

# LES MÉDIATEURS BIOCHIMIQUES DE L'INFLAMMATION



Y. HENROTIN (1), G. DEBY-DUPONT (2), J.-Y. REGINSTER (3)

**RÉSUMÉ :** La réaction inflammatoire est une réponse complexe de l'organisme à une agression. Elle est caractérisée par une succession d'événements permettant l'acheminement des leucocytes jusqu'au foyer inflammatoire. Il s'agit de l'adhésion, de la diapédèse, de la migration, de l'activation des leucocytes et du remodelage tissulaire. Ces étapes clés de la réaction inflammatoire sont contrôlées par de nombreux médiateurs humoraux et cellulaires parmi lesquels on compte des cytokines, des prostanoïdes, des leucotriènes, des formes activées de l'oxygène et de l'azote, des neuropeptides, des fractions du complément, des facteurs de la coagulation ou encore des métalloprotéases. La connaissance du mode de production et d'action de ces médiateurs biochimiques permet d'entrevoir de nouvelles perspectives thérapeutiques. Ce texte est consacré au rôle de ces médiateurs dans le développement du foyer inflammatoire.

## INTRODUCTION

La réaction inflammatoire est actuellement considérée comme une réaction de défense non spécifique de l'organisme à une agression bactérienne ou virale, un traumatisme, une brûlure, une irradiation ou une réaction immunitaire. Les signes cliniques cardinaux de l'inflammation sont la tuméfaction, l'hyperhémie, l'hyperthermie et la douleur. Ces réactions locales peuvent être associées à des réponses systémiques (par ex. la production de protéines de la phase aiguë) induites par des facteurs humoraux. Ces réponses sont initiées et contrôlées par une multitude de médiateurs biochimiques. Dans ce texte, nous mettrons l'accent sur le rôle de ces médiateurs dans le développement du foyer inflammatoire, en évitant d'aborder les composantes systémiques de la réaction inflammatoire. La formation du foyer inflammatoire implique une succession d'événements dont (fig. 1) :

- 1) une vasodilatation, permettant l'afflux massif de sang vers le foyer inflammatoire;
- 2) l'adhésion des leucocytes à l'endothélium vasculaire;
- 3) une augmentation de la perméabilité des capillaires, permettant aux macromolécules de s'extravaser;

(1) Chargé de Cours adjoint, Université de Liège, Unité d'Exploration du Métabolisme de l'Os et du Cartilage, Service de Médecine Physique (Pr. J.-M. Crielaard), Institut de Pathologie, Centre hospitalier universitaire de Liège.

(2) Chargée de Recherche, Centre de Recherche et de Développement de l'Oxygène, Institut de Chimie, Université de Liège.

(3) Chargé de Cours, Santé publique et Epidémiologie, Centre hospitalier universitaire de Liège.

**THE BIOCHEMICAL MEDIATORS OF THE INFLAMMATORY REACTION**  
**SUMMARY :** Inflammatory processes are the physiological response of the organism to different stimuli such as trauma, infections or immunological reactions. The events leading to inflammation are characterized by leukocytes adhesion to the endothelium, diapedesis and migration, cells activation and tissue remodelling. These processes are initiated and regulated by a great variety of inflammatory mediators including cytokines, prostanoïds, leukotrienes, neuropeptides, reactive oxygen and nitrogen species, complement components, coagulation factors and metalloproteases. This paper is devoted to the description of the major local effects of these mediators in the inflammatory reaction.

**KEYWORDS :** Inflammation - Leukocytes - Cytokines - Free radicals - Proteases

- 4) la migration des leucocytes, en particulier les polymorphonucléaires neutrophiles et les monocytes, à travers l'endothélium vasculaire (diapédèse) vers le foyer inflammatoire;
- 5) l'activation des leucocytes.

## L'ADHÉSION, LA DIAPÉDÈSE ET LE CHIMIOTACTISME

La première étape de la réaction inflammatoire est l'adhésion des leucocytes à l'endothélium vasculaire. Elle se déroule essentiellement au niveau des veinules post-capillaires, là où le débit sanguin est le plus faible. Cette étape nécessite l'activation des cellules endothéliales et l'expression à leur surface de molécules d'adhésion (1). Ces molécules servent de récepteurs pour des molécules d'adhésion complémentaires exprimées à la surface des leucocytes circulants (2).

L'adhésion des leucocytes à l'endothélium vasculaire se déroule en plusieurs étapes impliquant chacune des molécules d'adhésion différentes. La première étape est le roulement ou "rolling" des leucocytes sur l'endothélium vasculaire. Cette étape implique les sélectines E (CD62E) et P (CD62P) qui interagissent de façon transitoire avec les ligands PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1), ESL-1 et CD62L (L-sélectine) exprimés à la surface des leucocytes. La seconde étape est l'adhésion ferme des leucocytes à l'endothélium. Elle est réalisée par la liaison entre les molécules d'adhésion, VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) et ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) de l'endothélium vasculaire avec les intégrines VLA-4 et LFA-1 des leucocytes (3). L'adhésion des leucocytes est induite et amplifiée par une série de facteurs produits par

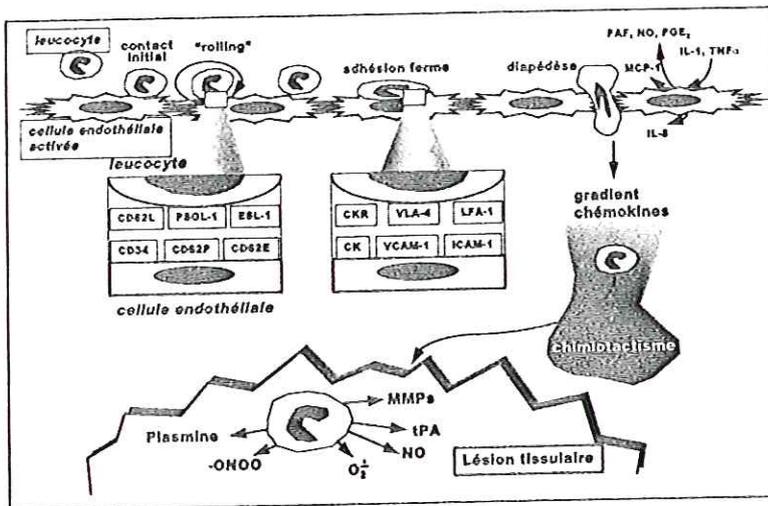


Fig. 1. Migration et activation des leucocytes.  $O_2^-$  = Anion superoxyde, CK = Chemokines, CKR = Chemokine receptors, ESL-1 = E-Selectin ligand-1, CD62E = E-Selectine, ICAM-1 = Intercellular adhesion molecule-1, IL-8 = Interleukine-8, IL-1 = Interleukine-1, LFA-1 = Leukocyte function-associated antigen type 1, CD62L = L-Selectine, MMPs = Métalloprotéases, MCP-1 = Monocyte chemotactic factor-1, NO = Monoxyde d'azote,  $-ONO$  = Peroxynitrite, PGSL-1 = P-Selectin glycoprotein ligand-1, PAF = Platelet activating factor,  $PGE_2$  = Prostaglandin E<sub>2</sub>, tPA = Tissular plasminogen activator,  $TNF\alpha$  = Tumor necrosis factor alpha, VCAM-1 = Vascular cell adhesion molecule-1, VLA-4 = Very late activation antigen-4.

les cellules endothéliales activées. L'IL-1 $\beta$  et le  $TNF\alpha$  sont des cytokines activatrices qui stimulent la production par les cellules endothéliales de platelet activating factor (PAF), de prostaglandin E<sub>2</sub> ( $PGE_2$ ) et de monoxyde d'azote ( $\cdot NO$ ). Ces agents, par leur action vasodilatatrice, contribuent à réduire le débit sanguin, ce qui favorise le roulement des leucocytes sur l'endothélium. L'IL-1 $\beta$  et le  $TNF\alpha$  induisent également l'expression de molécules d'adhésion à la surface des cellules endothéliales et la libération d'agents chimiotactiques (monocyte chemotactic factor-1 (MCP-1), IL-8, etc.) (fig. 1).

Une fois fixés à l'endothélium vasculaire, les leucocytes franchissent la barrière endothéliale au niveau des jonctions intercellulaires (4, 5). Il s'agit de la diapédèse.

Ensuite, les leucocytes poursuivent leur progression jusqu'au foyer inflammatoire, attirés par un gradient de concentration de peptides chimiotactiques formé au sein du tissu enflammé. Une fois parvenues au site de l'inflammation, les cellules phagocytaires sont activées et produisent massivement des FAO (flambée respiratoire), des cytokines pro-inflammatoires, des médiateurs lipidiques (prostaglandines, leucotriènes, PAF) et déversent localement le contenu de leur granules (protéases, hydrolases, etc.) (6). Ces éléments vont contribuer à l'élimination des microorganismes pathogènes mais, peuvent aussi conduire à l'altération du tissu conjonctif.

## LES MÉDIATEURS DE L'INFLAMMATION ET DE LA DÉGRADATION TISSULAIRE

### A. LES CYTOKINES

Le terme cytokine regroupe un ensemble de protéines ou de glycoprotéines de faible poids moléculaire impliquées dans la communication entre les cellules. Elles sont actives dans le

contrôle de la prolifération, de la maturation et de la différenciation des cellules hématopoïétiques, de la régulation des réponses inflammatoires et immunitaires mais également de l'homéostasie de nombreux organes. Elles exercent leur activité régulatrice de façon autocrine, paracrine, juxtacrine (par contact cellulaire) ou endocrine et par l'intermédiaire de récepteurs membranaires. Actuellement, plus de 150 cytokines ont été recensées. Certains auteurs ont tenté de les répertorier selon leur origine cellulaire (par ex : lymphokine ou monokine) ou selon leurs activités biologiques (par ex : chimiokines, cytokines cataboliques ou régulatrices) (7). Afin de faciliter la compréhension du lecteur, nous les classerons selon qu'elles exercent des actions pro-inflammatoires ou anti-inflammatoires. La balance entre les cytokines inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-8,  $TNF-\alpha$ ) et anti-inflammatoires (IL-1ra, IL-10, IL-4, IL-13, TGF $\beta$ ) gère localement l'intensité et la durée de la réaction inflammatoire (7, 8). Dans la polyarthrite rhumatoïde, par exemple, les taux de cytokines pro-inflammatoires sont anormalement élevés suggérant leur implication dans la pathogénie de cette maladie. Parmi les cytokines à activité pro-inflammatoire, l'IL-1 $\beta$  et le  $TNF\alpha$  jouent un rôle primordial dans l'initiation et la chronicité de la réaction inflammatoire. Chez les mammifères, ces cytokines sont synthétisées sous la forme de précurseurs inactifs. La transformation de la pro-IL-1 $\beta$  inactive en IL-1 $\beta$  est réalisée par une protéase membranaire de type cystéine/aspartate dénommée caspase-1 ou IL-1 $\beta$  converting enzyme (ICE) (9). Quant au précurseur du  $TNF\alpha$ , sa libération et son activation nécessitent l'intervention d'une enzyme de la famille des adamalysines appelée  $TNF\alpha$ -converting enzyme (TACE) (10). L'IL-1 $\beta$  et le  $TNF\alpha$  sont des cytokines pro-inflammatoires qui agissent de façon synergique au niveau du foyer inflammatoire (tableau 1).

TABLEAU I. PRINCIPAUX EFFETS SYNERGIQUES DE L'IL-1 $\beta$  ET DU TNF $\alpha$  AU COURS DE LA RÉACTION INFLAMMATOIRE

- Induit l'expression de COX-2 et de iNOS
- Augmente la production de PGE $_2$ , de NO et de PAF
- Stimule l'expression de molécules d'adhésion par les cellules endothéliales
- Augmente la production de cytokines pro-inflammatoires (par ex. IL-6)
- Stimule la libération de chimiokines (par ex. IL-8)
- Stimule la production de métalloprotéases (collagénases, stromélysine, etc)

Elles sont également impliquées dans le remodelage du tissu enflammé en régulant la prolifération et l'activité de synthèse des fibroblastes. Par exemple, dans la polyarthrite rhumatoïde, elles participent à la formation du pannus mais également à la destruction du cartilage et de l'os sous-chondral (11, 12).

L'activité de l'IL-1 $\beta$  et du TNF $\alpha$  est contrôlée par des inhibiteurs naturels. Ceux-ci peuvent être classés en trois catégories selon leur mode d'action :

- les antagonistes du récepteur qui entre en compétition avec la cytokine pour la liaison avec son récepteur. A ce jour, seul un antagoniste du récepteur pour l'IL-1 $\beta$  a été identifié;
- les récepteurs solubles, qui inhibent l'activité de la cytokine par liaison avec celle-ci. Il s'agit des récepteurs tronqués de l'IL-1 (IL-1 RI et RII) et du TNF (TNF R55 et R75);
- les cytokines anti-inflammatoires qui agissent en inhibant la synthèse de l'IL-1 $\beta$ , du TNF $\alpha$ , de l'IFN $\gamma$  et de certaines chimiokines. Il s'agit principalement de l'IL-4, l'IL-10, l'IL-11, l'IL-13 et du TGF- $\beta$ .

Un autre groupe de cytokines pro-inflammatoires est constitué par les chimiokines qui possèdent des propriétés chimioattractantes pour les neutrophiles, les éosinophiles, les basophiles, les mastocytes, les monocytes et les lymphocytes T et B (13). Actuellement, on dénombre une cinquantaine de chimiokines dont l'IL-8 (interleukine-8), les GRO (growth related oncogene), le CTAP-III (Connective tissue activating protein-II), les MCP (monocytes chemotactic peptides), les RANTES (Regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted), les MIP (macrophage inflammatory proteins) et les eotaxines (recrutement des éosinophiles) (14). Elles sont produites par l'ensemble des leucocytes, les plaquettes et la plupart des cellules des tissus conjonctifs (chondrocytes, kératinocytes, cellules musculaires lisses, les cellules endothéliales, etc.) en réponse à des produits bactériens et viraux, à l'IL-1, au TNF $\alpha$ , au C5a et au leucotriène LTB $_4$ . Elles attirent les leucocytes au niveau du foyer inflammatoire, en favorisant leur adhésion à l'endothélium, leur diapédèse et leur chimiotactisme (15). De plus, elles induisent la dégranulation et l'activation de ces cellules, pro-

voquant la libération massive au sein du foyer inflammatoire d'enzymes lysosomiales, d'oxydants et de médiateurs lipidiques (13-15).

B. LES NEUROPEPTIDES

De nombreux neuropeptides sont impliqués dans la régulation de la réaction inflammatoire, de la réponse immunitaire et du métabolisme des tissus conjonctifs (16). La stimulation des fibres afférentes de la nociception A $\delta$  et C, induit la libération des neuropeptides stockés dans l'extrémité axonale de ces fibres. Le principal neuropeptide impliqué dans ce réflexe axonale est la substance P (fig. 2). De nombreuses cellules possèdent des récepteurs membranaires pour cette substance dont les cellules musculaires lisses, les cellules endothéliales, les lymphocytes, les macrophages, les mastocytes ou encore les fibroblastes et les chondrocytes (17, 18). Les principaux effets de la substance P au cours de l'inflammation sont résumés dans le tableau II.

La substance P est également impliquée dans le remodelage des tissus enflammés. Elle stimule l'angiogénèse et la prolifération des kératinocytes, des cellules endothéliales, des cellules musculaires lisses et des fibroblastes (19-21).

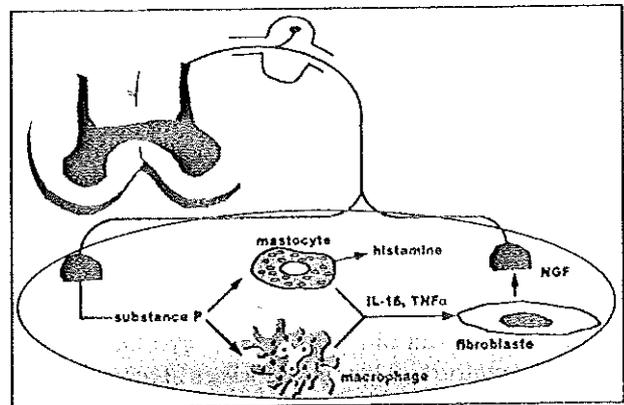


Fig. 2. Substance P et réaction inflammatoire. IL-1 $\beta$  = Interleukine-1 bêta, NGF = Nerve growth factor, TNF $\alpha$  = Tumor necrosis factor alpha. (Modifiée selon référence 22).

TABLEAU II. PRINCIPAUX EFFETS DE LA SUBSTANCE P AU COURS DE LA RÉACTION INFLAMMATOIRE.

- Diminue le tonus vasculaire
- Augmente la perméabilité vasculaire
- Stimule la production de monoxyde d'azote par les cellules endothéliales
- Induit l'expression de sélectine P par les cellules endothéliales
- Stimule le chimiotactisme des neutrophiles
- Stimule la production de prostaglandines par les macrophages
- Stimule la production de FAO par les macrophages
- Induit l'expression d'ICAM-1 par les lymphocytes T
- Stimule la prolifération des lymphocytes T
- Augmente la synthèse d'immunoglobulines par les cellules B
- Induit la dégranulation des mastocytes et la libération d'histamine
- Stimule la synthèse de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ ) par les macrophages et les mastocytes

Dans des modèles animaux d'arthrite, la substance P contribue à la dégradation du cartilage (22). *In vitro*, elle stimule la libération de métalloprotéases et de PGE<sub>2</sub> par les synoviocytes et les chondrocytes (23-25).

L'activité et la libération de la substance P est contrôlée par des peptidases membranaires, des opioïdes endogènes, le "Nerve Growth Factor" (NGF) et les kinines. Les peptidases membranaires présentes à la surface de la plupart des cellules immunocompétentes, des fibroblastes et des cellules musculaires lisses, dégradent la substance P et ainsi neutralisent son activité. Les opioïdes endogènes inhibent la libération de substance P alors qu'à l'inverse, les kinines et le NGF stimulent sa libération (26).

### C. LES MÉDIATEURS LIPIDIQUES

Les prostanoides, les leucotriènes et le PAF résultent de la transformation enzymatique de l'acide arachidonique (AA). L'acide arachidonique est l'un des acides gras qui compose la couche phospholipidique de la plupart des membranes cellulaires. Il est libéré à partir des phospholipides membranaires, principalement par l'action de la phospholipase A<sub>2</sub>. La métabolisation de cet acide gras par la voie des cyclo-oxygénases produit les prostanoides et, par la voie des lipo-oxygénases, les leucotriènes (fig. 3).

#### La voie des cyclo-oxygénases

Les cyclo-oxygénases existent sous deux isoformes, la cyclo-oxygénase 1 et -2 (COX-1 et COX-2). COX-1 est une enzyme constitutive impliquée dans le processus d'agrégation plaquettaire et dans l'homéostasie de nombreux organes dont le tractus gastro-intestinal et le rein. A l'inverse, COX-2 est induite en réponse à de nombreux stimuli comme les cytokines pro-inflammatoires, les endotoxines bactériennes, certaines fractions du complément ou encore dif-

férents agents mitogènes (27-29). Les cyclo-oxygénases assurent la transformation de l'acide arachidonique en endoperoxyde PGG<sub>2</sub> réduit ensuite en PGH<sub>2</sub>. PGH<sub>2</sub> sert alors de substrat à trois types d'enzymes : (1) les isomérases qui catalysent la transformation de la PGH<sub>2</sub> en prostaglandines (PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>), (2) la prostacycline synthase qui produit la prostacycline (PGI<sub>2</sub>); et (3) la thromboxane synthase qui assure la transformation de PGH<sub>2</sub> en thromboxane A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>). Le métabolisme de l'AA est orienté vers l'un ou l'autre de ces composés selon le contenu enzymatique de la cellule concernée.

Les prostanoides exercent leurs activités biologiques par le biais de récepteurs membranaires, qui sont couplés à différents seconds messagers dont l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) ou l'inositol monophosphate-diacylglycérol-calcium (IP<sub>3</sub>-DAG-Ca<sup>2+</sup>). Les prostaglandines et la prostacycline sont des vasodilatateurs puissants tandis que le TxA<sub>2</sub> exerce un effet vasoconstricteur. Le TxA<sub>2</sub> est un inducteur de l'agrégation plaquettaire, alors que PGI<sub>2</sub> exhibe des propriétés anti-agrégantes. Les prostaglandines et la prostacycline contribuent aussi à la formation de l'œdème et à la genèse des influx nociceptifs (30, 31). Enfin, la PGE<sub>2</sub> inhibe la synthèse de cytokines activatrices des lymphocytes (IL-2, IL-12, IFN $\gamma$ , etc), ce qui lui confère des propriétés immunosuppressives (32).

#### La voie des lipo-oxygénases

L'autre voie principale de transformation de l'AA est de la voie des lipo-oxygénases (LO). Elle conduit à la synthèse des leucotriènes. Les leucotriènes sont des médiateurs importants de l'allergie et des réactions inflammatoires (33). Ils augmentent la perméabilité vasculaire et participent avec d'autres médiateurs à la formation de l'œdème. Ils possèdent également des propriétés chimiotactiques pour les éosinophiles

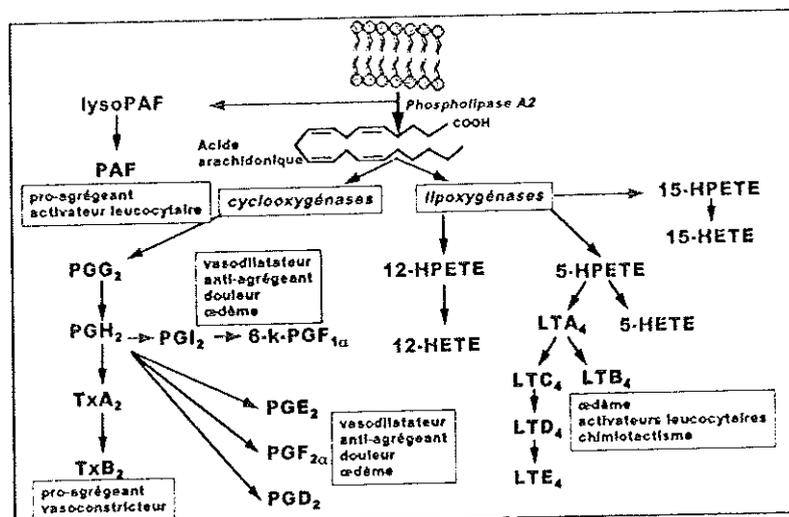


Fig. 3. Voies des cyclo-oxygénases et lipo-oxygénases. HPETE = acide hydroperoxyeicosatétraénoïque, HETE = acide hydroxyeicosatétraénoïque, LT = Leucotriène, PAF = Platelet activating factor, PG = Prostaglandine, TX = Thromboxane.

(LTE4) et les neutrophiles (LTE4 et LTB4). Le LTB4 stimule la production de l'IL-2, de l'IFN $\gamma$  et de l'IL-4 par les lymphocytes T (34).

#### *Le Platelet Activating factor (PAF)*

Le PAF résulte de l'action successive de deux enzymes, la phospholipase A<sub>2</sub> et l'acétyltransférase (35). La production de PAF est, en général, simultanée à l'activation des voies des cyclooxygénases et des lipo-oxygénases. Les leucotriènes stimulent la production de PAF alors que la PGI<sub>2</sub> l'inhibe. Le PAF stimule l'agrégation plaquettaire, augmente la perméabilité vasculaire et active les leucocytes (36).

#### *D. LES FRACTIONS DU COMPLÈMENT*

La cascade du complément est formée d'un ensemble complexe de protéines dont beaucoup sont des protéases. Les protéines du complément forment deux cascades enzymatiques reliées entre elles, appelées voie classique et voie alterne. Les deux voies génèrent une convertase de C3 qui clive C3 en C3b, élément central de l'activation du complément. C3b initie à son tour la séquence terminale lytique, C5 à C9. Au cours de l'inflammation aiguë, une troisième voie d'activation du complément est possible. Elle implique les protéases à sérine-histidine (trypsine, plasmine, thrombine et élastase) qui catalysent la conversion de C3 en C3b et C3a (anaphylatoxine) (37).

La majeure partie des éléments sériques du complément est élaborée par les hépatocytes, excepté C1 dont le lieu de synthèse semble être l'épithélium des tractus gastro-intestinal et urogénital. De plus, ils peuvent être synthétisés par les monocytes/macrophages (38).

Les principales activités biologiques du système du complément sont, l'opsonisation où le complément facilite la phagocytose et la lyse des micro-organismes pathogènes, mais aussi l'activation des cellules de l'inflammation. C3a et C5a interviennent à plusieurs niveaux dans le développement de la réaction inflammatoire (39) :

- ils augmentent la perméabilité vasculaire, par leur action sur les muscles lisses et sur les mastocytes;
- ils stimulent le chimiotactisme des neutrophiles;
- ils activent les neutrophiles et la formation de formes activées de l'oxygène;
- ils stimulent la production de leucotriènes par les neutrophiles;
- ils provoquent la dégranulation des mastocytes et la libération d'histamine;

- ils provoquent la contraction des muscles lisses.

#### *E. LES FACTEURS DE LA COAGULATION*

Les réactions qui conduisent à l'hémostase peuvent être déclenchées au cours de l'inflammation, comme en témoignent les dépôts de fibrine présents au sein du foyer inflammatoire (40). Cet état pro-thrombique résulte d'une part de l'activation de la voie de la coagulation et de l'inhibition de la fibrinolyse physiologique (40). L'IL-1 et le TNF $\alpha$  stimulent l'expression du Facteur Tissulaire (FT) par les cellules endothéliales, ce qui constitue une étape majeure de l'activation initiale des facteurs de la coagulation au cours du sepsis (41). Le FT est également exprimé par les cellules de nombreux tissus, dont les macrophages, sous l'action de médiateurs de l'inflammation. Par ailleurs, les facteurs de la coagulation contribuent au développement de la réaction inflammatoire. Les interactions ainsi évidentes entre l'hémostase, l'inflammation et la réponse immune ont pour principaux acteurs notamment des sérines protéases (42) dont le facteur Xa et la thrombine (43). Ces protéases à sérine sont capables de se fixer à des récepteurs membranaires identifiés à la surface des neutrophiles, des cellules endothéliales, des cellules musculaires lisses et des plaquettes (44). Ces récepteurs sont appelés PAR (Protease-Activated Receptors). Ils présentent la particularité d'être activés, et donc de transmettre le message vers le compartiment intracellulaire, par le clivage de leur domaine extracellulaire par le ligand. A ce jour, quatre récepteurs de type PAR ont été identifiés chez l'homme (45). PAR-1, -2, -3 et -4 peuvent être activés par la thrombine. PAR-2 lie également la trypsine, la tryptase et les facteurs VIIa et Xa de la coagulation. Au niveau des cellules endothéliales, l'expression de PAR-2 est induite par l'IL-1 $\beta$  et le TNF $\alpha$ . La liaison de la thrombine à un récepteur PAR s'accompagne de l'expression de molécules d'adhésion à la surface de l'endothélium vasculaire, de la synthèse par les cellules endothéliales de PAF, IL-6 et IL-8, de la production de cytokines par les neutrophiles et les monocytes et de la dégranulation des mastocytes (46).

#### *F. LES FORMES ACTIVÉES DE L'OXYGÈNE ET DE L'AZOTE (FAO)*

Si la participation des FAO dans le développement de la réaction inflammatoire ne fait plus aucun doute, il est important de garder à l'esprit que la demi-vie de ces agents est courte (entre 10<sup>-9</sup> et 10<sup>-6</sup> sec), et que la majorité de leurs actions s'exercent sur l'environnement immédiat de la

cellule productrice. Cependant, leurs effets peuvent être prolongés par le déclenchement d'une réaction en chaîne impliquant successivement plusieurs formes radicalaires ou par la réaction avec des acides aminés pour donner des espèces comme les S-nitrosothiols ou les chloramines capables de diffuser et d'étendre les activités des FAO à des sites éloignés du foyer inflammatoire. La production de formes activées de l'oxygène est stimulée par des lipopolysacchariques (endotoxines), des leucotriènes, des cytokines (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-12), le C5a, des immunoglobulines G mais également des cycles ischémie-reperfusion (47, 48). Au niveau du foyer inflammatoire, les leucocytes polymorphonucléaires neutrophiles et éosinophiles et les macrophages sont les principales sources de FAO. Ces cellules possèdent une enzyme membranaire, la NADPH-oxydase, capable de produire abondamment de l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), qui rapidement se transforme par dismutation en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (49). Le peroxyde d'hydrogène, de durée de vie plus longue que l' $O_2^{\cdot-}$ , peut diffuser dans le milieu extracellulaire, où il est impliqué dans une cascade de réactions chimiques conduisant à la formation d'autres espèces oxygénées très oxydantes ( $^1O_2$ ,  $^{\cdot}OH$ ). Le neutrophile est particulièrement actif dans cette production en triplant ou quadruplant sa consommation d'oxygène (flambée respiratoire). De plus, il possède une enzyme spécifique, la myéloperoxydase qui en présence d'ions chlore ( $Cl^-$ ), transforme l' $H_2O_2$  en acide hypochloreux (HOCl) (fig. 4). L'acide hypochloreux connu de longue date pour ces propriétés bactéricides, est à l'origine de la formation d'oxygène singulet  $^1O_2$  et de chloramines, également oxydantes, et destructrices des fonctions thiols (-SH).

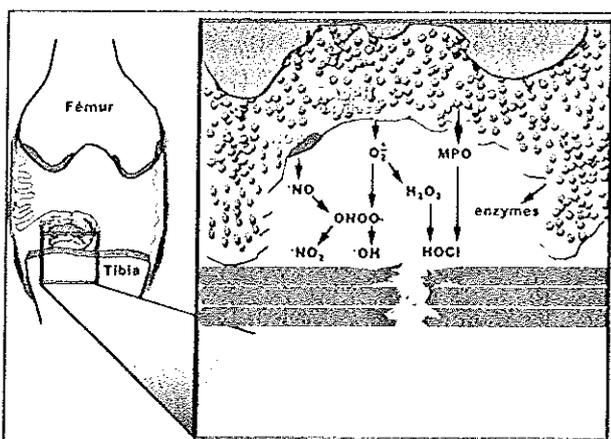


Fig. 4. Production de radicaux libres et espèces oxygénées activées par les neutrophiles. HOCl = Acide hypochloreux,  $O_2^{\cdot-}$  = Anion superoxyde,  $^{\cdot}OH$  = Hydroxyl radicals, MPO = Myéloperoxydase, NOS = Nitric oxyde synthase,  $H_2O_2$  = peroxyde d'hydrogène, ONOO $^-$  = Peroxynitrite,  $\cdot NO_2$  = Radical nitrosyl.

Récemment, l'intérêt des chercheurs s'est porté sur les propriétés biologiques du monoxyde d'azote ( $\cdot NO$ ) identifié comme étant l'«Endothelial Derived Relaxing Factor» un puissant vasodilatateur (50). Le  $\cdot NO$  est produit par les NO synthases constitutive ou inductible, dont la synthèse est induite par l'IL-1 $\beta$ , le TNF $\alpha$ , l'IFN $\gamma$ , le PAF et les lipopolysaccharides, mais réprimée par le TGF- $\beta$ , l'IL-4 et l'IL-10 (51). Le  $\cdot NO$  est un composé instable (durée de vie  $<$  à 15sec.) mais très réactionnel. Il exerce ses activités biologiques en : 1) activant l'adénylate cyclase et par conséquent, en augmentant le taux intracellulaire de cGMP, 2) en réagissant avec les groupements thiols des protéines conduisant à la formation de composés stables et actifs, les S-nitrosothiols (durée de demi-vie  $>$  à 2 heures), 3) en réagissant avec l'oxygène pour donner une suite de dérivés nitrés aboutissant au nitrite et nitrate stables, 4) en formant, en présence d'anion superoxyde, le peroxynitrite ( $-ONOO$ ) composé très oxydant, enfin 5) par la nitrosylation directe de protéines cibles. Le peroxynitrite est un intermédiaire azoté particulièrement intéressant, car il est impliqué dans l'oxydation et la nitration de protéines clés de la signalisation cellulaire (52, 53).

Dans le cadre de la réaction inflammatoire, les effets des FAO peuvent être pro- ou anti-inflammatoires selon l'importance et le lieu de leur production, le type de réponse étudié et leur capacité à réagir avec d'autres formes activées de l'oxygène. A titre d'exemple, nous avons répertorié dans le tableau III les effets du  $\cdot NO$  (54). Les FAO sont également impliqués dans l'apoptose et la protéolyse focalisée de la matrice extracellulaire (55, 56). De plus, ils jouent le rôle de second messager dans l'activation de NF- $\kappa B$  par l'IL-1 $\beta$  (57).

TABLEAU III. EFFETS DU NO AU COURS DE LA RÉACTION INFLAMMATOIRE.

*Actions pro-inflammatoires*

- Vasodilatateur
- Cytotoxique
- Stimule la production de prostaglandine  $E_2$ \*
- Stimule la production de TNF $\alpha$  par les synoviocytes
- Inhibe la synthèse de protéines matricielles
- Active les métalloprotéases
- Augmente la production de TNF $\alpha$  et IL-1 $\beta$

*Actions anti-inflammatoires*

- Inhibe l'adhésion des leucocytes à l'endothélium
- Inhibe l'expression de la sélectine-P par les plaquettes et l'endothélium
- Inhibe la prolifération des lymphocytes
- Inhibe la dégranulation des mastocytes
- Inhibe l'activité de la NADPHoxydase
- Inhibe la production de prostaglandine  $E_2$ \*
- Inhibe la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-8)

\* Selon le type cellulaire considéré

Dans l'organisme, la réactivité des formes actives de l'oxygène est limitée par des antioxydants naturels qui sont soit des piègeurs de radicaux libres (protection stoechiométrique), soit des complexants des métaux de transition (protection anticatalytique; par exemple les sidérophores comme la desferroxamine, soit des enzymes spécialisées dans la destruction des espèces activées de l'oxygène (protection catalytique; comme la superoxide dismutase, catalase, la glutathione peroxidase) (58, 59). La formation de NO peut être bloquée par des inhibiteurs compétitifs de la NO synthase tels que L-monométhyl-L-arginine (L-NMMA) ou L-iminoethyl-L-lysine (L-NIL). L'injection intra-articulaire de ces inhibiteurs s'accompagne d'une diminution de l'inflammation de la membrane synoviale et des lésions du cartilage dans des modèles expérimentaux d'arthrite et d'arthrose (60).

G. LES MÉTALLOPROTÉASES

La protéolyse matricielle est un mécanisme impliqué dans la résorption des tissus endommagés du foyer inflammatoire. Pour être efficace et sans conséquences pathologiques, elle doit être focalisée et contrôlée. Dans le cas contraire, la réaction inflammatoire s'accompagne de lésions tissulaires souvent irréversibles, responsables d'atteintes fonctionnelles graves de l'organe lésé. Les agents responsables de la dégradation des tissus sont d'une part les FAO et d'autre part les métalloprotéases (61).

Les métalloprotéases sont synthétisées et/ou sécrétées par les leucocytes, les cellules endothéliales et les cellules du tissu conjonctif enflammé (synoviocytes, chondrocytes, etc). A titre d'exemple, les macrophages produisent de la collagénase-1, de la stromélysine (MMP-3), de la matrilysine (MMP-7), de la gélatinase B (MMP-9), de l'élastase (MMP-12) et de la MT1-MMP (MMP-14) (62). A l'exception de MMP-8 et de

MMP-9, qui sont séquestrées dans les granules des neutrophiles et des métalloprotéases membranaires (MT-MMP), ancrées dans la membrane plasmique des cellules, les autres métalloprotéases sont synthétisées, sous la forme d'une proenzyme (63). La transformation de la forme pro-métalloprotéase en enzyme active, semble résulter d'une cascade protéolytique d'activation dans laquelle interviennent en synergie des protéinases à sérine, des métalloprotéases et des formes activées de l'oxygène (fig. 5). Les activateurs du plasminogène tissulaire (t-PA) et membranaire (urokinase ou u-PA) jouent un rôle prépondérant dans cette cascade d'activation (64). Ils transforment le plasminogène en plasmine. La plasmine est une sérine protéase active dans la dégradation des membranes basales, de la matrice extracellulaire et dans la transformation des pro-MMPs en MMPs actives. Les sérines protéases sont aussi impliquées dans la régulation de la réaction inflammatoire. Cette propriété a déjà été évoquée ultérieurement pour la thrombine. L'activateur du plasminogène de type urokinase (u-PA) se fixe également à un récepteur membranaire appelé u-PAR. Cette liaison s'accompagne de l'activation de la pro-uPA et de la libération de plasmine dans l'environnement immédiat de la cellule mais également d'un changement de conformation du récepteur u-PAR. Cette modification de conformation provoque le démasquage d'épitopes stimulant le chimiotactisme des leucocytes. L'activité de l'u-PA est contrôlée par un inhibiteur, le PAI, qui lie non seulement l'urokinase libre mais aussi à la forme liée à son récepteur (65). Un autre mécanisme d'activation des MMPs met en jeu les métalloprotéases membranaires (MT-MMPs). Les MT-MMPs (MMP-14, 15, 16, 17) possèdent les caractéristiques enzymatiques des collagénases, et seraient impliquées dans le phénomène de protéolyse focalisée, soit par une action

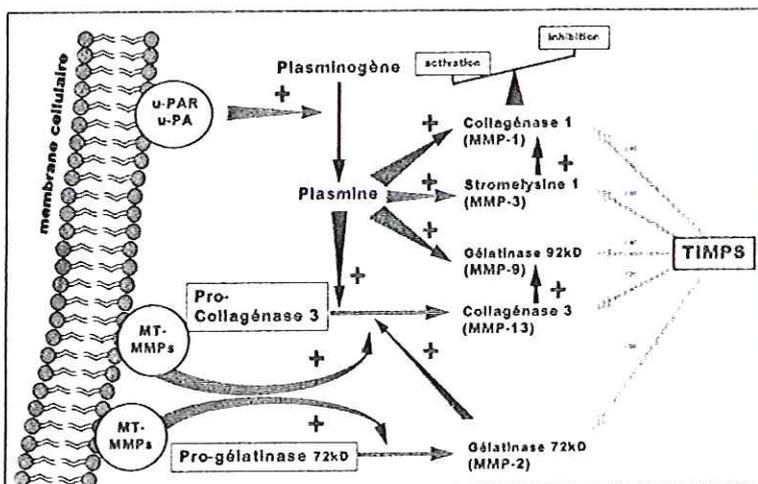


Fig. 5. Cascade d'activation des métalloprotéases. MT-MMP = membrane type metalloprotease, u-PAR = protease activated receptor, TIMP = Tissue inhibitor of metalloproteases. (Modifiée selon référence 64).

directe sur la matrice pérécyclulaire, soit par l'activation de la pro-collagénase-3 (MMP-13) et de la pro-gélatinase (MMP-2).

L'activité des métalloprotéases matricielles à zinc est contrôlée par des inhibiteurs naturels, les TIMPs (TIMP-1, -2, -3, 4). Les TIMPs inhibent les formes actives des MMPs en formant un complexe non covalent dans une stœchiométrie 1/1 réversible. La protéolyse matricielle résulte d'un déséquilibre entre les systèmes activateurs et inhibiteurs des MMPs.

#### SIGNALISATION INTRACELLULAIRE ET RÉACTION INFLAMMATOIRE

Dans la majorité des cas, les effets des médiateurs de l'inflammation sont transmis par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques présents à la surface des cellules. La liaison du ligand à un récepteur membranaire induit une cascade de réactions de phosphorylation de substrats intracytoplasmiques responsables de la transmission du signal du milieu extracellulaire vers le compartiment nucléaire. Ces substrats intracellulaires sont essentiellement des kinases capables d'activer par phosphorylation des facteurs de transcriptions, qui pénètrent dans le noyau et se fixent sur des régions spécifiques du DNA (promoteurs). Cette liaison permet la transcription de différents gènes et la synthèse de protéines dotées d'activités anti-inflammatoires ou inflammatoires. Au cours de l'inflammation, la transduction du signal se fait essentiellement par la voie des MAP kinases (Mitogen-Activated Protein-kinase) et des protéines JAK/STAT (JANUS Kinase/Signal Transducers and Activators of Transcription) (66). Elles aboutissent à l'activation des facteurs de transcription NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor  $\kappa$ B) et AP-1 (Activating Protein-1) (67, 68). Ces deux facteurs sont impliqués dans l'expression des effets pro-inflammatoires de nombreux médiateurs dont l'IL-1 $\beta$ , le TNF $\alpha$ , le MCP-1, l'IL-8, le LPS, le GM-CSF et le TGF- $\beta$ . Ils induisent l'expression des gènes codant pour les cytokines pro-inflammatoires, les chimiokines, les molécules d'adhésion, des métalloprotéases ou encore la sous-unité p47 phox activatrice de la NADPH-oxidase. Il est important de signaler que la réponse cellulaire dépendra de la voie de transduction activée. Plusieurs médiateurs peuvent activer une même voie, et plusieurs voies peuvent être activées par un seul médiateur.

#### CONCLUSIONS

La réaction inflammatoire est complexe et implique une multitude de médiateurs dont certains sont pro-inflammatoires et d'autres anti-

inflammatoires. L'installation d'un déséquilibre entre ces deux groupes de médiateurs conduit à la chronicité de la réaction inflammatoire et à la destruction des tissus enflammés.

La correction de ce déséquilibre constitue une cible privilégiée pour la nouvelle génération de molécules anti-inflammatoires. Actuellement, le débat est centré sur l'inhibition sélective de la cyclo-oxygénase de type II par les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Il est admis que cette sélectivité réduit les effets secondaires des AINS et améliore l'observance du traitement. Cette propriété permet d'envisager leur utilisation prolongée dans le traitement de maladies chroniques. Cependant, l'inhibition sélective de la COX-2 pourrait favoriser la formation de thrombus vasculaires, par aggravation de l'état prothrombotique déclenché par l'inflammation. D'autre part, les activités pharmacologiques des AINS ne se limitent pas à l'inhibition de la production de prostaglandines mais impliquent aussi d'autres mécanismes d'action. Certains AINS possèdent également des propriétés anti-cytokine, anti-adhésion, anti-oxydante et anti-protéasique. L'avenir verra certainement l'apparition de molécules aux potentialités anti-inflammatoires multiples dont les actions seront dirigées vers la synthèse et ou l'activité des cytokines pro-inflammatoires et des chimiokines ou d'enzymes comme les lipo-oxygénases, les caspases ou les protéases. La réussite de ces thérapies dépendra de leur spécificité d'action et de leur tropisme pour les tissus enflammés.

#### RÉFÉRENCES

1. Gonzalez-Amaro R, Diaz-Gonzalez F, Danchez-Madrid F.— Adhesion molecules in inflammatory diseases. *Drugs*, 1998, **56**, 977-88.
2. Beekhuizen H, van de Gevel JS.— Endothelial cell adhesion molecules in inflammation and postischemic reperfusion injury. *Transplant Proc*, 1998, **30**, 4251-56.
3. Von Andrian UH, Mackay CR.— T-cell function and migration. *N Engl J Med*, 2000, **343**, 1020-34.
4. Allport J, Ding H, Collins T, et al.— Endothelial-dependent mechanisms regulate leucocyte transmigration: a process involving the proteasome or the vascular endothelial cadherin complex at endothelial cell-to-cell junctions. *J Exp Med*, 1997, **186**, 517-27.
5. Wagner JC, Roth RA.— Neutrophils migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. *Pharmacol Rev*, 2000, **52**, 349-74.
6. Bellingan G.— Leukocytes: friend or foe? *Intensive Care Med*, 2000, **26**, S111-8.
7. Dinarello CA.— Proinflammatory cytokines. *Chest*, 2000, **118**, 503-508.
8. Desreumaux P, Meresse B, Cortot A, et al.— Cytokines et anti-cytokines dans les maladies inflammatoires chro-

- niques de l'intestin. *Gastroenterol Clin Biol*, 1999, 23, B159-168.
9. Reed JC.— Caspases and cytokines: role in inflammation and autoimmunity. *Adv Immunol*, 1999, 73, 265-299.
  10. Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, et al.— A metalloprotease disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. *Nature*, 1997, 385, 729-733.
  11. Dinarello CA.— Role of pro- and anti-inflammatory cytokines during inflammation : experimental and clinical findings. *J Biol Regul Haemost Agents*, 1997, 11, 91-103.
  12. Weyand CM.— New insights into the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 2000, 39, 3-8.
  13. Keane MP, Strieter RM.— Chemokine signaling in inflammation. *Crit Care Med*, 2000, 28, 13-26.
  14. Zlotnik A, Yoshie O.— Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity*, 2000, 12, 121-127.
  15. Bagglioni M.— Chemokines and leukocyte traffic. *Nature*, 1988, 392, 565-588.
  16. Donnere J, Schuligoi R, Stein C.— Increased content and transport of substance P and calcitonin gene-related peptide in sensory nerves innervating inflamed tissue: evidence for a regulatory function of nerve growth factor in vivo. *Neuroscience*, 1992, 49, 693-698.
  17. Schaffer M, Beiter T, Becker HD, et al.— Neuropeptides: Mediators of inflammation and tissue repair? *Arch Surg*, 1998, 133, 1107-1116.
  18. Lam FY, Ferrel WR.— Specific neurokinin receptors mediate plasma extravasion in the rat knee joint. *Br J Pharmacol*, 1991, 103, 1263-1267.
  19. Tanaka T, Danno K, Ikai K, et al.— Effects of substance P and substance K on the growth of cultured keratinocytes. *J Invest Dermatol*, 1988, 90, 399-401.
  20. Nilsson J, von Euler AM, Dalsgaard CJ.— Stimulation of connective cell growth by substance P and substance K. *Nature*, 1985, 315, 61-63.
  21. Ziche M, Morbidelli L, Pacini M, et al.— Substance P stimulates neovascularization in vivo and proliferation of cultured endothelial cells. *Microvasc Res*, 1990, 40, 264-278.
  22. Decaris E, Guingamp C, Chat M, et al.— Evidence for neurogenic transmission inducing degenerative cartilage damage distant from local inflammation. *Arthritis Rheum*, 1999, 42, 1951-1960.
  23. Halliday DA, Mc Neil JG, Betts WH, et al.— The substance P fragment SP-(7-11) increases prostaglandin E2, intracellular Ca<sup>2+</sup> and collagenase production in bovine articular chondrocytes. *Biochem J*, 1993, 292, 57-62.
  24. Mehraban F, Lark MW, Ahmed FN, et al.— Increased secretion and activity of metalloproteinase-3 in synovial tissues and chondrocytes from experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 1998, 6, 286-294.
  25. Hecker-Kia A, Kolkenbrock H, Orgel D, et al.— Substance P induces the secretion of gelatinase A from human synovial fibroblasts. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 1997, 35, 655-660.
  26. Safieh-Garabedian B, Poole S, Allchorne A, et al.— Contribution of interleukin-1 $\beta$  to inflammation-induced increase in nerve growth factor levels and inflammatory hyperalgesia. *Br J Pharmacol*, 1995, 115, 1265-1275.
  27. Crofford LJ, Wilder RL, Ristimaki AP, et al.— Cyclooxygenase-1 and -2 expression in rheumatoid synovial tissues. Effects of interleukin-1 beta, phorbol ester, and corticosteroids. *J Clin Invest*, 1994, 93, 1095-1101.
  28. Pang L, Knox AJ.— Effect of interleukin-1 beta, tumour necrosis factor-alpha and interferon gamma on the induction of cyclooxygenase-2 in cultured human airway smooth muscle cells. *Br J Pharmacol*, 1997, 121, 579-587.
  29. Hwang D, Jang BC, Yu G, et al.— Expression of mitogen-inducible cyclooxygenase-2 induced by lipopolysaccharide: mediation through both mitogen-activated protein kinase and NF-kB signaling pathways in macrophages. *Biochem Pharmacol*, 1997, 54, 87-96.
  30. Heller A, Koch T, Schmeck J, et al.— Lipid mediators in inflammatory disorders. *Drugs*, 1998, 55, 487-496.
  31. Simon LS.— Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation. *Am J Med*, 1999, 106 (5B), 37S-42S.
  32. Van der Pouw TC, Boeije LC, Smeenk RJ, et al.— Prostaglandin E2 is a potent inhibitor of human interleukin-12 production. *J Exp Med*, 1995, 181, 775-779.
  33. Santais MC, Callens E, Djebbar R, et al.— Intérêt potentiel des antileucotriènes dans le traitement de l'asthme et autres pathologies inflammatoires: à propos d'une nouvelle classe pharmacologique. *Rev Med Intern*, 1998, 19, 98-107.
  34. Morita H, Takeda K, Yagita H et al.— Immunosuppressive effect of leukotriene B(4) receptor antagonist in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 264, 321-326.
  35. Peplow PV, Mikhailidis DP.— Platelet-activating factor and its relation to prostaglandins, leukotrienes and other aspects of arachidonate metabolism. *Prostaglandins, Leukot Essent Fatty Acids*, 1990, 41, 71-82.
  36. Hosford D, Braquet P.— The potential role of platelet activating factor in shock and ischemia. *J Crit Care*, 1990, 5, 115-136.
  37. Williams LW, Burks W, Steele RW.— Complement : function and clinical relevance. *Ann Allergy*, 1988, 60, 293-301.
  38. Jetlan G, Pfeifer PH, Hugli TE.— Processing of C5a by human polymorphonuclear leukocytes. *J Leukoc Biol*, 1998, 63, 456-462.
  39. Jagels MA, Daffern PJ, Hugli TE.— C3a and C5a enhance granulocyte adhesion to endothelial and epithelial monolayer. Epithelial and endothelial priming is required for C3a-induced eosinophil adhesion. *Immunopharmacology*, 2000, 46, 209-222.
  40. Opal SM.— Phylogenetic and functional relationships between coagulation and the innate immune response. *Crit Care Med*, 2000, 28, S77-S80.
  41. Holmdahl L, Ivarsson M-L.— The role of cytokines, coagulation, and fibrinolysis in peritoneal tissue repair. *Eur J Surg*, 1999, 165, 1012-1019.
  42. Esmon CT.— Introduction: are natural anticoagulants candidates for modulating the inflammatory response to endotoxin? *Blood*, 2000, 95, 1113-1116.
  43. Cirino G, Napoli C, Bucci M, et al.— Inflammation-coagulation network: are serine protease receptors the knot? *Trends Pharmacol Sci*, 2000, 21, 170-172.

44. Coughlin SR.— Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature*, 2000, **407**, 258-64.
45. Cocks TM, Moffatt JD.— Protease-activated receptors: sentries for inflammation? *Trends Pharmacol Sci*, 2000, **21**, 103-108.
46. Colman RW.— Biologic activities of the contact factors in vivo. Potentiation of hypotension, inflammation, and fibrinolysis, and inhibition of cell adhesion, angiogenesis and thrombosis. *Thromb Haemost*, 1999, **82**, 1568-1577.
47. Y Henrotin, G Deby-Dupont, C Deby, et al.— Active oxygen species, articular inflammation and cartilage damage, in *Free radicals and aging*, Ed I Emerit, B Chance. Birkhäuser Verlag, 1992, 308-322.
48. Deby-Dupont G, Deby C, Lamy M.— Espèces oxygénées activées et radicaux libres, in *Etats infectieux graves : perspectives thérapeutiques*, Ed J Carlet, Cl Martin, G Offenstadt. Masson, 1995, 41, 130-144.
49. Bergendi L, Benes L, Durackova Z, Ferencik M.— Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life sciences*, 1999, **65**, 1865-1874.
50. Clancy RM, Leszczynska-Piziak J, Abramson SB.— Nitric oxide, an endothelial cell relaxation factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via direct action on NADPH Oxidase. *J Clin Invest*, 1992, **90**, 1116-1121
51. Glancy RM, Amin AR, Abramson SB.— The role of nitric oxide in inflammation and immunity. *Athritis Rheum*, 1998, **41**, 1141-1151.
52. Valdez LB, Alvarez S, Arnaiz LS, et al.— Reactions of peroxynitrite in the mitochondrial matrix. *Free Radic Biol Med*, 2000, **29**, 349-56.
53. Go YM, Patel RP, Maland MC, et al.— Evidence for peroxynitrite as a signaling molecule in flow-dependent activation of c-Jun NH(2)-terminal kinase. *Am J Physiol*, 1999, **277**, 1647-1653.
54. St Clair EW.— Nitric oxide : friend or foe in arthritis ? *J Rheumatol*, 1998, **25**, 1451-1453.
55. Stichtenoth DO, Frolich JC.— Nitric oxide and inflammatory joint diseases. *Br J Rheumatol*, 1998, **37**, 246-257.
56. Murrel GA, Dolan MM, Jang D, et al.— Nitric oxide : an important articular free radical. *J Bone Joint Surg Am*, 1996, **78**, 265-272.
57. Bonizzi G, Piette J, Merville MP, et al.— Cell type-specific role for reactive oxygen species in nuclear factor-kappaB activation by interleukin-1. *Biochem Pharmacol*, 2000, **59**, 7-11.
58. MacNee W.— Oxidant/antioxidants and COPD. *Chest*, 2000, **117**, 303S-317S.
59. Anderson D, Philips BJ.— Comparative in vitro and in vivo effects of antioxidants. *Food Chem Toxicology*, 1999, **37**, 1015-1025.
60. Pelletier JP, Jovanovic D, Lascau-Coman V, et al.— Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces in vivo the progression of experimental osteoarthritis in vivo : possible link with the reduction in chondrocyte apoptosis. *Arthritis Rheum*, 2000, **43**, 1290-1299.
61. Gaudin P, Trocmé C, Monier F, et al.— Protéolyse matricielle, protéolyse focalisées et inflammation. *Ann Biol Clin*, 1998, **56**, 661-669.
62. Shapiro S.— Diverse roles of macrophage matrix metalloproteinases in tissue destruction and tumor growth. *Thromb Haemost*, 1999, **82**, 846-849.
63. Nagase H, Woessner JF.— Role of endogenous proteinases in the degradation of cartilage matrix, in *Joint cartilage degradation : basic and clinical aspects*, Ed Woessner F, Howell DS. Marcel Dekker ed, 1993, 159-187.
64. Martel-Pelletier J, Di Battista J, Lajeunesse D.— Biochemical factors in joint articular tissue degradation in osteoarthritis, in *Osteoarthritis: clinical and experimental aspects*, Ed Reginster J-Y, Pelletier J-P, Martel-Pelletier J, Henrotin Y. Springer, 1999, 156-187.
65. Blasi F.— Proteolysis, cell adhesion, chemotaxis, and invasiveness are regulated by the u-PA-u-PAR-PAI-1 system. *Thromb Haemost*, 1999, **82**, 298-304.
66. Herlaar E, Brown Z.— p38 MAPK signalling cascades in inflammatory disease. *Mol Med Today*, 1999, **5**, 439-447.
67. Baeuerle PA.— I $\kappa$ B-NF- $\kappa$ B structures : at the interface of inflammation control. *Cell*, 1998, **95**, 729-731.
68. McKay LI, Cidlowski JA.— Molecular control of immune/inflammatory responses : interactions between nuclear factor- $\kappa$ B and steroid receptor-signaling pathways. *Endocrine Rev*, 1999, **2**, 435-459.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Dr Y. Henrotin, Unité de Recherche sur l'Os et le Cartilage, Institut de Pathologie, CHU Sart Tilman, 4000 Liège.