

616.362
C7145f
2005

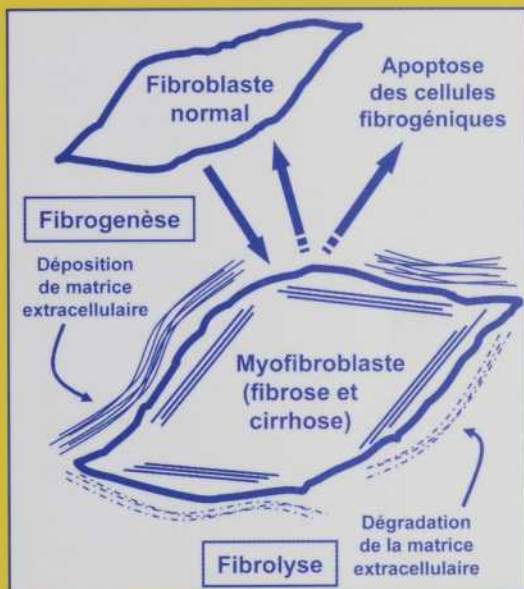
102

Cahiers
scientifiques



La fibrose hépatique et les agents antifibrosants

*Physiopathologie de
la fibrose hépatique et
son traitement*



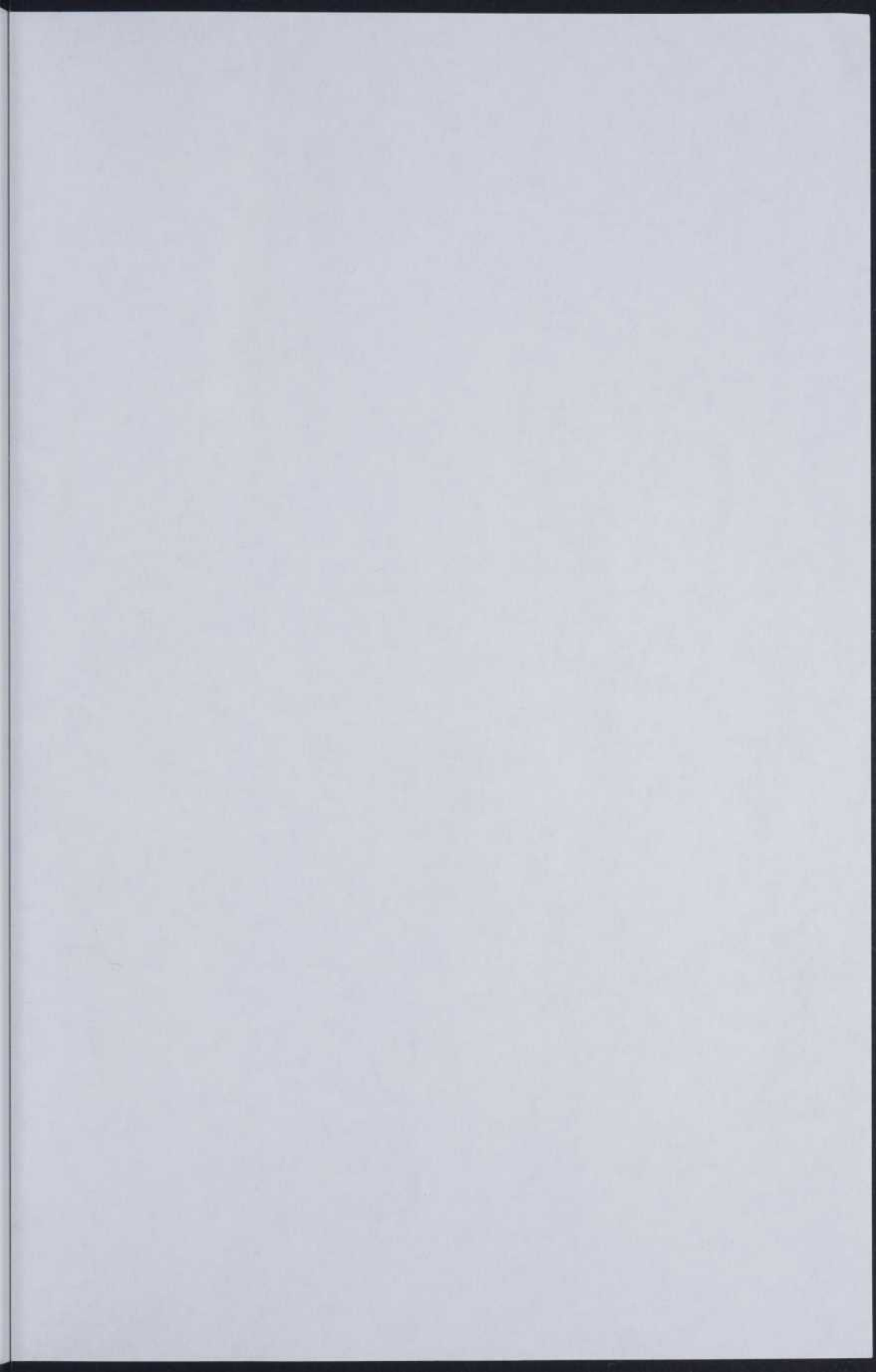
Sous la direction de
Alexis Desmoulière
et **Beatriz Tuchweber**

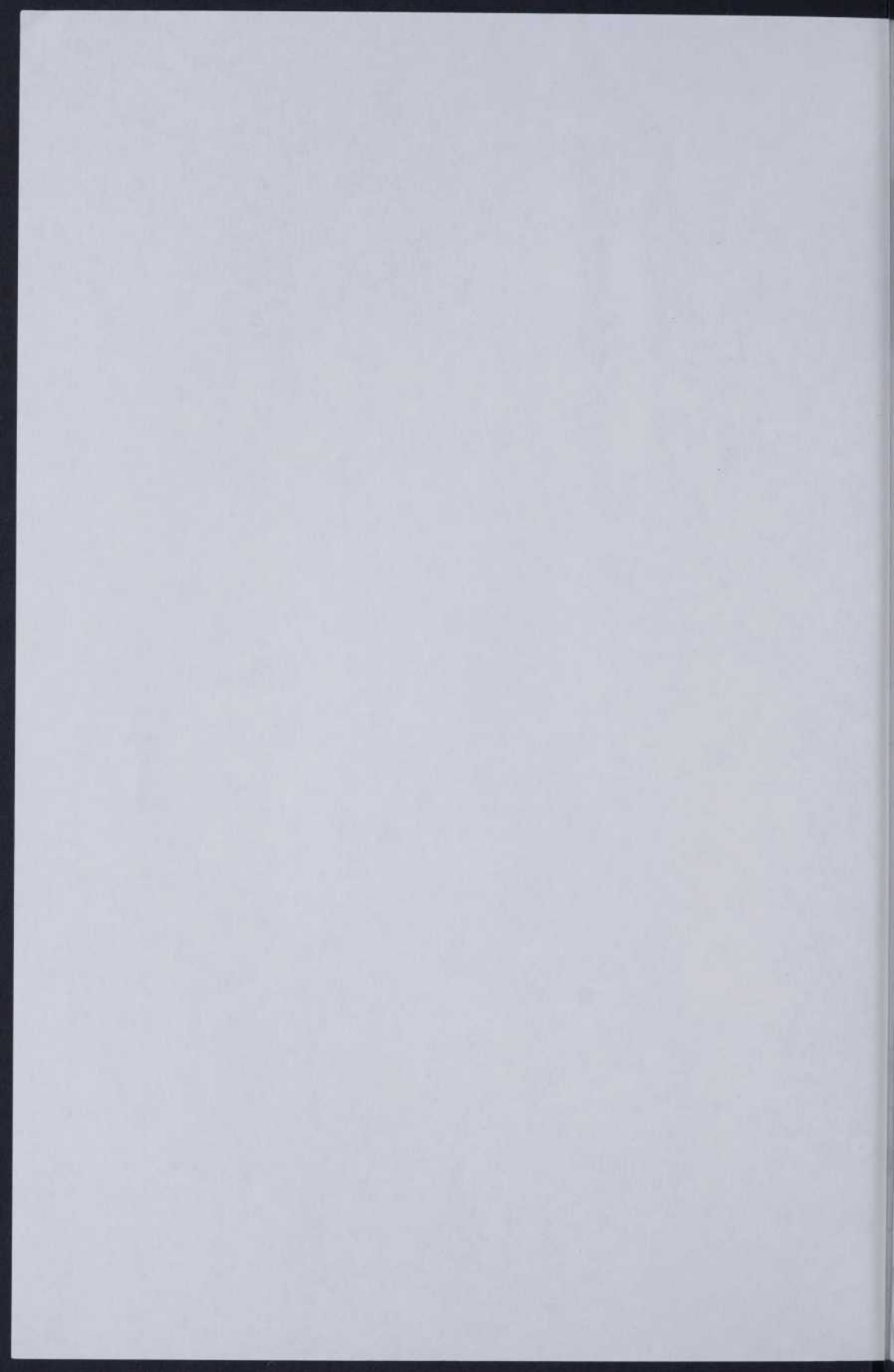


Bibliothèque
nationale

Québec







102

La fibrose hépatique et les agents antifibrosants

*Physiopathologie de
la fibrose hépatique et
son traitement*

Cahiers
scientifiques



Acfas

THE UNIVERSITY OF CHICAGO
PRESS
CHICAGO, ILLINOIS
1962

102

La fibrose hépatique et les agents antifibrosants

*Physiopathologie de
la fibrose hépatique et
son traitement*

Sous la direction de
Alexis Desmoulière
et Beatriz Tuchweber

Actes du colloque
*La fibrose hépatique
et les agents antifibrosants,*

présenté dans le cadre du
68^e Congrès de l'Acfas,
à l'Université de Montréal,
le 19 mai 2000



Catalogage avant publication de Bibliothèque et Archives Canada

La fibrose hépatique et les agents antifibrosants : physiopathologie de la fibrose hépatique et son traitement

(Cahiers scientifiques de l'Acfas ; 102)

Textes présentés lors d'un colloque tenu en mai 2000 à l'Université de Montréal dans le cadre du 68^e Congrès de l'Association francophone pour le savoir – Acfas.

ISBN 2-89245-127-2

RC848.F53F52 2005

616.3'62

C2005-940201-6

Schéma de la page couverture : Alexis Desmoulière et Beatriz Tuchweber

Ce schéma illustre la différenciation myofibroblastique des fibroblastes hépatiques impliqués dans la fibrogenèse, et la réversibilité de la lésion par dégradation du dépôt matriciel (fibrolyse) et apoptose des myofibroblastes.

Direction de la collection : Johanne Lebel

Conception de la page couverture : Nathalie Proulx

Conception des pages intérieures : Jocelyne Thibault

Révision linguistique : Hélène Larue

Collaboration à l'édition : Hélène Moulinier

Distribution : Fides

Dépôt légal – Bibliothèque nationale du Québec, 2005

Dépôt légal – Bibliothèque nationale du Canada, 2005

Association francophone pour le savoir – Acfas

425, rue De la Gauchetière Est

Montréal (Québec)

H2L 2M7

Téléphone : 514-849-0045

Télécopieur : 514-849-5558

acfas@acfas.ca

www.acfas.ca

616.362
C7145A
2005

TABLE DES MATIÈRES

Liste des auteurs.....	1
Introduction	
<i>Alexis Desmoulière et Beatriz Tuchweber</i>	3
Aspects fondamentaux	
Réparation tissulaire normale et pathologique <i>Kozue Uchio, Beatriz Tuchweber, Dionne Lorena et Alexis Desmoulière</i>	7
Myofibroblastes hépatiques : leur implication dans le développement des fibroses du foie <i>Beatriz Tuchweber, Thierry Lamireau et Alexis Desmoulière</i>	23
Cellules ductulaires : mise à jour et implication dans le métabolisme des lipides <i>Monika Zoltowska, Ernest Seidman, Edgard Delvin, Moïse Bendayan, Fernando Alvarez et Émile Levy</i>	35
Aspects cliniques	
La fibrose hépatique associée à diverses pathologies hépatiques chez l'enfant <i>Thierry Lamireau et Fernando Alvarez</i>	55
La fibrose hépatique - Perspectives thérapeutiques <i>Philippe Mavier</i>	77
Conclusion générale	
<i>Alexis Desmoulière et Beatriz Tuchweber</i>	97

CONTENTS

Introduction	1
Chapter I	15
Chapter II	35
Chapter III	55
Chapter IV	75
Chapter V	95
Chapter VI	115
Chapter VII	135
Chapter VIII	155
Chapter IX	175
Chapter X	195
Chapter XI	215
Chapter XII	235
Chapter XIII	255
Chapter XIV	275
Chapter XV	295
Chapter XVI	315
Chapter XVII	335
Chapter XVIII	355
Chapter XIX	375
Chapter XX	395
Chapter XXI	415
Chapter XXII	435
Chapter XXIII	455
Chapter XXIV	475
Chapter XXV	495
Chapter XXVI	515
Chapter XXVII	535
Chapter XXVIII	555
Chapter XXIX	575
Chapter XXX	595
Chapter XXXI	615
Chapter XXXII	635
Chapter XXXIII	655
Chapter XXXIV	675
Chapter XXXV	695
Chapter XXXVI	715
Chapter XXXVII	735
Chapter XXXVIII	755
Chapter XXXIX	775
Chapter XL	795
Chapter XLI	815
Chapter XLII	835
Chapter XLIII	855
Chapter XLIV	875
Chapter XLV	895
Chapter XLVI	915
Chapter XLVII	935
Chapter XLVIII	955
Chapter XLIX	975
Chapter L	995

LISTE DES AUTEURS

ALVAREZ, Fernando

Département de Pédiatrie
Hôpital Sainte-Justine, Montréal (Québec), Canada

BENDAYAN, Moïse

Département de Pathologie et Biologie cellulaire
Université de Montréal, Montréal (Québec), Canada

DELVIN, Edgard

Département de Biochimie
Hôpital Sainte-Justine, Montréal (Québec), Canada

DESMOULIÈRE, Alexis

Groupe de Recherches pour l'Étude du Foie, INSERM E362
Université Victor Segalen, Bordeaux, France

LAMIREAU, Thierry

Groupe de Recherches pour l'Étude du Foie, INSERM E362
Université Victor Segalen, Bordeaux, France
Unité de Gastroentérologie Pédiatrique, Hôpital des Enfants,
Bordeaux, France

LEVY, Émile

Service de Gastroentérologie, Hépatologie et Nutrition
Hôpital Sainte-Justine, Montréal (Québec), Canada

LORENA, Dionne

Groupe de Recherches pour l'Étude du Foie, INSERM E362
Université Victor Segalen, Bordeaux, France
Université d'État de Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brésil

MAVIER, Philippe

Service d'Hépatologie et de Gastroentérologie et unité INSERM 581
Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

SEIDMAN, Ernest

Département de Pédiatrie
Hôpital Sainte-Justine, Montréal (Québec), Canada

TUCHWEBER, Beatriz

Service de Gastroentérologie, Hépatologie et Nutrition
Hôpital Sainte-Justine, Montréal (Québec), Canada

UCHIO, Kozue

Groupe de Recherches pour l'Étude du Foie, INSERM E362
Université Victor Segalen, Bordeaux, France
Université de Kyoto, Japon

ZOLTOWSKA, Monika

Service de Gastroentérologie, Hépatologie et Nutrition
Hôpital Sainte-Justine, Montréal (Québec), Canada

INTRODUCTION

*Alexis Desmoulière
et Beatriz Tuchweber*

La fibrose hépatique est la principale complication de nombreuses maladies chroniques du foie comme les hépatites virales (particulièrement B et C) ou la maladie alcoolique du foie. Elle est définie comme l'accumulation d'un excès de composants de la matrice extracellulaire hépatique. La lésion peut être présente pendant des mois ou des années avant d'entraîner des manifestations cliniques qui permettent de la déceler ; cependant, dans des maladies congénitales, comme l'atrésie des voies biliaires ou les cholestases familiales chez l'enfant, la fibrose peut se développer très rapidement. Son stade évolutif ultime est la cirrhose, qui se caractérise par des nodules de régénération encapsulés dans des septa fibreux. Il est habituellement admis que la fibrose peut régresser tandis que la cirrhose serait irréversible ; cependant, il semblerait que certains traitements puissent également induire la réversibilité de la cirrhose (Bioulac-Sage et autres, 2000 ; Arthur, 2002). La cirrhose est une maladie grave (morbidité et mortalité importantes), et la prévention de la progression de la fibrose vers la cirrhose est un objectif majeur qui n'est que partiellement atteint par les traitements étiologiques des maladies causales. En effet, c'est au stade de fibrose qu'il faut agir pour stopper ou ralentir le dépôt de matrice extracellulaire qui peut conduire à l'apparition d'une cirrhose grave et irréversible. En cas de cirrhose sévère, la transplantation peut être la seule option disponible. De plus, la gravité de la cirrhose est en grande partie liée à la survenue très fréquente de carcinomes hépatocellulaires.

Le dépôt de la fibrose hépatique est lié à l'activité de cellules fibrogéniques, les myofibroblastes hépatiques. L'acquisition d'un phénotype myofibroblastique par les cellules fibrogéniques est un évènement majeur de la fibrogenèse. Les myofibroblastes dérivent de l'activation de cellules fibrogéniques précurseurs présentes dans le foie normal ; les mieux étudiées sont les cellules étoilées du foie, qui sont caractérisées par leur localisation périsinusoïdale (Friedman, 2000). Récemment, le concept d'hétérogénéité des cellules fibrogéniques dans le foie a été proposé, montrant que les fibroblastes portaux présents dans les zones portes jouent également un rôle important dans la fibrogenèse

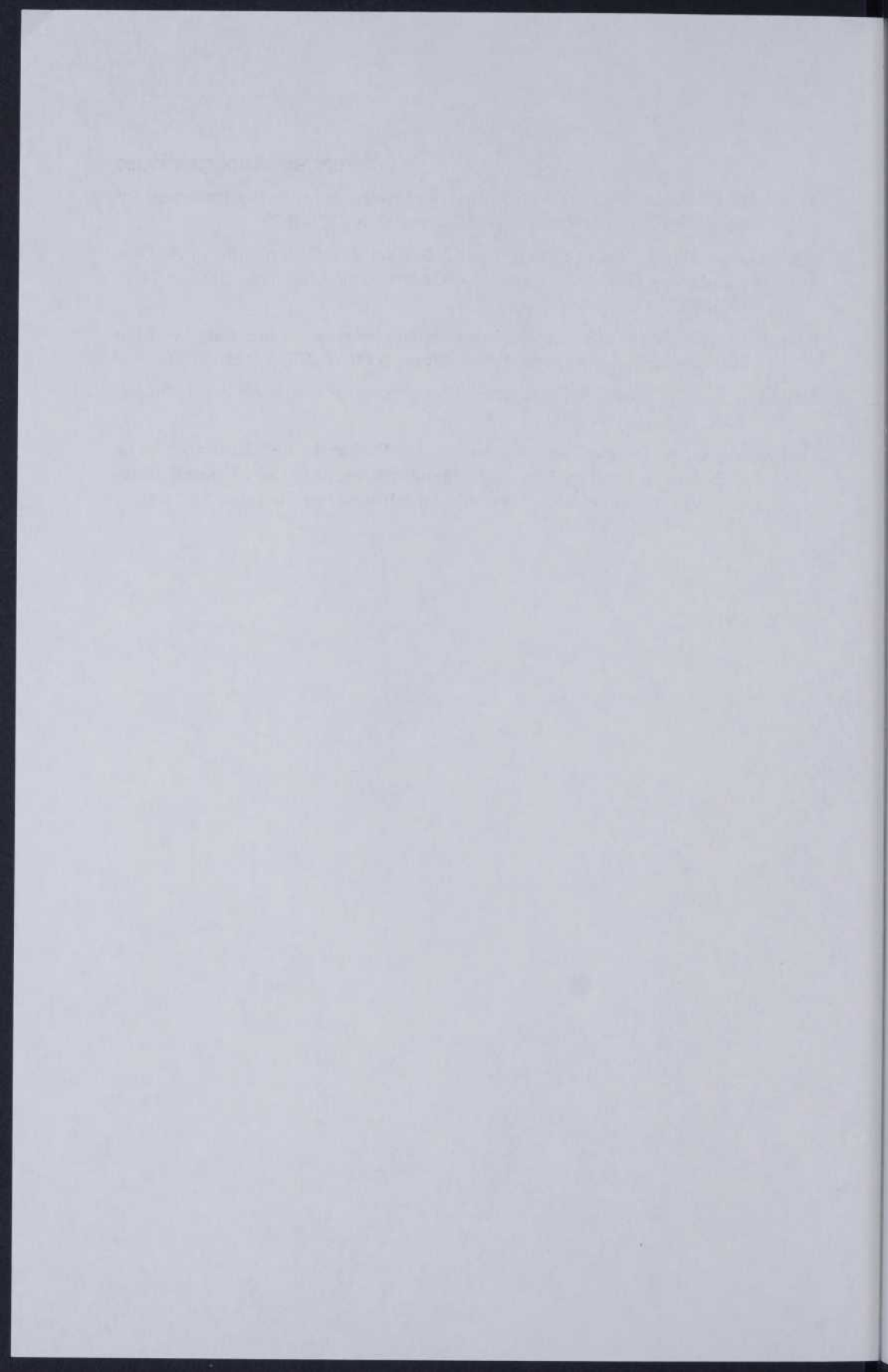
hépatique (Ramadori et Saile, 2004 ; Tuchweber et autres, 1996). Pendant la fibrogenèse, les interactions entre les cellules fibrogéniques et la matrice extracellulaire jouent un rôle majeur dans la mesure où il est maintenant bien admis que la matrice extracellulaire intervient dans la prolifération, la différenciation et la survie cellulaires. Pendant la fibrogenèse, les protéases matricielles capables de digérer la matrice extracellulaire sont partiellement inhibées. De plus, les autres types cellulaires présents dans le foie, notamment les hépatocytes, les cellules de Kupffer et les cellules épithéliales biliaires, en sécrétant de nombreux facteurs de croissance et cytokines, agissent sur l'activation des cellules fibrogéniques.

Les progrès réalisés récemment dans la connaissance de la biologie des cellules fibrogéniques permettent de définir des stratégies thérapeutiques précises et spécifiques, notamment : 1) « désactiver » les cellules myofibroblastiques en inhibant leur prolifération ou la synthèse de protéines matricielles, ou les deux ; 2) stimuler l'expression ou l'activité des métalloprotéases matricielles, ou les deux ; 3) inhiber directement les cytokines profibrogéniques majeures, comme le *transforming growth factor- β 1* ; 4) induire l'apoptose des cellules profibrogéniques.

Finalement, la fibrose hépatique représente une réaction de réparation tissulaire qui se développe à la suite de dommages chroniques dont les origines peuvent être variées. Nous consacrons la première partie du présent ouvrage à l'exposé de données fondamentales concernant les mécanismes généraux impliqués dans la réparation tissulaire normale et pathologique. Nous abordons plus particulièrement les cellules fibrogéniques présentes dans le foie, et les mécanismes impliqués dans l'activation de ces cellules et dans l'acquisition d'un phénotype myofibroblastique. Puis, nous donnons un éclairage nouveau sur le rôle très particulier que jouent les cellules épithéliales biliaires dans la physiopathologie hépatique. Dans la deuxième partie, plus clinique, nous abordons les pathologies fibrosantes, particulièrement graves chez les enfants. Enfin, dans le dernier chapitre, nous décrivons les différents moyens thérapeutiques actuellement proposés pour traiter la fibrose hépatique et discutons les nouvelles perspectives.

Références bibliographiques

- Arthur, M. J. « Reversibility of liver fibrosis and cirrhosis following treatment for hepatitis C », *Gastroenterology*, 2002, n° 122, p. 1525-1528.
- Bioulac-Sage, P., J.F. Blanc, S. Lepreux, C. Balabaud, J. Rosenbaum et A. Desmoulière. « Cirrhosis : forever? », *Gastroenterol. Clin, Biol.*, 2000, n° 24, p. 877-882.
- Friedman, S.L. « Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury », *J. Biol. Chem.*, 2000, n° 275, p. 2247-2250.
- Ramadori, G. et B. Saile. « Portal tract fibrogenesis in the liver », *Lab. Invest.*, 2004, n° 84, p. 153-159.
- Tuchweber, B., A. Desmoulière, M.L. Bochaton-Piallat, L. Rubbia-Brandt et G. Gabbiani. « Proliferation and phenotypic modulation of portal fibroblasts in the early stages of cholestatic fibrosis in the rat », *Lab. Invest.*, 1996, n° 74, p. 265-278.



ASPECTS FONDAMENTAUX

RÉPARATION TISSULAIRE NORMALE ET PATHOLOGIQUE

*Kozue Uchio,
Beatriz Tuchweber,
Dionne Lorena
et Alexis Desmoulière*

Titre courant

Cicatrisation normale ou excessive

Mots clés

Tissu de granulation, fibroblaste,
myofibroblaste, apoptose, matrice
extracellulaire, protéase

Résumé

Dans différentes situations normales (réparation tissulaire) ou pathologiques (fibrose et réaction stromale aux tumeurs), les fibroblastes du tissu conjonctif acquièrent un phénotype myofibroblastique et expriment des protéines du cytosquelette caractéristiques, notamment l'actine α -musculaire lisse. Les myofibroblastes apparaissent de façon temporaire pendant la cicatrisation normale, mais persistent lorsque la réparation tissulaire devient pathologique. Les myofibroblastes représentent le principal type cellulaire présent dans le tissu de granulation qui se développe après la phase d'inflammation et qui contient également quelques cellules inflammatoires et une néo-vascularisation importante. Ce tissu permet de remplacer le tissu nécrotique induit par la lésion tissulaire ; il doit être par la suite remanié pour donner une cicatrice qui ne devra pas diminuer les propriétés fonctionnelles du tissu. Ces étapes nécessaires pour la réparation tissulaire représentent un mécanisme général qui peut se trouver dans tout organe à la suite d'une agression provoquant une lésion tissulaire.

In vitro et *in vivo*, d'autres chercheurs et nous-mêmes avons montré que certains facteurs de croissance et cytokines (notamment les interférons, le *transforming growth factor- β 1*, le granulocyte-macrophage *colony-stimulating factor*), des substances extraites des plantes (le

trans-resvératrol) ou des agents pharmacologiques (la pentoxifylline) sont capables de moduler la différenciation myofibroblastique.

Au niveau de la peau, des processus fibrotiques de cicatrisation excessive, les cicatrices hypertrophiques, peuvent être observés. Les cicatrices hypertrophiques contiennent des myofibroblastes et développent des zones de rétractions. Les myofibroblastes sécrètent d'importantes quantités de matrice extracellulaire (Amadeu et autres, 2004). Lorsque la cicatrisation est terminée, le maintien des cellules myofibroblastiques qui, normalement, disparaissent après l'épithélialisation, est un élément défavorable qui conduira vraisemblablement au développement d'une cicatrice hypertrophique. De plus, des observations permettent de penser que des contraintes mécaniques modifient la biologie des fibroblastes et des myofibroblastes. Des facteurs solubles ou mécaniques peuvent donc agir sur l'évolution du tissu de granulation et interférer avec le développement des cicatrices hypertrophiques cutanées ou des fibroses d'organe.

Le remodelage du tissu de granulation ou la régression d'une lésion fibreuse implique donc : 1) une diminution de la cellularité, qui peut être réalisée par induction du processus d'apoptose, 2) un remodelage de la matrice extracellulaire. En effet, une modification de l'environnement matriciel de la cellule peut induire sa différenciation ou son apoptose. Tous ces éléments doivent être pris en considération dans l'élaboration de traitements capables de réduire les lésions fibreuses.

1) Introduction

Il est intéressant de remarquer que les mécanismes de réparation tissulaire sont différents selon le type de tissu lésé et selon les capacités de prolifération des cellules impliquées (Tuchweber et autres, 1998). En effet, certaines cellules qui possèdent une phase G_0 courte (cellules dites labiles) peuvent se multiplier normalement pour remplacer les cellules qui sont continuellement perdues par l'organisme. Les cellules basales des épithéliums et les cellules souches hématopoïétiques de la moelle appartiennent à cette catégorie, et les tissus qui contiennent ces cellules peuvent régénérer sans difficultés. D'autres cellules qui possèdent une phase G_0 longue ont une demi-vie importante et un taux de division peu rapide (cellules dites stables). Les cellules parenchymateuses de la plupart des organes solides (les hépatocytes du foie, l'épithélium tubulaire dans les reins, les cellules alvéolaires dans les poumons, par exemple) et les cellules mésenchymateuses (fibroblastes, cellules endothéliales,

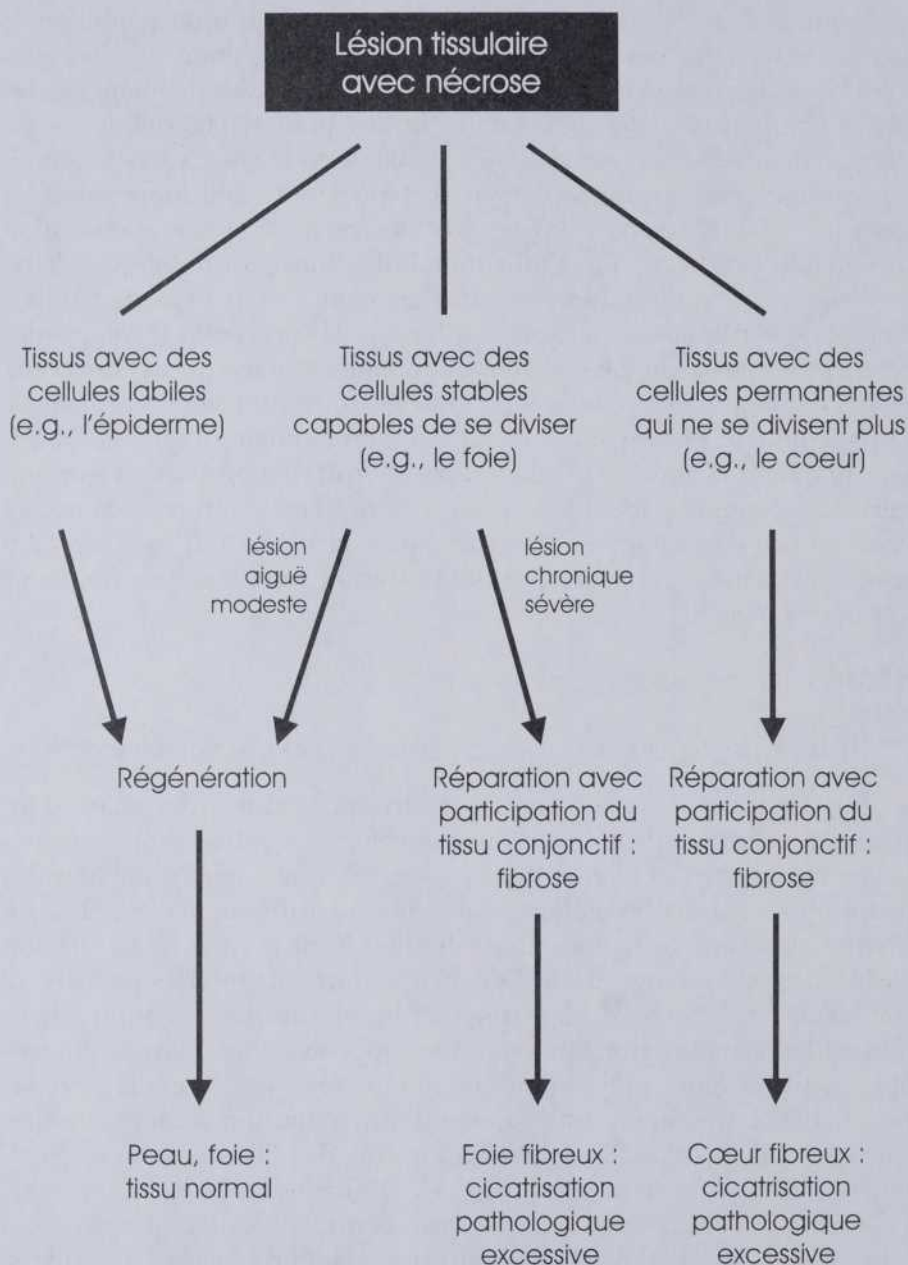
adipocytes, notamment) appartiennent à cette catégorie. Dans les organes contenant ce type cellulaire, pour obtenir une réparation adéquate, suffisamment de cellules viables doivent persister afin de remplacer le tissu lésé. Bien que ces cellules se renouvellent très lentement, elles peuvent se diviser rapidement si nécessaire. Le foie, avec des hépatocytes présentant normalement moins d'une mitose pour 15 000 cellules, régénère totalement après la perte de 75 p. 100 de sa masse. Après lésion aiguë du foie, une zone de nécrose des hépatocytes se développe, mais les capacités de régénération des hépatocytes permettent une restauration de l'architecture hépatique. Enfin, les cellules dites post-mitotiques de façon irréversible (ou cellules permanentes) n'ont pas de capacité de division après la naissance : on peut citer les cellules nerveuses (bien que des cellules en mitose aient été observées récemment dans du tissu nerveux chez l'adulte), et les cellules des muscles squelettiques et cardiaques. Dans la plupart des organes, quand la lésion tissulaire n'est pas chronique, et quand la perte tissulaire n'a pas détruit une proportion trop importante de cellules spécialisées, une cicatrice stable qui ne compromet pas la fonction de l'organe demeure après la réparation tissulaire. Au contraire, quand les facteurs induisant la lésion persistent, une fibrose se développe (*figure 1*).

II) La réparation tissulaire normale

A) Le myofibroblaste et son implication pendant la cicatrisation

Au cours du processus de cicatrisation, après une phase d'inflammation, le tissu de granulation se développe. Ce tissu contient essentiellement des myofibroblastes qui présentent, d'une part, d'importantes propriétés contractiles générées par les microfilaments d'actine, et d'autre part, une forte activité de synthèse qui permet une sécrétion élevée des composants de la matrice extracellulaire (Desmoulière et Gabbiani, 1996). En effet, alors que les fibroblastes possèdent un réticulum endoplasmique rugueux bien développé avec des citernes dilatées et un noyau ovale, les fibroblastes impliqués dans les processus de réparation tissulaire montrent également un réticulum endoplasmique rugueux abondant, mais expriment en plus des faisceaux de microfilaments d'actine avec des corps denses, similaires aux structures observées dans les cellules musculaires lisses contractiles de la paroi vasculaire. Ces caractéristiques suggèrent que ces fibroblastes particuliers, appelés myofibroblastes, sont responsables des forces provoquant la contraction des plaies (Gabbiani et autres, 1971). De plus, les myofibroblastes montrent un noyau au contour sinueux, caractéristique liée dans

Figure 1



Différents mécanismes intervenant dans la réparation tissulaire selon le tissu lésé et le type de lésion (d'après Tuchweber et autres, 1998).

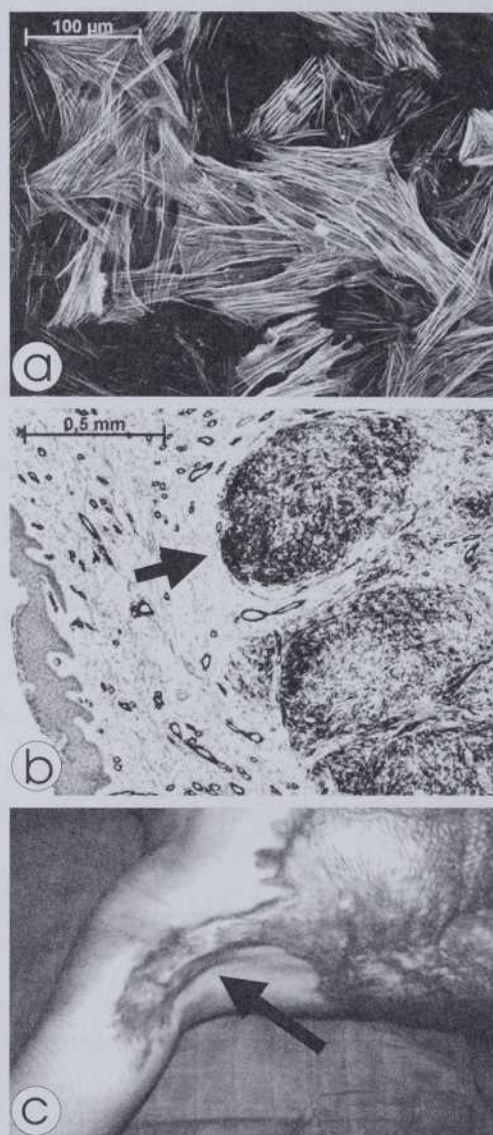
différents modèles à la contraction (Franke et Schinko, 1969) ; ils possèdent des connections entre eux et développent des liaisons particulières avec certains composants de la matrice extracellulaire, notamment la fibronectine (Singer et autres, 1984 ; Eyden, 2001). Les myofibroblastes présentent et maintiennent un phénotype intermédiaire entre la cellule musculaire et la non musculaire (Walker et autres, 2001).

Pour caractériser la transformation phénotypique du fibroblaste en myofibroblaste, les protéines du cytosquelette, qui jouent un rôle important dans les mécanismes de contraction, constituent d'excellents marqueurs. Les fibroblastes expriment les isoformes d'actine β - et γ -cytoplasmiques et la vimentine. Différents phénotypes myofibroblastiques ont été décrits qui peuvent exprimer en plus des actines cytoplasmiques et de la vimentine, l'actine α -musculaire lisse ou la desmine, ou encore, les chaînes lourdes de la myosine musculaire lisse, ou les deux ou trois (Desmoulière et Gabbiani, 1996). Cependant, l'actine α -musculaire lisse, qui est l'isoforme caractéristique des cellules musculaires lisses contractiles de la paroi vasculaire (Gabbiani et autres, 1981), est exprimée par pratiquement toutes les populations myofibroblastiques observées *in vivo*. Outre la cicatrisation au cours de laquelle la différenciation myofibroblastique est temporaire (Darby et autres, 1990), il existe des situations pathologiques où le myofibroblaste représente la principale composante cellulaire : 1) les cicatrices hypertrophiques et les fibres d'organe, 2) les fibromatoses (maladie de Dupuytren et sclérodémie) et 3) la réaction stromale aux tumeurs épithéliales (Schürch et autres, 1992 ; Schmitt-Gräff et autres, 1994 ; Desmoulière et Gabbiani, 1996 ; Desmoulière et autres, 2004).

B) La différenciation myofibroblastique *in vitro*

In vitro, les fibroblastes isolés à partir de tissu sain acquièrent différentes caractéristiques myofibroblastiques ; en particulier, ils développent un système de microfilaments organisés en fibres de stress et expriment, dans différentes proportions selon leur origine et selon les conditions de culture, l'actine α -musculaire lisse (figure 2a ; Desmoulière et autres, 1992). Dans certaines situations, la desmine et les chaînes lourdes de la myosine musculaire lisse peuvent être également présentes. Ces observations démontrent l'hétérogénéité des fibroblastes et des myofibroblastes : les protéines du cytosquelette permettent de mettre en évidence dans une population apparemment homogène plusieurs sous-populations fibroblastiques qui vraisemblablement possèdent des propriétés particulières et qui peuvent évoluer dans des directions différentes (quiescence,

Figure 2



- a) Expression de l'actine α -musculaire lisse dans des myofibroblastes de derme en culture.
- b) Expression de l'actine α -musculaire lisse dans les nodules d'une cicatrice hypertrophiques (flèche) ; les cellules musculaires lisses présentes dans les parois vasculaires expriment également l'actine α -musculaire lisse.
- c) Brides observées lorsque les cicatrices hypertrophiques contenant des myofibroblastes exercent une rétraction importante dans des localisations sensibles telles que les plis de flexion (image gracieusement fournie par le Dr Castède, Service des grands brûlés, Hôpital Pellegrin, C.H.U. Bordeaux).

prolifération, mort) selon les messages qui leur parviennent. L'utilisation de cultures tridimensionnelles en gel de collagène permet de mimer un tissu conjonctif normal (tel que le derme) ou un tissu de granulation (Grinnell, 1994) et d'étudier le comportement des fibroblastes ou myofibroblastes dans cet environnement (Vaughan et autres, 2000).

C) Facteurs modulant la différenciation myofibroblastique

Les facteurs modulant la formation du tissu de granulation et le développement des myofibroblastes commencent à être bien caractérisés (Desmoulière et Gabbiani, 1997). Différentes cytokines ou facteurs de croissance, des agents pharmacologiques également, ont été précisément étudiés pour leur rôle dans la cicatrisation (Robson, 1997). Parmi les cytokines ou facteurs de croissance, certains agissent spécifiquement sur la différenciation myofibroblastique. En particulier, le *transforming growth factor- β 1* (TGF- β 1) est un très puissant inducteur de la transformation myofibroblastique (Desmoulière et autres, 1993) et favorise la déposition de quantités très importantes de matrice extracellulaire. Le granulocyte *macrophage-colony stimulating factor*, en provoquant la prolifération des macrophages et la différenciation myofibroblastique (Rubbia-Brandt et autres, 1991 ; Vyalov et autres, 1993) permet également le développement du tissu de granulation ; son utilisation pour traiter les plaies chroniques peut être envisagée. L'endothéline agit aussi positivement sur la différenciation myofibroblastique (Appleton et autres, 1992) et, récemment, il a été montré que les interleukines 4 et 13 induisaient le phénotype myofibroblastique (Hashimoto et autres, 2001). Au contraire, l'interféron- γ semble diminuer la formation du tissu de granulation et possède donc des propriétés antifibrosantes intéressantes ; les cicatrices hypertrophiques traitées avec l'interféron- γ régressent de façon significative (Pittet et autres, 1994). Nous verrons plus loin (texte de Mavier) que certains de ces facteurs sont également actifs sur les myofibroblastes rencontrés dans les pathologies hépatiques, notamment le *trans*-resvératrol (Godichaud et autres, 2000) et la pentoxifylline (Desmoulière et autres, 1999). La matrice extracellulaire joue aussit un rôle majeur dans la modulation du phénotype myofibroblastique (Kato et autres, 2001).

D) Remodelage du tissu de granulation et formation de la cicatrice

Le tissu de granulation, dans des conditions normales de cicatrisation, disparaît après migration des kératinocytes et reconstruction de l'épiderme, lorsque la plaie est fermée. Une partie de la matrice

extracellulaire est digérée par des protéases ou est phagocytée par des cellules fibroblastiques (de Freitas et autres, 1992). Cependant, la sécrétion de la matrice extracellulaire n'est pas totalement interrompue ; la quantité déposée est réduite et les composants synthétisés sont peu à peu modifiés. Progressivement, le collagène de type III majoritaire dans le tissu de granulation est remplacé par le collagène de type I, principal composant matriciel présent dans le derme ; quant à l'élastine, dont le rôle est essentiel pour conférer à la peau sa souplesse, elle ne sera ré-exprimée que très tardivement, ceci expliquant la rigidité du tissu cicatriciel (Williams, 1970).

Après la ré-épithélialisation, une réduction importante de la cellularité est observée : les cellules du tissu de granulation, fibroblastes, myofibroblastes et cellules vasculaires (cellules musculaires lisses, péricytes et cellules endothéliales) meurent par apoptose (Desmoulière et autres, 1995). L'apoptose est un mécanisme généralement physiologique de suicide cellulaire — contrairement à la nécrose, qui se développe lors de processus pathologiques. Parmi les modifications importantes présentes dans les cellules apoptotiques, la coupure de l'ADN entre les oligonucléosomes donnant des fragments d'environ 180 pb est la plus caractéristique ; sur le plan morphologique, on observe une condensation de la chromatine le long de la membrane nucléaire. Il est important de préciser qu'au cours du processus d'apoptose, des fragments cellulaires (les corps apoptotiques) limités par une membrane intacte se forment et sont phagocytés par les cellules voisines en absence de réaction inflammatoire.

Les facteurs qui participent à la régulation (positive ou négative) de l'apoptose ne sont pas encore totalement connus. La perte de contact avec la matrice extracellulaire peut déclencher le processus d'apoptose (Meredith et autres, 1993) ; on peut suggérer que lors du remodelage du tissu de granulation, les modifications de la matrice extracellulaire participent à l'induction de l'apoptose. Dans le modèle de cicatrisation que nous avons utilisé, la fermeture de la plaie est progressive et apparaît environ 20 jours après le début du processus de cicatrisation, lorsque l'épiderme recouvre le tissu de granulation (Desmoulière et autres, 1995). Dans ce cas, l'apoptose permet la disparition progressive des cellules et ce processus relativement lent rend difficile l'étude des facteurs impliqués. Lorsque le tissu de granulation était recouvert par un lambeau de peau totale, nous avons observé sa disparition après environ 72 heures (Garbin et autres, 1996) ; dans cette situation, l'apoptose est massive et les mécanismes mis en jeu peuvent être alors plus facilement étudiés.

Une meilleure connaissance des facteurs qui participent à la régulation du processus d'apoptose intervenant lors du remodelage du tissu de granulation, représente un défi important ; en effet, il est probable que ce processus soit inhibé dans les situations pathologiques de cicatrisation excessive.

III) La cicatrisation foétale

L'observation des processus de cicatrisation au cours de la gestation a montré que durant les premiers stades de la vie intra-utérine, la réparation tissulaire est excellente avec une régénération parfaite du tissu cutané ; dans ce cas, la transformation myofibroblastique n'est pas observée (Estes et autres, 1994) et la matrice extracellulaire présente est extrêmement malléable, composée essentiellement d'acide hyaluronique (Adzick et autres, 1994). L'étude détaillée des processus alors mis en jeu pourrait vraisemblablement fournir des informations précieuses pour améliorer la qualité de la cicatrisation chez l'adulte. Les plaies difficiles à cicatrifier sont observées surtout chez les personnes âgées alors que le développement des cicatrices hypertrophiques est particulièrement redouté chez le sujet jeune. Ces observations doivent être corrélées à l'activité des fibroblastes du derme, qui participent à la formation du tissu de granulation et dont les capacités de prolifération diminuent avec l'âge (Bayreuther et autres, 1992).

IV) La réparation tissulaire excessive

Si le tissu de granulation n'est pas remanié et continue à se développer, on observe la formation d'une cicatrisation excessive, cicatrice hypertrophique ou cicatrice chéloïde. Les caractéristiques histologiques de ces deux pathologies sont fondamentalement différentes, les cicatrices hypertrophiques contenant des myofibroblastes, contrairement aux cicatrices chéloïdes qui n'en contiennent pas et ne développent donc pas de rétraction (*figure 2b et 2c* ; Ehrlich et autres, 1994). De plus, les cicatrices hypertrophiques contiennent des fibres de collagène fines habituellement organisées en nodules (*figure 2b*) alors que les cicatrices chéloïdes présentent des fibres de collagène généralement très épaisses. Dans ces deux types de lésions, on peut penser que le processus normal de remaniement du tissu de granulation ne peut pas s'effectuer. Soit des facteurs de croissance sont anormalement sécrétés, soit des substances induisant l'apoptose ou le remodelage de la matrice extracellulaire sont absentes. Au cours de la guérison des plaies, notamment après une brûlure, la cicatrice hypertrophique se développe à la suite de la cicatrisation. À ce

stade, les cellules myofibroblastiques doivent disparaître. Nous avons observé que le maintien des cellules myofibroblastiques après la cicatrisation est un élément défavorable qui vraisemblablement conduira au développement d'une cicatrice hypertrophique (Costa et autres, 1997). Des études préliminaires ont montré que, dans certaines situations pathologiques (cicatrisations excessives), les myofibroblastes présentent une mutation du gène *p53* inhibant vraisemblablement l'apoptose (Ladin et autres, 1998). Récemment, nous avons trouvé que, dans certaines tumeurs, les myofibroblastes présentent des caractéristiques de cellules tumorales, en particulier une mutation du gène *p53*, suggérant une participation active de ces cellules dans la formation de la tumeur (Boivin-Angele et autres, 2000). De plus, des observations permettent de penser que des contraintes mécaniques modifient la biologie des fibroblastes et des myofibroblastes (Costa et autres, 1999). Dans une cicatrice hypertrophique, la pression induit un remaniement très important de la matrice extracellulaire, une réorganisation de la jonction dermo-épidermique et l'apoptose des myofibroblastes. Les mécanismes précis impliqués dans le processus d'apoptose doivent donc être recherchés (Desmoulière et autres, 1997) ; dans le modèle expérimental décrit plus haut (Garbin et autres, 1996) et permettant d'observer une apoptose massive et rapide des cellules du tissu de granulation, les modifications de la matrice extracellulaire semblent être un facteur important dans l'induction du processus d'apoptose (Darby et autres, 1997, 2001). Nous observons une modification très rapide de l'expression du TGF- β 1, qui est diminuée, et des protéases MMP-1 (*matrix metalloproteinase*) et MMP-2 impliquées dans la dégradation de la matrice, dont l'expression est augmentée ; l'expression de l'inhibiteur tissulaire des métalloprotéases de type 1 est également diminuée. *In vitro*, il a été récemment montré que l'organisation de la matrice collagénique pouvait agir sur l'apoptose des fibroblastes (Fluck et autres, 1998). Il est aussi très important de retenir qu'il existe vraisemblablement plusieurs types de cicatrices hypertrophiques en fonction de la localisation, du facteur ayant provoqué la lésion, de la durée de la cicatrisation, etc. De plus, une cicatrice hypertrophique évolue dans le temps (Stella et autres, 1998) et lorsque des études histologiques sont réalisées après biopsie, il est nécessaire de bien caractériser le stade d'évolution de la cicatrice. Bien sûr, la rééducation, en proposant selon différents critères (gravité de la brûlure, localisation, lésions associées, stade évolutif et état fonctionnel du patient) une immobilisation et une compression précoces, joue un rôle prépondérant pour éviter l'évolution d'une cicatrice vers la rétraction et l'hypertrophie. Toutes ces données (Costa et Desmoulière, 1998 ; Tuan et Nichter, 1998) doivent être

prises en considération pour rechercher des traitements agissant spécifiquement sur les cellules impliquées dans le développement des cicatrices hypertrophiques et sur leur capacité contractile à l'origine des rétractions. Ces études concernant la cicatrisation cutanée normale et pathologique peuvent fournir des éléments intéressants pour mieux appréhender les mécanismes conduisant au développement des fibroses d'organe, notamment.

V) Conclusion

Au cours du processus de cicatrisation, à la suite d'une phase d'inflammation, le tissu de granulation se développe puis disparaît, après réépithélialisation, par apoptose des cellules qui le composent et remodelage de la matrice extracellulaire. Schématiquement, lorsque le processus d'inflammation ne permet pas le développement du tissu de granulation, la plaie peut devenir chronique. Au contraire, lorsque le tissu de granulation continue à se développer, malgré la réépithélialisation, on observe alors l'apparition d'une cicatrice hypertrophique. Dans ces processus, les myofibroblastes exprimant l'actine α -musculaire lisse, qui leur confère d'importantes propriétés contractiles (Hinz et autres, 2001a et 2001b), joue un rôle très important (Tomasek et autres, 2002). Récemment, il a été montré qu'il était possible d'agir sur les propriétés contractiles des myofibroblastes en agissant sur l'actine α -musculaire lisse (Hinz et autres, 2002) ; cela ouvre des perspectives thérapeutiques très intéressantes dans les pathologies fibrosantes. La découverte des facteurs de croissance laissait entrevoir la mise en place de thérapeutiques efficaces pour le traitement des plaies chroniques. Cependant, en l'absence d'une analyse globale des différents mécanismes impliqués dans la cicatrisation, l'utilisation de ces facteurs de croissance s'est révélée décevante. En effet, il faut tenir compte aussi de la matrice extracellulaire, des protéases et de leurs inhibiteurs, de l'environnement mécanique. Enfin, les données fondamentales de plus en plus complexes ne pourront être correctement utilisées si l'analyse clinique des plaies et de la cicatrisation n'est pas faite suivant des critères stricts.

Remerciements

Ce travail a été appuyé en partie par la Région Aquitaine, le Conseil de recherches médicales du Canada et le CRSNG (Canada). Kozue Uchio est boursière de la Société japonaise pour la promotion des sciences et Dionne Lorena bénéficie d'un financement CAPES (Brésil).

Références bibliographiques

- Adzick, N.S. et H.P. Lorenz. « Cells, matrix, growth factors, and the surgeon. The biology of scarless fetal wound repair », *Ann. Surg.*, 1994, n° 220, p. 10-18.
- Amadeu, T.P., A.S. Braune, L.C. Porto, A. Desmoulière et A.M.A. Costa. « Fibrillin-1 and elastin are differently expressed in hypertrophic scars and keloids », *Wound Rep. Reg.*, 2004, sous presse.
- Appleton, I., A. Tomlinson, C.L. Chander et D.A. Willoughby. « Effect of endothelin-1 on croton oil-induced granulation tissue in the rat. A pharmacologic and immunohistochemical study », *Lab. Invest.*, 1992, n° 67, p. 703-710.
- Bayreuther, K., P.I. Francz, J. Gogol et K. Kontermann, « Terminal differentiation, aging, apoptosis, and spontaneous transformation in fibroblast stem cell systems in vivo and in vitro », *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1992, n° 663, p. 167-179.
- Boivin-Angele, S., S. Pedron, S. Bertrand, A. Desmoulière, G. Martel-Planche, L. Lefrançois, B. Bancel, C. Trepo et M.J. Marion. « Establishment and characterization of a spontaneously immortalized myofibroblast cell line derived from a human liver angiosarcoma », *J. Hepatol.*, 2000, n° 33, p. 290-300.
- Costa, A.M.A., J.P. Comparin, E. Mahjoub, E. Dantzer, J. Latarjet, J.L. Foyatier, G. Gabbiani et A. Desmoulière. « Scarring in post-burn lesions », *Wound Rep. Reg.*, 1997, n° 5, p. A109.
- Costa, A.M.A. et A. Desmoulière. « Mechanisms and factors involved in development of hypertrophic scars », *Eur. J. Plast. Surg.*, 1998, n° 21, p. 19-23.
- Costa, A.M., S. Peyrol, L.C. Porto, J.P. Comparin, J.L. Foyatier et A. Desmoulière. « Mechanical forces induce scar remodeling. Study in non-pressure-treated versus pressure-treated hypertrophic scars », *Am. J. Pathol.*, 1999, n° 155, p. 1671-1679.
- Darby, I., O. Skalli et G. Gabbiani. « Alpha-smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing », *Lab. Invest.*, 1990, n° 63, p. 21-29.
- Darby, I., T. Bisucci, B. Pittet, S. Garbin, G. Gabbiani et A. Desmoulière. « Covering by a skin flap induces rapid disappearance of granulation tissue with altered growth factor, matrix and protease mRNA expression », *Wound Rep. Reg.*, 1997, n° 5, p. A271.
- Darby, I., T. Bisucci, B. Pittet, S. Garbin, G. Gabbiani et A. Desmoulière. « Application of a skin flap induced apoptosis in granulation tissue, reduced growth factor and increased matrix metalloproteinases gene expression », *J. Pathol.*, 2002, n° 197, p. 117-127.
- De Freitas, L.A., J.A. Grimaud, M. Chevallier et Z.A. Andrade. « Morphological aspects of early and late collagen degradation in granulation tissue », *Exp. Toxicol. pathol.*, 1992, n° 44, p. 128-133.

- De Freitas, L.A., J.A. Grimaud, M. Chevallier et Z.A. Andrade. « Morphological aspects of early and late collagen degradation in granulation tissue », *Exp. Toxicol. pathol.*, 1992, n° 44, p. 128-133.
- Desmoulière, A., G. Xu, A.M. Costa, I.M. Yousef, G. Gabbiani et B. Tuchweber. « Effect of pentoxifylline on early proliferation and phenotypic modulation of fibrogenic cells in two rat models of liver fibrosis and on cultured hepatic stellate cells », *J. Hepatol.*, 1999, n° 30, p. 621-631.
- Desmoulière, A., L. Rubbia-Brandt, A. Abdiu, T. Walz, A. Macieira-Coelho et G. Gabbiani. « Alpha-smooth muscle actin is expressed in a subpopulation of cultured and cloned fibroblasts and is modulated by gamma-interferon », *Exp. Cell. Res.*, 1992, n° 201, p. 64-73.
- Desmoulière, A., A. Geinoz, F. Gabbiani et G. Gabbiani. « Transforming growth factor-beta 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts », *J. Cell. Biol.*, 1993, n° 122, p. 103-111.
- Desmoulière, A. et G. Gabbiani. « Modulation of fibroblastic cytoskeletal features during pathological situations : the role of extracellular matrix and cytokines », *Cell. Motil. Cytoskeleton*, 1994, n° 29, p. 195-203.
- Desmoulière, A., M. Redard, I. Darby et G. Gabbiani. « Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar », *Am. J. Pathol.*, 1995, n° 146, p. 56-66.
- Desmoulière, A. et G. Gabbiani. « The role of myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases », dans *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*, 2^e éd., Clark RAF, éditeur, New York, Plenum Press, 1996, p. 91-423.
- Desmoulière, A., I. Darby, A.M. Costa, M. Raccurt, B. Tuchweber, P. Sommer, G. Gabbiani. « Extracellular matrix deposition, lysyl oxidase expression, and myofibroblastic differentiation during the initial stages of cholestatic fibrosis in the rat », *Lab. Invest.*, 1997, n° 76, p. 765-78.
- Desmoulière, A., C. Badid, M.L. Bochaton-Piallat et G. Gabbiani. « Apoptosis during wound healing, fibrocontractive diseases and vascular wall injury », *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 1997, n° 29, p. 19-30.
- Desmoulière, A. et G. Gabbiani. « Fibroblast proliferation and matrix synthesis during wound healing and pathological scarring », *J. Surg. Pathol.*, 1997, n° 2, p. 163-169.
- Desmoulière, A., G. Xu, A.M. Costa, I.M. Yousef, G. Gabbiani et B. Tuchweber. « Effect of pentoxifylline on early proliferation and phenotypic modulation of fibrogenic cells in two rat models of liver fibrosis and on cultured hepatic stellate cells », *J. Hepatol.*, 1999, n° 30, p. 621-631.
- Desmoulière, A., C. Guyot, G. Gabbiani. « The stroma reaction myofibroblast : a key player in the control of tumor cell behavior », *Int. J. Dev. Biol.*, 2004, sous presse.

- Ehrlich, H.P., A. Desmoulière, R.F. Diegelmann, I.K. Cohen, C.C. Compton, W.L. Garner, Y. Kapanci et G. Gabbiani. « Morphological and immunochemical differences between keloid and hypertrophic scar », *Am. J. Pathol.*, 1994, n° 145, p. 105-113.
- Estes, J.M., J.S. Vande Berg, N.S. Adzick, T.E. MacGillivray, A. Desmoulière et G. Gabbiani. « Phenotypic and functional features of myofibroblasts in sheep fetal wounds », *Differentiation*, 1994, n° 56, p. 173-181.
- Eyden, B. « The fibronexus in reactive and tumoral myofibroblasts : further characterisation by electron microscopy », *Histol. Histopathol.*, 2001, n° 16, p. 57-70.
- Fluck, J., C. Querfeld, A. Cremer, S. Niland, T. Krieg et S. Sollberg. « Normal human primary fibroblasts undergo apoptosis in three-dimensional contractile collagen gels », *J. Invest. Dermatol.*, 1998, n° 110, p. 153-157.
- Franke, W.W. et W. Schinko. « Nuclear shape in muscle cells », *J. Cell. Biol.*, 1969, n° 42, p. 326-331.
- Gabbiani, G., G.B. Ryan et G. Majne. « Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction », *Experientia*, 1971, n° 27, p. 549-550.
- Gabbiani, G., E. Schmid, S. Winter, C. Chaponnier, C. de Ckhasstouay, J. Vanderkerckhove, K. Weber et W.W. Franke. « Vascular smooth muscle cells differ from other smooth muscle cells : predominance of vimentin filaments and a specific alpha-type actin », *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, n° 78, p. 298-302.
- Garbin, S., B. Pittet, D. Montandon, G. Gabbiani et A. Desmoulière. « Covering by a skin flap induces apoptosis of granulation tissue myofibroblasts and vascular cells », *Wound Rep. Reg.*, 1996, n° 4, p. 244-251.
- Godichaud, S., S. Krisa, B. Couronne, L. Dubuisson, J.M. Merillon, A. Desmoulière et J. Rosenbaum. « Deactivation of cultured human liver myofibroblasts by trans-resveratrol, a grapevine-derived polyphenol », *Hepatology*, 2000, n° 31, p. 922-931.
- Grinnell, F. « Fibroblasts, myofibroblasts, and wound contraction », *J. Cell. Biol.*, 1994, n° 124, p. 401-404.
- Hashimoto, S., Y. Gon, I. Takeshita, S. Maruoka, et T. Horie. « IL-4 and IL-13 induce myofibroblastic phenotype of human lung fibroblasts through c-Jun NH2-terminal kinase-dependent pathway », *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, n° 107, p. 1001-1008.
- Hinz, B., G. Celetta, J.J. Tomasek, G. Gabbiani et C. Chaponnier. « α -Smooth muscle actin expression upregulates fibroblast contractile activity », *Mol. Biol. Cell*, 2001a, n° 12, p. 2730-2741.
- Hinz, B., D. Mastrangelo, C.E. Iselin, C. Chaponnier et G. Gabbiani. « Mechanical tension controls granulation tissue contractile activity and myofibroblast differentiation », *Am. J. Pathol.*, 2001b, n° 159, p. 1009-1020.

- Hinz, B., G. Gabbiani et C Chaponnier. « The NH₂-terminal peptide of alpha-smooth muscle actin inhibits force generation by the myofibroblast in vitro and in vivo », *J. Cell. Biol.*, 2002, n° 157, p. 657-663.
- Kato, R., S. Kamiya, M. Ueki, H. Yajima, T. Ishii, H. Nakamura, T. Katayama et F. Fukai. « The fibronectin-derived antiadhesive peptides suppress the myofibroblastic conversion of rat hepatic stellate cells », *Exp. Cell. Res.*, 2001, n° 265, p. 54-63.
- Ladin, D.A., Z. Hou, D. Patel, M. McPhail, J.C. Olson, G.M. Saed et D.P. Fiverson. « P53 and apoptosis alterations in keloids and keloid fibroblasts », *Wound Rep. Reg.*, 1998, n° 6, p. 28-37.
- Meredith, J.E., B. Fazeli et M.A. Schwartz. « The extracellular matrix as a cell survival factor », *Mol. Biol. Cell*, 1993, n° 4, p. 953-961.
- Pittet, B., L. Rubbia-Brandt, A. Desmoulière, A.P. Sappino, P. Roggero, S. Guerret, J.A. Grimaud, R. Lacher, D. Montandon et G. Gabbiani. « Effect of gamma-interferon on the clinical and biologic evolution of hypertrophic scars and Dupuytren's disease : an open pilot study », *Plast. Reconstr. Surg.*, 1994, n° 93, p. 1224-1235.
- Robson, M.C. « The role of growth factors in the healing of chronic wounds », *Wound Rep. Reg.*, 1997, n° 5, p. 12-17.
- Rubbia-Brandt, L., A.P. Sappino et G. Gabbiani. « Locally applied GM-CSF induces the accumulation of alpha-smooth muscle actin containing myofibroblasts », *Virchows Arch. B. Cell Pathol. Incl. Mol. Pathol.*, 1991, n° 60, p. 73-82.
- Schmitt-Graff, A., A. Desmoulière et G. Gabbiani. « Heterogeneity of myofibroblast phenotypic features : an example of fibroblastic cell plasticity », *Virchows Arch.*, 1994, n° 425, p. 3-24.
- Schürch, W., T.A. Seemayer et G. Gabbiani. « Myofibroblast », dans *Histology for Pathologists*, S.S. Sternberg, éditeur, New York, Raven Press, 1992, p. 109-144.
- Serini, G., M.L. Bochaton-Piallat, P. Ropraz, A. Geinoz, L. Borsi, L. Zardi, G. Gabbiani. « The fibronectin domain ED-A is crucial for myofibroblastic phenotype induction by transforming growth factor-beta1 », *J. Cell. Biol.*, 1998, n° 142, p. 873-881.
- Serini, G. et G. Gabbiani. « Mechanisms of myofibroblast activity and phenotypic modulation », *Exp. Cell. Res.*, 1999, n° 250, p. 273-283.
- Singer, I.I., D.W. Kawka, D.M. Kazazis et R.A. Clark. « In vivo co-distribution of fibronectin and actin fibers in granulation tissue : immunofluorescence and electron microscope studies of the fibronexus at the myofibroblast surface », *J. Cell. Biol.*, 1984, n° 98, p. 2091-2106.
- Skalli, O., G. Gabbiani, F. Babai, T.A. Seemayer, G. Pizzolato et W. Schurch. « Intermediate filament proteins and actin isoforms as markers for soft

- tissue tumor differentiation and origin. II. Rhabdomyosarcomas », *Am. J. Pathol.*, 1988, n° 130, p. 515-531.
- Stella, M., C. Castagnoli, C. Trombotto, M. Calcagni, G. Magliacani et S. Teich Alasia. « Interrelationship between immunocompetent and structural cells in post-burn scars », *Eur. J. Plast. Surg.*, 1998, n° 21, p. 8-13.
- Taipale, J., J. Saharinen, K. Hedman et J. Keski-Oja. « Latent transforming growth factor-beta 1 and its binding protein are components of extracellular matrix microfibrils », *J. Histochem. Cytochem.*, 1996, n° 44, p. 875-889.
- Tomasek, J.J., G. Gabbiani, B. Hinz, C. Chaponnier et R.A. Brown. « Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling », *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 2002, n° 3, p. 349-363.
- Tuan, T.L. et L.S. Nichter. « The molecular basis of keloid and hypertrophic scar formation », *Mol. Med. Today*, 1998, n° 4, p. 19-24.
- Tuchweber, B., A. Desmoulière, M.L. Bochaton-Piallat, L. Rubbia-Brandt et G. Gabbiani. « Proliferation and phenotypic modulation of portal fibroblasts in the early stages of cholestatic fibrosis in the rat », *Lab. Invest.*, 1996, n° 74, p. 265-278.
- Tuchweber, B., A. Desmoulière et G. Gabbiani. « Tissue repair », dans *Encyclopedia of Toxicology*, P. Wexler, éditeur, San Diego, Academic Press, 1998, p. 238-244.
- Vaughan, M.B., E.W. Howard et J.J. Tomasek. « Transforming growth factor-beta1 promotes the morphological and functional differentiation of the myofibroblast », *Exp. Cell. Res.*, 2000, n° 257, p. 180-189.
- Vyalov, S., A. Desmoulière et G. Gabbiani. « GM-CSF-induced granulation tissue formation : relationships between macrophage and myofibroblast accumulation », *Virchows Arch. B. Cell. Pathol. Incl. Mol. Pathol.*, 1993, n° 63, p. 231-239.
- Walker, G.A., I.A. Guerrero et L.A. Leinwand. « Myofibroblasts : molecular crossdressers », *Curr. Top Dev. Biol.*, 2001, n° 51, p. 91-107.
- Williams, G. « The late phases of wound headline : histological and ultrastructural studies of collagen and elastic-tissue formation », *J. Pathol.*, 1970, n° 102, p. 61-68.

MYOFIBROBLASTES HÉPATIQUES : LEUR IMPLICATION DANS LE DÉVELOPPEMENT DES FIBROSES DU FOIE

*Beatriz Tuchweber,
Thierry Lamireau
et Alexis Desmoulière*

Titre courant

Cellules fibrogéniques hépatiques

Mots clés

Cellule étoilée du foie, fibroblaste portal, myofibroblaste, matrice extracellulaire

Résumé

La fibrose hépatique est définie comme l'accumulation d'un excès de composants de la matrice extracellulaire hépatique. Son stade évolutif ultime est la cirrhose, responsable de morbidité et de mortalité importantes. Le dépôt de la fibrose hépatique est lié à l'activité de cellules fibrogéniques, les myofibroblastes hépatiques. Les myofibroblastes sont absents du foie normal et dérivent de l'activation de cellules précurseurs présentes dans le foie normal, les mieux étudiées étant les cellules étoilées du foie. Ces cellules sont caractérisées par leur localisation périsinusoïdale, leurs longs prolongements cytoplasmiques s'étendant le long et autour des sinusoides et entre les hépatocytes, et leurs gouttelettes cytoplasmiques de lipide. Nous et d'autres avons proposé le concept d'hétérogénéité des cellules fibrogéniques dans le foie, en montrant que les fibroblastes portaux présents dans les zones portes jouent également un rôle important dans la fibrogenèse hépatique. Différents modèles expérimentaux de dommage du foie ont été décrits. Ces modèles permettent de caractériser les cellules fibroblastiques impliquées dans le développement de la lésion. Après traitement avec du tétrachlorure de carbone, une nécrose se produit autour des veines centrolobulaires ; dans ce cas-ci, les cellules étoilées du foie sont impliquées dans le processus de réparation. Les fibroblastes portaux sont impliqués dans la fibrose portale induite par ligature du canal cholédoque. Des cytokines tels que le *platelet-derived growth factor* ou le *connective tissue growth factor*, agissent

sur la différenciation myofibroblastique. Les myofibroblastes sont également un composant important de la réaction stromale qui se développe autour des carcinomes hépatocellulaires. Tous ces résultats suggèrent qu'il est nécessaire de réévaluer le rôle des différentes cellules fibrogéniques impliquées dans le développement de la fibrose hépatique et le dépôt de matrice extracellulaire.

1) Introduction

La fibrose hépatique est caractérisée par un excès de synthèse et de dépôt de matrice extracellulaire en réponse à des stimuli variés (hépatite virale, maladie métabolique, cholestase...). Après une agression aiguë du foie (par exemple, une hépatite virale A), la fibrogenèse est contrebalancée par la destruction de la matrice extracellulaire formée en excès. Après une agression unique de courte durée, il y a une réparation quasi complète du tissu lésé. Mais quand l'agression est prolongée et sévère, comme à l'occasion de nombreuses maladies chroniques du foie, le dépôt de fibrose prédomine et peut conduire à la cirrhose.

La fibrose hépatique constitue un processus de réparation tissulaire intervenant dans les hépatopathies chroniques de façon identique à toute cicatrisation, comprenant une inflammation, le recrutement et l'activation de cellules myofibroblastiques ainsi que le remodelage de la matrice extracellulaire (*voir le chapitre par Uchio et coll.*). Les mécanismes des maladies chroniques du foie ont été bien étudiés et le dépôt de matrice extracellulaire varie selon le type et le site de la lésion. Aux stades précoces de l'hépatopathie alcoolique, les lésions et la fibrose sont essentiellement centrolobulaires, alors que dans les hépatites virales l'inflammation et la fibrose prédominent en région périportale. Dans les cholestases chroniques, la fibrose est périportale, mais l'inflammation est plus modérée. Dans le foie, les composants de la matrice extracellulaire peuvent être synthétisés par les hépatocytes, les cellules épithéliales biliaires ou les cellules endothéliales (Clément et autres, 1986). Néanmoins, les cellules fibroblastiques/myofibroblastiques sont les principales cellules responsables de la production de matrice extracellulaire (Gressner et autres, 1995). Les études menées avec divers modèles animaux ont montré que différentes cellules fibroblastiques du foie peuvent intervenir dans les stades précoces de fibrose induite par des stimuli variés. La cellule étoilée du foie (appelée aussi cellule périsinusoïdale, ou cellule de Ito), a été considérée comme la principale cellule responsable de la synthèse matricielle, mais des travaux récents indiquent que les fibroblastes portaux sont également impliqués dans la fibrose au cours des

cholestases (Tuchweber et autres, 1996). Le présent texte sera centré sur les différentes cellules fibrogéniques du foie au cours des stades initiaux de la fibrose, en particulier la prolifération et l'activation des cellules myofibroblastiques et les médiateurs impliqués.

II) Les cellules fibroblastiques du foie

A) Les cellules étoilées du foie

Dans le foie normal, les cellules étoilées sont situées dans l'espace de Disse et sont caractérisées par la présence dans leur cytoplasme de vacuoles lipidiques riches en vitamine A, indiquant leur rôle dans le métabolisme de cette vitamine (Hendriks et autres, 1987). Elles font également fonction de péricytes, jouant un rôle dans la régulation du flux et de la pression dans les sinusoides (Kawada et autres, 1993). À l'état quiescent, les cellules étoilées du foie expriment un certain nombre de protéines du cytosquelette (comme la desmine chez le rat), de la matrice extracellulaire (comme la fibrilline-1 chez l'humain) et des marqueurs neuronaux (comme la nestine ou la synaptophysine ; voir Cassiman et Roskams, 2002). Après activation par divers stimuli, elles prolifèrent et expriment l'actine α -musculaire lisse, considérée comme un marqueur de leur activation (*figure 1a*) (Ramadori et autres, 1990). Les cellules étoilées du foie activées ou les autres cellules myofibroblastiques sécrètent alors des quantités importantes de matrice extracellulaire, participant ainsi au développement du tissu fibreux qui caractérise la cirrhose hépatique (*figure 1b*) (Clément et autres, 1986).

Les cellules étoilées du foie isolées et cultivées expriment rapidement l'actine α -musculaire lisse. Mais l'étude des différents marqueurs, à l'état quiescent et après activation *in situ* ou en culture, a révélé une hétérogénéité des cellules fibroblastiques, dont il existerait au moins deux lignées distinctes : les cellules étoilées du foie et les (myo)fibroblastes portaux/septaux (Knittel et autres, 1999a, 1999b ; Cassiman et autres, 2002). Ces derniers peuvent exprimer l'actine α -musculaire lisse et sont localisés dans les espaces portes et les septa fibreux. Ils ne dérivent pas des cellules étoilées du foie, mais de cellules fibroblastiques portales.

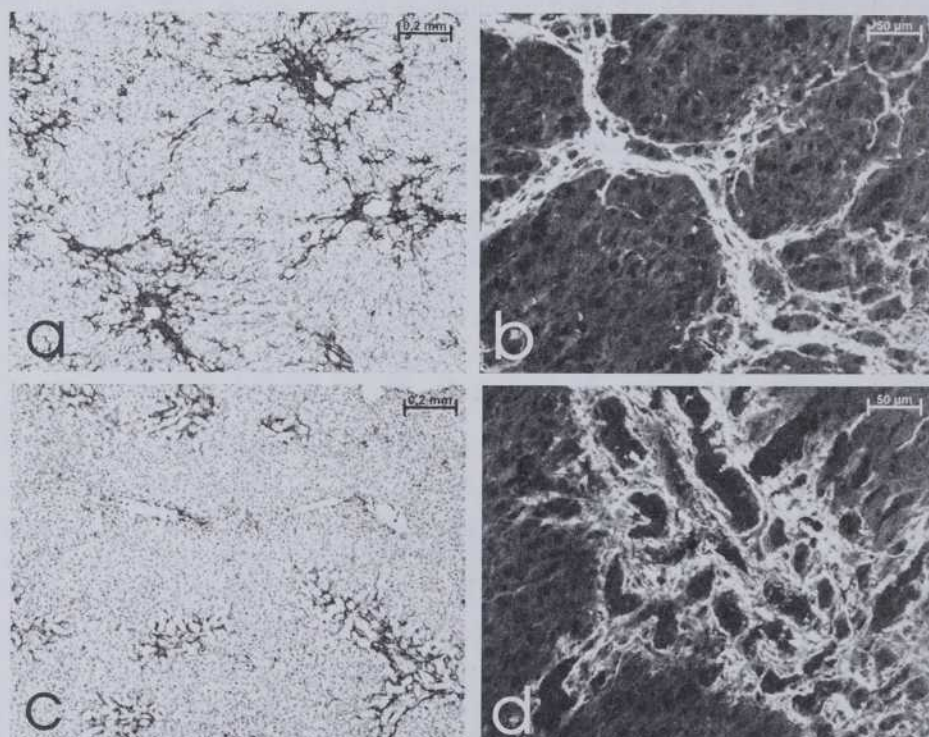
Récemment, l'intérêt de la *cellular retinol-binding protein-1* (CRBP-1) pour identifier les différentes cellules fibrogéniques a été bien démontré (Uchio et autres, 2002) ; en effet, la CRBP-1 pourrait être le marqueur jusqu'ici manquant des cellules étoilées du foie chez l'humain (Lepreux et autres, 2004).

Ces données indiquent qu'il existe dans le foie différentes populations de cellules fibroblastiques ayant une localisation et une expression de marqueurs immunohistochimiques différentes, et qui pourraient avoir un rôle différent dans le processus de fibrose.

B) Les fibroblastes portaux

Plusieurs études indiquent que des cellules mésenchymateuses des espaces portes contribuent à la fibrose biliaire. Il a été suggéré que les fibroblastes ou cellules myofibroblastiques portaux et périductulaires participent au développement de la fibrose après ligature de la

Figure 1



Expression de l'actine α -musculaire lisse (a, c) et du collagène III (b, d) après traitement au tétrachlorure de carbone (a, b) ou ligature du canal cholédoque (c, d). Après traitement au tétrachlorure de carbone pendant deux semaines, les cellules étoilées du foie autour des zones centrolobulaires acquièrent l'expression d'actine α -musculaire lisse (a) et sécrètent de la matrice extracellulaire (b). Sept jours après ligature du canal cholédoque, les fibroblastes portaux qui prolifèrent autour des canaux biliaires acquièrent l'expression d'actine α -musculaire lisse (c) et déposent de la matrice extracellulaire (d).

voie biliaire principale et dans l'infection chronique à *Schistosomia*. Nous avons étudié les stades précoces de la fibrose périportale après ligature de la voie biliaire principale chez le rat, qui reproduit les lésions de fibrose et de cirrhose biliaire chez l'humain. Dans ce modèle, nous avons observé une prolifération très précoce des structures biliaires associée à un infiltrat inflammatoire modéré (Tuchweber et autres, 1996). Les fibroblastes périductulaires prolifèrent, expriment la desmine et l'actine α -musculaire lisse, indiquant ainsi leur activation (figure 1c), et sécrètent d'importantes quantités de matrice extracellulaire (figure 1d). Mais la plupart des fibroblastes périductulaires exprimant l'actine α -musculaire lisse sont desmine négatifs, soulignant l'hétérogénéité de l'expression des protéines du cytosquelette des cellules fibroblastiques au cours de la fibrose portale. La signification de la prolifération ductulaire dans les cholestases chroniques n'est pas bien comprise, mais elle semble jouer un rôle, avec la réaction inflammatoire, dans le développement de la fibrose. En fait, les structures ductulaires en prolifération produisent des constituants de la matrice extracellulaire, des facteurs de croissance profibrogéniques (Grappone et autres, 1999 ; Lamireau et autres, 1999 ; Sedlaczek et autres, 2001) et expriment des récepteurs pour des facteurs mitogènes épithéliaux. Des observations récentes de notre laboratoire indiquent que des acides biliaires, qui s'accumulent dans le foie au cours des cholestases, peuvent stimuler la production de cytokines et chemokines par des cellules épithéliales en culture (Lamireau et autres, 2003). Ces dernières sont au centre du processus pathologique de la cirrhose biliaire primitive, dans laquelle il existe une réponse inflammatoire précoce, une prolifération ductulaire secondaire et une destruction des canaux interlobulaires. Le rôle important des fibroblastes portaux semble maintenant bien accepté (Ramadori et Saile, 2004).

C) Les autres cellules fibrogéniques dans le foie

D'autres populations de cellules fibrogéniques et présentes dans le foie ont été décrites. Il existe ainsi des (myo)fibroblastes situés autour des veines centrolobulaires qui prolifèrent dans les stades précoces de l'hépatopathie alcoolique chez le babouin, entraînant une fibrose centrolobulaire. Des fibroblastes sont également présents dans la capsule de Glisson. Ces cellules peuvent proliférer et exprimer rapidement l'actine α -musculaire lisse après une agression chimique et entraîner une fibrose. Récemment, il a été montré que, dans la fibrose chez l'humain, une proportion significative de myofibroblastes proviennent de la moelle osseuse (Forbes et autres, 2004).

III) La production de constituants de la matrice extracellulaire

La fibrose hépatique est caractérisée par une accumulation excessive de constituants de la matrice extracellulaire qui peut varier selon le stade de la maladie. Précocement, il existe une nécrose et une inflammation, et l'on observe une augmentation de la production de tenascine et de fibronectine, associées à une attraction et à une prolifération des cellules inflammatoires et des cellules sécrétant la matrice extracellulaire (cellules étoilées du foie, myofibroblastes, fibroblastes portaux). On trouve également la laminine, l'entactine et l'unduline. Dans la fibrose sans nécrose ou sans inflammation importante, comme les cholestases, il existe aussi une augmentation de la laminine, de la fibronectine, de la tenascine et de l'unduline. Au moment d'une agression du foie, le collagène III est sécrété en premier, puis remplacé par le collagène I qui devient alors le constituant majeur des dépôts collagéniques dans le foie cirrhotique. Les collagènes IV, V et VI sont également déposés dans les septa fibreux. Nous avons montré une augmentation importante de la lysyl oxydase dans les zones périductulaires lors des stades précoces des fibroses portales (Desmoulière et autres, 1997). Récemment, l'expression de la fibrilline dans le foie, son intérêt pour différencier les cellules fibrogéniques et ses rôles possibles dans l'adhésion ou la mobilité cellulaire notamment, ont été bien étudiés (Dubuisson et autres, 2001 ; Lamireau et autres, 2002 ; Lorena et autres, 2004).

L'expression d'actine α -musculaire lisse par les cellules étoilées du foie et les fibroblastes portaux est associée à un dépôt des composants de la matrice extracellulaire. De plus, la distribution de la matrice extracellulaire varie avec le type et le lieu de la lésion. Par exemple, le dépôt de matrice extracellulaire dans l'hépatite virale a lieu dans les zones périportales où existe initialement l'inflammation. Dans l'intoxication alcoolique, les lésions puis la fibrose débutent dans les zones centrolobulaires. Par ailleurs, dans les maladies cholestatiques, l'accumulation de matrice extracellulaire a lieu en zone périportale alors que la nécrose et l'inflammation y sont modérées. Donc, les cellules impliquées et les mécanismes du processus de fibrose diffèrent selon les agents étiologiques.

Durant la fibrogenèse hépatique, les cellules étoilées du foie, les myofibroblastes et les fibroblastes portaux sont les principales cellules fibrogéniques, mais les cellules endothéliales sinusoidales, les cellules de Kupffer, les hépatocytes et les cellules épithéliales biliaires peuvent également produire des protéines de la matrice extracellulaire. Les cellules

endothéliales sinusoïdales peuvent jouer un rôle important dans la fibrose au cours du processus de capillarisation des sinusoïdes. Les cellules de Kupffer et les hépatocytes jouent un rôle mineur dans la sécrétion de matrice extracellulaire, mais les cellules épithéliales biliaires peuvent produire plusieurs composants matriciels importants dans la fibrose d'origine biliaire. Les cellules de Kupffer libèrent de nombreux médiateurs comme des cytokines et mitogènes -- *tumor necrosis factor* (TNF)- α , transforming growth factor (TGF)- β , *hepatocyte growth factor* (HGF), *platelet-derived growth factor* -- et des métabolites réactifs de l'oxygène, qui peuvent moduler la prolifération et le phénotype des cellules étoilées du foie et d'autres cellules fibrogéniques comme les fibroblastes portaux (Kinnman et autres, 2003). Dans les cholestases, le stress oxydatif des cellules de Kupffer, induit par les acides biliaires toxiques, pourrait ainsi jouer un rôle dans la fibrose portale, comme le suggèrent les expériences de blocage par le transfert du gène de la superoxyde dismutase qui réduit la production de cytokines (TNF- α , TGF- β) et du *nuclear factor kappa B* ainsi que la sévérité des lésions de fibrose.

La matrice extracellulaire du tissu fibreux n'est pas une structure inerte. En fait, elle module l'adhésion, la migration et la différenciation des cellules environnantes. Elle constitue un ligand interagissant avec les cytokines et facteurs ayant un effet important sur la synthèse et le dépôt de matrice extracellulaire. Comme dans le cas d'une cicatrisation en général, la fibrose reflète une balance entre production et dégradation de matrice extracellulaire. Les *matrix metalloproteinases* (MMP de types 1 et 2) jouent un rôle majeur dans le remodelage matriciel, de même que leurs inhibiteurs TIMP-1 et TIMP-2 (*tissue inhibitor of matrix metalloproteinase*). Ces derniers sont exprimés par de nombreux types cellulaires, mais à des niveaux variables. Les cellules fibrogéniques, les hépatocytes, les cellules de Kupffer participent à la dégradation de la matrice extracellulaire. Il est intéressant de noter que l'expression de l'ARN messager du TIMP-1 augmente de façon importante au cours des stades précoces de fibrose dans les cholestases, avant celle de l'actine α -musculaire lisse par les fibroblastes portaux. Ceci suggère que des changements de la matrice extracellulaire pourraient déclencher une réponse adaptative de la part des fibroblastes, soulignant le rôle biologique de la matrice extracellulaire en modulant le phénotype et le comportement cellulaires.

IV) Les mécanismes de la fibrose

Des efforts importants ont permis une meilleure compréhension des mécanismes de la fibrose hépatique. Des cytokines et peptides

régulateurs sécrétés par plusieurs types cellulaires sont considérés comme des éléments clés du processus de fibrose.

Le TNF- α est un médiateur majeur des lésions hépatiques. Après sa libération par les hépatocytes et les cellules sinusoidales (cellules endothéliales et cellules de Kupffer), il peut activer les cellules étoilées du foie, déclenchant ainsi la fibrose. Le *nuclear factor kappa B*, effecteur du TNF, est activé dans les maladies inflammatoires du foie, suggérant qu'il pourrait être une cible pour moduler ou inhiber la fibrogenèse. Des facteurs de croissance et des cytokines régulent l'activité des cellules fibrogéniques. La prolifération et l'activation des cellules fibrogéniques est stimulée par de nombreuses cytokines comme l'interleukine-1, l'endothéline-1, et surtout, le TGF- β (Knittel et autres, 1996). Il serait certainement capital de chercher à moduler la production de TGF- β pour influencer la fibrogenèse (Qi et autres, 1999). De façon intéressante, on note que les effets bénéfiques de l'HGF sur la fibrose hépatique semblent associés à des taux bas de TGF- β . D'autres facteurs comme le *fibroblast growth factor* ou l'*insulin-like growth factor* peuvent influencer la prolifération cellulaire. Les interférons alpha et gamma sont capables d'inhiber la prolifération des cellules étoilées du foie et leur synthèse de collagène (Mallat et autres, 1995). La régulation de l'expression des TIMP et MMP par les cytokines suggère que la diminution de la dégradation de la matrice extracellulaire au cours des maladies hépatiques chroniques pourrait entraîner une activation de TGF- β par l'induction de TIMP.

V) Conclusion

L'intérêt majeur de l'étude des cellules étoilées du foie dans la compréhension des processus de fibrose du foie est évident. Néanmoins, il apparaît maintenant que les cellules étoilées du foie ne constituent qu'une population de cellules fibrogéniques parmi celles contribuant à la fibrose hépatique (Desmoulière et autres, 2003). Le rôle spécifique de ces derniers dépend de la nature de la maladie causale. Par exemple, dans la fibrose biliaire, les fibroblastes portaux et périductulaires pourraient être les principales cellules fibrogéniques, alors que dans les cas de maladies métaboliques ou liées à l'intoxication alcoolique, ce sont d'abord les cellules étoilées du foie ou myofibroblastes qui sont responsables de la fibrose sinusoidale et péricentrolobulaire. Comme le degré d'inflammation varie avec la pathologie, une attention particulière devrait être portée au rôle des cytokines dans le processus de fibrose. Récemment, les études des bases moléculaires de l'activation des cellules fibrogéniques et de leurs interactions avec la matrice extracellulaire ont été

très importantes. Une meilleure connaissance des signaux spécifiques impliqués dans l'activation des différentes cellules fibrogéniques devrait permettre le développement de nouvelles approches thérapeutiques de la fibrose hépatique.

Remerciements

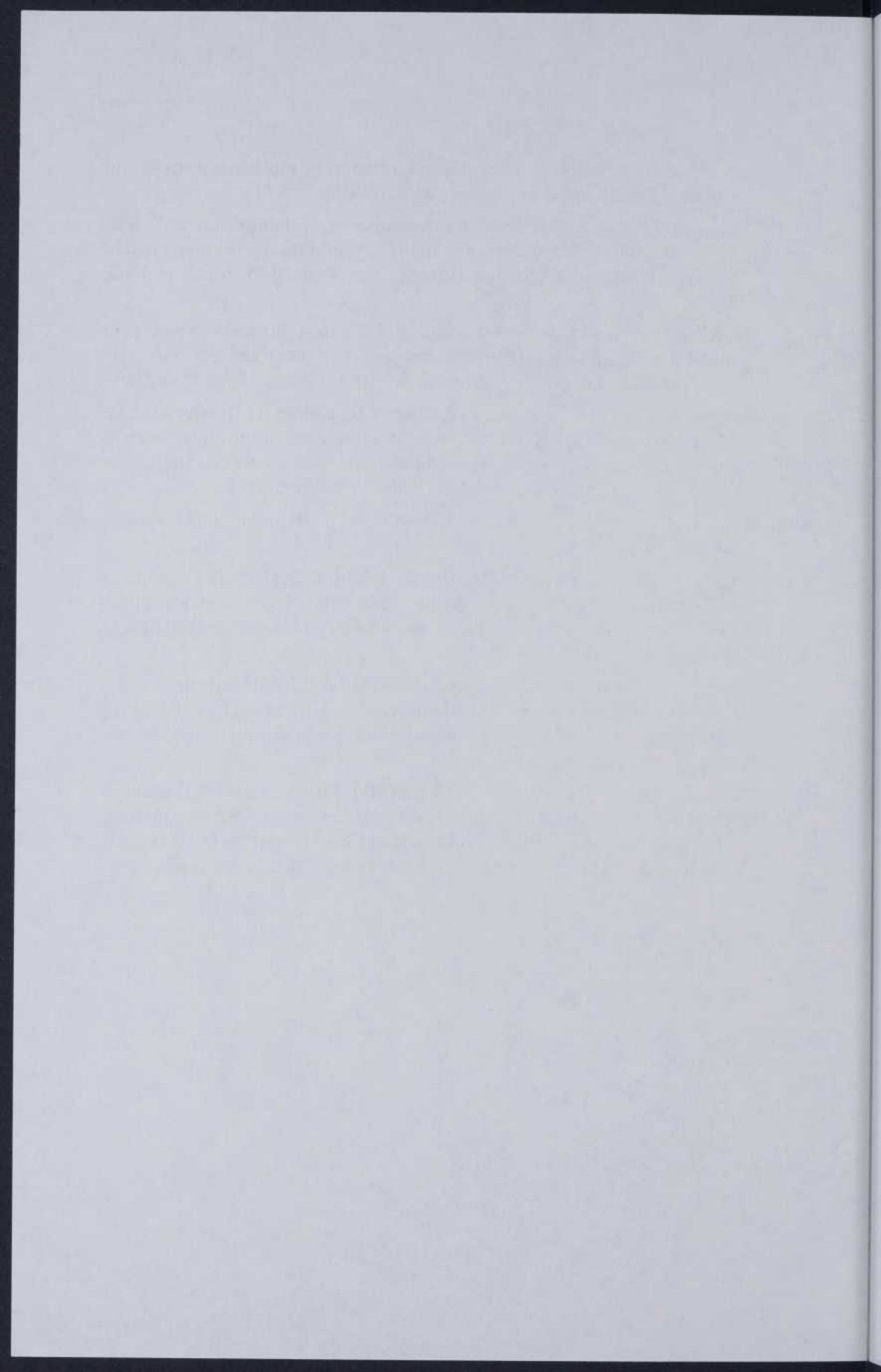
Ce travail a été soutenu en partie par la Région aquitaine, le Conseil de recherches médicales du Canada et le CRSNG (Canada).

Références bibliographiques

- Cassiman, D. et T. Roskams. « Beauty is in the eye of the beholder : emerging concepts and pitfalls in hepatic stellate cell research », *J. Hepatol.*, 2002, n° 37, p. 527-535.
- Cassiman, D., L. Libbrecht, V. Desmet, C. Deneef et T. Roskams. « Hepatic stellate cell/myofibroblast subpopulations in fibrotic human and rat livers », *J. Hepatol.*, 2002, n° 36, p. 200-209.
- Clément, B., J.A. Grimaud, J.P. Champion, Y. Deugnier et A. Guillouzo. « Cell types involved in collagen and fibronectin production in normal and fibrotic human liver », *Hepatology*, 1986, n° 6, p. 225-234.
- Desmoulière, A., I. Darby, A.M. Costa, M. Raccurt, B. Tuchweber, P. Sommer et G. Gabbiani. « Extracellular matrix deposition, lysyl oxidase expression, and myofibroblastic differentiation during the initial stages of cholestatic fibrosis in the rat », *Lab. Invest.*, 1997, n° 76, p. 765-778.
- Desmoulière, A., I.A. Darby et G. Gabbiani. « Normal and pathologic soft tissue remodelling : role of the myofibroblast, with special emphasis on liver and kidney fibrosis », *Lab. Invest.*, 2003, n° 83, p. 1689-1707.
- Dubuisson, L., S. Lepreux, P. Bioulac-Sage, C. Balabaud, A.M.A. Costa, J. Rosenbaum et A. Desmoulière. « Expression and cellular localization of fibrillin-1 in normal and pathological human liver », *J. Hepatol.*, 2001, n° 34, p. 514-522.
- Forbes, S.J., F.P. Russo, V. Rey, P. Burra, M. Rugge, N.A. Wright et M.R. Alison. « A significant proportion of myofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis », *Gastroenterology*, 2004, n° 126, p. 955-963.
- Grappone, C., M. Pinzani, M. Parola, G. Pellegrini, A. Caligiuri, R. DeFranco, F. Marra, H. Herbst, G. Alpini et S. Milani. « Expression of platelet-derived growth factor in newly formed cholangiocytes during experimental biliary fibrosis in rats », *J. Hepatol.*, 1999, n° 31, p. 100-109.
- Gressner, A.M. et M.G. Bachem. « Molecular mechanisms of liver fibrogenesis – a homage to the role of activated fat-storing cells », *Digestion*, 1995, n° 56, p. 335-346.

- Hendriks, H.F., A. Brouwer et D.L. Knook. « The role of hepatic fat-storing (stellate) cells in retinoid metabolism », *Hepatology*, 1987, n° 7, p. 1368-1371.
- Kawada, N., T.A. Tran-Thi, H. Klein et K. Decker. « The contraction of hepatic stellate (Ito) cells stimulated with vasoactive substances. Possible involvement of endothelin 1 and nitric oxide in the regulation of the sinusoidal tonus », *Eur. J. Biochem.*, 1993, n° 213, p. 815-823.
- Kinnman, N., C. Francoz, V. Barbu, D. Wendum, C. Rey, R. Hulcrantz, R. Poupon et C. Housset. « The myofibroblastic conversion of peribiliary fibrogenic cells distinct from hepatic stellate cells is stimulated by platelet-derived growth factor during liver fibrogenesis », *Lab. Invest.*, 2003, n° 83, p. 163-173.
- Knittel, T., T. Janneck, L. Muller, P. Fellmer et G. Ramadori. « Transforming growth factor beta 1-regulated gene expression of Ito cells », *Hepatology*, 1996, n° 24, p. 352-360.
- Knittel, T., D. Kobold, F. Piscaglia, B. Saile, K. Neubauer, M. Mehde, R. Timpl et G. Ramadori. « Localization of liver myofibroblasts and hepatic stellate cells in normal and diseased rat livers : distinct roles of (myo-)fibroblast subpopulations in hepatic tissue repair », *Histochem. Cell. Biol.*, 1999a, n° 112, p. 387-401.
- Knittel, T., D. Kobold, B. Saile, A. Grundmann, K. Neubauer, F. Piscaglia et G. Ramadori. « Rat liver myofibroblasts and hepatic stellate cells : different cell populations of the fibroblast lineage with fibrogenic potential », *Gastroenterology*, 1999b, n° 117, p. 1205-1221.
- Lamireau, T., B. Le Bail, L. Boussarie, M. Fabre, P. Vergnes, O. Bernard, F. Gautier, P. Bioulac-Sage et J. Rosenbaum. « Expression of collagens type I and IV, osteonectin and transforming growth factor beta-1 (TGFbeta1) in biliary atresia and paucity of intrahepatic bile ducts during infancy », *J. Hepatol.*, 1999, n° 31, p. 248-255.
- Lamireau, T., L. Dubuisson, S. Lepreux, P. Bioulac-Sage, M. Fabre, J. Rosenbaum et A. Desmoulière. « Abnormal hepatic expression of fibrillin-1 in children with cholestasis », *Am. J. Surg. Path.*, 2002, n° 26, p. 637-646.
- Lamireau, T., M. Zoltowska, E. Levy, I. Yousef, J. Rosenbaum, B. Tuchweber et A. Desmoulière. « Effects of bile acids on biliary epithelial cells : Proliferation, cytotoxicity, and cytokine secretion », *Life Sci.*, 2003, n° 72 p. 1401-1411.
- Lepreux, S., P. Bioulac-Sage, G. Gabbiani, V. Sapin, C. Housset, J. Rosenbaum et A. Desmoulière. « Cellular retinol-binding protein-1 expression in normal and fibrotic/cirrhotic human liver: different patterns of expression in hepatic stellate cells and (myo)fibroblast subpopulations », *J. Hepatol.*, 2004, n° 40, p. 774-780.
- Lorena, D., I.A. Darby, D.P. Reinhardt, V. Sapin, J. Rosenbaum et A. Desmoulière. « Fibrillin-1 expression in normal and fibrotic rat liver and in

- cultured hepatic fibroblastic cells : modulation by mechanical stress and role in cell adhesion », *Lab. Invest.*, 2004, n° 84, p. 203-212.
- Mallat, A., A.M. Preaux, S. Blazejewski, J. Rosenbaum, D. Dhumeaux et P. Mavier. « Interferon alfa and gamma inhibit proliferation and collagen synthesis of human Ito cells in culture », *Hepatology*, 1995, n° 21, p. 1003-1010.
- Qi, Z., N. Atsuchi, A. Ooshima, A. Takeshita et H. Ueno. « Blockade of type beta transforming growth factor signaling prevents liver fibrosis and dysfunction in the rat », *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, n° 96, p. 2345-2349.
- Ramadori, G., T. Veit, S. Schwogler, H.P. Dienes, T. Knittel, H. Rieder et K.H. Meyer zum Buschenfelde. « Expression of the gene of the alpha-smooth muscle-actin isoform in rat liver and in rat fat-storing (Ito) cells », *Virchows Arch. B. Cell. Pathol. Incl. Mol. Pathol.*, 1990, n° 59, p. 349-357.
- Ramadori, G. et B. Saile. « Portal tract fibrogenesis in the liver », *Lab. Invest.*, 2004, n° 84, p. 153-159.
- Sedlacek, N., J.D. Jia, M. Bauer, H. Herbst, M. Ruehl, E.G. Hahn, E.G. Hahn et D. Schuppan. « Proliferating bile duct epithelial cells are a major source of connective tissue growth factor in rat biliary fibrosis », *Am. J. Pathol.*, 2001, n° 158, p. 1239-1244.
- Tuchweber, B., A. Desmoulière, M.L. Bochaton-Piallat, L. Rubbia-Brandt et G. Gabbiani. « Proliferation and phenotypic modulation of portal fibroblasts in the early stages of cholestatic fibrosis in the rat », *Lab. Invest.*, 1996, n° 74, p. 265-278.
- Uchio, K., B. Tuchweber, N. Manabe, G. Gabbiani, J. Rosenbaum et A. Desmoulière. « Cellular retinol-binding protein-1 expression and modulation during in vivo and in vitro myofibroblastic differentiation of rat hepatic stellate cells and portal fibroblasts », *Lab. Invest.*, 2002, n° 82, p. 619-628.



CELLULES DUCTULAIRES : MISE À JOUR ET IMPLICATION DANS LE MÉTABOLISME DES LIPIDES

*Monika Zoltowska,
Ernest Seidman,
Edgard Delvin,
Moïse Bendayan,
Fernando Alvarez et Émile Levy*

Titre courant

Rôle des cellules ductulaires

Mots clés

Épithélium biliaire, transport
biliaire, cholestérol,
phospholipides, acides biliaires,
triglycérides, lipides

Résumé

Les cellules ductulaires ou cellules des voies biliaires constituent de 3 à 5 % de toute la population cellulaire hépatique. Elles forment un système ramifié de canalicules et de canaux biliaires dont la plupart se répandent dans le foie. Les cellules ductulaires sont en contact avec la bile et drainent le liquide biliaire sur une distance impressionnante avant de l'acheminer à sa destination finale. C'est surtout cette caractéristique qui a valu aux cellules biliaires le titre de « transporteur passif ». Cependant, les cellules biliaires possèdent une structure très dynamique et leur fonction de transport est beaucoup plus complexe qu'on ne le pensait ; cette fonction a d'ailleurs un impact considérable aussi bien sur la quantité que sur la qualité de la bile. En plus de participer à la sécrétion de sodium, de chlore, de bicarbonate et d'eau, les cellules ductulaires sont capables de réabsorption et de métabolisme des acides biliaires et des lipides. Elles sont impliquées dans la synthèse, la conjugaison et l'hydroxylation des acides biliaires. Par ailleurs, elles seraient équipées de plusieurs molécules enzymatiques leur permettant de produire le cholestérol et plusieurs classes de lipides tels que les phospholipides et les glycérides. La mise en place d'une lignée cellulaire avec tous les attributs ductulaires offre l'occasion d'élucider le rôle de l'épithélium

biliaire dans la physiologie normale et les pathophysiologies hépatobiliaires.

1) Introduction

La sécrétion biliaire constitue une fonction importante du foie. Remarquablement, ce dernier produit de 600 ml à 1200 ml de bile par jour (Guyton et Hall, 1996). La bile, dont le pH est compris entre 7,6 et 8,6, est constituée d'eau, d'électrolytes (tels que le sodium et le bicarbonate), de sels biliaires, de pigments biliaires (surtout la bilirubine qui provient de la dégradation de l'hémoglobine), de cholestérol et de phospholipides (Renston et autres, 1980 ; Tortora et Anagnostakos, 1988). La bile ainsi produite demeure dans la vésicule biliaire jusqu'à son déversement dans l'intestin au moment de la digestion. La sécrétion biliaire a pour but premier l'élimination de la bilirubine (dégradée par la suite dans l'intestin) et celle du cholestérol sous forme de sels biliaires (le cholestérol devenant soluble dans la bile grâce aux sels biliaires et la lécithine). De plus, la bile permet l'émulsion et la dispersion des graisses diététiques au niveau intestinal afin d'assurer les processus adéquats de digestion et d'absorption. Les sels biliaires, après avoir rempli leur rôle dans le duodénum, retournent (94 %) au foie par la voie sanguine, d'où le nom du cycle entérohépatique (Guyton et Hall, 1996 ; Tortora et Anagnostakos, 1988).

La population de cellules hépatiques est constituée de cellules épithéliales (hépatocytes et cellules ductulaires) et de cellules mésenchymateuses (cellules étoilées, cellules de Kupffer, fibroblastes et cellules endothéliales). Bien qu'il soit admis que chaque type de cellule a un rôle qui lui est propre, leurs fonctions sont, à nos jours, plus ou moins bien définies (Alpini et autres, 1994 ; Guyton et Hall, 1996 ; Tavoloni, 1987).

Au point de vue quantitatif, les hépatocytes prédominent. Ils représentent 70 % de la population cellulaire hépatique totale et sont prépondérants dans le métabolisme hépatique (Guyton et Hall, 1996 ; Marieb et Laurendeau, 1993 ; Tavoloni, 1987). Ils forment des travées cellulaires autour de l'axe de la veine centrale dans chaque lobule hépatique. Certaines de leurs faces sont accolées aux parois endothéliales des sinusoides. Celles-ci sont très perméables et permettent aux substances présentes dans le sang de pénétrer à l'intérieur des cellules hépatiques, où elles pourront être métabolisées. Les autres faces des hépatocytes sont accolées aux hépatocytes adjacents. Cet accollement entre deux hépatocytes forme un minuscule conduit, le canalicule biliaire, dans lequel la bile

est sécrétée. Les canalicules biliaires s'anastomosent entre eux pour rejoindre finalement les canaux biliaires des espaces portes (Guyton et Hall, 1996 ; Marieb et Laurendeau, 1993). Tous les canaux biliaires s'unissent en deux conduits, droit et gauche, qui, après avoir quitté le foie, fusionnent afin de former le canal hépatique. Enfin, ce dernier rejoint le canal cystique de la vésicule biliaire et se déploie en canal cholédoque (Ganong, 1989 ; Tortora et Anagnostakos, 1988).

En bref, les hépatocytes sont en contact « quasi » direct aussi bien avec la circulation sanguine qu'avec la circulation biliaire. Cet emplacement est en rapport direct avec leurs fonctions et le contrôle simultané qu'ils exercent sur les deux circulations. Dans cet article, nous mettrons l'accent sur les cellules ductulaires et sur leur rôle relatif au métabolisme des lipides.

II) Cellules ductulaires

Les informations concernant les fonctions des cellules ductulaires sont encore contradictoires et incomplètes. Cette lacune vient probablement du fait que jusqu'au milieu des années 70, on s'intéressait peu à cette population cellulaire. Les livres d'hépatologie et divers articles scientifiques, datant de cette époque, en font omission ou la mentionnent en termes généraux sous « épithélium biliaire » sans lui accorder un intérêt quelconque. De plus, le matériel et les techniques disponibles à ce moment étaient inadéquats pour l'isolation et la culture de ce type de cellules, expliquant ainsi nos lacunes.

Récemment, les cellules ductulaires plus connues sous le nom des cellules des voies biliaires ont commencé à attirer l'attention des chercheurs. La meilleure compréhension des pathophysiologies hépatiques laisse penser que l'épithélium biliaire n'est peut-être pas un simple conduit biliaire passif, comme tout d'abord on l'avait cru (Tavoloni, 1987). De nombreuses recherches sont en cours afin de mieux définir qualitativement et quantitativement les véritables fonctions des cellules ductulaires et leur contribution dans le métabolisme hépatique.

A) Localisation

Les cellules ductulaires, autre population de cellules épithéliales du foie, appartiennent à l'épithélium des voies biliaires. Bien que ne constituant que de 3 à 5 % de toute la population cellulaire hépatique, elles ont un rôle vital pour le fonctionnement normal du foie (Alpini et autres, 1994 ; Boyer, 1996 ; Tavoloni, 1987). Elles forment un système

ramifié de canalicules et des canaux biliaires dont la plupart se trouvent à l'intérieur du foie (Ishii et autres, 1989 ; Kumar et Jordan, 1988 ; Sternlieb et Quintana, 1985). L'appellation des voies biliaires intrahépatiques change selon leur localisation et le diamètre de leurs lumières. D'après la classification de Ludwig, les voies biliaires intrahépatiques se subdivisent en canalicules biliaires (<20 μm de diamètre) et divers canaux biliaires : petits (20-400 μm), intermédiaires (400-800 μm) et grands (>800 μm) (Alpini et autres, 1994).

Pour ce qui est de leur localisation, les grands canaux biliaires représentent les branches intrahépatiques les plus importantes des canaux biliaires hépatiques droit et gauche. Les canaux biliaires intermédiaires correspondent aux canaux de surface dans la classification de Healey et Shroy (Alpini et autres, 1994). Les petits canaux biliaires, quant à eux, incluent principalement des canaux interlobulaires. Enfin, les canalicules ou ductules biliaires relient les canaux biliaires interlobulaires avec les canaux de Hering. Ces derniers sont des zones entre le côté canaliculaire des hépatocytes et les canalicules biliaires (Alpini et autres, 1994). Bien que généralement acceptée, la nomenclature décrite plus haut n'est toutefois pas uniforme (Alpini et autres, 1994). Les voies biliaires extrahépatiques se résument aux deux canaux biliaires droit et gauche, qui quittent le foie et forment ensemble le canal hépatique, lequel, à son tour, après avoir fusionné avec le canal cystique, donnera le canal cholédoque. Quant au canal cholédoque, il pénètre dans le duodénum par l'ampoule de Vater lorsque le sphincter d'Oddi est ouvert. Le sphincter d'Oddi est en fait un anneau de fibres élastiques qui entoure la terminaison du canal cholédoque et plus précisément son point de pénétration dans le duodénum. Son action est double : il empêche le déversement de la bile et du suc pancréatique dans le duodénum en dehors des repas, et il évite le reflux du contenu du tube digestif dans le canal cholédoque et le canal de Wirsung (Ganong, 1989 ; Guyton et Hall, 1996 ; Marieb et Laurendeau, 1993 ; Tortora et Anagnostakos, 1988).

Les cellules ductulaires tapissent ainsi la lumière des canalicules biliaires et des canaux biliaires intra et extrahépatiques. Elles sont ainsi en contact direct avec la bile à partir des canaux de Hering jusqu'au sphincter d'Oddi (Ishii et autres, 1989). En formant des réseaux tridimensionnels complexes de structures tubulaires inter-connectées, elles drainent donc la bile sur une distance d'environ 2 km, avant de l'acheminer au duodénum, la destination finale (Alpini et autres, 1994). Ainsi, par leur localisation stratégique entre les hépatocytes et les phénomènes biliaires, les cellules ductulaires deviennent intéressantes à étudier au

point de vue tant de leur morphologie que de leurs phénotypes et de leurs caractéristiques fonctionnelles.

B) Morphologie

La population des cellules ductulaires est très hétérogène (Desmet, 1994). En effet, en suivant le passage biliaire, on remarque que la taille des cellules ductulaires varie entre 6 et 15 μm et qu'elles ont des formes variées (cylindrique, aplatie ou en forme de colonnes). De plus, la variation de protéines spécifiques, d'antigènes de surface et d'autres éléments, selon leur localisation, supporte l'hypothèse d'une hétérogénéité fonctionnelle déjà constatée pour les hépatocytes (Alpini et autres, 1994).

Les observations morphologiques ont aussi révélé d'autres caractéristiques propres aux cellules ductulaires. La première est la présence de nombreuses microvillosités sur la membrane plasmique apicale (tournée vers la lumière des canalicules). Ces interdigitations augmentent la surface de contact de la cellule avec les constituants de la bile (Sternlieb et Quintana, 1985). La deuxième, la présence d'une membrane basale, signifie que les cellules ductulaires sont polaires et donc spécifiques dans leurs fonctions de transport (Alpini et autres, 1989 ; Alpini et autres, 1994). Enfin, la troisième est que les deux pôles (apical et basal) de la cellule présentent à leur surface des vésicules à clatrine. Cette particularité suggère qu'une endocytose, médiée par les récepteurs, a lieu aux deux pôles de la cellule (Alpini et autres, 1994 ; Ishii et autres, 1989). Cette hypothèse est supportée par la présence de jonctions serrées entre les cellules ductulaires visibles à proximité de leurs côtés apicaux (Alpini et autres, 1989 ; Alpini et autres, 1994). Les jonctions serrées, consistant en une véritable fusion des surfaces protéiques externes des membranes plasmiques de deux cellules adjacentes, maintiennent les cellules en contact les unes avec les autres et limitent le passage de macromolécules provenant des voies extracellulaires (Guyton et Hall, 1996).

C) Ultrastructure

Les cellules ductulaires ont un système d'organites cellulaires très bien développé et organisé. Elles possèdent un nombre assez important de petites mitochondries (ovales ou rondes) périnucléaires. L'appareil de Golgi se trouve dans le pôle apical du cytoplasme, tout comme les vésicules sécrétoires, les lysosomes et autres corps multivésiculaires (Alpini et autres, 1989 ; Alpini et autres, 1994 ; Ishii et autres, 1989).

Plusieurs différences avec les hépatocytes sont notées. Les cellules ductulaires possèdent un nombre moins élevé de mitochondries et un réticulum endoplasmique moins étendu. Par contre, leur réseau de microfilaments sécrétoires est plus développé et elles possèdent, tel que mentionné plus haut, une membrane basale (Desmet, 1994). Ces différences mettent en évidence le fait que les cellules ductulaires, par opposition aux hépatocytes, sont surtout des cellules de transport. Ceci ne les empêche toutefois pas d'avoir la capacité de remplir d'autres fonctions qui méritent d'être étudiées.

D) Vascolarisation

Les cellules ductulaires sont irriguées grâce aux minuscules vaisseaux provenant du plexus vasculaire péri-biliaire qui draine le sang vers les sinusoides adjacents et les branches interlobulaires de la veine porte. Selon certaines hypothèses, les substances sécrétées par les cellules ductulaires dans le plexus vasculaire péri-biliaire, seraient acheminées directement ou indirectement, par la circulation sanguine, aux hépatocytes (Alpini et autres, 1994 ; Desmet, 1994).

E) Phénotypes

Les cellules ductulaires se caractérisent par l'expression de certaines molécules (souvent des protéines) qui leur sont propres et qui sont utilisées comme marqueurs spécifiques (Alpini et autres, 1994 ; Desmet, 1994 ; Ishii et autres, 1989). Les cytokératines 7 et 19 ainsi que l'enzyme gamma-glutamyl-transpeptidase figurent parmi les plus représentatives dans plusieurs espèces. La souris, chez laquelle la gamma-glutamyl-transpeptidase n'a pas pu être mise en évidence, est considérée comme une exception à la règle (Boyer, 1996 ; Paradis et Sharp, 1989). Ces caractéristiques phénotypiques sont extrêmement importantes dans la vérification de la pureté de la population des cellules ductulaires isolées. En effet, toutes les cellules qui n'expriment pas les cytokératines 7 et 19 et la gamma-glutamyl-transpeptidase seront considérées contaminantes. De plus, contrairement aux hépatocytes et à des cellules transitoires, les cellules ductulaires ne semblent toutefois pas exprimer ou synthétiser l'albumine, la glucose-6-phosphatase et l' α -fétoprotéine (Alpini et autres, 1988 ; Parola et autres, 1990 ; Sirica et autres, 1990). Ces marqueurs deviennent donc des outils intéressants dans la caractérisation des cellules isolées.

Parola et collaborateurs ont mené des études biochimiques sur des cellules ductulaires isolées et de source hépatique de rat normal

et ont réussi à quantifier l'activité enzymatique de ces cellules (Parola et autres, 1990). Leurs résultats vont dans le même sens que les tests histo-chimiques décrits plus haut. En effet, ils ont trouvé que l'activité spécifique des cellules ductulaires pour la gamma-glutamyl-transpeptidase était approximativement 200 fois plus élevée que celle exprimée par les hépatocytes. De plus, l'activité de la glucose-6-phosphatase était indétectable dans les cellules ductulaires, confirmant l'histo-chimie (Parola et autres, 1990). Il est important de mentionner que ces caractéristiques phénotypiques des cellules ductulaires constituent des traits morphologiques ainsi que des outils d'identification considérablement sensibles. Cependant, le point faible des marqueurs enzymatiques et autres protéines (par exemple, les antigènes) est qu'ils diffèrent selon le modèle animal (par exemple, le rat et la souris).

Diverses équipes, y compris celle de Parola et coll., ont observé l'absence d'activité de cytochrome P-450 microsomal dans les cellules ductulaires. Le cytochrome P-450 est le composant terminal d'une chaîne de transport des électrons qui a été découverte dans les mitochondries de la corticosurrénale et dans les microsomes hépatiques. Le rôle de cet ensemble est l'hydroxylation oxydative. Le système de cytochrome P-450 joue un rôle important dans la détoxification et est nécessaire dans la synthèse des stéroïdes grâce aux enzymes HMG-CoA-réductase et 7 α -hydroxylase (Desmet, 1994 ; Parola et autres, 1988 ; Parola et autres, 1990 ; Sirica et autres, 1990 ; Stryer, 1992). À défaut de pouvoir détecter son activité dans les cellules ductulaires, il a été présumé qu'elles ne possédaient pas ces deux enzymes. Ainsi, les cellules ductulaires ne pourraient pas synthétiser le cholestérol et les acides biliaires. Cependant, l'absence de cytochrome P-450 dans les cellules ductulaires n'a jamais été clairement montrée étant donné que différentes méthodes employées pour le doser étaient indirectes. De plus, il existe la possibilité que les cellules ductulaires soient résistantes aux substances utilisées pour activer le cytochrome P-450, ce qui explique que plusieurs chercheurs n'arrivent pas à le détecter (Parola et autres, 1990).

Enfin, la présence dans les cellules ductulaires d'un nombre élevé d'enzymes de conjugaison indiquent qu'elles ont un avantage pour la survie dans un environnement d'hépatotoxicité (Desmet, 1994). Un dernier élément important à mentionner est le fait que les cellules ductulaires ont aussi un pouvoir d'adaptation à des changements drastiques dans le microenvironnement. Si le besoin s'en fait sentir, elles peuvent altérer leur différenciation normale et se transformer en cellules transitoires ou intermédiaires entre les cellules ductulaires, hépatocytes

adultes et cellules avec le phénotype entérocytaire (Desmet, 1994 ; Sirica, 1995).

F) Fonctions

a) Transport de la bile

Comme nous l'avons mentionné précédemment, les cellules ductulaires étaient autrefois considérées comme de simples cellules de l'épithélium biliaire dont l'unique rôle consistait dans le transport de la bile à partir du site de la formation (le foie) jusqu'au lieu d'action (le duodénum) en passant par la vésicule biliaire. Ainsi, les voies biliaires n'étaient aux yeux des scientifiques qu'un conduit biliaire passif. Toutefois, plusieurs études ont démontré que les cellules ductulaires possèdent une structure très dynamique et que leur fonction de transport est beaucoup plus complexe qu'on le pensait (Tavoloni, 1987 ; McGill et autres, 1994 ; Fitz et autres, 1993 ; Strazzabosco et autres, 1991). En effet, les cellules ductulaires auraient, par divers mécanismes, un impact important aussi bien sur la quantité que la qualité de la bile qu'elles transportent (Boyer, 1996). Afin de mieux comprendre les relations qui existent entre les cellules ductulaires et la bile, il est important de définir certains aspects de cette dernière.

Nous savons que la bile est un liquide de couleur jaune verdâtre, composé d'eau, de sels biliaires, de cholestérol, de lécithine (un phospholipide), de pigments biliaires (surtout la bilirubine), de certains métaux à l'état de traces, de minéraux inorganiques comme le sodium, le potassium, le chlore, et d'une petite quantité des protéines (15 groupes environ et à une concentration de 1 mg/L) (Ganong, 1989 ; Grubman et autres, 1994 ; Marieb et Laurendeau, 1993 ; Renston et autres, 1980). Elle est un produit de sécrétion du foie, qui sert à éliminer diverses substances endogènes et exogènes (bilirubine, cholestérol, toxines) et à promouvoir la digestion et l'absorption des lipides dans l'intestin (Guyton et Hall, 1996 ; Marieb et Laurendeau, 1993 ; Tortora et Anagnostakos, 1988). Sa sécrétion est permanente. Toutefois, une augmentation postprandiale est notée. La bile qui quitte le foie par les conduits hépatiques droit et gauche emprunte le canal cholédoque pour se rendre au duodénum. Cependant, en absence de digestion, c'est-à-dire lorsque le sphincter d'Oddi est fermé, la bile s'accumule dans la vésicule biliaire, qui peut en contenir de 30 à 60 ml (Guyton et Hall, 1996). La vésicule biliaire concentre la bile en absorbant les sels et l'eau contenus dans la bile. La concentration des sels et des pigments biliaires peut être augmentée ainsi de

cing à dix fois. La bile emmagasinée est libérée en fonction des besoins de la digestion. La cholécystokinine, une hormone intestinale, active sa descente dans l'intestin en stimulant les contractions de la vésicule biliaire et en déclenchant le relâchement du sphincter d'Oddi. La cholécystokinine est elle-même libérée en raison de la présence d'acides gras dans le duodénum (Ganong, 1989 ; Guyton et Hall, 1996 ; Marieb et Laurendeau, 1993 ; Tortora et Anagnostakos, 1988). La régulation de la sécrétion biliaire est, en effet, sous le contrôle des mécanismes chimiques, hormonaux et nerveux. Des substances chimiques dites cholérétiques, comme les sels biliaires, stimulent la sécrétion biliaire. Pour cette raison, la présence d'une quantité importante de sels biliaires dans le plasma à cause du cycle entérohépatique augmente le taux de sécrétion biliaire. La stimulation du nerf vague ainsi que l'augmentation du débit sanguin hépatique provoqueront, jusqu'à un certain point, l'accroissement de la sécrétion biliaire. Enfin, la sécrétine, hormone libérée lors de l'entrée de l'acide chlorhydrique dans le duodénum et qui stimule la synthèse du suc pancréatique, peut augmenter non pas le taux de production de la bile, mais son taux d'excrétion (Tortora et Anagnostakos, 1988). Il est important de préciser le fait que le site d'action de la sécrétine dans le foie est justement les cellules ductulaires. Il est bien connu que ces dernières, après la stimulation par la sécrétine, sécrètent dans la bile une solution riche en ions bicarbonates qui serviront surtout à neutraliser l'acide contenu dans le duodénum et à maintenir le pH du milieu favorable à l'action des enzymes digestives (Smith et Boyer, 1982).

b) Formation de la bile

Le flux biliaire résulte du transport des acides biliaires et autres solutés entre le plasma et la bile, dont la combinaison crée un gradient de concentration dans les canalicules biliaires, lesquels stimulent à leur tour la formation de la bile (Nathanson et Boyer, 1991). Les scientifiques s'entendent à l'unanimité pour dire que les cellules ductulaires participent activement dans cette production de la bile. Cette dernière est, en effet, le résultat d'un travail conjoint des cellules hépatocytaires et des cellules ductulaires. Ainsi, les sels biliaires, la bilirubine, le cholestérol et la lécithine sont sécrétés par les hépatocytes, tandis qu'une grande partie des ions sodium, chlorures, bicarbonates et de l'eau sont relâchés par les cellules ductulaires (Grubman et autres, 1994). La contribution des cellules ductulaires dans la production de la bile serait même de 10 à 15 % chez le rat, et atteindrait les 40 % chez l'humain (Alpini et autres, 1989 ; Boyer, 1996 ; Nathanson et Boyer 1991). Par leur capacité à moduler le taux de sécrétion des électrolytes et des autres composants biliaires, les cellules

ductulaires peuvent donc modifier la composition de la bile. De plus, ces cellules sont capables de réabsorption, ce qui leur inculque un pouvoir d'influencer les processus biliaires (Alpini et autres, 1988, Alpini et autres, 1989 ; Grubman et autres, 1994 ; Ishii et autres, 1990 ; Nathanson et Boyer, 1991 ; Tavoloni, 1987).

c) Influence sur le métabolisme des lipides

En bref, diverses et multiples recherches ont été effectuées sur les cellules ductulaires provenant de différents modèles. Elles nous ont permis d'élucider plusieurs rôles encore très mal connus des cellules ductulaires et d'en découvrir d'autres. Plus importants, les résultats de toutes les études démontrent que l'épithélium biliaire est constitué de cellules dynamiques qui participent activement au métabolisme hépatique. Cependant, un aspect des cellules ductulaires qui reste complètement inconnu est celui de son métabolisme de lipides et des lipoprotéines. En effet, jusqu'à maintenant, une seule étude, celle d'Hylemon et coll., a traité de ce sujet (Hylemon et autres, 1989). Ces chercheurs se sont intéressés au métabolisme du cholestérol et des acides biliaires au niveau des cellules ductulaires provenant du foie de rats. Les résultats de leurs recherches démontrent que les cellules ductulaires sont similaires aux cellules hépatocytaires pour ce qui est de la conjugaison des acides biliaires à la glycine et à la taurine, et possiblement l'hydroxylation de l'acide lithocholique. Toutefois, toujours selon eux, le métabolisme des acides biliaires de cellules ductulaires serait très différent de celui des hépatocytes, car l'hydroxylation des acides déoxycholique et ursodéoxycholique qui a lieu dans ces derniers n'a pas été détectée dans les cellules épithéliales. Enfin, aucune synthèse des acides biliaires n'a été observée à la suite de leur étude. Cependant, les points intrigants sont, d'abord, la découverte que les cellules ductulaires sont capables de la biosynthèse du cholestérol à partir de l'acétate au même niveau que les hépatocytes. Ensuite, leur incorporation de l'acétate dans le cholestérol est inhibée par la mévinoline, qui est un inhibiteur compétitif de l'HMG-CoA réductase, enzyme limitante de la biosynthèse du cholestérol. Ces deux observations suggèrent qu'une biosynthèse complète du cholestérol a lieu dans les cellules ductulaires. Si tel est le cas, il faut dès lors que ces cellules possèdent le système le cytochrome P-450 nécessaire à la biosynthèse de ce stérol (Hylemon et autres, 1989). Ce fait ouvre la possibilité de l'existence d'un métabolisme complet des lipides et des lipoprotéines au niveau des cellules ductulaires, et démontre la nécessité de poursuivre des études sur cet aspect.

d) Implication dans les pathologies

Les cellules des voies biliaires jouent un rôle majeur dans la pathophysiologie de plusieurs maladies hépatiques importantes, y compris la cirrhose primitive biliaire, la cholangite sclérosante, les cholestases, les rejets après une transplantation hépatique, etc. Selon des mécanismes encore mal connus, on observe dans ces pathologies une prolifération et des dommages des cellules ductulaires (Desmet, 1985 ; Paradis et autres, 1995 ; Popper, 1990).

III) Nouveau modèle de recherche

L'obstacle le plus important à l'avancement des recherches et des connaissances sur l'épithélium biliaire demeure la difficulté d'obtenir un modèle expérimental fiable. En effet, l'isolation des cellules ductulaires soulève beaucoup de problèmes. Les plus importants d'entre eux proviennent probablement du fait que les cellules ductulaires sont peu nombreuses, dispersées à travers le foie et recouvertes par du tissu conjonctif, leur taille étant similaire à celle des cellules endothéliales et des cellules de Kupffer (Kumar et Jordan, 1988). En outre, le manque de marqueurs phénotypiques spécifiques, permettant d'identifier les cellules ductulaires et de les distinguer rapidement d'autres types cellulaires, doit aussi être pris en considération (Parola et autres, 1990). Plusieurs recherches effectuées sur des cellules ductulaires ont donc pour but premier leur isolation et leur culture à court et long terme.

Les expériences ont été le plus souvent réalisées *in vivo* sur des foies de rats normaux et anormaux (présentant une cholestase), des foies des souris avec ou sans obstruction des voies biliaires, des foies de chiens, de cochons, de vaches, et enfin, sur des foies humains. Le traitement *in vivo* consiste surtout à effectuer la ligature du canal cholédoque, qui provoque ainsi la prolifération des cellules épithéliales (Sirica et autres, 1990). De plus, les morceaux de foie humain proviennent souvent des foies non utilisés pour la greffe hépatique (Demetris et autres, 1988 ; Sirica et autres, 1990).

À l'exemple de la diversité des modèles *in vivo*, nombre de techniques différentes d'isolation cellulaire ont été employées (Sirica et autres, 1990). Parmi elles, citons la technique de perfusion standard du foie avec la collagénase (Yang et autres, 1993), la dispersion mécanique (Parola et autres, 1988 ; Schier et autres, 1988) suivie de la digestion enzymatique (p. ex., par la trypsine ou la pronase) (Hofmann, 1994 ; Ishii et autres, 1989 ; Kumar et Jordan, 1988 ; Parola et autres, 1988),

l'élutriation, la centrifugation isopicnique sur gradient de métrizamide (Ishii et autres, 1989), la centrifugation discontinue sur gradient de Percoll (Sirica et autres, 1985), l'élutriation centrifugative d'adhérence cellulaire pour éliminer les cellules de Kupffer et les fibroblastes (Paradis et Sharp, 1989 ; Sirica et autres, 1990 ; Strazzabosco et autres, 1991) et la séparation par immunoaffinité avec les anticorps monoclonaux spécifiques contre les antigènes des membranes plasmiques des cellules ductulaires (Demetris et autres, 1988 ; Ishii et autres, 1989 ; Sirica et autres, 1990). Ainsi, en fonction de la technique d'isolation employée, la viabilité de la population cellulaire peut varier entre 70 % et 100 %, et la pureté estimée entre 70 % et 95 % (Sirica et autres, 1990). Les populations cellulaires épithéliales obtenues présentent toujours un certain pourcentage de contamination avec d'autres types cellulaires tels que les hépatocytes et les cellules de Kupffer, et les tentatives visant à obtenir une pureté cellulaire finale de 100 % ont échoué. Il s'ensuit que l'interprétation des résultats des études effectuées sur les modèles *in vitro* demeure difficile. De plus, on remarque l'absence d'informations concernant l'origine précise des cellules isolées, et ce, en raison du manque de marqueurs phénotypiques pouvant les identifier. Sachant que les cellules ductulaires présentent une hétérogénéité fonctionnelle suivant le passage biliaire, l'extrapolation des résultats de recherche devient encore plus délicate.

Un autre problème est celui de la culture cellulaire. En effet, les cultures primaires à court terme ne fournissent qu'une quantité limitée de cellules, empêchant ainsi la réalisation de plusieurs expériences simultanées et l'avancement des connaissances. Pour ce qui est des cultures primaires à long terme, les cellules ont tendance à se différencier après plusieurs passages et perdent ainsi plusieurs caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles (Vroman et LaRusso, 1996 ; Yang et autres, 1993). Enfin, dans plusieurs études portant sur des cultures primaires, on a observé que les cellules ductulaires fraîchement isolées perdent leur polarité, rendant difficile l'étude de transport des électrolytes et autres constituants du plasma et de la bile. Le problème a été résolu par l'équipe de Vroman (Vroman et LaRusso, 1996). Cette équipe a réussi à développer un modèle de culture primaire à long terme à partir de cellules provenant de foie de rat, conservant l'intégrité des phénotypes, de la morphologie, de la polarité et de la réponse aux hormones. Par contre, aucune précision n'a été donnée quant à la pureté finale des cellules et la formation de structures ductulaires (Vroman et LaRusso, 1996).

En résumé, plusieurs techniques ont été employées sur les différents modèles *in vivo* dans le but d'établir un modèle fiable de cellules ductulaires, ce dernier devant servir à l'avancement de nos connaissances. Cependant, les résultats obtenus ne sont pas pleinement satisfaisants.

Notre équipe a récemment établi une nouvelle lignée de cellules épithéliales immortalisées dérivant des ductules biliaires et gardant au maximum les caractéristiques des cellules biliaires normales. Plus précisément, la lignée cellulaire en question provient des ductules biliaires de souris transgéniques. Ces dernières permettent l'isolation et la culture à long terme des différentes lignées des cellules épithéliales après leur immortalisation (Paradis et autres, 1995). Il est important de préciser que l'immortalisation est un processus permettant aux cellules de se diviser indéfiniment et de produire ainsi des lignées de cellules, toutes identiques, appelées clones. En outre, l'isolation et l'immortalisation de notre lignée cellulaire ont été effectuées par des méthodes décrites par Paradis et coll. (Paradis et autres, 1995). Notre lignée cellulaire démontre les mêmes attributs que ceux des cellules ductulaires normales avec l'unique capacité à former des structures ductulaires. Par ailleurs, les paramètres étudiés (cytokératine 19, albumine et gamma-glutamyl-transpeptidase) ont permis d'établir la pureté cellulaire. De plus, nous pourrions soumettre ces dernières aux tests histo-chimiques utilisant les marqueurs pour la présence des hépatocytes et des fibroblastes (glucose 6-phosphatase, α -fétoprotéine), afin d'appuyer nos conclusions sur la pureté cellulaire. Enfin, l'avantage important de notre modèle cellulaire est un rendement de cellules illimité.

Nous avons donc à notre disposition un outil de recherche puissant qui, nous l'espérons, permettra de répondre avec plus d'exactitude à diverses questions, particulièrement celles concernant le métabolisme des lipides.

M) Synthèse et sécrétion des lipides

Les cellules épithéliales biliaires ont été supplémentées avec un milieu de culture riche contenant le [14 C]-acide oléique afin de déterminer leur aptitude à élaborer les différentes classes de lipides. Après une incubation de 20 heures, nous avons pu assister à l'incorporation substantielle du [14 C]-acide oléique dans les triglycérides, phospholipides et esters de cholestérol au niveau cellulaire. Le même marqueur radioactif a permis d'observer la formation de toutes les classes de phospholipides, à savoir la sphingomyéline, la phosphatidylcholine, la phosphatidylserine,

la phosphatidylinositol et la phosphatidylethanolamine. Par contre, la quantité limitée des lipides radioactifs dans le milieu reflète le peu d'aptitude des cellules ductulaires à les sécréter.

Le foie et l'intestin sont les deux organes reconnus pour la manufacture des triglycérides. Fréquemment, la monoacylglycérol transférase, enzyme microsomale responsable de la synthèse des triglycérides, a été décrite dans les hépatocytes et entérocytes (Vlahcevic et autres, 1994). C'est dans ces deux types de cellules que réside l'essentiel de l'activité pour l'élaboration des triglycérides, transportés essentiellement en forme de lipoprotéines. L'originalité de nos études révèle que les cellules ductulaires ont le plein potentiel de synthétiser les triglycérides en grande quantité. Toutefois, à l'encontre des hépatocytes et des entérocytes, les cellules ductulaires n'ont pas la capacité d'exporter les différentes formes de glycérides. Il est possible que ces anomalies soient dues à la déficience des cellules ductulaires à produire les apoprotéines indispensables à l'assemblage et à l'exocytose des lipoprotéines. Bien entendu, des études sont requises pour confirmer cette hypothèse. On peut déjà éliminer la probabilité voulant que les phospholipides soient au centre des désordres des sécrétions lipoprotéiniques. Si Vance et collaborateurs ont mis en évidence le rôle de la phosphatidylcholine dans la sécrétion des lipoprotéines (Yao et Vance, 1988 ; Yao et Vance, 1989), il est à noter que les cellules ductulaires ont le potentiel de former non seulement la phosphatidylcholine, mais aussi toutes les classes de phospholipides, ne constituant pas ainsi le facteur limitant dans le défaut de sécrétion des lipoprotéines. Les phospholipides sont pareillement importants pour la structure des membranes cellulaires et le renouvellement des cellules ductulaires. Les phospholipides locaux peuvent aussi recirculer dans la bile, connue pour son considérable contenu en phospholipides. Cependant, nos résultats ne laissent pas croire que cette solution de rechange soit possible étant donné le transport négligeable des phospholipides par les cellules ductulaires.

La littérature a rapporté assez souvent l'aptitude des cellules ductulaires à modifier le flux et le contenu biliaire (Alpini et autres, 1988 ; Alpini et autres, 1989 ; Grubman et autres, 1994 ; Nathanson et Boyer, 1991 ; Tavoloni, 1987). Ces altérations peuvent probablement s'effectuer soit par la captation des électrolytes de la bile par l'épithélium biliaire, soit par la sécrétion de la bile dérivant de l'épithélium biliaire. Nous voyons donc le potentiel d'intervention de l'épithélium biliaire dans les événements touchant à la formation de la bile et à son transport. Nos résultats illustrent également le rôle de l'épithélium biliaire

dans la formation des acides biliaires et du cholestérol, qui peuvent venir concentrer la bile dans ces composantes. Notons que nos études, démontrant la capacité sécrétoire de l'épithélium biliaire, n'ont pas tenté d'examiner si ce tissu est aussi capable de captation du cholestérol et des acides biliaires.

Cependant, des travaux indirects antérieurs ont suggéré que l'épithélium biliaire serait démuné de cytochrome P-450, un système hautement nécessaire pour l'activation d'HMG-CoA réductase (enzyme limitante de la synthèse du cholestérol) et de la cholestérol 7 α -hydroxylase (enzyme contrôlant la production des acides biliaires) (Desmet, 1994 ; Parola et autres, 1988 ; Parola et autres, 1990 ; Sirica et autres, 1990). Il est évident que des études additionnelles sont indispensables pour confirmer l'activité de ces enzymes et leur immunodétection dans l'épithélium biliaire. Nos démarches expérimentales, utilisant des marqueurs radioactifs, ont aussi démontré la capacité des cellules ductulaires à élaborer toutes les classes d'acides biliaires (tauroolitho, taurocholate, taurocheno, glycocholate, glycocheno, acide cholique, chenodéoxycholate, glycolitho, lithocholique). Ces acides biliaires ne sont pas retenus à l'intérieur des cellules ductulaires, probablement à cause de leur toxicité, et sont largement exportés vers le milieu de culture. Néanmoins, dans la situation *in vivo*, nous ignorons la destination des acides biliaires sécrétés ; ils peuvent se rendre directement dans la bile, aller à la circulation sanguine pour aboutir dans les cellules hépatocytaires, ou bien être transférés directement des cellules ductulaires aux hépatocytes. Nous avons l'intention de répondre à ces questions grâce aux expériences à venir.

L'épithélium biliaire a été maintes fois impliqué dans des situations pathophysiologiques (Desmet, 1985 ; Paradis et autres, 1995 ; Popper, 1990). On se rappelle les maladies cholestatiques démonstratives de la sensibilité de ce tissu. L'hyperlipémie est frappante dans la plupart des pathologies cholestatiques (Levy et autres, 1995). En outre, on trouve des LpX dans le plasma des patients porteurs de désordres cholestatiques. Jusqu'ici, seuls les hépatocytes ont été cités comme responsables de la surproduction lipidique. Nos résultats, pourtant, nous portent à croire que l'épithélium biliaire, considérablement ramifié, pourrait également contribuer aux taux considérablement élevés des lipides circulants. La disponibilité de notre modèle cellulaire peut, à l'avenir, nous aider à évaluer le rôle de l'épithélium biliaire dans la physiologie normale ainsi que dans diverses pathophysiologies impliquant le métabolisme lipidique.

V) Conclusion

L'épithélium biliaire remplit probablement plusieurs fonctions importantes dans le métabolisme hépatique. À l'opposé du concept dépassé le considérant comme un simple conduit passif, le modèle des cellules ductulaires en culture démontre une fonction dynamique dans la synthèse des lipides neutres, phospholipides et acides biliaries. Ce même modèle pourra être utile pour élucider le rôle de l'épithélium biliaire dans différentes pathophysiologies hépatobiliaires.

Remerciements

Les auteurs tiennent à reconnaître la contribution financière des IRSC (MOP-99455). Aussi, ils remercient Schohrya Spahis pour son assistance dans la préparation de ce manuscrit.

Références bibliographiques

- Alpini, G., R. Lenzi, L. Sarkozi et N. Tavaloni. « Biliary physiology in rats with bile ductular cell hyperplasia », *J. Clin. Invest.*, 1988, n° 81, p. 569-578.
- Alpini, G., R. Lenzi, W.R. Zhai, P.A. Slott, M.H. Liu, L. Sarkozi et N. Tavaloni. « Bile secretory function of intraheptic biliary epithelium in the rat », *Am. J. Physiol.*, 1989, n° 257, p. G124-G133.
- Alpini, G., J.O. Phillips et N.F. LaRusso. « The biology of biliary epithelia », dans *The Liver : Biology and Pathobiology*, 3^e édition, 1994, p. 623-645.
- Boyer, J.L. « Bile duct epithelium : frontiers in transport physiology », *Am. J. Physiol.*, 1996, n° 270, p. G1-G5.
- Demetris, A.J., B.H. Markus, J.J. Fung, L. Makowka, S. Graner, R. Duquesnoy et T.E. Starzl. « Primary cultures of human intraheptic (biliary) epithelial cells », *Transplant. Proc.*, 1988, n° 20, p. 161-163.
- Desmet, V.J. « Intraheptic bile ducts under the lens », *J. Hepatol.*, 1985, n° 1, p. 545-559.
- Desmet, V.J. « Organizational principles », dans *The Liver : Biology and Pathobiology*, 3^e édition, 1994, p. 3-14.
- Fitz, G.J., S. Basavappa, J. McGill, O. Melhus et J.A. Cohn. « Regulation of membrane chloride currents in rat bile duct epithelial cells », *J. Clin. Invest.*, 1993, n° 91, p. 319-328.
- Ganong, W.F. « Regulation of gastrointestinal function », dans *Review of Medical Physiology*, 14^e édition, 1989, p. 408-436.
- Grubman, S.A., R.D. Perrone, D.W. Lee, S.L. Murray, L.C. Rogers, L.I. Wolkoff, A.E. Mulberg, V. Cherington et D.M. Jefferson. « Regulation of intracel-

- lular pH by immortalized human intraheptic biliary epithelial cell lines », *Am. J. Physiol.*, 1994, n° 266, p. G1060-1070.
- Guyton, A.C. et J.E. Hall. « Secretory functions of the alimentary tract », dans *Textbook of Medical Physiology*, 9^e édition, chapitre 64, 1996, p. 793-855.
- Hofmann, A.F. « Bile acids », dans *The Liver : Biology and Pathobiology*, 3^e édition, 1994, p. 677-716.
- Hylemon, P.B., P.M. Bohdan, A.E. Sirica, D.M. Heuman et Z.R. Vlahcevic. « Cholesterol and bile acid metabolism in cultures of primary rat bile ductular epithelial cells », *Hepatology*, 1989, vol. 11, n° 6, p. 982-988.
- Ishii, M., B. Vroman et N.F. LaRusso. « Fluid-phase endocytosis by intraheptic bile duct epithelial cells isolated from normal rat liver », *J. Histochem. Cytochem.*, 1990, n° 38, p. 515-524.
- Ishii, M., B. Vroman et N.F. LaRusso. « Isolation and morphologic characterization of bile duct epithelial cells from normal rat liver », *Gastroenterology*, 1989, n° 97, p. 1236-1247.
- Kumar, U. et T.W. Jordan. « Isolation and culture of biliary epithelial cells from the biliary tract fraction of normal rats », *Liver*, 1988, n° 6, p. 369-378.
- Levy, E., M. Bendayan, L. Thibault, M. Lambert et K. Paradis. « Lipoprotein abnormalities in two children with minimal biliary excretion », *J. Ped. Gastroenterol. Nutr.*, 1995, vol. 20, n° 4, p. 432-439.
- Marieb, E.N. et G. Laurendeau. « Le système digestif : foie et vésicule biliaire », *Anatomie et physiologie humaines*, 1993, p. 796-801.
- McGill, J.M., S. Basavappa, A.W. Mangel, G.H. Shimokura, J.P. Middleton et G.J. Fitz. « Adenosine triphosphate activates ion permeabilities in biliary epithelial cells », *Gastroenterology*, 1994, n° 107, p. 236-243.
- Nathanson, M.H. et J.L. Boyer. « Mechanisms and regulation of bile secretion », *Hepatology*, 1991, p. 551-566.
- Paradis, K. et H.L. Sharp. « In vitro duct-like structure formation after isolation of bile ductular cells from a murine model », *J. Lab. Clin. Med.*, 1989, n° 113, p. 689-694.
- Paradis, K., O.N.L. Le, P. Russo, M. St-Cyr, H. Fournier et D. Bu. « Characterization and response to interleukin 1 and tumor necrosis factor of immortalized murine biliary epithelial cells », *Gastroenterology*, 1995, n° 109, p. 1308-1315.
- Parola, M., K.H. Cheeseman, M.E. Biocca, M.U. Dianzani et T.F. Slater. « Biochemical studies on bile duct epithelial cells isolated from a rat liver », *J. Hepatol.*, 1990, n° 10, p. 341-345.
- Parola, M., K.H. Cheeseman, M.E. Biocca, M.U. Dianzani et T.F. Slater. « Isolation and characterization of biliary epithelial cells from a normal rat liver », *J. Hepatol.*, 1988, n° 6, p. 175-186.

- Pattinson, N.R., P. Upton, P.J. Ellingsen et B.A. Chapman. « Apolipoprotein localization in the human bile duct and gallbladder », *Pathology*, 1990, n° 22, p. 50-60.
- Popper, H. « The relation of mesenchymal cell products to hepatic epithelial systems », dans *Progress in Liver Diseases*, chapitre 3, 1990, p. 27-38.
- Renston, R.H., D.G. Maloney, A.L. Jones, G.T. Hradek, K.Y. Wong et I.D. Goldfine. « Bile secretory apparatus : evidence for a vesicular transport mechanisms for proteins in the rat, using horseradish peroxidase and [125I]insulin », *Gastroenterology*, 1980, n° 78, p. 1373-1388.
- Schier, C., F. Schier, B. Voss, D.G. Von Bassewitz et M. Pfautsch. « Characterization of human extrahepatic biliary duct epithelial cells in culture », *Experimental and Molecular Pathology*, 1988, n° 48, p. 301-310.
- Sirica, A.E., G.A. Mathis, N. Sano et L.W. Elmore. « Isolation, culture, and transplantation of intrahepatic biliary epithelial cells and oval cells », *Pathobiology*, 1990, n° 58, p. 44-64.
- Sirica, A.E., C.A. Sattler et H.P. Cihla. « Characterization of a primary bile ductular cell culture from the livers of rats during extrahepatic cholestasis », *Am. J. Pathol.*, 1985, n° 120, p. 67-78.
- Sirica, A.E. « Ductular hepatocytes », *Histol. Histopathol.*, 1995, n° 10, p. 433-456.
- Smith, N.D. et J.L. Boyer. « Permeability characteristics of bile duct in the rat », *Am. J. Physiol.*, 1982, vol. 242, n° 1, p. G52-57.
- Sternlieb, I. et N. Quintana. « Biliary proteins and ductular ultrastructure », *Hepatology*, 1985, vol. 5, n° 1, p. 139-143.
- Strazzabosco, M., A. Mennone et J.L. Boyer. « Intracellular pH regulation in isolated rat bile duct epithelial cells », *J. Clin. Invest.*, 1991, n° 87, p. 1503-1512.
- Stryer, L. « Biosynthèse des lipides membranaires et des hormones stéroïdes », dans *La biochimie*, 3^e édition, chapitre 23, 1992, p. 547-574.
- Tavoloni, N. « The intrahepatic biliary epithelium : an area of growing interest in hepatology », *Semin. Liver Dis.*, 1987, vol. 7, n° 4, p. 280-292.
- Tortora, G.J. et N.P. Anagnostakos. « L'appareil digestif », dans *Principes d'anatomie et de physiologie*, chapitre 24, 1988, p. 622-669.
- Vlahcevic, Z.R., P.B. Hylemon et J.Y.L. Chiang. « Hepatic cholesterol metabolism », dans *The Liver : Biology and Pathobiology*, 3^e édition, 1994, p. 379-389.
- Vroman, B. et N.F. LaRusso. « Development and characterization of polarized primary cultures of rat intrahepatic bile duct epithelial cells », *Lab. Invest.*, 1996, vol. 71, n° 1, p. 303-313.
- Yang, L., R.A. Faris et D.C. Hixson. « Long-term culture and characteristics of normal rat liver bile duct epithelial cells », *Gastroenterology*, 1993, n° 104, p. 840-852.

- Yao, Z. et D.E. Vance. « Head group specificity in the requirement of phosphatidylcholine biosynthesis for very low density lipoprotein secretion from cultured hepatocytes », *J. Biol. Chem.*, 1989, n° 264, p. 11 373-11 380.
- Yao, Z. et D.E. Vance. « The active synthesis of phosphatidylcholine is required for very low density Lipoprotein secretion from rat hepatocytes », *J. Biol. Chem.*, 1988, n° 263, p. 2998-3004.

THE UNIVERSITY OF CHICAGO
DEPARTMENT OF THE HISTORY OF ARTS
AND ARCHITECTURE
1100 EAST 58TH STREET
CHICAGO, ILLINOIS 60637
TEL: 773-936-3300
WWW.HA.UCHICAGO.EDU

ASPECTS CLINIQUES

LA FIBROSE HÉPATIQUE ASSOCIÉE À DIVERSES PATHOLOGIES HÉPATIQUES CHEZ L'ENFANT

*Thierry Lamireau
et Fernando Alvarez*

Titre courant

La fibrose hépatique chez l'enfant

Mots clés

Fibrose hépatique, cholestases
infantiles, maladies métaboliques

Résumé

La fibrose hépatique est un processus cicatriciel accompagnant la plupart des maladies chroniques du foie de l'enfant, qu'elles soient d'origine biliaire, virale, auto-immune, métabolique ou toxique. Le traitement précoce de la maladie causale peut limiter l'évolution fibrosante, mais cette dernière progresse malgré tout parfois vers la cirrhose et ses complications. La rapidité d'évolution dépend également de l'âge, du degré d'inflammation hépatique et de facteurs surajoutés.

1) Introduction

La fibrose hépatique se définit histologiquement par l'accumulation excessive de matrice extracellulaire dans le parenchyme hépatique. C'est un processus cicatriciel, potentiellement réversible, faisant suite aux lésions chroniques du foie. Son expression ultime est la cirrhose, caractérisée par une fibrose mutilante avec transformation de l'architecture hépatique et formation de nodules parenchymateux de structure anormale (*voir chapitre par Tuchweber et coll.*).

La fibrose complique la plupart des maladies chroniques du foie de l'enfant, qu'elles soient d'origine biliaire, virale, auto-immune, métabolique, toxique, etc. (*tableau 1*) Malgré le traitement de la maladie causale, elle peut progresser dans certains cas vers la cirrhose et ses complications.

Tableau 1 Principales maladies hépatiques pouvant entraîner une fibrose/cirrhose chez l'enfant

<p style="text-align: center;">Maladies biliaires</p> <ul style="list-style-type: none"> - Atresie des voies biliaires - Dilatation congénitale de la voie biliaire principale - Sténose de la voie biliaire principale - Cholangite sclérosante - Paucité des voies biliaires intrahépatiques - Cholestases intrahépatiques fibrogènes familiales - Autres cholestases familiales - Fibrose hépatique congénitale - Maladie de Caroli <p style="text-align: center;">Maladies métaboliques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Maladie de Wilson - Déficit en α1-antitrypsine - Mucoviscidose - Galactosémie - Tyrosinémie - Intolérance héréditaire au fructose - Cytopathies mitochondriales - Glycogénoses type III, IV - Hémochromatose - Maladie de Gaucher - Maladie de Niemann-Pick type C - Maladie de Wolman - Porphyrie hépatique - Maladies péroxysomales - Déficit de synthèse des acides biliaires primaires 	<p style="text-align: center;">Maladies infectieuses</p> <ul style="list-style-type: none"> - Cytomégalovirus - Herpès simplex virus - Rubéole - Toxoplasmose - Syphilis - Hépatite chronique à virus B, C - Schistosomiase - Cholangites ascendantes <p style="text-align: center;">Maladies auto-immunes</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hépatites auto-immunes <p style="text-align: center;">Maladies vasculaires</p> <ul style="list-style-type: none"> - Syndrome de Budd-Chiari - Maladie veino-occlusive - Péricardite constrictive - Insuffisance cardiaque congestive <p style="text-align: center;">Maladies nutritionnelles</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hypervitaminose A - Alimentation parentérale exclusive - Malnutrition <p style="text-align: center;">Toxiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Médicaments - Toxines naturelles - Produits chimiques - Radiothérapie
---	---

La rapidité d'évolution est variable selon l'âge (une cirrhose peut apparaître en quelques semaines ou mois chez le nouveau-né, alors qu'il faut des mois ou années chez le grand enfant ou l'adulte), le degré d'inflammation hépatique, l'étiologie et les facteurs surajoutés (cholangites bactériennes, infection virale, surcharge en fer) (tableau 2).

II) Diagnostic et suivi de la fibrose hépatique chez l'enfant

La fibrose hépatique est suspectée cliniquement par la découverte d'une hépatomégalie de consistance dure, associée éventuellement à des signes cliniques d'hépatopathie chronique (érythème palmaire,

angiomes stellaires, hippocratisme digital) ou d'hypertension portale (splénomégalie, circulation veineuse collatérale, ascite) lorsqu'elle est évoluée. Comme chez l'adulte, de nombreux symptômes non spécifiques sont associés à l'évolution cirrhogène. Seuls le retard de croissance et le retard pubertaire sont spécifiques de l'âge pédiatrique.

La biopsie hépatique permet de confirmer le diagnostic de fibrose. L'étude histologique permet d'apprécier l'importance du dépôt de matrice extracellulaire, qui peut être évaluée à l'aide de méthodes semi-quantitatives comme le score de Knodell ou le système Métavir. Les méthodes de quantification plus précises (morphométrie par analyse d'image), l'étude de l'expression de certains composés matriciels (protéine, ARN messager) ou de cytokines modulant la fibrogenèse -- *transforming growth factor* (TGF)- α , TGF- β -- sont actuellement réservées à la recherche. L'examen histologique du foie nécessite toutefois la réalisation d'une biopsie, geste invasif qui ne peut être répété fréquemment.

Des efforts ont donc été consacrés à trouver des marqueurs sériques reflétant le dépôt de fibrose dans le foie : enzymes intervenant dans la production ou la modulation de la matrice extracellulaire (lysyl oxydase, prolyl hydroxylase) ; molécules composant la matrice extracellulaire (acide hyaluronique, collagènes de types IV et VI, laminine) ; propeptides précurseurs de composants de la matrice extracellulaire (propeptides des collagènes I, III et IV) ; cytokines profibrogéniques

Tableau 2 Fréquence et délai d'évolution vers la cirrhose hépatique à l'âge pédiatrique selon l'étiologie

Mécanisme	Étiologie	Délai	Fréquence
Cholestase	- Atrésie des voies biliaires	Mois	100 %
	- Cholangite sclérosante	Années	100 %
	- Syndrome d'Alagille	Années	10 - 20 %
	- Cholestases intrahépatiques familiales progressives	Années	100 %
Inflammatoire	- Hépatite virale B	Années	1 - 10 %
	- Hépatite virale C	Années	1 - 5 %
	- Hépatite auto-immune	Mois-années	90 %
Métabolique	- Tyrosinémie (non traitée par NTBC)	Mois	100 %
	- Mucoviscidose	Années	10 - 15 %
	- Mitochondriopathies	Mois	?

(TGF- β , *fibroblast growth factor*) ; enzymes impliquées dans la dégradation de la matrice extracellulaire (*matrix metalloproteinase-2*, *tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1*, 2).

Malheureusement, ces marqueurs renseignent imparfaitement sur le degré de fibrose hépatique pour plusieurs raisons : ils reflètent en général le renouvellement et non le dépôt matriciel, et peuvent être quasi normaux en cas de fibrose importante, mais inactive ; aucune de ces molécules n'est spécifique du foie, et leur taux circulant peut être influencé par une atteinte inflammatoire d'autres tissus ; les taux sériques sont affectés par la clairance de ces substances, laquelle peut être perturbée par une dysfonction endothéliale ou de sécrétion biliaire.

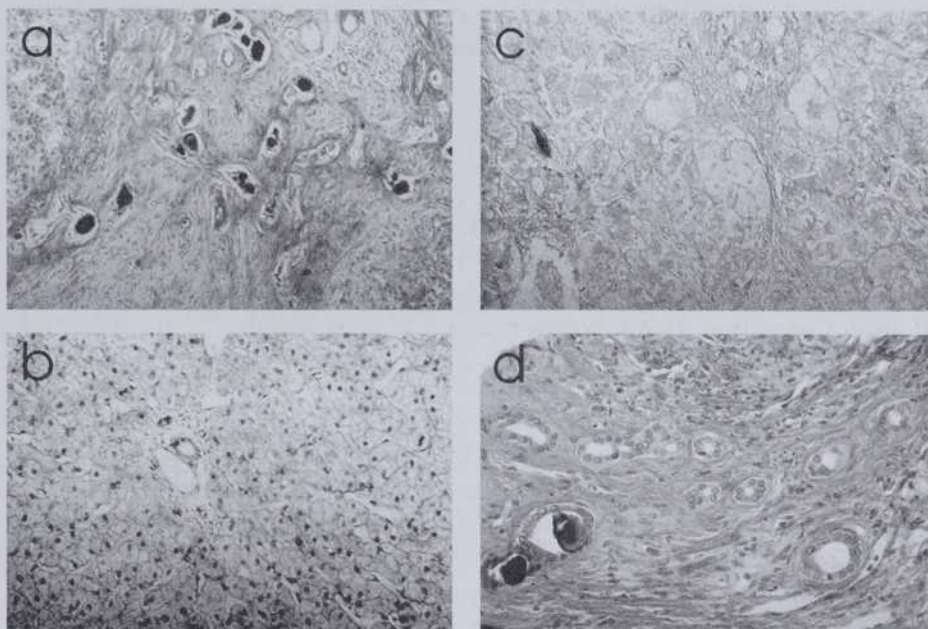
Les molécules étudiées chez l'enfant sont l'acide hyaluronique, le collagène de type VI et le propeptide du collagène III. Dans l'atrésie des voies biliaires, les taux sériques de laminine et des propeptides des collagènes I et III ne sont pas corrélés avec la sévérité de la fibrose (Sasaki et autres, 1992 ; Trivedi et autres, 1995). Le taux sérique de TGF- β n'est pas corrélé au degré de fibrose hépatique chez des enfants atteints de mucoviscidose ou d'atrésie des voies biliaires (Rosensweig et autres, 1998). Plus intéressants semblent être l'acide hyaluronique, dont le taux sérique est corrélé avec le pronostic (Trivedi et autres, 1995 ; Kobayashi et autres, 1999) et avec le degré de fibrose (Hasegawa et autres, 2000) après portoentérostomie dans l'atrésie des voies biliaires, et le collagène VI, dont le taux sérique permet de séparer les sujets mucoviscidotiques avec ou sans fibrose hépatique (Gerling et autres, 1997).

III) Les principales maladies hépatiques fibrosantes chez l'enfant

A) Cholestases

L'*atrésie des voies biliaires* est le résultat d'un processus inflammatoire progressif débutant dans les premières semaines de vie, d'étiologie inconnue, touchant les voies biliaires extra et intrahépatiques, et aboutissant à la fibrose et à l'obstruction de l'arbre biliaire (Balistreri et autres, 1996). Les lésions de fibrose (*figure 1a*) sont précoces, souvent importantes dès la biopsie initiale. Elles sont associées à une cholestase sévère, une prolifération ductulaire, une production importante de TGF- β 1 par les structures ductulaires ou les cellules inflammatoires environnantes, ou les deux (Ramm et autres, 1998 ; Lamireau et autres, 1999 ; Faiz Kabir Uddin Ahmed et autres, 2000). Touchant environ 5 naissances sur 100 000 en France (Chardot et autres, 1999), l'*atrésie des voies biliaires* est la

Figure 1



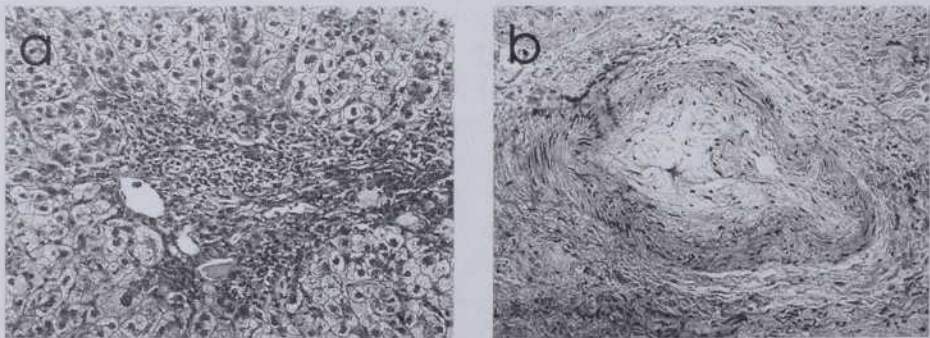
La fibrose est importante et précoce, avec prolifération ductulaire et thrombi biliaires, dans l'atrésie des voies biliaires (a), et minime ou absente dans la paucité des voies biliaires syndromiques (b). Dans les cholestases intrahépatiques familiales progressives, la fibrose est surtout intralobulaire avec désorganisation du parenchyme dans les types 1 et 2 (c), et portale avec prolifération ductulaire et thrombi biliaires dans le type 3 (d).

cause la plus fréquente de cholestase néonatale et représente la moitié des indications à la transplantation hépatique en pédiatrie. En l'absence de traitement, les enfants décèdent de cirrhose biliaire terminale avant l'âge de 2 ans (Balistreri et autres, 1996). La portoentérostomie de Kasai permet la restauration d'un flux biliaire et le déjaunissement dans 80 % des cas lorsqu'elle est pratiquée avant 60 jours de vie, mais dans seulement 20 % après 90 jours (Kasai et autres, 1974 ; Laurent et autres, 1990 ; Balistreri et autres, 1996 ; Altman et autres, 1997 ; Chardot et autres, 1999). Les autres facteurs influençant le succès de l'intervention sont le diamètre ($> 150 \mu\text{m}$) des canaux biliaires visibles à la plaque hilaire, le degré de fibrose et d'atteinte des voies biliaires intrahépatiques à la biopsie initiale, l'expérience du chirurgien, la survenue ultérieure de cholangites bactériennes ascendantes et les malformations congénitales associées (10 à 20 % des cas) (McClement et autres, 1985 ; Tan et autres, 1994 ;

Balistreri et autres, 1996 ; Chardot et autres, 1999 ; McKiernan et autres, 2000 ; Schweizer et autres, 2000). Environ un tiers des enfants doivent être transplantés pour échec de l'intervention de Kasaï et cirrhose terminale avant l'âge de 2 ans (Balistreri et autres, 1996). Même en cas de succès de l'intervention, l'évolution fibrosante se poursuit plus ou moins rapidement, et un deuxième tiers des enfants sont transplantés avant l'âge de 10 ans en raison d'une hypertension portale progressive. Le tiers restant survit sans transplantation après l'âge de 10 ans, mais seulement 9 % ont des transaminases normales et pas d'hypertension portale (Laurent et autres, 1990). Globalement, on estime que 80 % des enfants ayant une intervention de Kasaï seront candidats à la transplantation hépatique (Laurent et autres, 1990). Après transplantation, la survie est de 83 % à 1 an et de 78 % à 5 ans (Goss et autres, 1996).

La *cholangite sclérosante* est caractérisée par une inflammation de l'arbre biliaire entraînant sténoses et dilatations, accompagnée d'une fibrose périductulaire. Survenant dans 15 % des cas chez le nouveau-né, elle atteint plus souvent l'enfant plus grand, où elle est associée dans 70 % des cas à une pathologie extrahépatique, le plus fréquemment une maladie inflammatoire du tube digestif, une histiocytose X ou un déficit immunitaire (Debray et autres, 1994 ; Sisto et autres, 1987 ; Wilschanski et autres, 1995). Une fibrose portale (*figure 2*) est présente de façon quasi constante au moment du diagnostic (el-Shabrawi et autres, 1987 ; Debray et autres, 1994). Chez l'enfant, il semble que la progression vers la cirrhose soit moins rapide que chez l'adulte (Floreani et autres, 1999). Néanmoins, une cirrhose biliaire terminale survient à l'âge pédiatrique dans

Figure 2



Au stade précoce de la cholangite sclérosante (a), il existe un infiltrat inflammatoire péricanalaire, envahissant la lame bordante, puis les lésions évoluent vers la fibrose portale extensive avec disparition des structures ductulaires à un stade avancé (b).

34 % (Wilschanski et autres, 1995) à 46 % (Debray et autres, 1994) des cas. Bien qu'une normalisation du bilan biologique sous acide ursodésoxycholique ait été rapportée chez quelques patients (Debray et autres, 1994), les effets de ce traitement sur la progression de la maladie chez l'enfant restent à préciser.

Le *syndrome d'Alagille* est caractérisé par l'association d'une cholestase liée à une paucité des voies biliaires intrahépatiques, une dysmorphie faciale, des anomalies cardiaque, oculaire, vertébrale et rénale (Alagille et autres, 1975). La mutation du gène *Jagged 1* entraînerait un défaut de développement des canaux biliaires qui se poursuit après la naissance, avec aggravation de la paucité des voies biliaires intrahépatiques. Par contre, la fibrose est généralement absente ou minimale en période néonatale (*figure 1b*) et peu évolutive (Shirahase et autres, 1995). Cette différence avec l'évolution fibrosante plus rapide des autres causes de cholestases néonatales, est probablement en relation avec la discrétion des lésions inflammatoires, l'absence de sécrétion de cytokines et d'activation importante des myofibroblastes *in situ* (Lamireau et autres, 1999). Néanmoins, en particulier en cas de cholestase sévère persistant après l'âge de 1 an, les lésions peuvent progresser avec l'âge vers une fibrose importante, voire une cirrhose dans 10 à 20 % des cas (Alagille et autres, 1975 ; Emerick et autres, 1999). Une transplantation hépatique peut être nécessaire dans 21 % (Emerick et autres, 1999) à 31 % (Hoffenberg et autres, 1995) des cas, dont l'indication est toutefois tant la présence d'une cholestase sévère accompagnée de fractures osseuses, xanthomes sévères et prurit intractable que l'évolution vers la cirrhose terminale avec hypertension portale ou insuffisance hépatocellulaire, ou les deux (Cardona et autres, 1995 ; Hoffenberg et autres, 1995 ; Emerick et autres, 1999).

Les *cholestases intrahépatiques progressives familiales* (CIPF) constituent un groupe hétérogène de maladies autosomales récessives, pour lesquelles a été montrée la responsabilité de trois gènes (FIC1, 2 et 3) qui codent pour des transporteurs canaliculaires intervenant dans la sécrétion de bile par l'hépatocyte.

FIC1, codant pour une ATPase (Bull et autres, 1998), et FIC2, codant pour un transporteur des acides biliaires appelé BSEP (*Bile Salt Export Pump*) (Jansen et autres, 1999), sont impliqués dans la maladie et le syndrome de Byler (Clayton et autres, 1969 ; Linarelli et autres, 1972), se traduisant par une CIPF débutant en général par une cholestase dans les premiers mois de vie, avec γ GT normales. La fibrose apparaît

précocement (75 % des cas à 2 ans), touchant les espaces portes, mais aussi la zone centrolobulaire (*figure 1c*) ; sa progression est cependant variable. L'évolution est parfois très rapide, menant à la cirrhose dès la petite enfance, ou plus lente, restant modérée à l'adolescence (Whittington et autres, 1994 ; Jacquemin, 1997). Elle est améliorée par l'acide ursodésoxycholique (Jacquemin et autres, 1997) et surtout par la dérivation biliaire externe partielle (Whittington et autres, 1994). En cas d'échec, la transplantation hépatique est nécessaire.

FIC3 code pour MDR3 (*multidrug resistance P-glycoprotein* de type 3) transportant les phospholipides dans la bile, se traduisant par une CIFP débutant dans la première année de vie, avec γ GT élevées (Deleuze et autres, 1996 ; de Vree et autres, 1998). L'histologie montre une fibrose portale avec infiltrat inflammatoire, prolifération ductulaire et thrombi biliaires (*figure 1d*), suggérant un mécanisme obstructif, mais sans anomalies lors de l'opacification des voies biliaires (Deleuz et autres, 1996). L'absence de phospholipides dans la bile rendrait celle-ci plus lithogène, entraînant une obstruction des petites voies biliaires, ou permettrait l'action détergente des acides biliaires hydrophobes. L'évolution se fait en quelques années vers la cirrhose biliaire, qui peut toutefois être présente dès les premiers mois chez quelques patients (Jacquemin et autres, 2001). L'acide ursodésoxycholique permet une amélioration clinique et biochimique dans environ 40-50 % des cas, et histologique pour certains patients (Jacquemin et autres, 1997, 2001). En l'absence d'amélioration, une transplantation hépatique est nécessaire dans la première décade (Jacquemin et autres, 2001).

B) Maladies inflammatoires

Hépatite chronique à virus B

Le passage à la chronicité survient chez 90 % des nouveau-nés en cas de transmission périnatale et chez 20 à 30 % des sujets contaminés dans l'enfance (Stevens et autres, 1975 ; Bortolotti et autres, 1990). L'évolution est généralement bénigne même en cas de répllication active (Lok et Lai, 1988), mais peut toutefois se faire vers la cirrhose dans environ 3 à 11 % des cas (Bortolotti et autres, 1981, 1990, 1998 ; Ruiz-Moreno et autres, 1989) et chez un tiers des enfants ayant des lésions d'hépatite chronique à la biopsie (Vajro et autres, 1990). Le risque de développer un hépatocarcinome serait élevé en cas de contamination périnatale (Ince et Wands, 1999), pouvant survenir dès la petite enfance et en l'absence de

cirrhose avérée (Leuschner et autres, 1988 ; Cheah et autres, 1991 ; Bortolotti et autres, 1998).

L'évolution virologique spontanée et après traitement est hétérogène, dépendant en particulier de l'âge de contamination, mais aussi de l'origine géographique et de facteurs socioéconomiques. En cas de transmission périnatale dans la population asiatique, l'efficacité de l'interféron est faible (Lai et autres, 1987). Chez les patients européens et infectés après la période néonatale, une réponse virale est obtenue chez 26 à 50 % des enfants traités par interféron (Ruiz-Moreno et autres, 1990, 1991 ; Utili et autres, 1991 ; Sokal et autres, 1993 ; Barbera et autres, 1994 ; Gregorio et autres, 1996 ; Vajro et autres, 1996 ; Sokal et autres, 1998), soit en moyenne 30 % des cas (Jara and Bortolotti, 1999). Les résultats d'essais thérapeutiques en cours combinant interféron et antiviraux chez l'enfant ne sont pas encore connus.

Hépatite chronique à virus C

La transmission périnatale du virus C survient dans environ 5 % des grossesses chez les mères infectées, et aboutit dans la majorité des cas à un portage chronique chez l'enfant (Palomba et autres, 1996 ; Tovo et autres, 2000). En cas de transmission sanguine, presque la moitié des enfants éliminent spontanément le virus à long terme (Vogt et autres, 1999). Lorsque l'infection à virus C est isolée, la fibrose reste absente ou modérée dans plus de 80 % des cas (Kage et autres, 1997 ; Garcia-Monzon et autres, 1998 ; Guido et autres, 1998 ; Vogt et autres, 1999). Il semble néanmoins qu'il existe une progression des lésions puisque le score de fibrose est corrélé à l'âge — il est plus élevé en cas de transmission périnatale — et à la durée de l'infection (Badizadegan et autres, 1998 ; Guido et autres, 1998). Il est également corrélé à l'importance des lésions inflammatoires (Guido et autres, 1998). Une cirrhose est rapportée dans 0 à 8 % des cas (Kage et autres, 1997 ; Badizadegan et autres, 1998 ; Giodo et autres, 1998 ; Vogt et autres, 1999). Chez des enfants thalassémiques polytransfusés, avec une surcharge en fer associée ou une co-infection par le VIH, les lésions sont plus sévères avec une évolution vers la cirrhose dans 11 % des cas (Lai et autres, 1993 ; Clemente et autres, 1994 ; Komatsu et autres, 1996 ; Kage et autres, 1997). L'analyse des études évaluant l'efficacité de l'interféron chez l'enfant (Ruiz-Moreno et autres, 1992 ; Bortolotti et autres, 1995 ; Iorio et autres, 1996 ; Matsuoka et autres, 1997 ; Jonas et autres, 1998 ; Sawada et autres, 1998 ; Jonas, 1999) montre globalement une réponse dans 58 % (6 mois de traitement) et 71 % des cas (12 mois de traitement), et un rapport coût-bénéfice favorable (Sinha et Das, 2000). Il n'y pas actuellement d'étude disponible

sur l'efficacité du traitement combinant interféron et ribavirine. L'interféron semble avoir chez l'adulte une action antifibrosante directe (Manabe et autres, 1993 ; Sobesky et autres, 1999), mais cet aspect n'a pas été étudié chez l'enfant.

Hépatite auto-immune

L'hépatite auto-immune est définie par une inflammation chronique détruisant progressivement le foie, associée à la présence d'anticorps anti-muscle lisse ou anti-noyaux (type I), ou encore, anti-microsome de foie et de rein de type 1, ou enfin, anti-cytosol hépatique de type 1 (type 2). Son évolution spontanée est fluctuante, source de retard diagnostique. Une cirrhose est présente au moment du diagnostic dans 38 à 89 % des cas pédiatriques (Vajro et autres, 1990 ; Maggiore et autres, 1993 ; Gregorio et autres, 1997). La fibrose peut encore se développer quelques mois après le début du traitement immunosuppresseur, mais est en général stabilisée par ce dernier et peut même régresser, comme cela a été rapporté chez l'adulte (Schvarcz et autres, 1993 ; Dufour et autres, 1997). Ces données soulignent l'intérêt d'un diagnostic précoce et d'un traitement immunosuppresseur « agressif » et prolongé.

C) Maladies métaboliques

Des lésions de fibrose peuvent se voir très précocement dans la *galactosémie*, mais régressent après exclusion du lactose de l'alimentation (Applebaum et Thaler, 1975).

Dans la *tyrosinémie*, l'évolution fibrosante se poursuit en cas de régime seul, et une transplantation hépatique est constamment nécessaire à plus ou moins longue échéance pour cirrhose décompensée ou hépatocarcinome, ou les deux (Larochelle et autres, 1973 ; Paradis et autres, 1990). En cas de dépistage néonatal, la mise en route dès les premières semaines de vie d'un traitement par NTBC évite la constitution d'une cirrhose et la survenue d'hépatocarcinome.

Au cours de la *mucoviscidose*, l'atteinte hépatique survient essentiellement dans la première décennie de la vie (Colombo et autres, 2002). L'obstruction des canaux biliaires entraîne une fibrose d'abord focale, qui peut s'étendre et progresser vers la cirrhose multilobulaire chez 15 à 20 % des enfants (Colombo et autres, 2002).

Deux formes évolutives d'atteinte hépatique peuvent se voir au cours des *cytopathies mitochondriales* : une forme néonatale sévère

survenant dès les premières semaines de vie (Cormier et autres, 1991 ; Fayon et autres, 1992 ; Bioulac-Sage et autres, 1993 ; Cormier-Daire et autres, 1997) et une forme plus tardive débutant après l'âge de 2 mois (Cormier-Daire et autres, 1997). L'examen histologique montre des lésions de stéatose micro et macrovésiculaire, une dégénérescence hépatocytaire focale et une fibrose portale avec prolifération ductulaire, qui évoluent en quelques mois vers la cirrhose microvésiculaire. L'évolution se fait en général rapidement vers la mort dans un tableau d'insuffisance hépatique associée généralement à une détérioration neurologique, ce qui contre-indique la transplantation hépatique (Thomson et autres, 1998 ; Delarue et autres, 2000). Il a été récemment rapporté une évolution favorable après transplantation hépatique dans certaines formes modérées sans atteinte extrahépatique (Rake et autres, 2000 ; Dubern et autres, 2001). Néanmoins, l'atteinte neurologique peut être asymptomatique et doit être systématiquement recherchée avant la décision de transplantation (Thomson et autres, 1998 ; Rake et autres, 2000 ; Dubern et autres, 2001).

La *maladie de Wilson* débute avant l'âge de 15 ans dans 50 à 65 % des cas, par une atteinte hépatique qui peut être soit une hépatite aiguë, voire fulminante, soit une hépatite chronique révélée par des signes d'hypertension portale. Une cirrhose a été rapportée chez l'enfant dès l'âge de 5 ans (Dorney et autres, 1986), pouvant progresser malgré le traitement chélateur vers l'insuffisance hépatique nécessitant une transplantation (Sternlieb, 1984).

Le déficit en $\alpha 1$ -antitrypsine homozygote (PiZZ) touche de 1/1600 à 1/2000 naissance, et s'exprime par une atteinte hépatique dans 10 à 15 % des cas avant 20 ans (Sveger et autres, 1976). La survenue d'une cholestase néonatale prolongée suivie plusieurs années plus tard d'une cirrhose est évocatrice de déficit en $\alpha 1$ -antitrypsine (Sveger et autres, 1988). L'évolutivité de la cirrhose est lente et le recours à la transplantation peut être nécessaire à l'âge pédiatrique (Putman et autres, 1977).

Une fibrose hépatique en règle discrète peut accompagner l'atteinte hépatique de la *glycogénose* de type III, mais l'évolution vers la cirrhose et l'hypertension portale reste exceptionnelle. Une cirrhose avec insuffisance hépatique apparaît par contre précocement dans la *glycogénose* de type IV (Hers et autres, 1989).

M) Conclusion

La fibrose hépatique accompagne de nombreuses maladies du foie chez l'enfant. Le traitement précoce de la maladie causale peut limiter l'évolution fibrosante, mais cette dernière progresse malgré tout parfois vers la cirrhose et ses complications. La rapidité d'évolution dépend également de l'âge, du degré d'inflammation hépatique et de facteurs surajoutés.

Références bibliographiques

- Alagille, D., M. Odievre, M. Gautier et J.P. Dommergues. « Hepatic ductular hypoplasia associated with characteristic facies, vertebral malformations, retarded physical, mental, and sexual development, and cardiac murmur », *J. Pediatr.*, 1975, n° 86, p. 63-71.
- Altman, R.P., J.R. Lilly, J. Greenfeld, A. Weinberg, K. van Leeuwen et L. Flanagan. « A multivariable risk factor analysis of the portoenterostomy (Kasai) procedure for biliary atresia : twenty-five years of experience from two centers », *Ann. Surg.*, 1997, n° 226, p. 348-353, discussion p. 353-355.
- Applebaum, M.N. et M.M.Thaler. « Reversibility of extensive liver damage in galactosemia », *Gastroenterology*, 1975, n° 69, p. 496-502.
- Badizadegan, K., M.M. Jonas, M.J. Ott, S.P. Nelson et A.R. Perez-Atayde. « Histopathology of the liver in children with chronic hepatitis C viral infection », *Hepatology*, 1998, n° 28, p. 1416-1423.
- Balistreri, W.F., R. Grand, J.H. Hoofnagle, F.J. Suchy, F.C. Ryckman, D.H. Perlmutter et R.K. Sokol. « Biliary atresia : current concepts and research directions. Summary of a symposium », *Hepatology*, 1996, n° 23, p. 1682-1692.
- Barbera, C., F. Bortolotti, C. Crivellaro, A. Coscia, L. Zancan, P. Cadrobbi, G. Nebbia, M.N. Pillan, L. Lepore et T. Parrella. « Recombinant interferon-alpha 2a hastens the rate of HBeAg clearance in children with chronic hepatitis B », *Hepatology*, 1994, n° 20, p. 287-290.
- Bioulac-Sage, P., F. Parrot-Roulaud, J.-P. Mazat, T. Lamireau, M. Coquet, B. Sandler, J.L. Demarquez, V. Cormier, A. Munnich et M. Carre. « Fatal neonatal liver failure and mitochondrial cytopathy (oxidative phosphorylation deficiency) : a light and electron microscopic study of the liver », *Hepatology*, 1993, n° 18, p. 839-846.
- Bortolotti, F., P. Cadrobbi, C. Crivellaro, A. Bertaggia, A. Alberti, and G. Realdi. « Chronic hepatitis type B in childhood : longitudinal study of 35 cases », *Gut.*, 1981, n° 22, p. 499-504.

- Bortolotti, F., P. Cadrobbi, C. Crivellaro, M. Guido, M. Rugge, F. Noventa, R. Calzia et G. Realdi. « Long-term outcome of chronic type B hepatitis in patients who acquire hepatitis B virus infection in childhood », *Gastroenterology*, 1990, n° 99, p. 805-810.
- Bortolotti, F., R. Calzia, P. Cadrobbi, C. Crivellaro, A. Alberti et M.G. Marazzi. « Long-term evolution of chronic hepatitis B in children with antibody to hepatitis B e antigen », *J. Pediatr.*, 1990, n° 116, p. 552-555.
- Bortolotti, F., R. Giacchino, P. Vajro, C. Barbera, C. Crivellaro, A. Alberti, G. Nebbia, L. Zancan, L. De Moliner et A. Bertolini. « Recombinant interferon-alfa therapy in children with chronic hepatitis C », *Hepatology*, 1995, n° 22, p. 1623-1627.
- Bortolotti, F., P. Jara, C. Crivellaro, L. Hierro, P. Cadrobbi, E. Frauca, C. Camarena, A. De La Vega, C. Diaz, L. De Moliner et F. Noventa. « Outcome of chronic hepatitis B in Caucasian children during a 20-year observation period », *J. Hepatol.*, 1998, n° 29, p. 184-190.
- Bull, L.N., M.J. van Eijk, L. Pawlikowska, J.A. DeYoung, J.A. Juijn, M. Liao, L. W. Klomp, N. Lomri, R. Berger, B.F. Scharschmidt, A.S. Knisely, R.H. Houwen et N.B. Freimer. « A gene encoding a P-type ATPase mutated in two forms of hereditary cholestasis », *Nat. Genet.*, 1998, n° 18, p. 219-224.
- Cardona, J., D. Houssin, F. Gauthier, D. Devictor, J. Losay, M. Hadchouel et O. Bernard. « Liver transplantation in children with Alagille syndrome – a study of twelve cases », *Transplantation*, 1995, n° 60, p. 339-342.
- Chardot, C., M. Carton, N. Spire-Bendelac, C. Le Pommelet, J.L. Golmard et B. Auvert. « Epidemiology of biliary atresia in France : a national study 1986-96 », *J. Hepatol.*, 1999, n° 31, p. 1006-1003.
- Cheah, P.L., L.M. Looi, H.P. Lin et S.F. Yap. « A case of childhood hepatitis B virus infection related primary hepatocellular carcinoma with short malignant transformation time », *Pathology*, 1991, n° 23, p. 66-68.
- Clayton, R.J., F.L. Iber, B.H. Ruebner et V.A McKusick. « Byler disease. Fatal familial intrahepatic cholestasis in an Amish kindred », *Am. J. Dis. Child.*, 1969, n° 117, p. 112-124.
- Clemente, M.G., M. Congia, M.E. Lai, F. Lilliu, R. Lampis, F. Frau, M.R. Frau, G. Faa, G. Diana et C. Dessi « Effect of iron overload on the response to recombinant interferon-alfa treatment in transfusion-dependent patients with thalassemia major and chronic hepatitis C », *J. Pediatr.*, 1994, n° 125, p. 123-128.
- Colombo, C., M.G. Apostolo, M. Ferrari, M. Seia, S. Genoni, A. Giunta et L.P. Sereni. « Analysis of risk factors for the development of liver disease associated with cystic fibrosis », *J. Pediatr.*, 1994, n° 124, p. 393-399.
- Colombo, C., P.M. Battezzati, A. Crosignati, D. Morabito, D. Costantini, R. Padoan et A. Giunta. « Liver disease in cystic fibrosis : A prospective study

- on incidence, risk factors, and outcome », *Hepatology*, 2002, n° 36, p. 1374-1382.
- Cormier, V., P. Rustin, J.P. Bonnefont, C. Rambaud, A. Vassault, D. Rabier, P. Parvy, S. Couderc, F. Parrot-Roulaud et M. Carre. « Hepatic failure in disorders of oxidative phosphorylation with neonatal onset », *J. Pediatr.*, 1991, n° 119, p. 951-954.
- Cormier-Daire, V., D. Chretien, P. Rustin, A. Rotig, C. Dubuisson, E. Jacquemin, M. Hadchouel, O. Bernard et A. Munnich. « Neonatal and delayed-onset liver involvement in disorders of oxidative phosphorylation », *J. Pediatr.*, 1997, n° 130, p. 817-822.
- De Vree, J.M., E. Jacquemin, E. Sturm, D. Cresteil, P.J. Bosma, J. Aten, J.F. Deleuze, M. Desrochers, M. Burdelski, O. Bernard, R.P. Oude Elferink et M. Hadchouel. « Mutations in the MDR3 gene cause progressive familial intrahepatic cholestasis », *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, n° 95, p. 282-287.
- Debray, D., D. Pariente, E. Urvoas, M. Hadchouel et O. Bernard. « Sclerosing cholangitis in children », *J. Pediatr.* 1994, n° 124, p. 49-56.
- Delarue, A., O. Paut, J.M. Guys, M.F. Montfort, V. Lethel, B. Roquelaure, J.F. Pellissier, J. Sarles et J. Camboulives. « Inappropriate liver transplantation in a child with Alpers-Huttenlocher syndrome misdiagnosed as valproate-induced acute liver failure », *Pediatr. Transplant.*, 2000, n° 4, p. 67-71.
- Deleuze, J.-F., E. Jacquemin, C. Dubuisson, D. Cresteil, M. Dumont, S. Erlinger, O. Bernard et M. Hadchouel. « Defect of multidrug-resistance 3 gene expression in a subtype of progressive familial intrahepatic cholestasis », *Hepatology*, 1996, n° 23, p. 904-908.
- Dorney, S.F.A. « Wilson's disease in childhood », *Med. J. Aust.*, 1986, n° 37, p. 550-564.
- Dufour, J.F., R. DeLellis et M.M. Kaplan. « Reversibility of hepatic fibrosis in autoimmune hepatitis », *Ann. Intern. Med.*, 1997, n° 127, p. 981-985.
- El-Shabrawi, M., M.L. Wilkinson, B. Portmann, G. Mieli-Vergani, S.K. Chong, R. Williams et A.P. Mowat. « Primary sclerosing cholangitis in childhood », *Gastroenterology*, 1987, n° 92, p. 1226-1235.
- Emerick, K.M., E.B. Rand, E. Goldmuntz, I.D. Krantz, N.B. Spinner et D.A. Piccoli. « Features of Alagille syndrome in 92 patients : frequency and relation to prognosis », *Hepatology*, 1999, n° 29, p. 822-829.
- Faiz Kabir Uddin Ahmed, A., H. Ohtani, M. Nio, N. Funaki, D. Iwami, S. Kumagai, E. Sato, H. Nagura et R. Ohie. « In situ expression of fibrogenic growth factors and their receptors in biliary atresia : comparison between early and late stages », *J. Pathol.*, 2000, n° 192, p. 73-80.
- Fayon, M., T. Lamireau, P. Bioulac-Sage, T. Letellier, B. Moretto, F. Parrot-Roulaud, M. Coquet, M. Malgat, J.Sarlangue et C. Balabaud. « Fatal

- neonatal liver failure and mitochondrial cytoplasmic : an observation with antenatal ascites », *Gastroenterology*, 1992, n° 103, p. 1332-1335.
- Floreani, A., L. Zancan, A. Melis, A. Baragiotta et M. Chiaramonte. « Primary sclerosing cholangitis (PSC) : clinical, laboratory and survival analysis in children and adults », *Liver*, 1999, n° 19, p. 228-233.
- Garcia-Monzon, C., P. Jara, M. Fernandez-Bermejo, L. Hierro, E. Frauca, C. Camarena, C. Diaz, A. De la Vega, J. Larrauri, C. Garcia-Iglesias, M.J. Borque, P. Sanz, L. Garcia-Buey, J.A. Moreno-Monteagudo et R. Moreno-Otero. « Chronic hepatitis C in children : a clinical and immunohistochemical comparative study with adult patients », *Hepatology*, 1998, n° 28, p. 1696-1701.
- Gerling, B., M. Becker, D. Staab et D. Schuppan. « Prediction of liver fibrosis according to serum collagen VI level in children with cystic fibrosis », *New Engl. J. Med.*, 1997, n° 336, p. 1611-1612.
- Goss, J.A., C.R. Shackleton, K. Swenson, N.L. Satou, B.J. Nuesse, D.K. Imagawa, M.M. Kinkhabwala, P. Seu, J.S. Markowitz, S.M. Rudich, S.V. McDiarmid et R.W. Busuttil. « Orthotopic liver transplantation for congenital biliary atresia. An 11-year, single-center experience », *Ann. Surg.*, 1996, n° 224, p. 276-284, discussion, p. 284-287.
- Gregorio, G.V., P. Jara, L. Hierro, C. Diaz, A. de la Vega, A. Vegnente, R. Iorio, F. Bortolotti, C. Crivellaro, L. Zancan, H. Daniels, B. Portmann et G. Mieli-Vergani. « Lymphoblastoid interferon alfa with or without steroid pretreatment in children with chronic hepatitis B : a multicenter controlled trial », *Hepatology*, 1996, n° 23, p. 700-707.
- Gregorio, G.V., B. Portmann, F. Reid, P.T. Donaldson, D.G. Doherty, M. McCartney, A.P. Mowat, D. Vergani, G. Mieli-Vergani. « Autoimmune hepatitis in childhood : a 20-year experience », *Hepatology*, 1997, n° 25, p. 541-547.
- Guido, M., M. Rugge, P. Jara, L. Hierro, R. Giacchino, J. Larrauri, L. Zancan, G. Leandro, C.E. Marino, F. Balli, A. Bagni, A. Timitilli et F. Bortolotti. « Chronic hepatitis C in children : the pathological and clinical spectrum », *Gastroenterology*, 1998, n° 115, p. 1525-1529.
- Hasegawa, T., T. Sasaki, T. Kimura, M. Hoki, A. Okada, S. Mushiake, M. Yagi et K. Imura. « Measurement of serum hyaluronic acid as a sensitive marker of liver fibrosis in biliary atresia », *J. Pediatr. Surg.*, 2000, n° 35, p. 1643-1646.
- Hers, H.G., F. VanHoof et T. DeBarsy. « Glycogen storage diseases, dans *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, Scriver, C.R. et autres, éditeurs, New York, McGraw-Hill, 1989.
- Hoffenberg, E.J., M.R. Narkewicz, J.M. Sondheimer, D.J. Smith, A. Silverman et R.J. Sokol. « Outcome of syndromic paucity of interlobular bile ducts (Alagille syndrome) with onset of cholestasis in infancy », *J. Pediatr.*, 1995, n° 127, p. 220-224.

- Ince, N. et J.R. Wands. « The increasing incidence of hepatocellular carcinoma », *New Engl. J. Med.*, 1999, n° 340, p. 798-799.
- Iorio, R., P. Pensati, S. Porzio, I. Fariello, S. Guida, and A. Vegnente. « Lymphoblastoid interferon alfa treatment in chronic hepatitis C », *Arch. Dis. Child*, 1996, n° 74, p. 152-156.
- Jacquemin, E., J.M. De Vree, D. Cresteil, E.M. Sokal, E. Sturm, M. Dumont, G.L. Scheffer, M. Paul, M. Burdelski, P.J. Bosma, O. Bernard, M. Hadchouel et R.P. Elferink. « The wide spectrum of multidrug resistance 3 deficiency : from neonatal cholestasis to cirrhosis of adulthood », *Gastroenterology*, 2001, n° 120, p. 1448-1458.
- Jacquemin, E., D. Hermans, A. Myara, D. Habes, D. Debray, M. Hadchouel, E.M. Sokal et O. Bernard. « Ursodeoxycholic acid therapy in pediatric patients with progressive familial intrahepatic cholestasis », *Hepatology*, 1997, n° 25, p. 519-523.
- Jacquemin, E. « Progressive familial intrahepatic cholestasis », *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 1999, n° 14, p. 594-599.
- Jansen, P.L., S.S. Strautnieks, E. Jacquemin, M. Hadchouel, E.M. Sokal, G.J. Hooiveld, J.H. Koning, A. De Jager-Krikken, F. Kuipers, F. Stellaard, C.M. Bijleveld, A. Gouw, H. Van Goor, R.J. Thompson et M. Muller. « Hepatocanalicular bile salt export pump deficiency in patients with progressive familial intrahepatic cholestasis », *Gastroenterology*, 1999, n° 117, p. 1370-1379.
- Jara, P. et F. Bortolotti. « Interferon-alpha treatment of chronic hepatitis B in childhood : a consensus advice based on experience in European children », *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 1999, n° 29, p. 163-170.
- Jonas, M.M., M.J. Ott, S.P. Nelson, K. Badizadegan et A.R. Perez-Atayde. « Interferon-alpha treatment of chronic hepatitis C virus infection in children », *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1998, n° 17, p. 241-246.
- Jonas, M.M. « Hepatitis C infection in children », *New Engl. J. Med.*, 1999, n° 341, p. 912-913.
- Kage, M., T. Fujisawa, K. Shiraki, T. Tanaka, A. Kimura, K. Shimamatsu, E. Nakashima, M. Kojiro, M. Koike, Y. Tazawa, D. Abukawa, M. Okaniwa, H. Takita, A. Matsui, T. Hayashi, T. Etou, S. Terasawa, K. Sugiyama, H. Tajiri, A. Yoden, Y. Kajiwara, M. Sata et Y. Uchimura. « Pathology of chronic hepatitis C in children », Child Liver Study Group of Japan, *Hepatology*, 1997, n° 26, p. 771-775.
- Kasai, M. « Treatment of biliary atresia with special reference to hepatic portoenterostomy and its modifications », *Prog. Pediatr. Surg.*, 1974, n° 6, p. 5-52.
- Kobayashi, H., S. Narumi, T. Tamatani, G.J. Lane et T. Miyano. « Serum IFN-inducible protein-10 : a new clinical prognostic predictor of hepatocyte death in biliary atresia », *J. Pediatr. Surg.*, 1999, n° 34, p. 308-311.

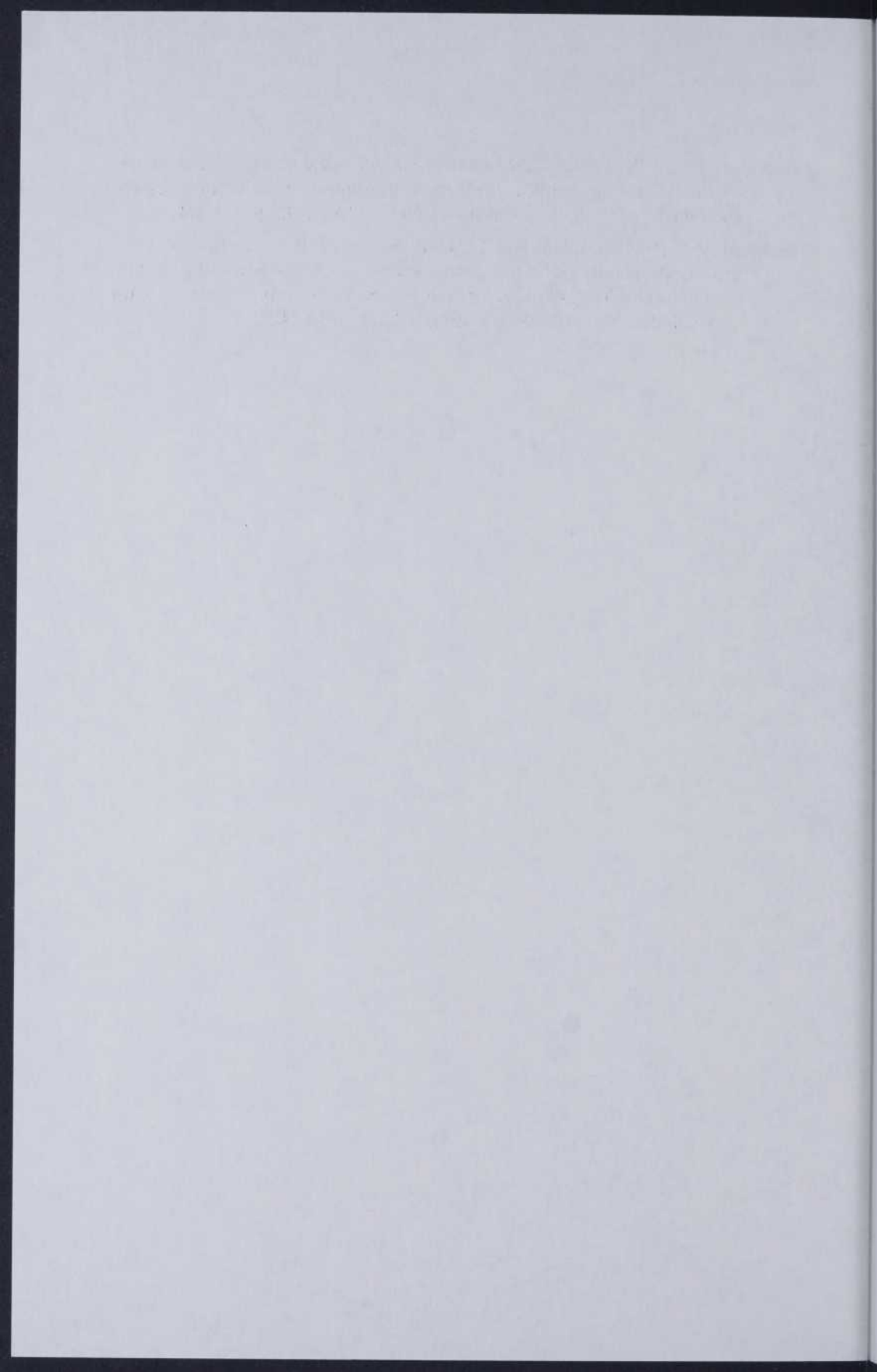
- Komatsu, H., T. Fujisawa, A. Inui, Y. Miyakawa, M. Onoue, I. Sekine, R. Hanada et K. Yamamoto. « Efficacy of interferon in treating chronic hepatitis C in children with a history of acute leukemia », *Blood*, 1996, n° 87, p. 4072-4075.
- Lai, C.L., A.S. Lok, H.J. Lin, P.C. Wu, E.K. Yeoh et C.Y. Yeung. « Placebo-controlled trial of recombinant alpha 2-interferon in Chinese HBsAg-carrier children », *Lancet*, 1987, n° 2, p. 877-880.
- Lai, M.E., S. De Virgili, F. Argioli, P. Farci, A.P. Mazzoleni, V. Lisci, M. Rapicetta, M.G. Clemente, P. Nurchis et M. Arnone. « Evaluation of antibodies to hepatitis C virus in a long-term prospective study of posttransfusion hepatitis among thalassemic children : comparison between first- and second-generation assay », *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 1993, n° 16, p. 458-464.
- Lamireau, T., B. Le Bail, L. Boussarie, M. Fabre, P. Vergnes, O. Bernard, F. Gautier, P. Bioulac-Sage et J. Rosenbaum. « Expression of collagens type I and IV, osteonectin and transforming growth factor beta-1 (TGFbeta1) in biliary atresia and paucity of intrahepatic bile ducts during infancy », *J. Hepatol.*, 1999, n° 31, p. 248-255.
- Larochelle, J., L. Prive, M. Bélanger, L. Bélanger, M. Tremblay, J.C. Claveau, G. Aubin et D. Paradis. « Hereditary tyrosinemia. I. Clinical and biological study of 62 cases », *Pédiatrie*, 1973, n° 28, p. 5-18.
- Laurent, J., F. Gauthier, O. Bernard, M. Hadchouel, M. Odievre, J. Valayer et D. Alagill. « Long-term outcome after surgery for biliary atresia. Study of 40 patients surviving for more than 10 years », *Gastroenterology*, 1990, n° 99, p. 1793-1797.
- Leuschner, I., D. Harms et D. Schmidt. « The association of hepatocellular carcinoma in childhood with hepatitis B virus infection », *Cancer* 1988, n° 62, p. 2363-2369.
- Linarelli, L.G., C.N. Williams et M.J. Phillips. « Byler's disease : fatal intrahepatic cholestasis », *J. Pediatr.*, 1972, n° 81, p. 484-492.
- Lindblad, A., H. Glaumann et B. Strandvik. « Natural history of liver disease in cystic fibrosis », *Hepatology*, 1999, n° 30, p. 1151-1158.
- Lok, A.S et C.L. Lai. « A longitudinal follow-up of asymptomatic hepatitis B surface antigen-positive Chinese children », *Hepatology*, 1988, n° 8, p. 1130-1133.
- Maggiore, G., F. Veber, O. Bernard, M. Hadchouel, J.C. Homberg, F. Alvarez, P. Hadchouel et D. Alagille. « Autoimmune hepatitis associated with anti-actin antibodies in children and adolescents », *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 1993, n° 17, p. 376-381.
- Manabe, N., M. Chevallier, P. Chossegros, X. Causse, S. Guerret, C. Treppe et J.A. Grimaud. « Interferon-alpha 2b therapy reduces liver fibrosis in chronic non-A, non-B hepatitis : a quantitative histological evaluation », *Hepatology*, 1993, n° 18, p. 1344-1349.

- Matsuoka, S., K. Mori, O. Nakano, Y. Yuasa, Y. Taguchi, Y. Hayabuchi et Y. Kuroda. « Efficacy of interferons in treating children with chronic hepatitis C », *Eur. J. Pediatr.*, 1997, n° 156, p. 704-708.
- McClement, J.W., E.R. Howard et A.P. Mowat. « Results of surgical treatment for extrahepatic biliary atresia in United Kingdom 1980-2 », Survey conducted on behalf of the British Paediatric Association Gastroenterology Group and the British Association of Paediatric Surgeons, *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)*, 1985, n° 290, p. 345-347.
- McKiernan, P.J., A.J. Baker et D.A. Kelly. « The frequency and outcome of biliary atresia in the UK and Ireland », *Lancet*, 2000, n° 355, p. 25-29.
- Oppenheimer, E.H et J.R. Esterly. « Pathology of cystic fibrosis review of the literature and comparison with 146 autopsied cases », *Perspect. Pediatr. Pathol.*, 1975, n° 2, p. 241-278.
- Palomba, E., P. Manzini, P. Fiammengo, P. Maderni, G. Saracco et P.A. Tovo. « Natural history of perinatal hepatitis C virus infection », *Clin. Infect. Dis.*, 1996, n° 23, p. 47-50.
- Paradis, K., A. Weber, E.G. Seidman, J. Larochelle, L. Garel, C. Lenaerts et C.C. Roy. « Liver transplantation for hereditary tyrosinemia : the Quebec experience », *Am. J. Hum. Genet.*, 1990, n° 47, p. 338-342.
- Putman, C.W., K.A. Porter, R.L. Peters, M. Ashcavai, A.G. Redeker et T.E. Starzl. « Liver replacement for alpha1-antitrypsin deficiency », *Surgery*, 1977, n° 81, p. 258-261.
- Rake, J.P., F.J. van Spronsen, G. Visser, W. Ruitenbeek, J.J. Schweizer, C.M. Bijleveld, P.M. Peeters, K.P. de Jong, M.J. Slooff, D.J. Reijngoud, K.E. Niezen-Koning et G.P. Smit. « End-stage liver disease as the only consequence of a mitochondrial respiratory chain deficiency : no contra-indication for liver transplantation », *Eur. J. Pediatr.*, 2000, n° 159, p. 523-526.
- Ramm, G.A., V.G. Nair, K.R. Bridle, R.W. Shepherd et D.H. Crawford. « Contribution of hepatic parenchymal and nonparenchymal cells to hepatic fibrogenesis in biliary atresia », *Am. J. Pathol.*, 1998, n° 153, p. 527-535.
- Rosensweig J.N., M. Omori, K. Page, C.J. Potter, E.J. Perlman, S.S. Thorgeirsson et K.B. Schwarz. « Transforming growth factor-beta1 in plasma and liver of children with liver disease », *Pediatr. Res.*, 1998, n° 44, p. 402-409.
- Ruiz-Moreno, M., J. Jimenez, J.C. Porres, J. Bartolome, Moreno A. et V. Carreno. « A controlled trial of recombinant interferon-alpha in Caucasian children with chronic hepatitis B », *Digestion*, 1990, n° 45, p. 26-33.
- Ruiz-Moreno, M., T. Camps, J.G. Aguado, J.C. Porres, H. Oliva, J. Bartolome et V. Carreno. « Serological and histological follow up of chronic hepatitis B infection », *Arch. Dis. Child*, 1989, n° 64, p. 1165-1169.
- Ruiz-Moreno, M., M.J. Rua, I. Castillo, M.D. Garcia-Novo, M. Santos, S. Navas et V. Carreno. « Treatment of children with chronic hepatitis C with

- recombinant interferon-alpha : a pilot study », *Hepatology*, 1992, n° 16, p. 882-885.
- Ruiz-Moreno, M., M.J. Rua, J. Molina, G. Moraleda, A. Moreno, J. Garcia-Aguado et V. Carreno. « Prospective, randomized controlled trial of interferon-alpha in children with chronic hepatitis B », *Hepatology*, 1991, n° 13, p. 1035-1039.
- Sasaki, F., Y. Hata, H. Hamada, H. Takahashi et J. Uchino. « Laminin and procollagen-III-peptide as a serum marker for hepatic fibrosis in congenital biliary atresia », *J. Pediatr. Surg.*, 1992, n° 27, p. 700-703.
- Sawada, A H., Tajiri, K. Kozaiwa, W. Guo, K. Tada, Y. Etani, S. Okada et M. Sako. « Favorable response to lymphoblastoid interferon-alpha in children with chronic hepatitis C », *J. Hepatol.*, 1998, n° 28, p. 184-188.
- Schvarcz, R., H. Glaumann et O. Weiland. « Survival and histological resolution of fibrosis in patients with autoimmune chronic active hepatitis », *J. Hepatol.*, 1993, n° 18, p. 15-23.
- Schweizer, P., M. Schweizer, K. Schellinger, H.J. Kirschner et C. Schittenhelm. « Prognosis of extrahepatic bile-duct atresia after hepatopuertoenterostomy », *Pediatr. Surg. Int.*, 2000, n° 16, p. 351-355.
- Shirahase, I., A. Ooshima, K. Tanaka, T. Inamoto, E. Yamamoto, K. Ozawa et H. Yamabe. « The slow progression of hepatic fibrosis in intrahepatic cholestasis as compared with extrahepatic biliary atresia », *Eur. J. Pediatr. Surg.*, 1995, n° 5, p. 77-81.
- Sinha, M. et A. Das. « Cost effectiveness analysis of different strategies of management of chronic hepatitis C infection in children », *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2000, n° 19, p. 23-30.
- Sisto, A., P. Feldman, L. Garel, E. Seidman, P. Brochu, C.L. Morin, A.M. Weber et C.C. Roy. « Primary sclerosing cholangitis in children : study of five cases and review of the literature », *Pediatrics*, 1987, n° 80, p. 918-923.
- Sobesky, R., P. Mathurin, F. Charlotte, J. Moussalli, M. Olivi, M. Vidaud, V. Ratziu, P. Opolon et T. Poynard. « Modeling the impact of interferon alfa treatment on liver fibrosis progression in chronic hepatitis C : a dynamic view », The Multivirc Group, *Gastroenterology*, 1999, n° 116, p. 378-386.
- Sokal, E.M., H.S. Conjeevaram, E.A. Roberts, F. Alvarez, E.M. Bern, P. Goyens, P. Rosenthal, A. Lachaux, M. Shelton, J. Sarles et J. Hoofnagle. « Interferon alfa therapy for chronic hepatitis B in children : a multinational randomized controlled trial », *Gastroenterology*, 1998, n° 114, p. 988-995.
- Sokal, E.M., S. Wirth, P. Goyens, A. Depreterre et C. Cornu. « Interferon alfa-2b therapy in children with chronic hepatitis B », *Gut.*, 1993, n° 34, suppl. 2, p. S87-S90.

- Sternlieb, I. « Wilson's disease : indications for liver transplants », *Hepatology*, 1986, n° 4, p. 155-175.
- Stevens, C.E., R.P. Beasley, J. Tsui et W.C. Lee. « Vertical transmission of hepatitis B antigen in Taiwan », *New Engl. J. Med.*, 1975, n° 292, p. 771-774.
- Sveger, T. « Liver disease in α 1-antitrypsin deficiency detected by screening in 200,000 infants », *New Engl. J. Med.*, 1976, n° 294, p. 1316-1321.
- Sveger, T. « The natural history of liver disease in α 1-antitrypsin deficiency children », *Acta Paediatr. Scand.*, 1988, n° 77, p. 847- 851.
- Tan, C.E., M. Davenport, M. Driver et E.R. Howard. « Does the morphology of the extrahepatic biliary remnants in biliary atresia influence survival ? A review of 205 cases », *J. Pediatr. Surg.*, 1994, n° 29, p. 1459-1564.
- Thomson, M., P. McKiernan, J. Buckels, D. Mayer et D. Kelly. « Generalised mitochondrial cytopathy is an absolute contraindication to orthotopic liver transplant in childhood », *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 1998, n° 26, p. 478-481.
- Tovo, P.A., L.J. Pembrey et M.L. Newell. « Persistence rate and progression of vertically acquired hepatitis C infection. European Paediatric Hepatitis C Virus Infection », *J. Infect. Dis.*, 2000, n° 181, p. 419-424.
- Trivedi, P., A. Dhawan, J. Risteli, L. Risteli, M. Mirza, P. Cheeseman et A.P. Mowat. « Prognostic value of serum hyaluronic acid and type I and III procollagen propeptides in extrahepatic biliary atresia », *Pediatr. Res.*, 1995, n° 38, p. 568-573.
- Utili, R., E. Sagnelli, B. Galanti, L. Aprea, G. Cesaro, L. Digilio, P. Filippini, F.M. Felaco, G.B. Gaeta et A. Marrone. « Prolonged treatment of children with chronic hepatitis B with recombinant alpha 2a-interferon : a controlled, randomized study », *Am. J. Gastroenterol.*, 1991, n° 86, p. 327-330.
- Vajro, P., P. Hadchouel, M. Hadchouel, O. Bernard et D. Alagille. « Incidence of cirrhosis in children with chronic hepatitis », *J. Pediatr.*, 1990, n° 117, p. 392-396.
- Vajro, P., M. Tedesco, A. Fontanella, A. De Vincenzo, R. Vecchione, R. Ammendola, L.M. Terracciano, A. Novissimo et A. Vegnente. « Prolonged and high dose recombinant interferon alpha-2b alone or after prednisone priming accelerates termination of active viral replication in children with chronic hepatitis B infection », *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1996, n° 15, p. 223-231.
- Vogt, M., T. Lang, G. Frosner, C. Klingler, A.F. Sendl, A. Zeller, B. Wiebecke, B. Langer, H. Meisner et J. Hess. « Prevalence and clinical outcome of hepatitis C infection in children who underwent cardiac surgery before the implementation of blood-donor screening », *New Engl. J. Med.*, 1999, n° 341, p. 866-870.

- Whittington, P.F., D.K. Freese, E.M. Alonso, S.J. Schwarzenberg et H.L. Sharp. « Clinical and biochemical findings in progressive familial intrahepatic cholestasis », *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 1994, n° 18, p. 134-141.
- Wilschanski, M., P. Chait, J.A. Wade, L. Davis, M. Corey, P. St Louis, A.M. Griffiths, L.M. Blendis, S.P. Moroz et L. Scully. « Primary sclerosing cholangitis in 32 children : clinical, laboratory, and radiographic features, with survival analysis », *Hepatology*, 1995, n° 22, p. 1415-1422.



LA FIBROSE HÉPATIQUE : PERSPECTIVES THÉRAPEUTIQUES

Philippe Mavrier

Titre courant

Traitement de la fibrose hépatique

Mots-clés

Fibrose hépatique, myofibroblaste, prolifération, fibrogenèse, fibrolyse, collagène, TGF β 1, métalloprotéase, antifibrosant

Résumé

La fibrose hépatique est définie par l'accumulation excessive dans le foie de composants matriciels synthétisés par des cellules de phénotype myofibroblastique. La fibrose est un processus dynamique, conséquence non seulement d'une synthèse excessive de ces composants (fibrogenèse), mais aussi d'une diminution de leur dégradation (fibrolyse) par les métalloprotéases de la matrice extracellulaire. Fibrogenèse et fibrolyse sont sous le contrôle de diverses cytokines, parmi lesquelles le *transforming growth factor- β 1* (TGF- β 1) joue un rôle prépondérant. Au cours des dernières années, d'importants progrès dans la compréhension des mécanismes du développement de la fibrose ont été réalisés. Ces progrès permettent maintenant de définir des stratégies thérapeutiques précises et spécifiques : 1) inhiber la prolifération des cellules myofibroblastiques ou leur synthèse de protéines matricielles, ou les deux ; 2) stimuler l'expression ou l'activité des métalloprotéases matricielles, ou les deux ; 3) inhiber directement les cytokines profibrogéniques majeures, comme le TGF- β 1 ; 4) induire l'apoptose des cellules profibrogéniques. Idéalement, les futurs médicaments antifibrosants devraient être ciblés vers le foie, plus précisément vers les cellules myofibroblastiques, pour en limiter les effets secondaires. Une stratégie innovante tirant profit de l'existence de récepteurs de surface spécifiques de ces cellules est en cours d'évaluation. De plus, pour une application à l'être humain, le médicament idéal devrait avoir la propriété de pouvoir entraîner la régression d'une fibrose constituée. Des molécules en nombre croissant et agissant à des niveaux différents de la cascade fibrogénique sont actuellement testées pour leurs effets antifibrosants chez l'animal. Ces recherches font entrevoir l'espoir de pouvoir disposer, dans

un futur que l'on espère proche, d'un traitement de la fibrose hépatique efficace et bien toléré chez l'humain.

I) Introduction

La fibrose hépatique se définit par l'accumulation excessive de composants matriciels dans le foie (Gressner, 1991 ; Friedman, 1993, voir le chapitre par Tuchweber et coll.). En plus de l'augmentation quantitative du collagène et des autres protéines matricielles, elle se caractérise par des changements qualitatifs concernant la nature des composants matriciels déposés et leur distribution dans le foie. Il est maintenant admis que la fibrose hépatique est la résultante d'une balance entre une production excessive de composants matriciels par des cellules de phénotype myofibroblastique (fibrogenèse) et une diminution de leur dégradation (fibrolyse).

La fibrose hépatique complique toutes les maladies chroniques du foie, qu'elles soient dues à un alcoolisme chronique, à une infection virale B ou C, ou qu'elles soient d'origine auto-immune, biliaire, parasitaire ou médicamenteuse. Le traitement idéal de la fibrose hépatique est le traitement de sa cause. Toutefois, dans beaucoup de cas, soit parce qu'il n'y a pas de traitement de la maladie causale disponible, soit parce que le traitement est inopérant, la maladie progresse vers la cirrhose et ses complications : insuffisance hépatocellulaire, hypertension portale et carcinome hépatocellulaire. Inhiber directement les mécanismes responsables du développement de la fibrose hépatique se révèle donc une approche thérapeutique des maladies chroniques du foie très importante.

II) Les traitements actuels

Plusieurs médicaments tels que les glucocorticoïdes, la colchicine ou la D-pénicillamine ont été testés dans les maladies chroniques du foie. Bien que ces médicaments aient des propriétés antifibrosantes dans des modèles expérimentaux (Rojkind et Kershenobich, 1975 ; Sterling et autres, 1983 ; Weiner et autres, 1987), il est maintenant admis que, chez l'humain, l'effet des glucocorticoïdes et de la D-pénicillamine sur la progression de la fibrose hépatique est réduit (Czaja et autres, 1980 ; Epstein et autres, 1981 ; Matloff et autres, 1982 ; Taal et autres, 1983 ; Davis et autres, 1984 ; Bodenheimer et autres, 1985 ; Dickson et autres, 1985 ; Neuberger et autres, 1985). De plus, ces deux médicaments exposent à de nombreux effets secondaires qui ne permettent pas de les utiliser à long terme comme traitement général de la fibrose hépatique. Quant à la

colchicine, des effets bénéfiques sur la survie et les lésions histologiques avaient été observés dans une étude contrôlée effectuée chez des patients ayant des cirrhoses de cause variée (Kershenovich et autres, 1988). Ces résultats n'ont toutefois pas été confirmés dans plusieurs études effectuées chez des patients ayant une cirrhose biliaire primitive (Kaplan et autres, 1986 ; Warnes et autres, 1987 ; Bodenheimer et autres, 1988) ou une hépatopathie alcoolique (Trinchet et autres, 1989).

III) Les perspectives thérapeutiques

A) Rappel physiopathologique

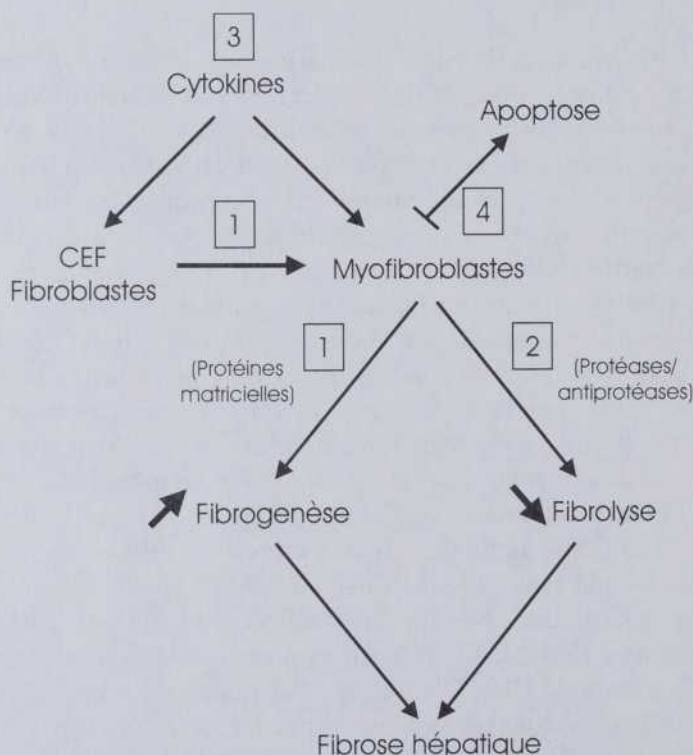
Au cours des dernières années, d'importants progrès ont été réalisés dans la compréhension des mécanismes responsables du développement de la fibrose hépatique. Ces mécanismes devraient constituer une base rationnelle pour le développement de médicaments antifibrosants efficaces et spécifiques.

Schématiquement, la fibrose hépatique est définie par l'accumulation anormale de composants de la matrice extracellulaire synthétisés et sécrétés par des cellules myofibroblastiques dont il existe plusieurs types (cellules étoilées du foie et fibroblastes portaux, voir le chapitre par Tuchweber et coll.). Les changements phénotypiques de ces cellules, leurs capacités prolifératives et de synthèse de composants matriciels sont sous le contrôle de diverses cytokines profibrogéniques produites par des cellules inflammatoires ou les myofibroblastes eux-mêmes (voir les chapitres par Uchio et coll., et Tuchweber et coll.). Il est maintenant admis que la fibrose hépatique est un processus dynamique, largement amplifié par l'inhibition de la fibrolyse physiologique (Gressner, 1991). Le remodelage tissulaire est principalement assuré par les protéases de la famille des *matrix metalloproteinases* (MMP) (Woessner, 1991 ; Werb et Chin, 1998 ; Nagase et Woessner, 1999). Quatre sous-familles de MMP, chacune ayant une spécificité de substrat, ont été identifiées dans le foie : les collagénases interstitielles (MMP-1 et MMP-13), la stromélysine-1 (MMP-3), les gélatinases (MMP-2 et MMP-9) et des MMP à domaine transmembranaire (MT-MMP) (Milani et autres, 1994 ; Vyas et autres, 1995 ; Iredale et autres, 1995, 1996, 1998 ; Takahara et autres, 1997). L'activité des MMP est étroitement régulée par les *tissus inhibitors of matrix metalloproteinases* (TIMP), dont le chef de file est le TIMP-1 (Nagase et Woessner, 1999). Au cours du développement de la fibrose hépatique, la diminution de la fibrolyse est due à l'inhibition de l'expression des collagénases interstitielles et, surtout, à une synthèse excessive de

TIMP-1 par les myofibroblastes hépatiques (Benyon et autres, 1996 ; Herbst et autres, 1997). Il est maintenant démontré que la fibrose hépatique est un processus potentiellement réversible, notamment lorsque sa cause a disparu (Benyon et Iredale, 2000 ; Hammel et autres, 2001). La réversibilité de la fibrose hépatique est caractérisée par l'apoptose des cellules myofibroblastiques, la réexpression intrahépatique de la collagénase interstitielle et la diminution de synthèse de TIMP-1 (Iredale et autres, 1998 ; Watanabe et autres, 2000).

Sur la base de ces données physiopathologiques, différentes stratégies de traitement peuvent être proposées (figure 1) : 1) inhiber la transformation des cellules étoilées du foie, la prolifération des cellules myofibroblastiques ou leur synthèse de composants matriciels ; 2) stimuler la dégradation de la matrice ; 3) inhiber les cytokines ; 4) induire l'apoptose des cellules myofibroblastiques.

Figure 1



Stratégies thérapeutiques. 1) Inhiber l'activation des cellules fibrogéniques (CEF, cellules étoilées du foie), leur prolifération ou leur synthèse de composants matriciels; 2) stimuler la dégradation de la matrice; 3) inhiber les cytokines; 4) induire l'apoptose des cellules myofibroblastiques.

dégradation de la matrice extracellulaire en agissant sur la balance protéase/antiprotéase (Iimuro, 2003) ; 3) inhiber directement les cytokines régulatrices ; 4) induire l'apoptose des cellules myofibroblastiques (Wright, 2001). Idéalement, les futurs médicaments devraient être ciblés vers le foie, notamment vers les cellules fibrogéniques, et ce, d'une part, pour limiter leurs effets secondaires systémiques et, d'autre part, pour délivrer dans le foie de fortes concentrations du médicament. Pour cela, deux solutions avaient été proposées : 1) encapsuler les médicaments dans des particules, liposomes ou fantômes d'hématies, sélectivement captées par les macrophages hépatiques (Gressner, 1991) ; 2) concevoir des médicaments sous forme de pro-médicaments, inactifs par eux-mêmes et sélectivement activés dans le foie (Bickel et autres, 1991). Une approche différente, très séduisante, a été récemment proposée par Beljaars et autres (2000, 2003) : cibler les médicaments vers les cellules fibrogéniques à l'aide de transporteurs recouverts de peptides cycliques reconnus par des récepteurs fortement exprimés dans ces cellules, comme le récepteur du collagène VI ou celui du *platelet-derived growth factor* (PDGF). Pour une application large à l'humain, le médicament antifibrosant idéal devrait aussi démontrer sa capacité à faire régresser une fibrose constituée.

B) Les molécules antifibrosantes

La listes des molécules capables d'inhiber le développement de la fibrose n'a cessé de s'allonger au cours des dernières années (tableau 1). Il faut toutefois souligner que, pour beaucoup de ces molécules, l'efficacité n'est démontrée que chez l'animal, le plus souvent à titre préventif, et que leur toxicité à long terme chez l'humain n'est pas connue. Pour cette raison, nous n'aborderons dans ce chapitre que l'étude de molécules potentiellement utilisables ou déjà utilisées chez l'humain et de molécules modèles.

Les interférons. L'interféron- α et l'interféron- γ sont bien connus pour leurs propriétés antivirales et immunomodulatrices. Ces deux molécules inhibent aussi *in vitro* la prolifération des cellules mésenchymateuses (notamment celle des cellules fibrogéniques hépatiques) et leur synthèse de collagène (Baron et autres, 1991 ; Rockey et autres, 1992 ; Mallat et autres, 1995). En accord avec ces données *in vitro*, l'interféron- γ ralentit le développement de la fibrose dans divers modèles de fibrose, hépatique ou non (Giri et autres, 1986 ; Czaja et autres, 1989 ; Baroni et autres, 1996), et, chez l'humain, dans la sclérodémie, la maladie de Dupuytren ou les cicatrices hypertrophiques (Kahan et autres,

Interféron- α et interféron- γ	Pentoxifylline
Vitamine E	Halofuginone (Pines et autres, 1997)
Phosphatidylcholine	Sho-saiko-to (Shimizu et autres, 1999)
Inhibiteurs de la prolyl hydroxylase	Fumagilline (Wang et autres, 2000)
Inhibiteurs de la lysyl oxydase	Tetrandrine (Park et autres, 2000)
Interleukine-10	Rapamycine
Antagonistes des récepteurs $\alpha 1$ noradrénergiques	Thiazolidinediones
Inhibiteurs du système rénine-angiotensine	Anti-TGF- $\beta 1$
Facteur de croissance hépatocytaire (HGF)	

1989 ; Granstein et autres, 1990 ; Pittet et autres, 1994). Quant à l'interféron- α , les résultats des études effectuées chez les patients traités pour une hépatite chronique virale C montrent que le traitement pourrait aussi avoir une action antifibrosante directe, indépendante de ses propriétés antivirales (Manabe et autres, 1993 ; Sobesky et autres, 1999). Ces résultats méritent toutefois d'être confirmés.

La vitamine E (alpha-tocophérol). Le stress oxydatif et la peroxydation lipidique secondaires aux lésions hépatocytaires stimulent la fibrogenèse hépatique (Bédossa et autres, 1994 ; Houglum et autres, 1997a). Du fait de ses propriétés antioxydantes, la vitamine E a été testée expérimentalement chez l'animal pour ses propriétés antifibrosantes. Dans deux modèles animaux, après injection de tétrachlorure de carbone (CCl_4) ou de fer, la vitamine E inhibe le développement de la fibrose hépatique, l'expression des ARN messagers des procollagènes et la prolifération des cellules fibrogéniques (Parola et autres, 1992 ; Pietrangelo et autres, 1995 ; Halim et autres, 1997). L'effet antifibrosant de la vitamine E s'explique en partie par l'inhibition de la transformation myofibroblastique des cellules étoilées du foie (Lee et autres, 1995). Chez l'humain, une étude pilote récente, effectuée chez six patients atteints d'hépatite chronique virale C, montre qu'un traitement de huit semaines par la vitamine E réduit la synthèse hépatique de collagène de type I (Houglum et autres, 1997b). Bien entendu, ces résultats devront être confirmés par des études

contrôlées incluant de nombreux patients suivis sur une période prolongée, avant que la vitamine E ne soit utilisée comme traitement de la fibrose chez l'humain.

La phosphatidylcholine (lécithine polyinsaturée). La phosphatidylcholine est un phospholipide membranaire. *In vitro*, les cellules étoilées du foie incubées en présence de la molécule libèrent une activité collagénase interstitielle (Li et autres, 1992). En accord avec ces données, l'administration de phosphatidylcholine à des babouins soumis à un régime enrichi en alcool prévient de manière spectaculaire le développement d'une fibrose hépatique extensive, alors qu'elle n'empêche pas l'apparition de la stéatose (Lieber et autres, 1994). Des résultats similaires ont été observés dans deux modèles de fibrose non alcoolique chez le rat (après injections de CCl_4 ou d'albumine hétérologue) et, plus important, dans le modèle CCl_4 , la phosphatidylcholine accélérerait la régression des lésions lorsque la molécule était administrée après constitution de la fibrose (Ma et autres, 1996). En plus de stimuler la dégradation de la matrice, d'autres mécanismes pourraient expliquer l'effet antifibrosant de la phosphatidylcholine : inhibition de la transformation myofibroblastique des cellules étoilées du foie (Poniachik et autres, 1999), effet antioxydant (Aleynik et autres, 1997), protection des hépatocytes par une action antiapoptotique (Mi et autres, 2000).

Les inhibiteurs de la lysyl oxydase. La lysyl oxydase, enzyme synthétisée par les cellules fibrogéniques, joue un rôle majeur dans la stabilisation de la matrice extracellulaire. Elle catalyse la formation de liaisons croisées covalentes entre les molécules de collagène et, de ce fait, les rend résistantes à la dégradation par les MMP. L'expression de cette enzyme est augmentée dans la fibrose hépatique (Desmoulière et autres, 1997). Les inhibiteurs de la lysyl oxydase pourraient donc faciliter la dégradation de la fibrose. Leur intérêt dans le traitement de la fibrose est en cours d'évaluation (Franklin, 1995).

Les inhibiteurs de la prolyl hydroxylase. La prolyl hydroxylase est une enzyme clé dans la voie de synthèse du collagène, responsable de l'hydroxylation de résidus proline des chaîne alpha (Pihlajaniemi et autres, 1991). Les groupements hydroxyles ainsi formés interagissent entre eux par des liaisons hydrogènes qui stabilisent la triple hélice de la molécule de procollagène. Les molécules non hydroxylées sont instables à température physiologique et rapidement dégradées avant leur sécrétion dans le milieu extracellulaire. Plusieurs inhibiteurs de la prolyl hydroxylase ont été synthétisés. Deux d'entre eux ont été conçus comme

des pro-médicaments inactifs (S 0885 et HOE 077), activés sélectivement dans les hépatocytes (Bickel et autres, 1991). Expérimentalement, les effets bénéfiques du HOE 077 ont été confirmés dans plusieurs modèles de fibrose hépatique (Bickel et autres, 1991 ; Boker et autres, 1991 ; Sakaida et autres, 1996 ; Matsumura et autres, 1997) ; dans l'un de ces modèles (CCl₄), seul le foie était la cible des effets de la molécule (Bickel et autres, 1991). On peut toutefois s'interroger sur le mécanisme réel d'action du HOE 077 et donc sa sélectivité hépatique, car : 1) dans deux des études précédentes, il diminuait l'expression des ARN messagers des procollagènes et le nombre de cellules fibrogéniques (Sakaida et autres, 1996 ; Matsumura et autres, 1997) et 2) un travail récent montre que le HOE 077 inhibe directement la transformation des cellules étoilées du foie en culture (Wang et autres, 1998b).

L'interleukine-10 et la rapamycine. L'interleukine-10 est synthétisée par les lymphocytes T de phénotype Th2, les lymphocytes B, les mastocytes et les cellules étoilées du foie (Wang et autres, 1998a). Elle inhibe la synthèse de cytokines proinflammatoires, comme le *tumor necrosis factor- α* , l'interféron- γ , l'interleukine-1 ou l'interleukine-2, et, de ce fait, possède des fonctions anti-inflammatoires et immunosuppressives. Un petit nombre d'études expérimentales, effectuées notamment chez des souris dont le gène interleukine-10 est invalidé, montre que cette molécule a des effets antifibrosants (Louis et autres, 1998 ; Thompson et autres, 1998), liés, d'une part, à la diminution de synthèse de TGF- β 1 (Louis et autres, 1998) et, d'autre part, à une action directe de l'interleukine-10 sur les cellules étoilées du foie (inhibition de synthèse de collagène de type I et augmentation de synthèse de collagénase interstitielle par ces cellules) (Wang et autres, 1998a). Fait important, des effets antifibrosants notables de l'interleukine-10 ont été récemment rapportés chez l'humain dans une étude de recherche de dose effectuée chez 22 patients atteints d'hépatite C (Nelson et autres, 2000) ; dans cette étude, l'administration d'interleukine-10 pendant 90 jours réduisait l'activité de l'hépatite chez 19 des 22 patients, le score de fibrose chez 14 d'entre eux, alors que la virémie était inchangée et qu'aucun effet secondaire notable n'était observé. Malgré l'enthousiasme que suscite cette étude, ces résultats doivent être interprétés avec prudence, car ils sont en contradiction avec la notion générale que les cytokines Th2 sont profibrogéniques alors que les cytokines Th1 ont des effets inverses (Shi et autres, 1997). De plus, de multiples travaux montrent que l'interleukine-10 peut avoir des effets pro- ou antifibrogéniques selon le contexte cellulaire (Schuppan et Hahn, 2000),

soulignant ainsi la complexité de la réponse à cette interleukine et la nécessité de poursuivre les études précliniques.

La rapamycine (sirolimus) est un antibiotique de la famille des macrolides aux effets immunosuppresseurs et antiprolifératifs marqués (Cardenas et autres, 1995). Ce médicament est actuellement testé dans des études cliniques de phase III dans la prévention ou le traitement du rejet de greffe d'organe. Expérimentalement, dans le modèle de fibrose hépatique induite par l'injection de CCl_4 , la rapamycine inhibe l'apparition des lésions histologiques de fibrose ainsi que le contenu hépatique en collagène et l'expression des ARN messagers du collagène de type I et du TGF- β 1 (Zhu et autres, 1999). *In vitro*, cet immunosuppresseur est antiprolifératif vis-à-vis des cellules étoilées du foie en culture (Zhu et autres, 1999). Il n'est actuellement pas montré que des effets similaires s'observent chez l'humain. Si tel était le cas, la rapamycine pourrait avoir un intérêt majeur chez les malades transplantés du foie pour cirrhose virale C chez lesquels la réinfection quasi constante du foie par le virus est associée à une fibrogenèse accélérée (Prieto et autres, 1999).

Les antagonistes des récepteurs α_1 noradrénergiques et les inhibiteurs du système rénine-angiotensine. Il est admis que le foie reçoit une innervation adrénergique et plusieurs études suggèrent que les catécholamines modulent, dans un sens ou dans l'autre, le développement de la fibrose. Il a récemment été montré que la dénervation adrénergique par la 6-hydroxydopamine inhibe chez le rat le développement de la fibrose après administration de CCl_4 et que cet effet pourrait être principalement lié à la diminution de l'expression du TIMP-1, donc à l'augmentation de la fibrolyse (Dubuisson, 2002). Dans le même travail, des effets similaires étaient observés après administration d'un antagoniste pharmacologique des récepteurs α_1 noradrénergiques, la prazosine, suggérant que cette classe de molécule pourrait avoir un intérêt dans le traitement de la fibrose hépatique, chez l'humain.

Des études de polymorphisme génétiques montrent qu'il existe une relation positive entre le génotype fort producteur d'angiotensinogène et le stade de fibrose chez des patients infectés par le virus de l'hépatite C (Powell, 2000). De plus, l'angiotensine II (ATII) stimule la contraction et la prolifération des cellules étoilées du foie humaines de phénotype myofibroblastique et cet effet est médié par les récepteurs de type 1 de l'ATII (Bataller, 2000). En accord avec ces données, il a été récemment démontré que deux inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, le captopril et le perindopril, inhibaient le développement de la

fibrose hépatique induite chez le rat, respectivement par une ligature de la voie biliaire principale (Jonsson, 2001) et l'administration de sérum de porc (Yoshiji, 2001). Dans ce dernier modèle, il était également montré qu'un antagoniste des récepteurs de type 1 de l'ATII, le candesartan, avait aussi des propriétés antifibrosantes (Yoshiji, 2001). De nombreuses molécules antagonistes des récepteurs α_1 noradrénergiques ou des récepteurs de l'ATII ainsi que de nombreux inhibiteurs de l'enzyme de conversion sont couramment utilisés chez l'humain pour leur action antihypertensive. Les résultats des études testant actuellement ces classes de molécules dans les hépatopathies chroniques devraient permettre de déterminer dans un proche avenir si elles ralentissent le développement de la fibrose hépatique chez l'humain.

Les thiazolidinediones. PPAR- γ (*peroxisome proliferator-activated receptor- γ*) est un facteur transcriptionnel appartenant à la superfamille des récepteurs nucléaires dont l'activité est ligand-dépendante. PPAR- γ est exprimé dans les cellules étoilées du foie quiescentes et le niveau d'expression de ce facteur comme son activité transcriptionnelle diminuent au cours de l'activation de ces cellules en culture (Galli, 2000). Toutefois, même si le niveau d'expression de PPAR- γ dans les cellules de phénotype myofibroblastique est faible, l'activation du récepteur par ses ligands spécifiques diminue la prolifération cellulaire induite par le PDGF et inhibe l'expression de l'actine α -musculaire lisse (Galli, 2000). Les thiazolidinediones, médicaments utilisés dans le traitement du diabète, sont des ligands de PPAR- γ . Il a été récemment montré que l'administration orale de deux molécules de cette classe de médicaments, la pioglitazone et la rosiglitazone, inhibait le développement de la fibrose hépatique dans trois modèles expérimentaux, après administration de CCl_4 ou de diméthylnitrosamine et ligature de la voie biliaire principale (Galli, 2002). Si de tels effets antifibrosants se confirment chez l'humain, ces médicaments pourraient avoir un intérêt tout particulier dans le traitement des stéato-hépatites non alcooliques, car la pioglitazone, en plus d'effets antifibrosants directs, pourrait aussi réduire le syndrome d'insulinorésistance (Promrat, 2004).

Le facteur de croissance hépatocytaire (*hepatocyte growth factor*, HGF). L'HGF est surtout connu pour ses effets mitogéniques à l'égard des hépatocytes et son rôle dans la régénération hépatique. L'administration intraveineuse d'HGF est également antifibrogénique dans plusieurs modèles expérimentaux de fibrose hépatique (Matsuda et autres, 1997 ; Sato et autres, 2000). Ces résultats ont été confirmés dans un travail récent montrant que la transfection du gène du HGF dans le

muscle strié squelettique de rats préalablement intoxiqués par la diméthylnitrosamine améliorait les lésions de fibrose et la survie des animaux (Ueki et autres, 1999). Aucun effet secondaire extrahépatique n'était noté chez ces animaux. Les effets antifibrogéniques du HGF pourraient s'expliquer par une diminution de l'expression intrahépatique du TGF- β 1 (Ueki et autres, 1999) ou l'augmentation de synthèse de MMP-1 par les cellules étoilées du foie (Ozaki et autres, 1999).

Inactivation du TGF- β 1. Il est admis que le TGF- β 1 est une cytokine profibrogénique majeure. Le TGF- β 1 stimule la transformation myofibroblastique des cellules étoilées du foie et surtout la synthèse des protéines matricielles par ces cellules (Gressner, 1991). Il est aussi mitogénique vis-à-vis des cellules myofibroblastiques humaines (Win et autres, 1993) et inhibe la fibrolyse physiologique (Gressner, 1991). Ses effets sont médiés par l'intermédiaire de deux type de récepteurs de haute affinité, T β RI et T β RII. Après fixation du ligand sur T β RII, les deux types de récepteurs s'oligomérisent entre eux pour former un hétérotétramère qui, après phosphorylation du T β RI par une kinase présente dans le domaine cytoplasmique du T β RII, transmet le signal à la cellule (Luo et Lodish, 1996). La transfection dans les cellules fibrogéniques d'un mutant dominant négatif du T β RII pourrait bloquer la transmission du signal TGF- β 1 et avoir des effets antifibrosants (Yamamoto et autres, 1996). Cette approche séduisante a été récemment validée par Qi et autres (1999) ; chez le rat, l'injection intraportale d'un vecteur adénoviral contenant le T β RII tronqué dans son domaine kinase prévenait le développement de la fibrose hépatique induite par la diméthylnitrosamine (Qi et autres, 1999 ; Nakamura et autres, 2000). Cette étude est le premier exemple d'une stratégie fondée sur l'inactivation sélective d'une cytokine profibrogénique majeure. L'extension de cette stratégie à l'humain n'est toutefois envisageable qu'à la condition qu'un tel récepteur tronqué soit ciblé dans le foie et s'il est montré qu'il peut réverser une fibrose constituée.

IV) Conclusion

Des progrès importants ont été faits dans la compréhension des mécanismes responsables du développement de la fibrose hépatique. La connaissance de ces mécanismes permet maintenant de définir des stratégies antifibrosantes spécifiques et sélectives, comme l'illustre l'exemple des récepteurs tronqués du TGF- β 1. Les futurs médicaments antifibrosants devront bien entendu exercer leurs effets dans le foie, sans interférer avec le renouvellement physiologique de la matrice extracellulaire

des autres tissus. À cet égard, les travaux de Beljaars et autres (2000) ouvrent des perspectives nouvelles en matière de ciblage des médicaments vers les cellules fibrogéniques. Pour une application large à l'humain, les futurs médicaments antifibrosants devront se montrer efficaces lorsque la fibrose est constituée, c'est-à-dire être capables de la faire régresser. Un certain nombre de molécules actuellement à l'étude ont effectivement cette propriété. L'accélération de la recherche dans le domaine de la fibrose hépatique et de son traitement fait donc entrevoir l'espoir de pouvoir disposer dans un futur proche d'un traitement de la fibrose hépatique efficace et bien toléré chez l'humain.

Références bibliographiques

- Aleynik, S.I., M.A. Leo, X. Ma, M.K. Aleyniket C.S. Lieber. « Polyenylphosphatidylcholine prevents carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation while it attenuates liver fibrosis », *J. Hepatol.*, 1997, n° 27, p. 554-561.
- Baron, S., S.K. Tyring, W.R. Fleischmann, D.H. Coppenhaver, D.W. Niesel, G.R. Klimpel, G.J. Stanton et T.K. Hughes. « The interferons. Mechanisms of action and clinical applications », *JAMA*, 1991, n° 266, p. 1375-1383.
- Baroni, G.S., L. D'Ambrosio, P. Curto, A. Casini, R. Mancini, A.M. Jezequel et A. Benedetti. « Interferon gamma decreases hepatic stellate cell activation and extracellular matrix deposition in rat liver fibrosis », *Hepatology*, 1996, n° 23, p. 1189-1199.
- Bataller, R., P. Gines, J.M. Nicolas, M.N. Gorbic, E. Garcia-Ramallo, X. Gasull, J. Bosch, V. Arroyo et J. Rodes. « Angiotensin II induces contraction and proliferation of human hepatic stellate cells », *Gastroenterology*, 2000, n° 118, p. 1149-1156.
- Bédossa, P., K. Houglum, C. Trautwein, A. et M. Chojkier. « Stimulation of collagen alpha 1(I) gene expression is associated with lipid peroxidation in hepatocellular injury : a link to tissue fibrosis? », *Hepatology*, 1994, n° 19, p. 1262-1271.
- Beljaars, L., G. Molema, D. Schuppan, A. Geerts, P.J. De Bleser, B. Weert, D.K. Meijer et K. Poelstra. « Successful targeting to rat hepatic stellate cells using albumin modified with cyclic peptides that recognize the collagen type VI receptor », *J. Biol. Chem.*, 2000, n° 275, p. 12 743-12 751.
- Beljaars, L., B. Weert, A. Geerts, D.K. Meijer et K. Poelstra. « The preferential homing of a platelet derived growth factor receptor-recognizing macromolecule to fibroblast-like cells in fibrotic tissue », *Biochem. Pharmacol.*, 2003, n° 66, p. 1307-1317.
- Benyon, R.C. et J.P. Iredale. « Is liver fibrosis reversible? », *Gut*, 2000, n° 46, p. 443-446.

- Benyon, R.C., J.P. Iredale, S. Goddard, P.J. Winwood et M.J.P. Arthur. « Expression of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2 is increased in fibrotic human liver », *Gastroenterology* 1996, n° 110, p. 821-831.
- Bickel, M., E. Baader, D.G. Brocks, K. Engelbart, V. Gunzler, H.L. Schmidts et G. H. Vogel. « Beneficial effects of inhibitors of prolyl 4-hydroxylase in CCl4-induced fibrosis of the liver in rats », *J. Hepatol.*, 1991, n° 13, suppl. 3, p. S26-33.
- Bodenheimer, H., F. Schaffner et J. Pezzullo. « Evaluation of colchicine therapy in primary biliary cirrhosis », *Gastroenterology*, 1988, n° 95, p. 124-129.
- Bodenheimer, H.C., F. Schaffner, I. Sternlieb, F.M. Klion, S. Vernace et J. Pezzullo. « A prospective clinical trial of D-penicillamine in the treatment of primary biliary cirrhosis », *Hepatology*, 1985, vol. 5, p. 1139-1142.
- Boker, K., G. Schwarting, G. Kaule, V. Gunzler et E. Schmidt. « Fibrosis of the liver in rats induced by bile duct ligation. Effects of inhibition by prolyl 4-hydroxylase », *J. Hepatol.*, 1991, n° 13, suppl. 3, p. S35-40.
- Cardenas, M.E., D. Zhu et J. Heitman. « Molecular mechanisms of immunosuppression by cyclosporine, FK506, and rapamycin », *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 1995, n° 4, p. 472-477.
- Czaja, A.J., H.V. Ammon et W.H. Summerskill. « Clinical features and prognosis of severe chronic active liver disease (CALD) after corticosteroid-induced remission », *Gastroenterology*, 1980, n° 78, p. 518-523.
- Czaja, M.J., F.R. Weiner, S. Takahashi, M.A. Giambone, P.H. van der Meide, H. Schellekens, L. Biempica et M.A. Zern. « Gamma-interferon treatment inhibits collagen deposition in murine schistosomiasis », *Hepatology*, 1989, n° 10, p. 795-800.
- Davis, G.L., A.J. Czaja et J. Ludwig. « Development and prognosis of histologic cirrhosis in corticosteroid-treated hepatitis B surface antigen-negative chronic active hepatitis », *Gastroenterology*, 1984, n° 87, p. 1222-1227.
- Desmoulière, A., I. Darby, A.M. Costa, M.Raccurt, B. Tuchweber, P. Sommer et G. Gabbiani. « Extracellular matrix deposition, lysyl oxidase expression, and myofibroblastic differentiation during the initial stages of cholestatic fibrosis in the rat », *Lab. Invest.*, 1997, n° 76, p. 765-778.
- Dickson, E.R., T.R. Fleming, R.H. Wiesner, W.P. Baldus, C.R. Fleming, J. Ludwig et J.T. McCall. « Trial of penicillamine in advanced primary biliary cirrhosis », *New Engl. J. Med.*, 1985, n° 312, p. 1011-1015.
- Dubuisson, L., A. Desmoulière, B. Decourt, L. Evadé, C. Bedin, L. Boussarie, L. Barrier, M. Vidaud et J. Rosenbaum. « Inhibition of rat liver fibrogenesis through noradrenergic antagonism », *Hepatology*, 2002, n° 35, p. 325-331.
- Epstein, O., S. Jain, R.G. Lee, D.G. Cook, A.M. Boss, P.J. Scheuer et S. Sherlock. « D-penicillamine treatment improves survival in primary biliary cirrhosis », *Lancet*, 1981, n° 1, p. 1275-1277.

- Franklin, T.J. « Current approaches to the therapy of fibrotic diseases », *Biochem. Pharmacol.*, 1995, n° 49, p. 267-273.
- Friedman, S.L. « The cellular basis of hepatic fibrosis. Mechanisms and treatment strategies », *New Engl. J. Med.*, 1993, n° 328, p. 1828-1835.
- Galli, A., D.W. Crabb, E. Ceni, R. Salzano, T., Mello G. Svegliati-Baroni, F. Ridolfi, L. Trozzi, C. Surrenti et A. Casini. « Antidiabetic thiazolidinediones inhibit collagen synthesis and hepatic stellate cell activation *in vivo* and *in vitro* », *Gastroenterology*, 2002, n° 122, p. 1924-1940.
- Giri, S.N., D.M. Hyde et B.J. Marafino. « Ameliorating effect of murine interferon gamma on bleomycin-induced lung collagen fibrosis in mice », *Biochem. Med. Metab. Biol.*, 1986, n° 36, p. 194-197.
- Granstein, R.D., A. Rook, T.J. Flotte, A. Haas, R.L. Gallo, H.S. Jaffe et E.P. Amento. « A controlled trial of intralesional recombinant interferon-gamma in the treatment of keloidal scarring. Clinical and histologic findings », *Arch. Dermatol.*, 1990, n° 126, p. 1295-1302.
- Gressner, A.M. « Liver fibrosis : perspectives in pathobiochemical research and clinical outlook », *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 1991, n° 29, p. 293-311.
- Halim, A.B., O. el-Ahmady, S. Hassab-Allah, F. Abdel-Galil, Y., Hafez et A. Darwish. « Biochemical effect of antioxidants on lipids and liver function in experimentally-induced liver damage », *Ann. Clin. Biochem.*, 1997, n° 34, p. 656-663.
- Hammel, P., A. Couvelard, D. O'Toole, A. Ratouis, A. Sauvanet, J.F. Fléjou, C. Degott, J. Belghiti, P. Bernades, D. Valla, P. Ruzsniwski et P. Levy. « Regression of liver fibrosis after biliary drainage in patients with chronic pancreatitis and stenosis of the common bile duct », *New Engl. J. Med.*, 2001, n° 344, p. 418-423.
- Herbst, H., T. Wege, S. Milani, G. Pellegrini, H.D. Orzechowski, W.O. Bechstein, P. Neuhaus, A.M. Gressner et D. Schuppan. « Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 RNA expression in rat and human liver fibrosis », *Am. J. Pathol.*, 1997, 150, p. 1647-1659.
- Houglum, K., G.A. Ramm, D.H. Crawford, J.L. Witztum, L.W., Powell et M. Chojkier. « Excess iron induces hepatic oxidative stress and transforming growth factor beta1 in genetic hemochromatosis », *Hepatology* 1997a, n° 26, p. 605-610.
- Houglum, K., A. Venkataramani, K. Lyche et M. Chojkier. « A pilot study of the effects of d-alpha-tocopherol on hepatic stellate cell activation in chronic hepatitis C », *Gastroenterology*, 1997b, n° 113, p. 1069-1073.
- Iimuro, Y., T. Nishio, T. Morimoto, T. Nitta, B. Stefanovic, S.K. Choi, D.A. Brenner et Y. Yamaoka. « Delivery of matrix metalloproteinase-1 attenuates established liver fibrosis in the rat », *Gastroenterology*, 2003, n° 124, p. 445-458.

- Iredale, J., R. Benyon, J. Pickering, M. McCullen, M. Northrop, S. Pawley, C. Hovell et M. Arthur. « Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors », *J. Clin. Invest.*, 1998, n° 102, p. 538-549.
- Iredale, J.P., R.C. Benyon, M.J. Arthur, W.F. Ferris, R. Alcolado, P.J. Winwood, N. Clark et G. Murphy. « Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 messenger RNA expression is enhanced relative to interstitial collagenase messenger RNA in experimental liver injury and fibrosis », *Hepatology*, 1996, n° 24, p. 176-184.
- Iredale, J.P., S. Goddard, G. Murphy, R.C. Benyon et M.J. Arthur. « Tissue inhibitor of metalloproteinase-I and interstitial collagenase expression in autoimmune chronic active hepatitis and activated human hepatic lipocytes », *Clin. Sci.*, 1995, n° 89, p. 75-81.
- Jonsson, J.R., A.D. Clouston, Y. Ando, L.I. Kelemen, M.J. Horn, M.D. Adamson, D.M. Purdie et E.E. Powell. « Angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the progression of rat hepatic fibrosis », *Gastroenterology*, 2001, n° 121, p. 148-155.
- Kahan, A., B. Amor, C. J. Menkes et G. Strauch. « Recombinant interferon-gamma in the treatment of systemic sclerosis », *Am. J. Med.*, 1989, n° 87, p. 273-277.
- Kaplan, M.M., D.W., Alling H.J. Zimmerman, H.J. Wolfe, R.A. Sepersky, G.S. Hirsch, G.H. Elta, K.A. Glick et K.A. Eagen. « A prospective trial of colchicine for primary biliary cirrhosis », *New Engl. J. Med.*, 1986, n° 315, p. 1448-1454.
- Kershenovich, D., F. Vargas, G. Garcia-Tsao, R. Perez Tamayo, M. Gent et M. Rojkind. « Colchicine in the treatment of cirrhosis of the liver », *New Engl. J. Med.*, 1988, n° 318, p. 1709-1713.
- Lee, K.S., M. Buck, K. Houghlum et M. Chojkier. « Activation of hepatic stellate cells by TGF alpha and collagen type I is mediated by oxidative stress through c-myb expression », *J. Clin. Invest.*, 1995, n° 96, p. 2461-2468.
- Li, J., C.I. Kim, M.A. Leo, K.M. Mak, M. Rojkind et C.S. Lieber. « Polyunsaturated lecithin prevents acetaldehyde-mediated hepatic collagen accumulation by stimulating collagenase activity in cultured lipocytes », *Hepatology*, 1992, n° 15, p. 373-381.
- Lieber, C.S., S.J. Robins, J. Li, L.M. DeCarli, K.M. Mak, J.M. Fasulo et M.A. Leo. « Phosphatidylcholine protects against fibrosis and cirrhosis in the baboon », *Gastroenterology*, 1994, n° 106, p. 152-159.
- Louis, H., J.L. Van Laethem, W. Wu, E. Quertinmont, C. Degraef, K. Van den Berg, A. Demols, M. Goldman, O. Le Moine, A. Geerts et J. Deviere. « Interleukin-10 controls neutrophilic infiltration, hepatocyte proliferation, and liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in mice », *Hepatology*, 1998, n° 28, p. 1607-1615.

- Luo, K. et H.F. Lodish. « Signaling by chimeric erythropoietin-TGF-beta receptors: homodimerization of the cytoplasmic domain of the type I TGF-beta receptor and heterodimerization with the type II receptor are both required for intracellular signal transduction », *Embo. J.*, 1996, n° 15, p. 4485-4496.
- Ma, X., J. Zhao et C.S. Lieber. « Polyenylphosphatidylcholine attenuates non-alcoholic hepatic fibrosis and accelerates its regression », *J. Hepatol.*, 1996, n° 24, p. 604-613.
- Mallat, A., A.M. Préaux, S. Blazejewski, J. Rosenbaum, D. Dhumeaux et P. Mavrier. « Interferon alfa and gamma inhibit proliferation and collagen synthesis of human Ito cells in culture », *Hepatology*, 1995, n° 21, p. 1003-1010.
- Manabe, N., M. Chevallier, P. Chossegros, X. Causse, S. Guerret, C. Trépo et J.A. Grimaud. « Interferon-alpha 2b therapy reduces liver fibrosis in chronic non-A, non-B hepatitis : a quantitative histological evaluation », *Hepatology*, 1993, n° 18, p. 1344-1349.
- Matloff, D.S., E. Alpert, R.H. Resnick et M.M. Kaplan. « A prospective trial of D-penicillamine in primary biliary cirrhosis », *New Engl. J. Med.*, 1982, n° 306, p. 319-326.
- Matsuda, Y., K. Matsumoto, A. Yamada, T., Ichida H. Asakura, Y. Komoriya, E. Nishiyama et T. Nakamura. « Preventive and therapeutic effects in rats of hepatocyte growth factor infusion on liver fibrosis/cirrhosis », *Hepatology*, 1997, n° 26, p. 81-89.
- Matsumura, Y., I. Sakaida, K. Uchida, T. Kimura, T. Ishihara et K. Okita. « Prolyl 4-hydroxylase inhibitor (HOE 077) inhibits pig serum-induced rat liver fibrosis by preventing stellate cell activation », *J. Hepatol.*, 1997, n° 27, p. 185-192.
- Mi, L.J., K.M. Mak et C.S. Lieber. « Attenuation of alcohol-induced apoptosis of hepatocytes in rat livers by polyenylphosphatidylcholine (PPC) », *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 2000, n° 24, p. 207-212.
- Milani, S., H. Herbst, D. Schuppan, C. Grappone, G. Pellegrini, M. Pinzani, A. Casini, A. Calabro, G. Ciancio, F. Stefanini, A.K. Burroughs et C. Surrenti. « Differential expression of matrix-metalloproteinase-1 and -2 genes in normal and fibrotic human liver », *Am. J. Pathol.*, 1994, n° 144, p. 528-537.
- Nagase, H. et J.F., Woessner Jr. « Matrix metalloproteinases », *J. Biol. Chem.*, 1999, n° 274, p. 21 491-21 494.
- Nakamura, T., R. Sakata, T. Ueno, M. Sata et H. Ueno. « Inhibition of transforming growth factor beta prevents progression of liver fibrosis and enhances hepatocyte regeneration in dimethylnitrosamine-treated rats », *Hepatology*, 2000, n° 32, p. 247-255.
- Nelson, D.R., G.Y. Lauwers, J.Y. Lau et G.L. Davis. « Interleukin 10 treatment reduces fibrosis in patients with chronic hepatitis C : a pilot trial of interferon nonresponders », *Gastroenterology*, 2000, n° 118, p. 655-660.

- Neuberger, J., E. Christensen, B. Portmann, J. Caballeria, J. Rodes, L. Ranek, N. Tygstrup et R. Williams. « Double blind controlled trial of d-penicillamine in patients with primary biliary cirrhosis », *Gut*, 1985, n° 26, p. 114-119.
- Ozaki, I., G. Zhao, T. Mizuta, Y. Ogawa, T. Hara, S. Kajihara et A. Hisatomi. « Induction of collagenase (matrix metalloproteinase-1) by hepatocyte growth factor in human Ito cell LI90 », *Hepatology*, 1999, n° 30, p. 491A.
- Park, P.H., J.X. Nan, E.J. Park, H.C. Kang, J. Y., Kim, G. Ko et D.H. Sohn. « Effect of tetrandrine on experimental hepatic fibrosis induced by bile duct ligation and scission in rats », *Pharmacol. Toxicol.*, 2000, n° 87, p. 261-268.
- Parola, M., G. Leonarduzzi, F. Biasi, E. Albano, M.E. Biocca, G. Poli et M.U. Dianzani. « Vitamin E dietary supplementation protects against carbon tetrachloride-induced chronic liver damage and cirrhosis », *Hepatology*, 1992, n° 16, p. 1014-1021.
- Pietrangelo, A., R. Gualdi, G. Casalgrandi, G. Montosi et E. Ventura. « Molecular and cellular aspects of iron-induced hepatic cirrhosis in rodents », *J. Clin. Invest.*, 1995, n° 95, p. 1824-1831.
- Pihlajaniemi, T., R. Myllyla et K.I. Kivirikko. « Prolyl 4-hydroxylase and its role in collagen synthesis », *J. Hepatol.*, 1991, n° 13, suppl. 3, p. S2-7.
- Pines, M., V. Knopov, O. Genina, I. Lavelin et A. Nagler. « Halofuginone, a specific inhibitor of collagen type I synthesis, prevents dimethylnitrosamine-induced liver cirrhosis », *J. Hepatol.*, 1997, n° 27, p. 391-398.
- Pittet, B., L. Rubbia-Brandt, A. Desmoulière, P. Sappino, P. Roggero, S. Guerret, J.A. Grimaud, R. Lacher, D. Montandon et G. Gabbiani. « Effect of gamma-interferon on the clinical and biologic evolution of hypertrophic scars and Dupuytren's disease : an open pilot study », *Plast. Reconstr. Surg.*, 1994, n° 93, p. 1224-1235.
- Poniachik, J., E. Baraona, J. Zhao et C.S. Lieber. « Dilinoleoylphosphatidylcholine decreases hepatic stellate cell activation », *J. Lab. Clin. Med.*, 1999, n° 133, p. 342-348.
- Prieto, M., M. Berenguer, J.M. Rayon, J. Cordoba, L. Arguello, D. Carrasco, A. Garcia-Herola, V. Olaso, M. De Juan, M. Gobernado, J. Mir et J. Berenguer. « High incidence of allograft cirrhosis in hepatitis C virus genotype 1b infection following transplantation : relationship with rejection episodes », *Hepatology*, 1999, n° 29, p. 250-256.
- Powell, E.E., C.J. Edwards-Smith, J.L. Hay, A.D. Clouston, D.H. Crawford, C. Shorthouse, D.M. Purdie et J.R. Jonsson. « Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C », *Hepatology*, 2000, n° 3, p. 828-833.
- Promrat, K., G. Lutchman, G.I. Uwaifo, R.J. Freedman, A. Soza, T. Heller, E. Doo, M. Ghany, A. Premkumar, Y. Park, T.J. Liang, J.A. Yanovski, D.E.

- Kleiner et J.H. Hoofnagle. « A pilot study of pioglitazone treatment for nonalcoholic steatohepatitis », *Hepatology*, 2004, n° 39, p. 188-196.
- Qi, Z., N. Atsuchi, A. Ooshima, A. Takeshita et H. Ueno. « Blockade of type beta transforming growth factor signaling prevents liver fibrosis and dysfunction in the rat », *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, n° 96, p. 2345-2349.
- Rockey, D.C., J.J. Maher, W.R. Jarnagin, G. Gabbiani et S.L. Friedman. « Inhibition of rat hepatic lipocyte activation in culture by interferon-gamma », *Hepatology*, 1992, n° 16, p. 776-784.
- Rojkind, M. et D. Kershenobich. « Effect of colchicine on collagen, albumin and transferrin synthesis by cirrhotic rat liver slices », *Biochim. Biophys. Acta*, 1975, n° 378, p. 415-423.
- Sakaida, I., Y. Matsumura, M. Kubota, K. Kayano, K. Takenaka et K. Okita. « The prolyl 4-hydroxylase inhibitor HOE 077 prevents activation of Ito cells, reducing procollagen gene expression in rat liver fibrosis induced by choline-deficient L-amino acid-defined diet », *Hepatology*, 1996, n° 23, p. 755-763.
- Sato, M., M. Kakubari, M. Kawamura, J. Sugimoto, K. Matsumoto et T. Ishii. « The decrease in total collagen fibers in the liver by hepatocyte growth factor after formation of cirrhosis induced by thioacetamide », *Biochem. Pharmacol.*, 2000, n° 59, p. 681-690.
- Schuppan, D. et E.G. Hahn. « Interleukin 10: the magic bullet for liver fibrosis? », *Gastroenterology*, 2000, n° 119, p. 1412-1414.
- Shi, Z., A.E. Wakilet et D.C. Rockey. « Strain-specific differences in mouse hepatic wound healing are mediated by divergent T helper cytokine responses », *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, n° 94, p. 10 663-10 668.
- Shimizu, I., Y.R. Ma, Y. Mizobuchi, F. Liu, T. Miura, Y. Nakai, M. Yasuda, M. Shiba, T. Horie, S. Amagaya, N. Kawada, H. Hori et S. Ito. « Effects of Sho-saiko-to, a Japanese herbal medicine, on hepatic fibrosis in rats », *Hepatology*, 1999, n° 29, p. 149-160.
- Sobesky, R., P. Mathurin, F. Charlotte, J. Moussalli, M. Olivi, M. Vidaud, V. Raziu, P. Opolon et T. Poynard. « Modeling the impact of interferon alfa treatment on liver fibrosis progression in chronic hepatitis C : a dynamic view. The Multivirc Group », *Gastroenterology*, 1999, n° 116, p. 378-386.
- Sterling, K.M., M.J. Harris, J.J. Mitchell, T.A. DiPetrillo, G.L. Delaney et K.R. Cutroneo. « Dexamethasone decreases the amounts of type I procollagen mRNAs in vivo and in fibroblast cell cultures », *J. Biol. Chem.*, 1983, n° 258, p. 7644-7647.
- Taal, B.G., S.W. Schalm, F.W. Ten Kate, G.P. Van Berge Henegouwen et K.H. Brandt. « Low therapeutic value of D-penicillamine in a short-term prospective trial in primary biliary cirrhosis », *Liver*, 1983, n° 3, p. 345-352.
- Takahara, T., K. Furui, Y. Yata, B. Jin, L.P. Zhang, S. Nambu, H. Sato, M. Seiki et A. Watanabe. « Dual expression of matrix metalloproteinase-2 and

- membrane-type 1-matrix metalloproteinase in fibrotic human livers », *Hepatology*, 1997, n° 26, p. 1521-1529.
- Thompson, K., J. Maltby, J. Fallowfield, M. McAulay, H. Millward-Sadler et N. Sheron. « Interleukin-10 expression and function in experimental murine liver inflammation and fibrosis », *Hepatology*, 1998, n° 28, p. 1597-1606.
- Trinchet, J.C., M. Beaugrand, P. Callard, D.J. Hartmann, C. Gotheil, B.V. Nusgens, C.M. Lapiere et J.P. Ferrier. « Treatment of alcoholic hepatitis with colchicine. Results of a randomized double blind trial », *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 1989, n° 13, p. 551-555.
- Ueki, T., Y. Kaneda, H. Tsutsui, K. Nakanishi, Y. Sawa, R. Morishita, K. Matsumoto, T. Nakamura, H. Takahashi, E. Okamoto et J. Fujimoto. « Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats », *Nat. Med.*, 1999, n° 5, p. 226-230.
- Vyas, S.K., H. Leyland, J. Gentry et M.J. Arthur. « Rat hepatic lipocytes synthesize and secrete transin (stromelysin) in early primary culture », *Gastroenterology*, 1995, n° 109, p. 889-898.
- Wang, S.C., M. Ohata, L. Schrum, R.A. Rippe et H. Tsukamoto. « Expression of interleukin-10 by in vitro and in vivo activated hepatic stellate cells », *J. Biol. Chem.*, 1998a, n° 273, p. 302-308.
- Wang, Y.J., S.S. Wang, M. Bickel, V. Guenzler, M. Gerl et D.M. Bissell. « Two novel antifibrotics, HOE 077 and Safironil, modulate stellate cell activation in rat liver injury: differential effects in males and females », *Am. J. Pathol.*, 1998b, n° 152, p. 279-287.
- Wang, Y.Q., K. Ikeda, T. Ikebe, K. Hirakawa, M. Sowa, K. Nakatani, N. Kawada et K. Kaneda. « Inhibition of hepatic stellate cell proliferation and activation by the semisynthetic analogue of fumagillin TNP-470 in rats », *Hepatology*, 2000, n° 32, p. 980-989.
- Warnes, T.W., A. Smith, F.I. Lee, N.Y. Haboubi, P.J. Johnson et L. A. Hunt. « Controlled trial of colchicine in primary biliary cirrhosis. Trial design and preliminary report », *J. Hepatol.*, 1987, n° 5, p. 1-7.
- Watanabe, T., M. Niioka, S. Hozawa, K. Kameyama, T. Hayashi, M. Arai, A. Ishikawa, K. Maruyama et I. Okazaki. « Gene expression of interstitial collagenase in both progressive and recovery phase of rat liver fibrosis induced by carbon tetrachloride », *J. Hepatol.*, 2000, n° 33, p. 224-235.
- Weiner, F.R., M.J. Czaja, M.A. Giambrone, S. Takahashi, L. Biempica et M.A. Zern. « Transcriptional and posttranscriptional effects of dexamethasone on albumin and procollagen messenger RNAs in murine schistosomiasis », *Biochemistry*, 1987, n° 26, p. 1557-1562.
- Werb, Z. et J.R. Chin. « Extracellular matrix remodeling during morphogenesis », *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1998, n° 857, p. 110-118.

- Win, K.M., F. Charlotte, A. Mallat, D. Cherqui, N. Martin, P. Mavier, A.-M. Préaux, D. Dhumeaux et J. Rosenbaum. « Mitogenic effect of transforming growth factor- β 1 on human Ito cells in culture: evidence for mediation by endogenous platelet-derived growth factor », *Hepatology*, 1993, n° 18, p. 137-145.
- Woessner, J.F. « Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling », *FASEB J.*, 1991, n° 5, p. 2145-2154.
- Wright, M.C., R. Issa, D.E. Smart, N. Trim, G.I. Murray, J.N. Primrose, M.J. Arthur, J.P. Iredale et D.A. Mann. « Gliotoxin stimulates the apoptosis of human and rat hepatic stellate cells and enhances the resolution of liver fibrosis in rats », *Gastroenterology*, 2001, n° 121, p. 685-698.
- Yamamoto, H., H. Ueno, A. Ooshima et A. Takeshita. « Adenovirus-mediated transfer of a truncated transforming growth factor-beta (TGF-beta) type II receptor completely and specifically abolishes diverse signaling by TGF-beta in vascular wall cells in primary culture », *J. Biol. Chem.*, 1996, n° 271, p. 16253-16259.
- Yoshiji, H., S. Kuriyama, J. Yoshii, Y. Ikenaka, R. Noguchi, T. Nakatani, H. Tsujinoue et H. Fukui. « Angiotensin-II type 1 receptor interaction is a major regulator for liver fibrosis development in rats », *Hepatology*, 2001, n° 34, p. 745-750.
- Zhu, J., J. Wu, E. Frizell, S.L. Liu, R. Bashey, R. Rubin, P. Norton et M.A. Zern. « Rapamycin inhibits hepatic stellate cell proliferation in vitro and limits fibrogenesis in an in vivo model of liver fibrosis », *Gastroenterology*, 1999, n° 117, p. 1198-1204.

CONCLUSION GÉNÉRALE

*Alexis Desmoulière
et Beatriz Tuchweber*

Dans le foie, différents facteurs – viraux, immunologiques, médicamenteux, notamment – peuvent provoquer un dommage du tissu hépatique. Après la lésion, différentes étapes se succèdent, conduisant à la réparation tissulaire. Après une phase d'inflammation, un tissu de granulation se développe, puis, lorsque la lésion est réparée, disparaît par apoptose des cellules qui le composent et remodelage de la matrice extracellulaire. Au cours d'une lésion chronique, lorsque le tissu de granulation continue à se développer, on observe l'apparition d'une cicatrisation excessive qui se traduit au niveau des organes par le développement d'une fibrose. Cette fibrose est provoquée par une accumulation excessive de matrice extracellulaire que les protéases ne peuvent parvenir à résorber.

Les très nombreux travaux sur les facteurs de croissance et les cytokines qui sont fortement impliqués dans la fibrogenèse, laissent entrevoir, en tentant d'inhiber leur action, la mise en place de thérapeutiques efficaces pour stopper l'activation des cellules déposant la matrice extracellulaire, et donc pour traiter ou ralentir le processus fibrosant. Cependant, en absence d'une analyse globale des différents mécanismes en cause dans la réparation tissulaire, le développement de thérapeutiques dérivant de ces recherches se révèle, pour l'instant, globalement décevant. En effet, de très nombreuses données doivent encore être analysées, et il faut tenir compte aussi de la matrice extracellulaire, des protéases et de leurs inhibiteurs, de l'environnement mécanique. Il faut s'efforcer de comprendre les mécanismes qui se développent très précocement après la lésion afin de définir des cibles spécifiques sur lesquelles agir rapidement.

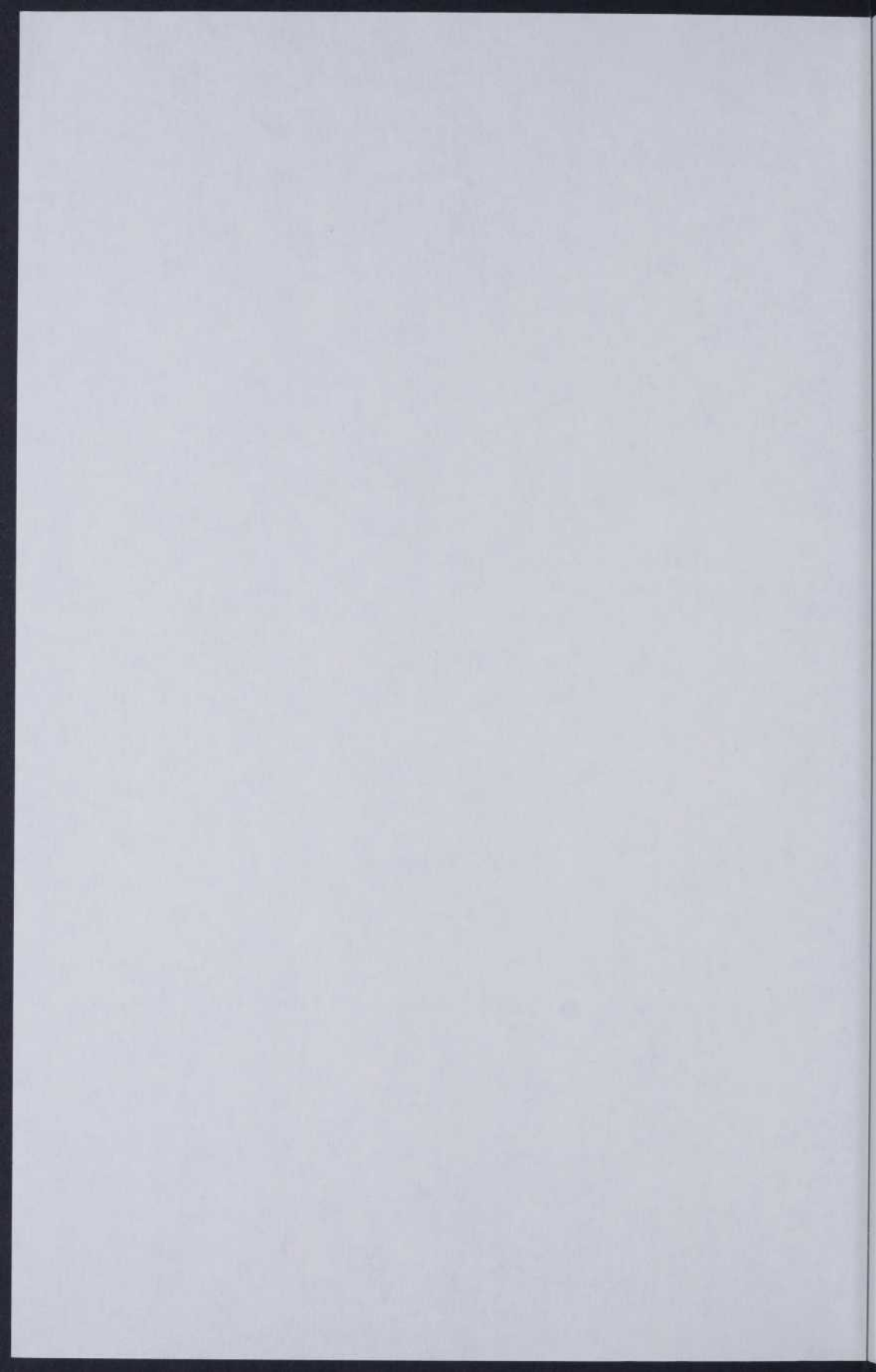
De nombreux chercheurs ont récemment tenté de découvrir les bases moléculaires permettant d'expliquer la fibrogenèse ; cet aspect ne concerne pas particulièrement le présent ouvrage. Cependant, brièvement, nous souhaitons souligner que les bases moléculaires de l'activation (transformation myofibroblastique, modification de l'expression des gènes) des cellules étoilées du foie et de leurs interactions avec d'autres types cellulaires et avec la matrice extracellulaire, ont été très étudiées.

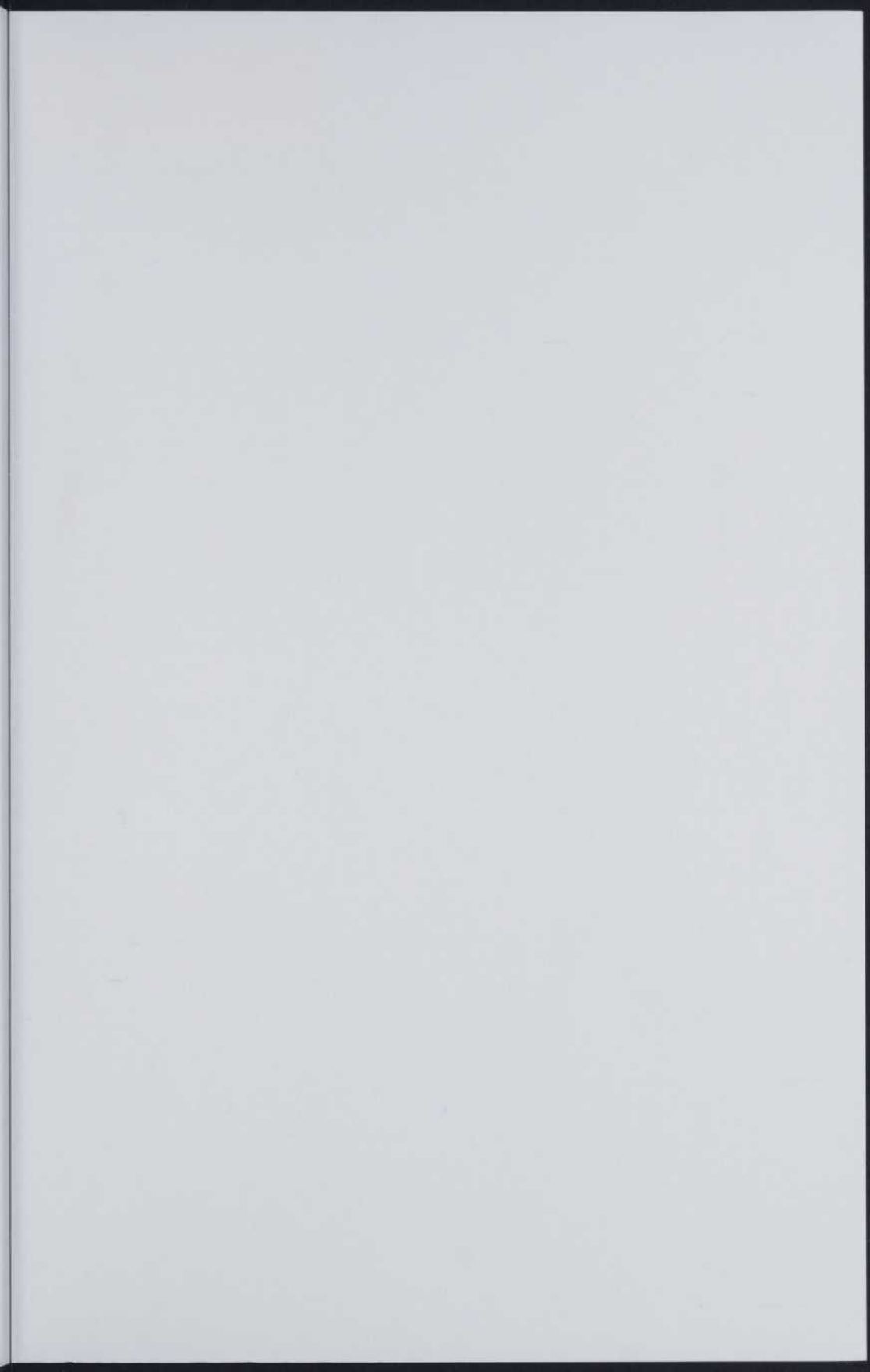
De nombreux chercheurs ont examiné *in vitro* le rôle des cytokines et des facteurs de croissance ainsi que les signaux intracellulaires qu'ils déclenchent. Un aspect prometteur a concerné la découverte des voies de transduction du signal induit par le *transforming growth factor- β* et les possibilités d'inactiver certaines de ces voies par des agents chimiques. Pour certains de ces facteurs, des études réalisées chez l'animal avec différents modèles expérimentaux ont été très bien corrélées avec les observations tirées de l'étude des processus pathologiques décrits chez l'humain.

Il apparaît que l'activation initiale des cellules étoilées du foie et des autres cellules fibrogéniques de cet organe (notamment, les fibroblastes portaux) peut être induite par des stimuli produits par la lésion hépatique et impliquant les cellules voisines, hépatocytes, cellules épithéliales biliaires, cellules de Kupffer, leucocytes circulants, plaquettes et cellules endothéliales sinusoïdales. Le stress oxydant, par exemple, représente une situation complexe mettant en jeu différentes populations cellulaires qui produisent alors de nombreux médiateurs pouvant interagir entre eux. De plus, des études indiquent que l'activation des cellules fibrogéniques peut être manipulée en contrôlant l'expression de certains facteurs de transcription. Ainsi, la différenciation et la prolifération des myofibroblastes peuvent être modifiées de cette manière. Enfin, les aspects concernant les interactions entre cellules étoilées du foie et matrice extracellulaire, et le rôle de ces interactions dans les processus apoptotiques, représentent un domaine très étudié qui peut conduire au développement de stratégies nouvelles pour stimuler le remodelage et la résolution des lésions fibreuses.

Dans le présent ouvrage, des données récentes à la fois fondamentales et cliniques démontrent les avancées spectaculaires des dernières années permettant de mieux comprendre les mécanismes impliqués. De nouvelles thérapeutiques peuvent être envisagées maintenant qui pourront ralentir ou inhiber la fibrogenèse dans des maladies telles que les hépatites, au cours desquelles il est bien connu qu'une fibrose se développe. Actuellement, il n'existe pas de thérapies spécifiques pour inhiber la fibrogenèse, mais la connaissance des cellules impliquées dans la fibrogenèse et des mécanismes conduisant à leur activation offre des cibles potentielles spécifiques au sujet desquelles des thérapies originales sont en développement.









Association francophone
pour le savoir

Acfas

BNQ



000 533 841

Dans de nombreuses maladies chroniques du foie comme les hépatites virales (particulièrement B et C) ou la maladie alcoolique du foie, la fibrose hépatique est la principale complication. Son stade évolutif ultime est la cirrhose qui est une maladie grave (morbidité et mortalité importantes). La prévention de la progression de la fibrose vers la cirrhose est donc un objectif majeur. De plus, dans 80% des cas, les carcinomes hépatocellulaires se développent sur un foie cirrhotique. Le traitement des maladies causales peut freiner le développement de la fibrose hépatique, mais il n'existe pas aujourd'hui de traitement spécifique capable d'interférer avec le processus de fibrogenèse.

Dans cet ouvrage, des données récentes à la fois fondamentales et cliniques ont été analysées. Elles démontrent les avancées spectaculaires qui ont été réalisées ces dernières années, permettant ainsi de mieux comprendre les mécanismes impliqués. Grâce notamment à l'apport de la biologie moléculaire, de nouvelles thérapeutiques, mieux ciblées, sont en développement. Elles pourront ralentir ou inhiber la fibrogenèse. En limitant le développement des fibroses et des cirrhoses, il est probable que l'on puisse dans un avenir relativement proche limiter la survenue des carcinomes hépatocellulaires.

Ont collaboré à cet ouvrage :

Fernando Alvarez, Moïse Bendayan, Edgard Delvin, Alexis Desmoulière, Thierry Lamireau, Émile Levy, Dionne Lorena, Philippe Mavier, Ernest Seidman, Beatriz Tuchweber, Kozue Uchio et Monika Zoltowska.



9 782892 451276