



FR9704336

# ÉVOLUTION COMPARÉE DES TAUX SÉRIQUES DES TGF ( $\beta 1$ , $\beta 2$ ) ET DE LA NUMÉRATION PLAQUETTAIRE CHEZ LE BABOUIN IRRADIÉ GLOBALEMENT

J.C. Mestries, J. Veyret, D. Agay, A. Van Uye, R. Caterini,  
F. Hérodin, J. Mathieu, Y. Chancerelle

**RÉSUMÉ** – L'irradiation corporelle globale aiguë associée ou non à un traitement par r-hIL-6 met en évidence que le taux circulant de TGF- $\beta 1$  et TGF- $\beta 2$  est dépendant de la numération plaquettaire. Lors de la thrombocytopénie radio-induite, la chute simultanée du TGF- $\beta$  contribue à diminuer son action inhibitrice sur l'entrée en cycle des cellules souches et sur la mégakaryocytopoïèse, créant ainsi une situation favorable à la reprise hématopoïétique.

## COMPARATED SERIC TGF ( $\beta 1$ , $\beta 2$ ) LEVELS AND PLATELETS COUNT RESPONSE IN TOTAL BODY IRRADIATED BABOONS

**ABSTRACT** – Total body irradiation associated or not with r-hIL-6 treatment highlighted a relation between TGF- $\beta 1$  and TGF- $\beta 2$  blood levels and platelets count. During radio-induced thrombocytopenia, by decreasing its ability to inhibit proliferation of stem cells and megakaryocytopoiesis, the TGF- $\beta$  falling induced a favorable condition for hematopoietic recovery.

### INTRODUCTION

Lors d'irradiation corporelle globale aiguë chez le primate, le syndrome hématopoïétique classique s'accompagne d'une chute des éléments figurés du sang. Parmi ceux-ci, les plaquettes ont une évolution caractéristique avec le développement d'une thrombocytopénie à partir du 5<sup>e</sup> jour, le minimum étant atteint vers le 8<sup>e</sup> jour avec un nadir évoluant en plateau jusqu'au 18<sup>e</sup> jour à partir duquel une restauration s'amorce. Lors d'expériences réalisées chez le babouin, le suivi des TGF- $\beta 1$  et TGF- $\beta 2$  a montré une évolution similaire.

Les TGF- $\beta 1$  et  $\beta 2$  peuvent être exprimés *in vitro* par la quasi-totalité des cellules de mammifères. *In vivo*, un nombre important de tissus sécrètent ces deux cytokines (1), cependant il est connu que les plaquettes et la matrice osseuse contiennent la plus forte concentration en TGF- $\beta$ . Ainsi, l'origine du taux basal circulant des TGF- $\beta 1$  et  $\beta 2$  est mal défini. Par ailleurs, les modulations sériques des TGF- $\beta 1$  et  $\beta 2$  sont intéressantes à connaître lors d'irradiation car ces deux cytokines ont de multiples effets dont l'inhibition de la croissance de populations cellulaires, en particulier en s'opposant à l'action de certaines cytokines susceptibles de favoriser la restauration hématologique lors d'aplasie radio-induite (2, 3). De ce fait, l'analyse de la chute des TGF- $\beta 1$  et  $\beta 2$  durant le syndrome aigu d'irradiation est importante, à travers ses causes et ses conséquences.

Nous avons réalisé une expérimentation à visée thérapeutique où des sujets irradiés sont traités par r-hIL-6, afin de diminuer l'amplitude et de raccourcir la durée de la thrombocytopénie radio-induite. Ce travail nous a permis d'évaluer l'implication des plaquettes et de la thrombocytopénie dans l'évolution des taux sériques de TGF- $\beta 1$  et  $\beta 2$  chez le babouin.

### MATÉRIEL ET MÉTHODE

Six babouins mâles (*Papio ursinus*) de 25 à 30 kg ont été soumis simultanément à une irradiation corporelle globale aiguë auprès du

réacteur Silène à la dose de 6 Gy (rapport N/G = 5,5). Trois sujets ont reçu un traitement par r-hIL-6 (10  $\mu$ g/kg/j) à partir de J + 1 durant dix jours consécutifs. Des prélèvements sanguins à la veine saphène postérieure sont effectués sur tubes secs ou avec anticoagulants afin de suivre différents paramètres cytohématologiques et médiateurs circulants. Ils sont réalisés à 1, 3, 6 et 24 heures après irradiation, et chaque matin avant l'administration de r-hIL-6 durant toute la période de traitement, puis deux fois par semaine jusqu'au quarantième jour. Les dosages de TGF- $\beta 1$  et  $\beta 2$  sont réalisés par technique ELISA (TGF- $\beta 1$  Predicta® Genzyme, TGF- $\beta 2$  Quantikine® R&D Systems).

### RÉSULTATS

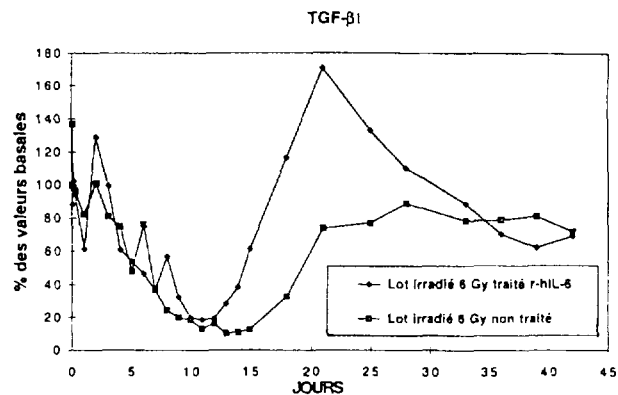
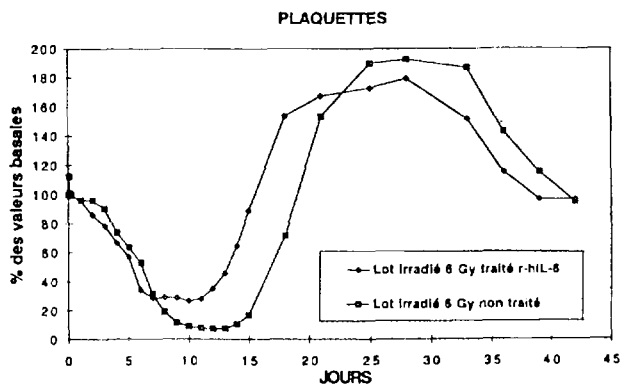
Ne sont rapportés ici que les suivis de la numération plaquettaire et des taux sériques en TGF- $\beta 1$  et TGF- $\beta 2$ .

#### Effets de l'irradiation sur les paramètres des sujets irradiés et non traités par la r-hIL-6

Comme le montre la figure 1 l'irradiation induit une thrombocytopénie sévère débutant 3 à 4 jours après l'exposition. La valeur moyenne la plus basse durant le nadir (12-13<sup>e</sup> jour) se situe à 7,2%  $\pm$  4,3% de la valeur moyenne initiale. Un pic initial des deux TGF- $\beta 1$  et  $\beta 2$  est observé à la troisième heure suivant l'irradiation, suivi d'un retour au niveau basal à 24 heures. Une chute s'amorce ensuite conjointement à celle des plaquettes. Les valeurs moyennes minimales des taux circulants de TGF- $\beta 1$  et TGF- $\beta 2$  sont respectivement à 10%  $\pm$  11% et 8,5%  $\pm$  9% des valeurs moyennes basales, à J + 13 et J + 10.

#### Effets de l'irradiation sur les paramètres des sujets irradiés et traités par la r-hIL-6

Chez ces sujets, le traitement par r-hIL-6 atténue la thrombocytopénie et accélère la restauration plaquettaire. Le nadir est atteint au huitième jour avec une valeur moyenne minimale à 26,5%  $\pm$  18% de la moyenne avant irradiation alors que celui-ci n'est atteint qu'au douzième jour chez les babouins non traités. La remontée plaquettaire s'amorce à J + 11 chez le groupe traité à J + 15 chez les sujets non traités. Les modifications des taux circulants de TGF- $\beta 1$  et  $\beta 2$  dans ce groupe sont similaires à celles observées chez les sujets non traités, avec un pic initial à trois heures et une chute en dessous des valeurs basales accompagnant l'abaissement plaquettaire. Comme pour la numération plaquettaire, l'administration de r-hIL-6 entraîne une accélération de la restauration des taux circulants des deux TGF- $\beta$  chez les sujets traités par rapport à ceux du groupe non traité. Pour les TGF- $\beta 1$ , le délai de nadir est de 11 jours et il



FIGURES 1 et 2 -- Évolution de la numération plaquettaire et du taux de TGF- $\beta$ 1 circulant chez des babouins irradiés à la dose de 6 Gy et traités ou non par r-hIL-6. La cinétique d'évolution du TGF- $\beta$ 1 suit celle de la numération plaquettaire lors de la thrombocytopenie radio-induite et lors du déplacement de celle-ci après administration de r-hIL-6.

est de 13-14 jours pour les animaux non traités, avec des taux circulants respectifs de 18,5 %  $\pm$  8,1 % et de 10,1 %  $\pm$  11,2 % par rapport aux taux basaux.

## DISCUSSION

Le TGF- $\beta$  est un peptide multifonctionnel, la diversité de l'ensemble de ses effets et son aptitude à faire réagir pratiquement toutes les populations cellulaires place celui-ci dans une position unique en regard des régulations normales et physiopathologiques.

Les plaquettes représentent la source naturelle la plus concentrée de TGF- $\beta$ 1 (20 mg/kg) (4).

La libération initiale de TGF- $\beta$  concomitante aux pics d'IL-6 et d'IL-8 est en relation avec la poussée inflammatoire précoce. Il peut être exprimé par les plaquettes par dégranulation lors d'un processus procoagulant (5), mais aussi par les monocytes et macrophages activés (1).

Son activité au sein de l'inflammation est complexe. D'une part anti-inflammatoire par son effet de dépression immunitaire, il inhibe la prolifération de la lignée lymphoïde et antagonise l'action de l'IL-1, de l'IL-2, de l'IL-3, des TNF  $\alpha$  et  $\beta$ , et des interférons. Sur le macrophage, il supprime le release de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, et inhibe le "respiratory burst", s'opposant de ce fait à la composante destructrice de l'inflammation. D'autre part, il peut activer les monocytes et macrophages qui vont exprimer le TNF  $\alpha$ , PDGF  $\beta$ , TGF  $\alpha$ , IL-1 et TGF- $\beta$  lui-même (1).

Dans le cadre des relations inflammation-troubles de la coagulation, le TGF- $\beta$  inhibe la synthèse de sérine protéase comme le t-PA, par contre il stimule la sécrétion de PAI-1 (3). Cette action de type antifibrinolytique, avec diminution de l'activité plasminique concourt à limiter le développement local de pathologies inflammatoires associées à la dissociation dermo-épidermique induite avec la plasminofomation.

Ce peptide en inhibant les métalloprotéases, collagénase, élastase, protège ainsi la matrice extracellulaire dont il stimule par ailleurs le développement et la prolifération fibroblastique, participant activement au processus fibrosique (séquelle importante de l'irradiation).

C'est un inhibiteur de l'hématopoïèse, il bloque le cycle cellulaire et maintient en phase G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> les précurseurs totipotents. En particulier l'action inhibitrice sur la mégacaryocytopoïèse suggère un effet de régulation autocrine en feed back négatif sur les plaquettes.

## CONCLUSION

L'irradiation corporelle globale aiguë s'accompagne :  
 - d'une élévation précoce et transitoire des TGF- $\beta$ 1 et  $\beta$ 2, contemporaine du déclenchement de la phase aiguë de l'inflammation radio-induite et de la libération des différentes cytokines liées à celle-ci. Résultant de l'activation de populations cellulaires sécrétrices de ces deux cytokines, celles-ci doivent être considérées à la fois comme marqueurs et modulateurs de cette phase durant le syndrome initial;  
 - d'une chute secondaire, en relation avec l'abaissement de la numération plaquettaire, et suivant le décours de celle-ci. Ceci peut constituer une situation favorisant la mobilisation médullaire, le maintien de la cellule souche à l'état quiescent étant sous dépendance du TGF- $\beta$  endogène.

(C.R.S.S.A., La Tronche - Grenoble)

## RÉFÉRENCES

- 1 A.B. ROBERTS and M.B. SPORN - The transforming growth factor- $\beta$ s, *Ann. Rev. Cell. Biol.*, 1990, 6, 597-641.
- 2 C.M. DUBOIS, F.W. RUSCETTI, J. STANKOWA and J.R. KELLER - Transforming growth factor- $\beta$  regulates *c-kit* message stability and cell-surface protein expression in hematopoietic progenitors, *Blood*, 1994, 93, 3138-3145.
- 3 J. MASSAGUÉ - The transforming growth factor- $\beta$  family, *Ann. Rev. Cell. Biol.*, 1990, 6, 597-641.
- 4 A.J.M. VAN DEN EIJNDEN-VAN RAAIJ, I. KOORNNEEF and E.J.J. VAN ZOEIEN - A new method for high yield purification of type beta transforming growth factor human platelets, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1988, 157, 16-23.
- 5 R.K. ASSOIAN and M.P. SPORN - Type  $\beta$  transforming growth factor in human platelets: Release during platelet degranulation and action on vascular smooth muscle cells, *J. Cell. Biol.*, 1986, 102, 1217-1223.