

# Comparaison de l'impact du traitement par acide hyaluronique ou acide hyaluronique + mannitol sur l'expression des principales protéases impliquées dans l'arthrose (MMP1, MMP13 et ADAMTs4). Etude in vitro.

C. Pinosa <sup>1</sup>, F. Morel <sup>2</sup>, L. Grange <sup>3</sup>, T. Conrozier <sup>4</sup>, B. Lardy <sup>2</sup>

1- GREPI AGIM FRE3405 CNRS-UJF-EPHE, Grenoble

2- GREPI AGIM FRE3405 CNRS-UJF-EPHE et CHU de Grenoble, Grenoble

3- Clinique Universitaire de Rhumatologie, CHU de Grenoble Hôpital Sud, Echirolles

4- Service de Rhumatologie, Centre hospitalier de Belfort-Montbéliard, Belfort



## Justification

L'arthrose est une maladie articulaire dégénérative dans la pathogénie de laquelle les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) jouent un rôle délétère majeur (Grange 2006, Rousset 2011). Il a été démontré que l'interleukine-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) active la production de DRO, eux-mêmes impliqués dans la production et/ou l'activation de métalloprotéases (MMPs). De nombreux travaux suggèrent que l'acide hyaluronique (HA) possède un effet chondroprotecteur par le biais de l'inhibition des MMPs.

• Grange L, Nguyen MV, Lardy B, Derouazi M, Campion Y, Trocme C, Paquet MH, Gaudin P, Morel F. NAD(P)H oxidase activity of Nox4 in chondrocytes is both inducible and involved in collagenase expression. *Antioxid Redox Signal*. 2006  
 • Rousset F, Nguyen MV, Grange L, Morel F, Lardy B. Heme oxygenase-1 regulates matrix metalloproteinase MMP-1 secretion and chondrocyte cell death via Nox4 NADPH oxidase activity in chondrocytes. *PLoS One*. 2013

## Objectif

Le but de l'étude était de comparer l'effet d'un acide hyaluronique commercialisé dans le traitement de la gonarthrose et concentré à 1% [HA1%] à celui d'un HA de poids moléculaire équivalent, concentré à 1,5%, associé à du mannitol (35mg/ml) [HAnOX-M]. Le mannitol étant connu pour son effet antioxydant sur les DRO et sur la diminution d'expression des principales protéases impliquées dans l'arthrose (MMP1, MMP13 et ADAMTs4).

## Résultats

En RT-PCR quantitative (Figure 1), le stress cytokinique produit par l'ajout d'IL1 $\beta$  sur les chondrocytes primaires augmente de façon très significative la synthèse des métalloprotéases MMP1, MMP13 et ADAMTs4. Sur les chondrocytes C-20/A4 (Figure 2), le traitement par HAnOX-M inhibe l'effet de la stimulation par l'IL1 $\beta$  sur l'augmentation d'expression de la MMP1, de la MMP13 et de l'ADAMTs4. Le traitement par HA1% par contre n'empêche pas l'augmentation des transcrits codant pour les deux métalloprotéases MMP13 et ADAMTs4 sous stress cytokinique. L'effet de la stimulation par IL1 $\beta$  sur l'augmentation d'expression de la MMP1 est en revanche inhibée par les deux traitements de manière équivalente.

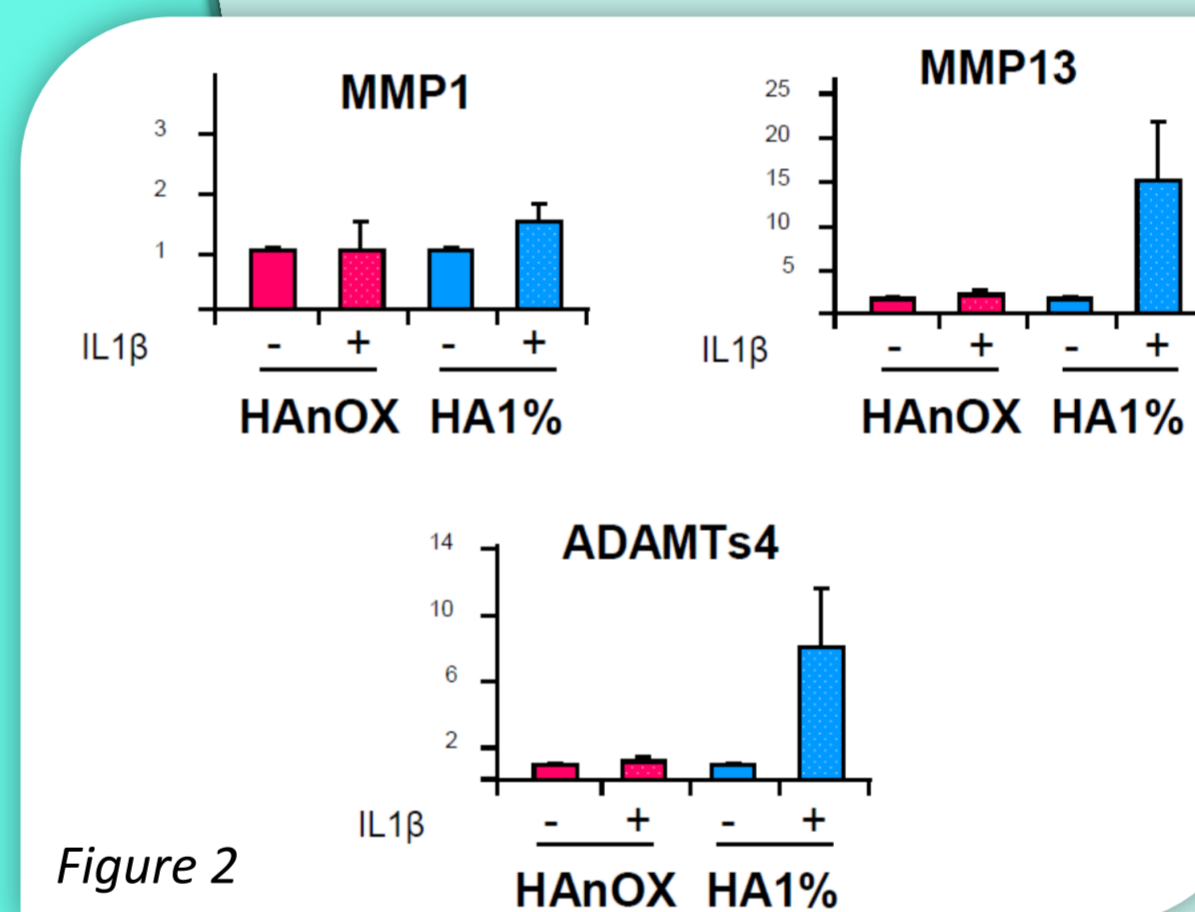
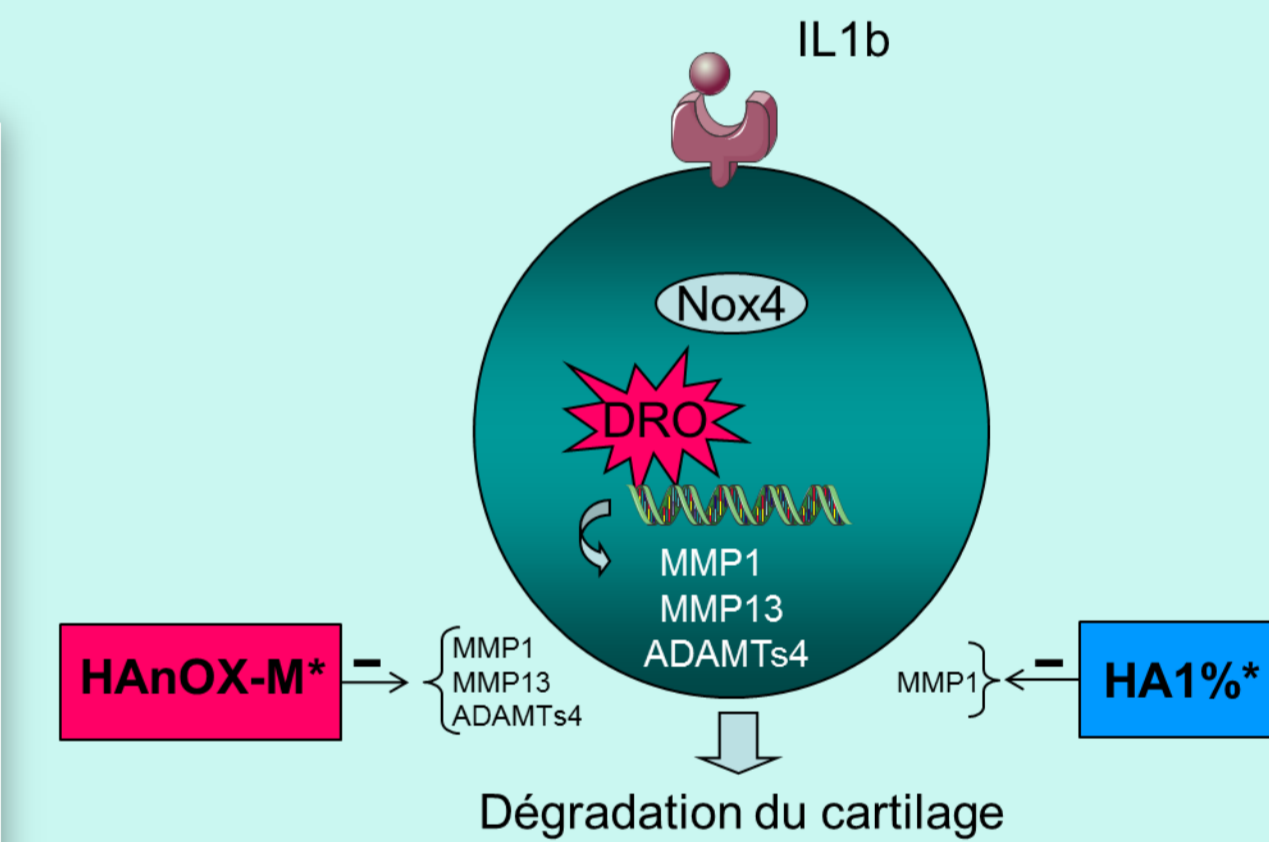


Figure 2



\*HAPPYVISC®, Laboratoire Labrha  
 \*\*GO-ON®, Laboratoire Rattapharm

## Méthodes

Afin d'obtenir une concentration finale de 2.5 mg/ml de HA, 1 ml d'HAnOX-M a été dilué dans 6 ml de DMEM SVF- (sans sérum de veau) et 1 ml de HA1% dans 4 ml de DMEM SVF-. A cette concentration, l'ajout de viscosupplément n'affectait pas la croissance de la lignée de chondrocytes humains C-20/A4.

Les expériences ont été réalisées sur des cultures cellulaires de chondrocytes de la lignée C-20/A4, mais également sur des chondrocytes primaires issus de cartilage de patients stimulés ou non par de l'IL1 $\beta$ . A confluence les cellules C-20/A4 ont été incubées avec ou sans viscosupplément, stimulées ou non par 2 ng/ml d'IL1 $\beta$  pendant 48h. Les cellules mises en culture dans les différentes conditions ont été récoltées après 48 heures. L'ARN total de ces cellules a été récupéré afin de réaliser la quantification des transcrits par méthode de Q-PCR pour les ARNm codant MMP1, MMP13, ADAMTs4, normalisée par rapport à trois gènes de ménage (RPL27, RPL32 et GADPH).

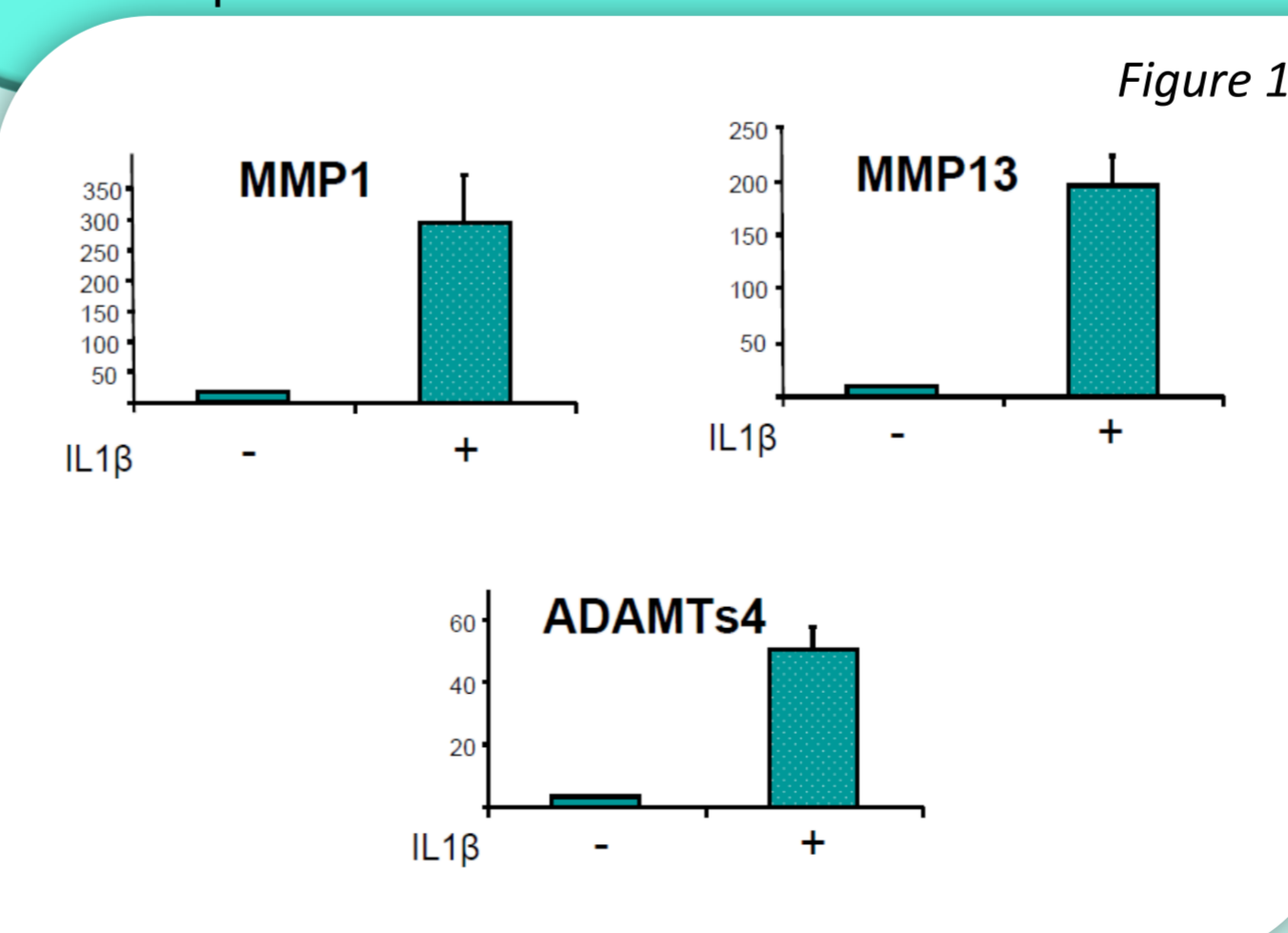


Figure 1

## Conclusion

Le fait d'associer une concentration élevée de mannitol à l'acide hyaluronique, semble avoir un effet thérapeutique positif sur l'expression des transcrits codant pour les métalloprotéases MMP1, MMP13 et ADAMTs4. Le traitement par HA seul n'a un effet potentiellement thérapeutique que sur l'expression de la MMP1.