly influence numerous vital cellular functions in physiological and pathological conditions. Recently, the in depth analysis of the mechanisms involved in inborn diseases such as Marfan syndrome has demonstrated that the ECM is an important regulator of cytokine activity by e.g. providing a huge reservoir for TGF $\beta$  (Ramirez *et al*, 2007). Further examples have underscored the modulation of growth factor activity by binding to ECM proteins that not only affects TGF $\beta$ , but seems to be a more general mechanism controlling tissue homeostasis.

## CELLULAR INTERACTIONS WITH THE ECM

It is well established that the ECM directly binds to cells and induces signals, which control cell shape, proliferation and metabolism. This interaction is mediated by a number of receptors, mainly by the integrins, which represent a large family of heterodimeric molecules specifically binding certain extracellular ligands. Three integrins, the  $\alpha 1\beta 1$ ,  $\alpha 2\beta 1$  and  $\alpha 11\beta 1$ , bind native interstitial collagens. Deletion of the  $\alpha 2$  subunit in a mice leads to several subtle symptoms, including increased bleeding time and increased granulation tissue formation in wounds (Holtkotter *et al*, 2002; Zweers *et al*, 2007). However, the mice developed normally. Similarly mild phenotypes were also observed in mice with specific ablation of the  $\alpha 1$  or the  $\alpha 11$  subunit, indicating a high degree of functional compensation. Nevertheless, detailed investigation of these mice indicated that keratinocytes and also platelets require  $\alpha 2\beta 1$  integrin to bind to collagen. Fibroblasts, however, mainly use  $\alpha 11\beta 1$  and to a lesser extent the other two collagen binding integrins for collagen binding. Interestingly,  $\alpha 2\beta 1$  and  $\alpha 11\beta 1$  seem to be involved in the control of myofibroblast formation, and the  $\alpha 2\beta 1$  receptor regulates angiogenesis by acting as receptor for endorepellin, which is a cleavage product of perlecan (Nyström *et al*, 2009).

As integrins have no inherent enzymatic activity, they signal by associating with intracellular signalling proteins in focal adhesions, among them integrin-linked kinase (ILK) and a number of other proteins, e.g. paxillin, vinculin, parvin, kindlin and others, which provide a connection to the intracellular cytoskeleton.

Since mice with a complete absence of ILK are lethal at an early embryonic stage, conditional inactivation of ILK specifically in fibroblasts has been used to study the role of this protein for fibroblast functions during tissue repair. There was a marked reduction of granulation tissue following dermal injury in mice with fibroblast-restricted ablation of ILK. These fibroblasts were then studied in detail in cell culture. It turned out that they were characterized by disrupted focal adhesions, deregulated Rho GTPase activity and reduced TGF $\beta$  production (Blumbach *et al*, 2010). The data clearly indicate that proper formation of focal adhesions is required for generation of myofibroblasts and wound contraction.

## **ROLE OF PROTEASES IN CHRONIC WOUNDS**

Chronic wounds are characterized by severely reduced angiogenesis. Therefore the question was raised, whether the communication between keratinocytes producing vascular endothelial growth factor (VEGF) and endothelial cells might be disturbed. Further analysis then revealed that VEGF production in keratinocytes was intact, but that VEGF was rapidly degraded in wound fluids obtained from chronic wounds (Lauer *et al*, 2000). After identification of the proteases responsible for the degradation, a VEGF mutant was generated, which did not contain the cleavage site but still was biologically active. It was also shown that this VEGF was stable in chronic wound fluids. This mutant VEGF was then applied to wounds in a diabetic mouse model with reduced granulation tissue where it significantly accelerated the healing process (Lauer *et al*, 2002; Roth *et al*, 2006). Current work now aims at developing an angiogenesis-inducing scaffold by coupling the mutant VEGF as an active mediator.

Further work was carried out to identify the inflammatory cell types required for the healing response at different stages during tissue repair. Recent data indicate that macrophages are important in early wound repair to induce angiogenesis, myofibroblast formation and to initiate epithelialization, however they are dispensable for tissue maturation (Lucas *et al*, 2010).

Altogether, the present work demonstrates that the skin provides a useful system to study communication between cells and with the surrounding ECM in complex biological situations e.g. in tissue repair. The data provide evidence for key mechanisms involved in fibrosis and defective tissue repair. Further work will enable us to build on this knowledge to promote novel therapeutic approaches modulating fibroblast functions and their interaction with the ECM and with inflammatory cells.

\*  
\* \*

## SUMMARY

The skin is a complex organ composed by two essential components, the epidermis and the dermis. It is developed to protect the organism against all external damage e.g. infectious agents, UV and contains a number of different specialized cell types with distinct functions. The skin is also built up by extracellular matrix constituents, which are either arranged into basement membrane structures or form the interstitial connective tissue. There is extensive communication between and within the cellular compartments and the extracellular matrix at different levels to establish, maintain and restore skin homeostasis. It is the aim of our group to understand the mechanisms, how these different cellular and structural components communicate and to dissect the molecular basis of diseases resulting from disturbances of this balance. These include chronic inflammatory diseases, fibrosis and defective regulation of wound healing. This will allow the identification of new therapeutic targets that can be used to specifically interfere with defined steps leading to these diseases.

## BIBLIOGRAPHY

1. BLUMBACH K., ZWEERS M.C., BRUNNER G., PETERS A.S., SCHMITZ M., SCHULZ J.N., SCHILD A., DENTON C.P., SAKAI T., FAESSLER R., KRIEG TH., ECKES B., *Defective granulation tissue formation in mice with specific ablation of integrin-linked kinase in fibroblasts – role of TGF- $\beta$ 1 levels and RhoA activity*, J. Cell. Sci. in press, 2010.
2. HOLTKOTTER O., NIESWANDT B., SMYTH N., MULLER W., HAFNER M., SCHULTE V., KRIEG TH., ECKES B., *Integrin alpha 2-deficient mice develop normally, are fertile, but display partially defective platelet interaction with collagen*, J. Biol. Chem., 277, 10789-10794, 2002.
3. LAUER G., SOLLBERG S., COLE M., FLAMME I., STURZEBECHER J., MANN K., KRIEG TH., EMING S.A., *Expression and proteolysis of vascular endothelial growth factor is increased in chronic wounds*, J. Invest. Dermatol., 115, 12-18, 2002.
4. LAUER G., SOLLBERG S., COLE M., KRIEG TH., EMING S.A., *Generation of a novel proteolysis resistant vascular endothelial growth factor165 variant by a site-directed mutation at the plasmin sensitive cleavage site*, FEBS Lett., 531, 309-313, 2002.
5. LUCAS T., WAISMAN A., RANJAN R., ROES J., KRIEG TH., MÜLLER W., ROERS A., EMING S.A., *Differential roles of macrophages in diverse phases of skin repair*, J. Immunol., 184, 3964-3977, 2010.
6. MUNDEL T.M., KALLURI R., *Type IV collagen-derived angiogenesis inhibitors*, Microvasc. Res. 74, 85-89, 2007.
7. NYSTRÖM A., SHAIK Z.P., GULLBERG D., KRIEG TH., ECKES B., ZENT R., POZZI A., IOZZO R.V., *Role of tyrosine phosphatase SHP-1 in the mechanism of endorepellin angiostatic activity*, Blood., 114, 4897-4906, 2009.
8. RAMIREZ F., DIETZ H.C., *Marfan syndrome : from molecular pathogenesis to clinical treatment*, Curr. Op. Genet. Dev., 17, 252-258, 2007.
9. ROTH D., PIEKAREK M., PAULSSON M., CHRIST H., KRIEG TH., BLOCH W., DAVIDSON J.M., EMING S.A., *Plasmin modulates vascular endothelial growth factor-A-mediated angiogenesis during wound repair*, Am. J. Pathol., 168, 670-684, 2006.
10. TUNGGAL J.A., HELFRICH I., SCHMITZ A., SCHWARZ H., GUNZEL D., FROMM M., KEMLER R., KRIEG TH., NIESSEN C.M., *E-cadherin is essential for in vivo epidermal barrier function by regulating tight junctions*, Embo. J., 24, 1146-1156, 2005.
11. ZWEERS M.C., DAVIDSON J.M., POZZI A., HALLINGER R., JANZ K., QUONDAMATTEO F., LEUTGEB B., KRIEG TH., ECKES B., *Integrin  $\alpha$ 2 $\beta$ 1 is required for regulation of murine wound angiogenesis but is dispensable for reepithelialization*, J. Invest. Dermatol., 127, 467-478, 2007.

(<sup>1</sup>Department of Dermatology, University of Cologne – Germany, <sup>2</sup>CECAD, University of Cologne – Germany, <sup>3</sup>CMMC, University of Cologne – Germany).

\*

\* \*

## Discussion

*M. Y. Carrier.* – I thank you very much for your interesting presentation. Could you comment about the skin cells and lymphocytes interactions, particularly in case of entaneous lymphomas ?

*M. Th. Krieg.* – Many of the cell types present in skin but also the extracellular matrix in the dermis, interact with normal lymphocytes and lymphoma cells. They sometimes provide an environment allowing preferred homing of lymphoma cells to the skin where they can then accumulate and give rise to skin lymphomas.

*M. L. Hue.* – Given the large number of alpha integrin isoforms, one would you expect redundancy. However, knocking down only one alpha isoform results in an abnormal phenotype. How do you explain this ? Do you know whether inhibitors of plasmin have been used to treat venous ulcers ?

*M. Th. Krieg.* – There is intense redundancy in the functions of the different collagen binding integrins. Therefore the phenotype observed in our knockout mice is not severe and we had to apply challenges to induce the phenotypes. Several approaches have been taken to inhibit protease activities in chronic wounds, however, all proteases have also functions which promote healing. We have therefore used the approach not to inhibit plasmin activity but to secure the growth factor VEGF from degradation.

*M<sup>me</sup> A. Noël.* – You have mentioned the contribution of the integrin m linked kinase (ILK) and  $\alpha_{11}$  integrin subunit in myofibroblast functions. Are these molecules specifically expressed by myofibroblasts ? Are they expressed by quiescent normal fibroblast ?

*M. Th. Krieg.* – No, ILK is expressed in virtually all cell types and integrin  $\alpha_{11}$  is expressed mainly in fibroblasts. They are expressed in quiescent fibroblasts as well as in myofibroblasts.

*M. Y. Pirson.* – Regarding Goodpasture disease, you cited as an example of autoimmune disease of the skin, I knew the respiratory and the renal manifestations of this disease but not the skin involvement. Could you comment a little bit about this ?

*M. Th. Krieg.* – No, I just mentioned Goodpasture Syndrome as an example of a collagen autoimmune disease with phenotypes in kidney and lung where the antigen is exposed.

*M. M. Lamy.* – You have presented VEGF as a potential therapeutic agent for chronic ulcers. Has this agent been used in human beings ? If this is the case, does this agent create deleterious side effects, particularly if it is used on a large scale like in burned patients ?

*M. Th. Krieg.* – It has not been used in humans. We are currently further developing our protein to allow restricted topical application.

\*  
\*   \*

## CROSS-LINKS DU COLLAGÈNE ET QUALITÉ DE L'OS

par

X. BANSE (U.C.L.) (\*)

### Introduction

L'objet de ce travail est d'aider à comprendre la relation qu'il y a entre la nature, la structure et la fonction du tissu osseux. L'exploration de cette question fait appel à différentes disciplines (médecine, biomécanique, ingénierie, histologie, biochimie...) et nécessite d'aller de l'infiniment petit à la fonction macroscopique.

### Fonction de l'os

Contrairement aux insectes qui ont un exosquelette, les vertébrés possèdent un endosquelette. Le squelette est composé de structures de tailles et de formes différentes : les os. Leur fonction primaire est de supporter l'application de forces sans se déformer. Pour cela ils doivent être suffisamment rigides. Ainsi, lorsque le quadriceps se contracte, le genou va s'étendre car le fémur ne se déforme pas. En fait, comme tous les matériaux, il se déforme, mais très peu (de l'ordre du millimètre). Si le fémur est rigide c'est parce qu'il est constitué de tissus osseux, un matériau dont le module d'élasticité ( $E_{\text{mod}}$ ) est relativement élevé. Les os supportent le corps, en assurant la statique, mais aussi la dynamique. Ils sont garants du mouvement. Le muscle donne la force, mais celle-ci a besoin d'un point d'application (fixe) pour se transformer en mouvement. La locomotion des vertébrés dépend donc de la rigidité du squelette. Cette première fonction mécanique, la rigidité, échappe d'habitude aux idées reçues. Mais tout le monde sait que les os doivent être solides. Si la structure ne casse pas sous l'effet de l'application des forces extérieures, c'est parce qu'elle est faite d'un matériau qui résiste sans se fracturer. En mécanique, on mesure la solidité par la charge à la rupture ( $\sigma_{\text{ult}}$ ). Rigides et solides, les os assurent la protection d'une série d'organes. Les côtes protègent les poumons, le crâne protège le cerveau, le bassin protège le fœtus, et les vertèbres la moelle épinière... Du point de vue biologique, les os participent à la régulation du métabolisme phospho-calcique et ils hébergent aussi la moelle osseuse.

### Structure de l'os

La fonction biomécanique de l'os est optimisée. L'os est un tissu vivant qui s'adapte aux nécessités mécaniques. Le principe directeur du remodelage osseux est d'obtenir

(\*) Invité par le Bureau en vertu de l'article 15 §3 du Règlement.



une solidité et une rigidité suffisantes à moindre coût, en utilisant le moins de matériau possible. Ce principe permet une économie de substrat et d'énergie pour la construction et pour l'entretien de la structure (1). De plus, si le squelette est léger, le coût énergétique lié aux mouvements est optimisé.

L'économie d'espace régit aussi la texture. On retrouve de l'os cortical, dense, dans les diaphyses. L'os a un maximum de rigidité avec une petite section. Aux extrémités de l'os, le volume doit augmenter pour offrir une surface articulaire suffisante. Pour autant l'os ne doit pas peser trop et le tissu devient spongieux, avec une texture en 'nid d'abeilles', composée de petites plaques et de petites barres millimétriques appelées travées osseuses, d'où le nom d'os trabéculaire. L'orientation de ces travées est optimisée en fonction des forces principales. Cette structure spongieuse est particulièrement remarquable dans les corps vertébraux. La microarchitecture des travées est adaptée à la mise en charge axiale (du haut vers le bas). Les travées principales sont orientées de haut en bas et soutenues par des petits ponts horizontaux qui évitent le flambement des plaques verticales.

Certaines fonctions mécaniques des os (ductilité, résistance en fatigue...) sont aussi optimisées. Contrairement à une autre idée reçue, la technologie actuelle ou l'usage des meilleurs matériaux disponibles ne permettent pas de remplacer un os en remplissant parfaitement le cahier des charges qu'ils respectent naturellement.

### **Problématique médicale**

Le dysfonctionnement le plus fréquent de l'os est la fracture. Un os fracturé n'assure plus sa fonction essentielle (la rigidité). On ne marche plus avec une jambe cassée ; on respire mal avec une côte cassée etc...

Normalement une fracture survient suite à un traumatisme significatif. Ceci est censé arriver rarement. Les accidents domestiques, sportifs ou de roulage surviennent donc chez l'enfant comme chez l'adulte. Fort heureusement, l'os est vivant et guérit naturellement une fracture en quelques mois. Lorsque la fracture survient spontanément ou suite à un choc mineur, elle est dite pathologique. Les fractures pathologiques sont le fait d'une fragilité excessive du squelette, soit localisée (tumeur ostéolytique), soit généralisée (ostéoporose, ostéogenèse imparfaite).

La situation la plus fréquente de défaillance généralisée ou systémique est de loin l'*ostéoporose* (Fig. 1). Il s'agit d'une situation caractérisée par 'une masse osseuse basse et une détérioration microarchitecturale de l'os qui mène à un risque de fracture élevé' (2). L'augmentation continue de l'espérance de vie – et donc de l'âge de nos patients – a fait de l'ostéoporose un problème majeur de santé publique. Pour un homme de 50 ans, le risque d'être hospitalisé pour une fracture majeure (hanche, colonne, épaule, poignet) est de 20 %. Pour une femme, ce risque est de 50 % (3). La majorité de ces fractures ont des conséquences sévères (intervention, alitement, perte d'autonomie pour la hanche et douleur prolongée ou cyphose pour les tassements vertébraux).

Le risque de fracture peut être estimé par la densitométrie *osseuse*. Il est évident que, plus il y a de travées et plus elles sont épaisses, plus l'os sera dense et solide. En plus de la densité, d'autres facteurs interviennent puissamment. Si l'on exclut des cas spécifiques (comme la polyarthrite rhumatoïde ou l'utilisation de glucocorticoïdes) les facteurs qui affectent le plus le risque de fracture (indépendamment de la densité osseuse !) sont les antécédents personnels et familiaux. Ce fait clinique avéré soutient le concept de qualité osseuse : à densité osseuse égale, l'os de deux patients est plus ou moins résistant (4).



Fig. 1

Radiographie de colonne chez une patiente présentant une ostéoporose qui a entraîné des fractures-tassement multiples et une cyphose invalidante.

### Tests biomécaniques et qualité osseuse

Tous les matériaux peuvent être testés mécaniquement. L'os aussi. Un test classique consiste à appliquer une déformation croissante à la pièce (en le pliant, en le tordant, en l'étirant ou en le comprimant) tout en mesurant les forces. Ces tests peuvent s'appliquer à l'os en entier ou à des échantillons de taille variable. Ainsi, si l'on comprime un corps vertébral entier, la rupture survient à 4500N. Les éprouvettes ont une section connue qui permet de normaliser les propriétés du matériau ( $E_{\text{mod}}$  et  $\sigma_{\text{ult}}$ , Mpa). Les tests sur échantillons d'os spongieux ont longtemps posé des problèmes, entre autres, pour mesurer les déformations et donc  $E_{\text{mod}}$  de façon reproductible et fiable. Ce problème

technique résolu (Fig. 2), il est possible de comparer la résistance mécanique des échantillons avec leur densité ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ) ou d'autres propriétés.

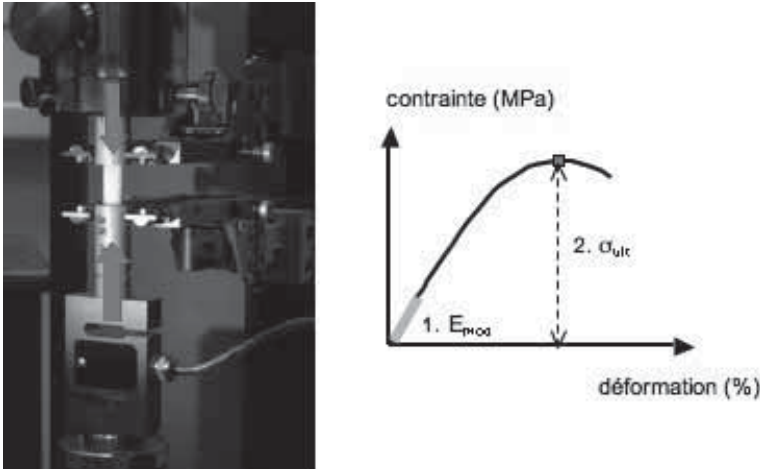


Fig. 2

Test en compression d'un cylindre d'os spongieux vertébral de huit mm de diamètre. Lors du test la force augmente au fur et à mesure de la mise en compression. Les paramètres sont normalisés pour donner une courbe contrainte-déformation où l'on peut lire le module d'élasticité ( $E_{\text{mod}}$ , MPa) et la charge à la rupture ( $\sigma_{\text{ult}}$ , MPa).

En obtenant 136 échantillons cylindriques du corps vertébral de neuf donneurs (ou sujets), nous avons pu vérifier cette corrélation sur des échantillons humains. Les échantillons cylindriques venaient des vertèbres T9, L1 et L4. La densité de chaque éprouvette a été mesurée sur un pQCT. C'est un petit scanner dont nous avons confirmé la très haute précision pour la mesure de la densité (5). D'après les tests mécaniques, il est clair que, plus l'os est dense, plus il est rigide ( $r = 0.89$ ) et plus il est solide ( $r = 0.90$ ). Comme attendu, lorsque l'on compile les résultats pour toutes les éprouvettes d'un sujet, certains sujets ont de l'os spongieux de haute densité ( $0.26 \text{ g}/\text{cm}^3$ ) et d'autres de basse densité ( $0.12 \text{ g}/\text{cm}^3$ ). Idem pour les propriétés mécaniques. Grossièrement, les sujets qui ont un os bien dense ont aussi un os solide et rigide. Ce qui est spécial, c'est que lorsque l'on contrôle  $E_{\text{mod}}$  et  $\sigma_{\text{ult}}$  pour la densité (en utilisant les régressions), il persiste des différences très significatives entre les sujets (jusqu'à 40 %,  $p < 0.001$ ). C'est la démonstration biomécanique du concept clinique de qualité osseuse (6). Quelque chose, au-delà de la simple densité, de la quantité de travées, influence significativement les propriétés mécaniques de l'os spongieux. La pratique clinique comme les tests biomécaniques, indiquent que ce (ou ces) facteur(s) est (sont) essentiellement lié(s) au sujet, au patient.

### Nature du matériau

Parmi les facteurs qui peuvent affecter la qualité osseuse, on peut citer : la microarchitecture des travées, leur connectivité; l'accumulation de microcracks ou 'endommagements'; l'intensité du remodelage osseux ou la nature des matrices organiques ou minérales de l'os (ce qui compose les travées).

Si l'on considère des petits cylindres ou des petits cubes d'os spongieux, d'une taille de 8 mm par exemple, la simple observation permet de constater qu'ils sont tous différents. À l'époque des tests mentionnés plus haut, comme lors de la définition de l'ostéoporose (1993), il semblait évident que la qualité osseuse dépendait essentiellement de la microarchitecture. Les concepts de connectivité étaient déjà développés sur base de l'observation de nombreuses biopsies de crête iliaque. Intuitivement, il semble évident que la façon dont s'agencent les travées osseuses peut affecter sa résistance mécanique. L'idée que les travées peuvent être mieux ou moins bien connectées a fait son chemin (7). Une fois connue la forme exacte de chaque travée, on devait pouvoir améliorer la prédiction de la résistance mécanique de cet échantillon. De façon très étonnante, trente ans plus tard, ni l'histomorphométrie, ni l'association de calculateurs aux éléments finis (FEA) à des micro-CTscans n'ont résolu ce problème. En fait, il semble que différentes microarchitectures peuvent aboutir à la même fonction *mécanique*.

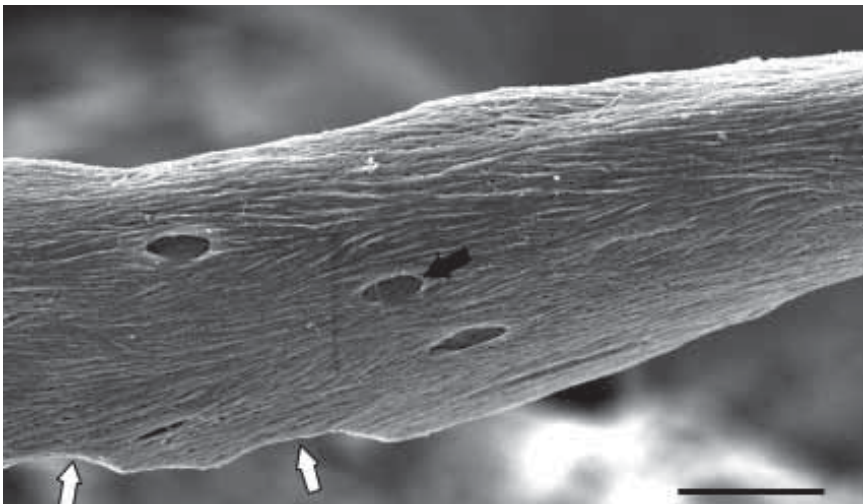


Fig. 3

Image en microscope à balayage d'une fine travée d'os spongieux métaphysaire. Le métabolisme est actif. On voit les lacunes dans lesquelles les ostéoblastes s'enterrent pour devenir des ostéocytes (flèche noire). Les ostéoclastes résorbent déjà une partie de la travée (flèches blanches). La nature fibrillaire de la matrice organique imparfaitement ossifiée est évidente. La barre fait 25 microns.

Une autre hypothèse est que la nature du matériau qui compose les travées varie d'un patient à l'autre. Nous savons que l'os est composé d'une phase minérale (des cristaux d'hydroxyapatite) déposée dans une matrice organique (essentiellement du collagène). Si ces fibres ne comptent que pour 25 % du poids sec de l'os, elles occupent bien 85 % du volume des travées (8). L'os mature se dépose par vagues, sous forme de lamelles de quelques microns d'épaisseur d'abord non minéralisées (matrice ostéoïde). Pour permettre le dépôt de la phase minérale, le collagène de l'os doit avoir une disposition bien particulière. Ainsi l'os et le tendon contiennent tous deux essentiellement du collagène de type I, mais l'un s'ossifie alors que l'autre reste souple. Le collagène de type I de ces deux tissus ne diffère essentiellement que par son profil de cross-links.

### **Cross-links du collagène**

L'os doit sa solidité au fait qu'il contient des fibres solides (Fig. 3). Dans le règne animal, c'est le collagène qui joue ce rôle (9). La résistance mécanique des fibres de collagène est liée à la molécule elle-même et à la manière dont les molécules se lient de façon covalente par ce que l'on nomme des cross-links. La constitution de ces liens est (a) hautement régulée, elle est (b) tissu-spécifique et (c) influence la fonction, voire la qualité même de ces tissus.

Le collagène de l'os est du collagène de type I. C'est une merveille de stabilité dans l'évolution. Il est formé par l'assemblage de trois chaînes : deux  $\alpha(1)1$  et une  $\alpha(1)2$ . Chaque chaîne fait 1000 acides aminés (= 300nm de long) de long et est précédée d'une courte séquence N-terminale et suivie d'une courte séquence C-terminale. Tous les acides aminés de la triple hélice répètent la séquence Gly-X-Y ; c'est ce qui caractérise les collagènes. Dans la triple hélice, les résidus glycine (très petits) se trouvent à l'intérieur alors que les résidus X et Y sont à l'extérieur. Après la translation, dans le réticulum endoplasmique, les molécules subissent des transformations (hydroxylation et glycosylation). Cent résidus de proline et dix résidus de lysine en position Y sont hydroxylés. L'hydroxyproline et l'hydroxylysine sont des acides aminés propres au collagène. Le degré d'hydroxylation des résidus lysine impliqués dans la formation des cross-links est capital car il contrôle le type de cross-link qui va être formé ultérieurement et donc le profil de cross-links d'un tissu (10).

Trois enzymes (lysyl hydroxylases) exécutent cette hydroxylation. Dans la cellule sécrétrice (pour l'os : l'ostéoblaste), les trois chaînes s'assemblent spontanément puis ce procollagène se sépare des propeptides N et C-terminaux en conservant à ses extrémités des zones appelées télépeptides.

À l'extérieur de la cellule commence la fibrillogenèse. Une étape clef est l'oxydation de certains résidus lysine ou hydroxylysine des télépeptides par une lysine oxydase pour former un aldéhyde. L'aldéhyde ainsi produit réagit avec un autre résidu lysine sur la triple hélice pour former un lien covalent entre le télépeptide d'une molécule et l'hélice d'une autre. En fonction de ce que l'aldéhyde initial était un résidu lysine ou

hydroxylysine on obtiendra un LKNL (lysine-ketonorleucine) ou HLKNL (hydroxylysine ketonorleucine).

Dans l'os, LKNL et HLKNL forment les cross-links *immatures*. Deux cross-links immatures peuvent réagir pour former un cross-link trivalent appelé *pyrrole*. Un crosslink immature peut aussi 'accrocher' un autre aldéhyde et former soit un lien hydroxylysine-pyridinoline (HP) ou lysine-pyridinoline (LP). Ces cross-links sont extrêmement stables. Ils résistent à toutes les collagénases et sont émis dans les urines où ils peuvent être dosés comme marqueurs de l'intensité du métabolisme osseux. Au total, il y a une mole de cross-link par mole de collagène, ce qui signifie que chaque molécule a au moins un lien covalent avec une autre par le biais de cette famille de liens. La localisation précise du résidu lysine de l'hélice impliqué dans le cross-link est responsable de la striation typique des fibrilles de collagène (quarter staggered, 67nm).

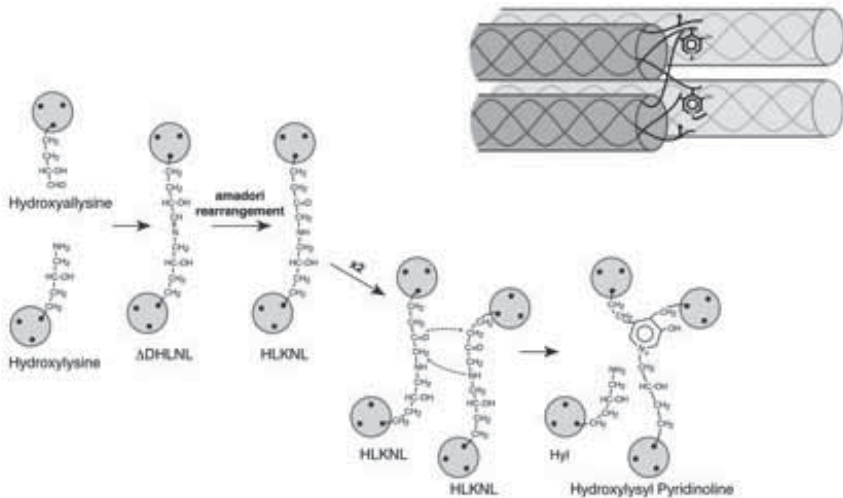


Fig. 4

Formation du cross-link Hydroxylysyl Pyridinoline (Eyre *et al.* 2010). Les crosslinks type pyrrole ou pyridinoline unissent trois molécules de collagène et stabilisent la fibrille pour lui conférer ses propriétés spécifiques.

Comparé à d'autres tissus majoritairement composés de collagène (tendon, fascia, derme...), l'os possède un profil de cross-links spécifique (9). Dans le derme, par exemple, le résidu lysine du télépeptide n'est pas du tout hydroxylé, menant à la formation de cross-links spécifiques (aldimine puis histidyl hydroxylysine-ketonorleucine). Dans le cartilage, tous les résidus (télépeptide et hélice) sont hydroxylés. En conséquence le ratio HP/LP est de 50 là où il est de deux dans l'os. Dans l'os, ni le résidu hélical, ni le résidu du télépeptide ne sont complètement hydroxylés, donnant lieu à la formation des pyrroles (qui sont spécifiques de l'os) et on a un ratio HP/LP très bas. De plus, la quantité de cross-links immatures est relativement élevée, peut-être parce que leur

maturation est interrompue par la minéralisation. Quoi qu'il en soit, le profil de cross-link est tissu-spécifique. Il guide la fibrillation du collagène, donc ce qui transforme une gélatine en tissu structuré.

Dans l'étude biomécanique sur les échantillons d'os vertébral, le profil de cross-link a été quantifié sur chaque échantillon (huit par sujet). Les données démontrent clairement que le profil de cross-link est clairement patient-spécifique (11). On distinguera un patient d'un autre tout aussi bien en dosant le taux de pyrrole ou de LP dans son collagène osseux qu'en mesurant sa densité.

### **Cross-links et biomécanique**

L'importance de ce profil de cross-link apparaît dans le syndrome de Brück, caractérisé par une mutation du gène PLOD2 qui code la lysyl hydroxylase 2. Il semble que LH2 soit spécifique à l'os (12). Chez les patients atteints du syndrome de Brück, le collagène est strictement normal (contrairement aux cas d'ostéogenèse imparfaite), mais les fibres sont inadéquates et le profil de cross-links (de l'os) très perturbé. Les conséquences n'en sont pas moins dramatiques. Les patients présentent de nombreuses fractures, une croissance entravée, des déformations osseuses sévères.

Nous avons confronté les propriétés mécaniques des échantillons testés aux données biochimiques. De tous les paramètres mesurés, le ratio HP sur LP est celui qui offre la meilleure amélioration de la prédiction de  $E_{\text{mod}}$ , faisant passer la prédiction de 80 % ( $r = 0,90$ ) à 87 % dans notre modèle statistique (13). Idem pour  $\sigma_{\text{ult}}$ . Ce paramètre passe avant d'autres tels que le degré de minéralisation, la connectivité ou l'épaisseur des travées (tous mesurés) alors qu'intuitivement, on les associerait beaucoup plus facilement à la résistance mécanique de l'échantillon.

C'était la première fois qu'une telle relation, entre la biochimie et la biomécanique de l'os humain, était mise en évidence. Sachant que l'HP est spécifique du tissu osseux et que sa formation se fait sous le contrôle d'un enzyme que l'on ne retrouve que dans l'os, il se peut que ce soit un déterminant important de la qualité osseuse.

### **Conclusion et perspectives**

Observés par chaque étudiant en médecine depuis des générations, étudiés bien avant tout le reste par les premiers anatomistes, d'aucuns peuvent penser que les os ont livré tous leurs secrets. En fait, il n'en est rien. En 2010, malgré tous nos scanners, nos analyses microarchitecturales ou biochimiques, nous sommes bien incapables de prédire avec précision ses propriétés mécaniques. D'où l'utilité de continuer à quantifier directement ces propriétés (rigidité, solidité...) par des tests standardisés. Il faut reconnaître que les os ont une structure et une microarchitecture particulièrement complexes. Que dire de la nature extraordinaire du matériau osseux. Sa matrice de collagène est très dense et très spécifique. Elle induit la précipitation de cristaux de phosphate de calcium lors de l'ossification. La nature module la fonction d'une molécule de collagène (extrêmement stable dans l'évolution) pour former différentes fibres. Elle



le fait en liant les molécules de base avec des cross-links spécifique. Tel lien, à tel endroit, en telle quantité pour tel tissu. Nous ne savons pas pourquoi l'hydroxylation ou la non hydroxylation d'un résidu lysine peut avoir tant de conséquences sur la qualité du squelette (dans le syndrome de Brück, comme dans les tests biomécaniques). Ces observations doivent, au minimum, être confirmées par d'autres sources pour être considérées autrement que comme une indication précieuse. Ce qui est sûr actuellement, c'est que chaque patient a un profil de cross-link spécifique et que ce profil reste un bon candidat pour déterminer la qualité de ses os.

Pour autant, la question reste largement ouverte. Nous disséquons le mystère, mais alors que nous avons l'impression d'avancer, il s'épaissit. Ainsi la biochimie du collagène et de ses cross-links augmente en complexité et en subtilités. On est bien loin de l'étudiant en médecine qui regarde un fémur proximal en cherchant le petit trochanter.

### RÉSUMÉ

La fonction de base de l'os est d'être rigide et solide. Sa rigidité permet aux vertébrés de maintenir leur forme, de protéger leurs organes et de se mouvoir. Solides, les os ne cassent que dans des circonstances exceptionnelles. L'ostéoporose est une situation fréquente où les fractures surviennent trop souvent, à cause d'une fragilité anormale des os. Dans cette situation, l'os – en particulier spongieux – n'assume plus sa première fonction. Les travées osseuses deviennent rares et fines et le tissu a une densité trop basse. Des tests biomécaniques et des faits cliniques démontrent que certains sujets ont, à densité égale, un tissu osseux plus ou moins solide, conduisant au concept de qualité osseuse. Bien que d'autres hypothèses aient été systématiquement explorées, il semble que la nature chimique du collagène de l'os, en particulier son profil de cross-links, influence de façon significative la qualité de l'os humain.

### SUMMARY

Bone tissue is a marvellous material. Basic bone function is to be structurally stiff and strong. Stiffness allows vertebrates to maintain their shape, to protect the organs and to move. Being strong, bone only breaks in exceptional circumstances. Osteoporosis is a disease where fractures happen too often, because of abnormal bone fragility. In this situation, bone – especially cancellous bone – does not take up its first duty. Trabeculae are scarce and thin, leading to very low tissue density. Biomechanical tests and clinical evidence have shown that some subjects have, with equal bone density, stronger or weaker bone tissue. This led to the concept of bone quality. Even if other hypotheses have been systematically explored, it seems that bone collagen chemical nature, especially its cross-link profile, significantly influences human bone quality.

### BIBLIOGRAPHIE

1. HUISKES R., RUIMERMAN, VAN LENTHE G.H., ET JANSSEN J.D., *Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form in trabecular bone*, Nature 405 : 704-706, 2000.
2. *Consensus Development Conference on Osteoporosis*. Hong Kong, April 1-2, 1993, The American Journal of Medicine, 95 : 1S-78S, 1993.
3. K. LIPPUNER K., JOHANSSON H., KANIS J.A., ET RIZZOLI R., *Remaining lifetime and absolute 10-year probabilities of osteoporotic fracture in Swiss men and women*, Osteoporosis International, 20 : 1131-1140, 2009.
4. KANIS J.A., *Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk*, Lancet 359 : 1929-1936, 2002.
5. BANSE X., DEVOGELAER J.P., GRYPNAS M., *Patient-specific microarchitecture of vertebral cancellous bone : a peripheral quantitative computed tomographic and histological study*, Bone 30 : 829-835, 2002.



6. BANSE X., *When density fails to predict bone strength*, Acta Orthopaedica Scandinavica. Supplementum, 73 : 1-57, 2002.
7. PARFITT A.M., MATHEWS C.H., VILLANUEVA A.R., KLEEREKOPER M., FRAME B., RAO D.S., *Relationships between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis. Implications for the microanatomic and cellular mechanisms of bone loss*, The Journal of Clinical Investigation 72 : 1396-1409, 1983.
8. MAROTTI G., *A new theory of bone lamellation*, Calcified Tissue International, 53 Suppl. 1, 1993, p. S47-55.
9. EYRE D.R. ET WU J., *Collagen Cross-Links*, Top Curr. Chem. : 207-229, 2005.
10. KNOTT L., BAILEY A.J., *Collagen cross-links in mineralizing tissues : a review of their chemistry, function, and clinical relevance*, Bone 22 : 181-187, 1988.
11. BANSE X., DEVOGELAER J.P., LAFOSSE A., SIMS T.J., GRYPNAS M., BAILEY A.J., *Cross-link profile of bone collagen correlates with structural organization of trabeculae*, Bone 31 : 70-76, 2002.
12. BANK R.A., ROBINS S.P., WIJINGA C., BRESLAU-SIDERIUS L.J., BARDOEL A.F., VAN DER SLUIS H.A., PRUIJS H.E., TEKOPPEL J.M., *Defective collagen crosslinking in bone, but not in ligament or cartilage, in Bruck syndrome : indications for a bone-specific telopeptide lysyl hydroxylase on chromosome 17*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 96 : 1054-1058, 1999.
13. BANSE X., SLIMS T.J., BAILEY A.J., *Mechanical properties of adult vertebral cancellous bone : correlation with collagen intermolecular cross-links*, Journal of Bone and Mineral Research 17 : 1621-1628, 2002.

(Laboratoire d'Orthopédie – Université Catholique de Louvain).

\*  
\* \*

## Discussion

*M. W.J. Malaisse.* – Avez-vous eu l'occasion d'identifier des facteurs responsables de la « patient-specificity », tels que le rôle respectif des déterminants héréditaires et acquis ou l'influence du sexe ?

*M. X. Banse.* – Le petit nombre de sujets étudiés ne m'a pas permis d'aborder ces questions.

*M. L. Hue.* – Connaît-on des facteurs qui pourraient moduler l'activité ou l'expression de la lysine hydroxylase, par exemple l'âge ou le sexe ?

*M. X. Banse.* – Non. La question est évidemment très pertinente mais, à ma connaissance, personne n'a réalisé de telles investigations.

*M. G. Casimir.* – Votre exposé est fascinant pour la complexité de la microstructure osseuse et la spécificité individuelle de cette microstructure. Quelle est la part liée à une hypovitaminose D dans cette approche ? Et ceci sachant combien elle est répandue dès l'enfance dans nos populations.

*M. X. Banse.* – Je suis peu compétent dans le domaine. L'effet d'une carence modérée en vitamine D durant l'enfance sur la microarchitecture de l'os spongieux n'a pas été investigué non plus.

*M. A. Scheen.* – Merci pour votre bel exposé. Parmi les nouveaux traitements de l'ostéoporose figure le ranélate de strontium (PROTELOS®) qui a la capacité de stimuler la formation de nouvel os en plus de bloquer la destruction de l'os présent. La publicité concernant cette molécule fait état que l'os néoformé est de bonne qualité. Puisque vous avez insisté dans votre exposé sur l'importance de la qualité osseuse, avez-vous des informations sur les critères utilisés pour soutenir cette thèse (critères morphométriques, biochimiques, effets sur les cross-links ...)?

*M. X. Banse.* – L'effet anabolisant d'un tel traitement n'a pas été vérifié sur la microarchitecture vertébrale, mais plutôt sur la crête iliaque ou sur des modèles animaux. Il faut de principe se méfier des publicités concernant un médicament.

\*  
\* \*

### **Communication du Bureau**

Le Président et le Secrétaire perpétuel annonce la disparition de feu le Prof. A. Lousse, membre honoraire et ancien Président, décédé à Waterloo, le 8 septembre 2010, à l'âge de 97 ans. Professeur émérite de l'Université de Liège, il avait été élu correspondant le 18 décembre 1954, promu membre titulaire le 29 juin 1968, et membre honoraire le 13 juin 2008. Il fut le doyen de notre Compagnie depuis longue date.

L'éloge académique sera prononcé par le Prof. L.-C. Pouplard, membre honoraire, en date du samedi 30 avril 2011.

Une minute de silence est observée à la mémoire de notre regretté Confrère disparu.

\*  
\* \*

Le Prof. J. Frühling présente ensuite un avis de l'Académie relatif à une nouvelle modification de l'arrêté royal du 20 juillet 2001 au sujet d'un problème de radioprotection.

**Avis de l'Académie royale de Médecine de Belgique au sujet  
de l'article 51.6.5 du règlement général de la protection  
de la population, des travailleurs et de l'environnement  
contre le danger des rayonnements ionisants**

L'avis sollicité concerne avant tout les vérifications périodiques de conformité avec les critères d'acceptabilité dans le cas des appareils de radiographie dentaire. Il fut établi par les Professeurs H. Firket et J. Frühling.

Nous avons été interrogés à la date du 30 juin 2010 par Monsieur Y. Pouleur, Directeur du département Réglementation, Affaires Internationales et Développement de l'AFCN, à ce sujet.

Essentiellement, cette modification de l'arrêté royal du 20 juillet 2001 concerne avant tout la fréquence des vérifications périodiques de conformité avec les critères d'acceptabilité des appareils de radiologie dentaire. Cette modification se base sur les recommandations européennes formulées dans « *European Guidelines on radiation protection in dental radiology – The safe use of radiographs in dental practice* ».

Après mûre réflexion, aussi bien l'argumentation reprise dans le rapport au Roi que le nouveau texte du premier article en question, ne nous paraissent convaincants, notamment – sauf la référence à la recommandation européenne – rien de concret n'est proposé quant au contrôle de qualité pendant les trois ans qui s'écouleraient entre les deux contrôles de qualité imposés. Notamment le 16<sup>e</sup> paragraphe du rapport au Roi, dans son point 3 dit : « Le suivi par l'AFCN, l'organisme agréé et l'expert agréé en radiophysique médicale, sera réalisé de manière plus consciencieuse, puisque les contrôles ne seront plus annuels ». Ceci est tout à fait inacceptable comme argumentation, car on ne voit pas comment un agent assermenté réaliserait un contrôle plus consciencieusement parce que ce contrôle serait plus espacé. On ne voit pas non plus comment on contrôlerait de façon plus reproductible par un expert indépendant pendant la période de trois ans, la qualité des clichés obtenus.

Donc, en conclusion, l'argumentation avancée dans le rapport au Roi devrait être revue et consolidée et le texte proprement dit (article 1<sup>er</sup>) complété, en précisant les contrôles qui pourraient avoir lieu entre les vérifications périodiques espacées de trois ans.

Ledit rapport est adopté à l'unanimité des membres présents.

\*

\*   \*

## TABLE DES MATIÈRES

---

### Séance publique du 4 septembre 2010

#### Lectures

Le dialogue neurogénétique illustré par le syndrome du « pantin hilare » d'Angelman, par B. Dan (U.L.B.), invité.....	327
« Je ne suis pas fou ! » Etudes de l'anosognosie dans la maladie d'Alzheimer, par E. Salmon (U.Lg.), invité.....	339
Communications du Bureau.....	350

\*  
\* \* \*

### Séance publique et solennelle du 11 septembre 2010

#### Rapports scientifiques des boursiers cliniciens – chercheurs F.N.R.S. soutenus par l'Académie royale de Médecine

Introduction par le Président L. Hue, .....	357
M <sup>me</sup> J. Callenaere, boursier clinicien – chercheur F.N.R.S.....	359
M. Ph. Lemaître, boursier clinicien – chercheur F.N.R.S.....	367

#### Remise des prix attribués pour l'exercice 2009

M. A. Le Moine, Lauréat du Prix du Concours ordinaire de la 4 <sup>e</sup> Section (2007-2008), présentation par J. Boniver, membre titulaire .....	375
M. F. Huaux, Médaille de l'Académie dans le cadre du Prix du Concours ordinaire de la 4 <sup>e</sup> Section (2007-2008), présentation par J. Boniver, membre titulaire .....	376
M <sup>me</sup> C. Mascaux, Lauréate du Prix Alvarenga de Piauhy 2008, présentation par A. Burny, membre titulaire .....	377
M. E. Hermans, Lauréat du Prix quinquennal des Sciences pharmaceutiques et thérapeutiques (2004-2008), présentation par A. Dresse, membre titulaire .....	379
M. Ch. Pierreux, Lauréat du Prix du concours ordinaire de la 1 <sup>re</sup> Section (2008-2009), présentation par A. Ferrant, membre titulaire .....	380

M. A. Florins, Médaille de l'Académie dans le cadre du Prix du Concours ordinaire de la 1 <sup>re</sup> Section (2008-2009), présentation par A. Ferrant, membre titulaire.....	381
M <sup>me</sup> A.-C. Servais, Lauréate du Prix du Concours ordinaire de la 5 <sup>e</sup> Section (2008-2009, présentation par W.J. Malaisse, membre titulaire.....	382
M. J.-F. Collet, Lauréat du Prix Alvarenga de Piauhuy 2009, présentation par L. Hue, membre titulaire .....	383
M <sup>me</sup> N. Vigneron, Médaille de l'Académie dans le cadre du Prix Alvarenga de Piauhuy 2009, présentation par L. Hue, membre titulaire .....	384
M. J.-B. Demoulin, Lauréat du Prix Docteur Maurice Godin Maria Savelkoul (2007-2009), présentation par G. Rousseau, membre titulaire.....	385
M. B. Vanhollebeke, Lauréat du Prix Albert Dubois pour la Pathologie tropicale (2005-2009), présentation par M. Wéry, membre titulaire .....	386

\*  
\*   \*

## Séance publique du 18 septembre 2010

### Lectures

Cell-Cell and Cell – Matrix Interactions in the skin – implications for tissue repair and chronic wounds, par Th. Krieg (University of Cologne – Germany), invité, et coll.....	393
Discussion .....	398
Cross-links du collagène et qualité de l'os, par X. Banse (U.C.L.), invité .....	399
Discussion .....	408
Communication du Bureau .....	409
Avis de l'A.R.M.B. au sujet de l'article 51.6.5 du règlement général de la protection de la population, des travailleurs et de l'environnement contre le danger des rayonnements ionisants .....	410

\*  
\*   \*



**I.S.S.N.**

0377-8231.

\*

**PUBLICATIONS DE L'ACADÉMIE :**

BULLETIN ET MÉMOIRES DE L'A.R.M.B.

*Les demandes de publications de l'Académie doivent être adressées à son secrétariat, Palais des Académies, rue Ducale 1, 1000 Bruxelles.*

Tél. : (32-2)-550.22.55/Fax : (32-2)-550.22.65 ;

Courriel : [contact@armb.be](mailto:contact@armb.be) ;

Site web : <http://www.armb.be>

\*

**PRIX DE L'ABONNEMENT :**

BULLETIN ET MÉMOIRES. (11 fascicules + annuaire + table).

Belgique et étranger : 76 euros.

Prix par numéro, variable suivant le nombre de pages.

\*

**ÉDITEUR RESPONSABLE :**

Prof. J. Frühling, Secrétaire perpétuel

Palais des Académies

Rue Ducale 1

1000 Bruxelles

\*

**LAY-OUT ET IMPRESSION :**

Imprimerie Duculot

Rue du Rond-Point, 185

B-6060 GILLY

Tél. 071/28.36.11

\*