

O.068

Le liraglutide comme traitement intra-articulaire potentiel pour la régénération du cartilage dans l'arthrose : études in vitro et in vivo supportant un effet pro-chondrogénique

F. Berenbaum¹, C. Meurot², L. Sudre³, K. Bismuth², R. Rattenbach², P. Deneffe², C. Martin^{2,*}, C. Jacques³

¹ Service de Rhumatologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris

² Campus institut pasteur lille, 4P Pharma, Lille

³ Umr_s938, cdr st-antoine, Université Pierre et Marie Curie, Paris

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : celine@4p-pharma.com (C. Martin)

Introduction L'arthrose est une maladie articulaire liée à l'âge très invalidante affectant des millions d'individus dans le monde. À ce jour, il n'existe que des traitements symptomatiques et aucun médicament modificateur de la maladie (DMOAD pour Disease Modifying OsteoArthritis Drug), agissant à la fois sur les symptômes et la structure, n'est encore approuvé. Bien que l'arthrose soit un trouble de toute l'articulation, la dégénérescence progressive du cartilage est considérée comme sa caractéristique principale. En effet, la différenciation et la fonction des chondrocytes sont altérées dans l'arthrose, entraînant la dégradation de la matrice cartilagineuse. Dans cette étude, nous avons évalué les propriétés pro-chondrogéniques du liraglutide, un agoniste du récepteur au Glucagon-Like-Peptide 1 (GLP-1R), qui est largement prescrit pour le traitement du diabète de type 2.

Matériels et méthodes Une injection IA de liraglutide ou de véhicule a été réalisée 2 jours après l'injection de monoiodoacétate (MIA) ou de solution saline chez la souris. Des analyses par RTqPCR de l'articulation du genou ont été effectuées 10 jours après l'injection de solution saline ou de MIA. La capacité du liraglutide (10-500 nM) à induire la chondrogenèse a été évaluée à l'aide de cellules souches mésenchymateuses humaines (hMSC) et de fibroblastes embryonnaires de souris (MEF) cultivées en micromasse. La coloration à la safranine O et/ou au bleu alcian a été utilisée pour évaluer la différenciation en chondrocytes. L'antagoniste exendine 9-39 a été utilisé pour confirmer l'implication du GLP-1R dans l'effet pro-chondrogénique du liraglutide. Un milieu de différenciation commercial et le facteur de croissance Bone Morphogenetic Protein-2 (BMP-2) ont été utilisés comme contrôles positifs pour les modèles hMSC et MEF, respectivement.

Résultats L'expression du gène Col2a1 a été significativement augmentée dans les articulations totales du genou chez les souris induites par le MIA traitées avec 30 µg de liraglutide par rapport au véhicule (au jour 11, Liraglutide = 1,96 ± 1,34, vs véhicule = 0,64 ± 0,46, $p < 0,05$, induction calculée par rapport au groupe salin). De plus, il y avait une induction significative de l'expression du gène Sox9 chez les souris MIA traitées avec 30 µg et 20 µg de liraglutide (2,46 ± 1,84 ; 2,08 ± 1,36, respectivement, $p \leq 0,05$) par rapport au véhicule (0,92 ± 0,67). Après 21 jours de traitement, le liraglutide, contrairement au véhicule, a induit la différenciation des hMSC en sphères 3D de chondrocytes (Liraglutide 10 nM = 5 sphères positives au bleu alcian sur 6 puits comptés, $p < 0,05$; Liraglutide 100 nM = 4/6, $p = 0,06$, vs véhicule = 0/6). 5/6 sphères positives au bleu alcian ont également été observées pour le contrôle positif. Le liraglutide ou BMP-2 ont induit la différenciation des MEF en chondrocytes, comme le révèle l'analyse cytologique en utilisant la coloration au bleu alcian et à la safranine O. La quantification spectroscopique (en unité arbitraire, UA) du colorant Safranine O élué des MEF après 21 jours de différenciation chondrogénique a indiqué une augmentation significative de l'absorbance mesurée pour le liraglutide à 500 nM (2,90 ± 0,03 UA, $p < 0,001$) et BMP-2 (3,17 ± 0,06, $p < 0,001$) par rapport au véhicule (1,99 ± 0,34). L'utilisation de l'exendine 9-39 a confirmé que l'effet

du liraglutide sur la chondrogenèse était dépendant du GLP-1R dans les deux modèles in vitro.

Conclusion Le liraglutide favorise la différenciation en chondrocytes, ce qui pourrait faciliter la régénération du cartilage dans l'arthrose, et représente ainsi un traitement DMOAD potentiel pour l'arthrose du genou.

Déclaration de liens d'intérêts CJ : aucun conflit d'intérêt.

RR : dirigeant 4P-Pharma.

COM, LS, KB, PD, CEM : employés de 4P-Pharma.

FB : Subvention/soutien à la recherche de TRB Chemedica (via institution), MSD (via institution), Pfizer (via institution) ; Consultant de Novartis, MSD, Pfizer, Lilly, UCB, Abbvie, Roche, Servier, Sanofi-Aventis, Flexion Therapeutics, Expanscience, GSK, Biogen, Nordic, Sandoz, Regeneron, Gilead, Bone Therapeutics, Regulaxis, Peptinov, 4P Pharma ; Instructeur rémunéré pour Sandoz ; Bureau des conférenciers : Novartis, MSD, Pfizer, Lilly, UCB, Abbvie, Roche, Servier, Sanofi-Aventis, Flexion Therapeutics, Expanscience, GSK, Biogen, Nordic, Sandoz, Regeneron, Gilead, Sandoz.

<https://doi.org/10.1016/j.rhum.2020.10.087>

O.069

Caractérisation glycanne du plasma riche en plaquettes de sujets arthrosiques versus sains

L. Cachen^{1,*}, S. Cheverry², B. Carine-Manuela², X. Chevalier³, P. Albanese², F. Eymard³

¹ Laboratoire gly-crret, erl cnrs 9215, Hôpital Henri-Mondor AP-HP, service Rhumatologie, Créteil

² Erl cnrs 9215, Laboratoire Gly-CRRET, Université Paris Est Créteil, Créteil

³ Service de rhumatologie, Hôpital Henri-Mondor AP-HP, Créteil

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : laurie.cachen@gmail.com (L. Cachen)

Introduction Les Glycosaminoglycannes (GAGs) tels que les Chondroïtines Sulfates (CS) et les Héparanes sulfates (HS) sont des polysaccharides linéaires sulfatés qui constituent des éléments structuraux et fonctionnels importants du cartilage. Nous avons mis en évidence des modifications quantitatives et qualitatives des HS dans le cartilage arthrosique. En effet, ces HS au profil de sulfatation particulier ont des affinités modifiées pour certaines « Heparin Binding Protein » (HPB), et induisent un profil pro-catabolique sur des cultures de chondrocytes murins. De telles modifications structurales et fonctionnelles sont également décrites pour des HS du liquide synovial (LS). L'injection intra-articulaire de plasma riche en plaquettes (PRP) est une nouvelle thérapeutique autologue de l'arthrose dont le rationnel repose actuellement sur sa composition riche en « HBP » libérées par les plaquettes du patient. Aucune donnée n'existe cependant sur la composition glycanne du PRP. Notre hypothèse est que les GAGs du PRP pourraient avoir des caractéristiques propres chez les sujets arthrosiques, à l'instar de ce que l'on observe dans le cartilage et la synovie, qui pourraient influencer les activités des HBP libérées par les plaquettes et ainsi moduler l'effet thérapeutique du PRP.

Matériels et méthodes Les GAGs ont été purifiés et quantifiés à partir de PRP de sujets arthrosiques et de sujets contrôles sains ainsi que de LS de patients arthrosiques. La fonctionnalité de ces GAGs a ensuite été analysée, en particulier leur affinité pour des HBP telles que le VEGF et le FGF2, mesurée par ELISA-Compétition. En parallèle, le dosage de HBP (FGF2, PDGFbb, VEGF, IL-6, IL-8 et IL-1) a été réalisé dans le PRP et le LS.

Résultats Les PRP et LS de respectivement 8 et 16 patients arthrosiques ainsi que les PRP de 12 sujets sains ont été collectés. La concentration moyenne en GAGs totaux dans les PRP arthrosiques était de 10,9 ± 3,8 mg/mL, significativement plus élevée que dans les PRP de sujets sains (4,7 ± 1,8 mg/mL) ($p = 0,0003$). Il n'y avait pas de différence en fonction du sexe mais une corrélation positive avec l'âge ($p = 0,02$). Cette concentration est 5 fois moins importante