



Hôpitaux de Lyon

JOURNEE DE LA RECHERCHE LYON SUD

JEUDI 26 JANVIER 2006

Faculté de Médecine LYON SUD
Amphithéâtre n° 1



La Journée Recherche est organisée par :

- la Commission Recherche du Centre Hospitalier LYON SUD
- la Commission Recherche de l'U. F. R. LYON SUD

Commission Recherche du Centre Hospitalier LYON SUD

Responsable: Professeur Jean-François NICOLAS

Professeur Françoise BERGER

Professeur Jacques BIENVENU

Docteur Julien BOHE

Docteur Marc BONNEFOY

Professeur Lionel COLLET

Docteur Isabelle DURIEU

Professeur Bernard FLOURIE

Professeur François-Noël GILLY

Docteur Jean-Pierre MAGAUD

Professeur Jacques ORGIAZZI

Professeur Claire POUTEIL NOBLE

Professeur Gilles SALLES

Commission Recherche de l'UFR LYON SUD

Responsable: Professeur Lionel COLLET

Docteur Mohammed BENAHMED

Professeur Claire RODRIGUEZ

Professeur Jean-Pierre FLANDROIS

Professeur Gilles FREYER

Professeur Gilles SALLES

Professeur François-Noël GILLY

Professeur Eric GILSON

Docteur Dominique KAISERLIAN

Docteur Jacqueline MARVEL

Professeur Jean-François NICOLAS

Professeur Jacques SAMARUT

Docteur Eric VAN GANSE

*Nous remercions les Laboratoires WYETH pour leur soutien dans
l'organisation de cette journée scientifique*

Wyeth

JOURNEE DE RECHERCHE LYON SUD

JEUDI 26 JANVIER 2006

CANCER - INFLAMMATION ET INFECTIOLOGIE

- 8 h 30 : Accueil des participants
- 9 h 00 : **Conférence inaugurale : Professeur Axel KAHN**
Directeur de l'Institut Cochin (Paris)
GENETIQUE ET CANCER
- 10 h 00 : **La recherche à Lyon-Sud**
F. N. GILLY – Doyen – Faculté de Médecine Lyon Sud - L. COLLET
Président de la Commission Scientifique – UFR Lyon Sud
J. ORGIAZZI – Président du C. C. M. du C. H. L. S. - G. SALLES
Président de la Commission Scientifique – H. C. L.
- 10 h 30 : **Session 1 : Cancer**
Modérateurs : J. ANDRE – F. BERGER – J. P. MAGAUD – J. SAMARUT
- 10 h 30 : *Gilson Eric* : Présentation du projet CERVO
- 10 h 50 : *Traverse-Glehen Alexandra* : Anomalies moléculaires et origine cellulaire des lymphomes de la zone marginale splénique
- 11 h 10 : *Vlaeminck Virginie* : Développements dans le génomique et la protéomique des cancers de prostate
- 11 h 30 : *Lebecque Serge* : Analyse de la réponse immunitaire in situ et de son impact sur l'évolution clinique des cancers
- 11 h 50 : *Bérard Frédéric* : Immunothérapie de la carcinose péritonéale
- 12 h 10 : *Benahmed Mohamed* : Environnement, infertilité et cancers hormono-dépendants
- 12 h 30 : *Bournaud Claire* : La TSH recombinante dans le traitement des métastases des cancers thyroïdiens
- 12 h 50 : *Chapet Olivier* : Radiothérapie asservie à la respiration

13 h 30 : *Repas à l'AMEUSO*

Session 2 : Inflammation, Infectiologie

Modérateurs : J. BIENVENU – I. DURIEU – B. FLOURIE – C. RABOURDIN-COMBE

- 14 h 30 : *Marvel Jacqueline* : Présentation du projet I2V (infection, immunité et vaccination)
- 14 h 50 : *Lotteau Vincent* : Lipoprotéines et immunité
- 15 h 10 : *Kaiserlian Dominique* : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Physiopathologie
- 15 h 30 : *Lepape Alain* : Infections nosocomiales en réanimation : rôle de l'altération de l'état immunitaire
- 15 h 50 : *Pouteil-Noble Claire* : Suivi des infections virales chez le transplanté rénal
- 16 h 10 : *Devouassoux Gilles* : Intolérance à l'aspirine : physiopathologie et marqueurs moléculaires
- 16 h 30 : *Saurin Jean-Christophe* : Vidéo-endoscopie à la recherche de l'origine des saignements digestifs

17 h 00 : *Fin de la journée*

CONFERENCE INAUGURALE

Professeur Axel KAHN

*Directeur de l'Institut Cochin
22 rue Mechain
75014 PARIS*

L'impérialisme des micro-ARN s'étend maintenant au cancer

The micro RNA imperialism now extends to cancer

Axel Kahn

Le génome des mammifères contient environ 26000 gènes codant des protéines, auxquels il faut ajouter quelques milliers de gènes dont l'action est relayée par des micro-ARN. Les premiers d'entre eux furent identifiés chez le nématode *Caenorhabditis elegans* à partir de 1993. C'est en effet à cette date que l'on découvrit que le gène de lin-4, un inhibiteur de la fonction de lin-14, ne codait pas comme ce dernier une banale protéine, mais commandait la synthèse d'un petit oligonucléotide non codant de 22 pb partiellement complémentaires de 7 sites conservés dans la région 3' non traduite de lin-14. Sept ans après, une observation similaire était faite sur le gène let-7, un régulateur de l'expression du gène lin-41 [1]. Les gènes lin-4 et let-7 ont été connus depuis longtemps. Ils sont impliqués dans le phénotype de mutations hétérochroniques, qui comme leur nom l'indique, modifient la chronologie d'épisodes fondamentaux du développement. L'histoire de ces gènes hors du commun devait par la suite rejoindre la saga du phénomène d'interférences ARN étudié d'abord dans les plantes, puis dans la drosophile avant que d'être étendu à l'ensemble des cellules animales et à nombre de protistes. Des doubles brins d'ARN introduits dans des cellules ou produits de manière endogènes sont clivés en petits fragments de 21 à 22 pb dont un des brins s'associe à un complexe multimoléculaire appelé RISC (RNA- Induced Silencing Complex). Positionné en fonction de la

séquence spécifique du petit fragment d'ARN, ce complexe induit la dégradation de l'ARN messager complémentaire. La différence fondamentale entre les petits ARN interférents et les micro-ARN est que ces derniers ne sont pas parfaitement complémentaires de leurs cibles. Leur action exige la présence au niveau de celles-ci de plusieurs sites d'homologie partielle dont l'occupation par un complexe de type RISC entraîne un blocage de la traduction. Ces dernières années, on s'est également rendu compte que des mécanismes dépendant de micro-ARN étaient en jeu non seulement dans la régulation de la stabilité et de la traduction des messagers, mais aussi, au niveau nucléaire, dans la formation de l'hétérochromatine, la méthylation de l'ADN et, chez des protistes ciliés, dans le réarrangement de l'ADN lors de la maturation du micro-noyau « germinal » en macro-noyau transcriptionnellement actif [2].

Le rôle initial du phénomène d'interférences ARN semble avoir été de s'opposer à l'invasion par des agents infectieux engendrant, directement ou indirectement, l'accumulation d'ARN double-brins. Un tel rôle immunitaire des micro-ARN s'est sans doute révélé moins indispensable lorsque, au cours de l'évolution, les animaux ont développé une immunité adaptative humorale et cellulaire sophistiquée. Des résultats récents de l'équipe d'Olivier Voinnet (CNRS, Strasbourg), en collaboration avec des chercheurs de l'Hôpital Saint-Louis, suggèrent pourtant qu'un micro-ARN cellulaire pourrait contribuer à une défense anti-virale dans des cellules humaines. L'accumulation du rétrovirus simien PFV-1 (Primate Foamy Virus type 1) est en effet limitée par ce micro-ARN. De plus, le virus PFV-1 synthétise une protéine dirigée contre l'action des micro-ARN, se prémunissant ainsi partiellement de leur rôle inhibiteur [3].

Cependant, pour l'essentiel, les micro-ARN semblent jouer chez les animaux, en particulier chez les mammifères, un rôle régulateur au cours du développement. L'invalidation par recombinaison homologue du gène codant la protéine dicer, indispensable à l'apprêtement des micro-ARN aux dépens de leurs précurseurs, bloque totalement la différenciation de cellules souches embryonnaires murines [4]. Des micro-ARN cellulaires semblent impliqués dans de

nombreux processus de différenciation, hématopoïétiques, pancréatiques, neuronales... etc [1]. En réalité, le nombre de gènes codant des protéines susceptibles d'être modifiées dans leur expression par des micro-ARN est considérable [5], même s'il est vrai que les gènes commandant la synthèse de ces derniers sont dix fois moins nombreux que ceux codant classiquement des protéines. En effet, les micro-ARN n'étant que partiellement homologues de leurs cibles peuvent en reconnaître de multiples. Inversement, tout messenger peut être la cible de plusieurs espèces de micro-ARN. C'est donc un réseau régulateur de l'expression du génome d'une grande complexité qui émerge de ces découvertes récentes.

On sait depuis longtemps que le cancer est associé à des anomalies de la différenciation et à des perturbations de l'expression du génome. Il apparaissait donc logique d'imaginer que les micro-ARN régulateurs puissent être impliqués dans ces anomalies. C'est ce qui semble maintenant avéré. La famille des gènes codant des micro-ARN de type let-7, orthologues du gène hétérochronique initialement caractérisé chez *Caenorhabditis elegans*, reconnaissent plusieurs sites dans l'extrémité 3' non codante des messagers Ras, y compris chez l'homme, et sont capables d'inhiber l'expression de cet oncogène [6]. De plus, un gène codant le précurseur polycistronique de sept micro-ARN est localisé en 13Q31, un locus amplifié dans différents types de lymphomes et autres tumeurs. Les micro-ARN correspondant s'accumulent dans des cellules de lymphomes B, où ils semblent coopérer avec l'oncogène c-myc pour promouvoir la prolifération tumorale [7]. Un autre travail montre que la protéine c-Myc se lie au locus des gènes des micro-ARN dont elle active la transcription. En retour, deux micro-ARN apparaissant capables d'inhiber la synthèse de la protéine oncogénique E2F1, dont le gène est une cible de Myc [8]. Selon ces travaux, des micro-ARN du locus 13Q31 seraient les régulateurs négatifs de l'activation d'E2F1 par Myc. Le gène c-myc étant lui-même activé par E2F1, c'est par conséquent à un processus homéostatique, peut-être essentiel au contrôle de la prolifération cellulaire, que participent ici les micro-ARN.

Quoiqu'il y ait une contradiction apparente entre les résultats de He et al [7] pour qui les micro-ARN du locus 13Q31 sont des oncogènes, et ceux de O'Donnell et al [8] les voyant plutôt comme des limitateurs de prolifération, cet ensemble de travaux suggère que les micro-ARN sont impliqués dans les perturbations de l'expression génétique associée à la cancérisation. S'il en est ainsi, l'établissement d'un profil de ces micro-ARN pourrait être précieux pour distinguer différents types de cellules tumorales, voire évaluer leur potentiel prolifératif. Encore fallait-il développer une méthode simple permettant d'établir un tel profil. C'est maintenant chose faite grâce à l'ingéniosité de plusieurs équipes du Broad Institute, du MIT et de Harvard à Cambridge (MA, USA). La base de la technique est d'immobiliser des oligonucléotides spécifiques de plusieurs types de micro-ARN sur des billes de polystyrène spécifiquement marquées par un mélange de deux colorants fluorescents en proportions précisément déterminées. Les micro-ARN des échantillons à étudier sont recopiés par transcription inverse à l'aide d'une amorce elle-même marquée. Analysé en cytométrie de flux, le marquage de l'amorce permet de détecter l'abondance de l'espèce de micro-ARN hybridé à une séquence donnée dont la nature est indiquée sans ambiguïté par la proportion des deux marqueurs fluorescents de la bille de polystyrène [9]. Cette technique bien en mains, les auteurs démontrent en effet que le profil des deux cents micro-ARN étudiés est très spécifique des différentes tumeurs et de leur origine et diffère de celui des tissus normaux correspondants. Le diagramme apparaît, de plus, beaucoup plus simple, et donc facile à interpréter, que celui du profil différentiel des ARN messagers. Si ces résultats sont confirmés, la carte d'identité des tumeurs par l'analyse du profil d'expression des transcrits pourrait dans l'avenir être considérablement simplifiée en se limitant aux micro-ARN.

Au total, le tableau se confirme d'un niveau supplémentaire de régulation de l'expression du génome au cours du développement, de la différenciation et de la cancérogenèse. Tous les regards étaient tournés depuis des décennies vers la structure de la chromatine, les modifications post-traductionnelles des histones et de l'ADN, et les facteurs de transcription. Il

apparaît aujourd'hui qu'un réseau de régulation relayé par des micro-ARN joue aussi un rôle essentiel. Ce dernier pourrait même se révéler être d'un ordre hiérarchique supérieur aux deux autres puisque des micro-ARN peuvent contrôler à la fois la structure de la chromatine, la méthylation et l'expression des gènes codants des facteurs de transcription.... Décidément, l'histoire n'est pas finie, en particulier celle du décryptage des mécanismes de l'expression du génome.

1. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 2004 ; 431 :350-5.
2. Matzke IA, Birchler JA. RNAi-mediated pathways in the nucleus. *Nature reviews, genetics* 2005 ; 6 : 24-35.
3. Lecellier C-H, Dunoyer P, Arark et al. A cellular microRNA mediates antiviral defense in human cells. *Science* 2005 ; 308 : 557-60.
4. Kanellopoulou C, Muljo S, Kung AL, et al. Dicer-deficient mouse embryonic stem cells are defective in differentiation and centromeric silencing. *Genes Dev.* 2005 ; 19 : 489-501.
5. Lim LP, Lau NC, Garret-Engele P, et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large number of target mRNAs. *Nature* 2005 ; 433 : 769-73.
6. Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, et al. Ras is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell* 2005 ; 120 : 635-47.
7. He L, Thomson JM, Heman MT, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005 ; 435 : 828-33.
8. O'Donnel KA, Wentzel EA, Zeller KI, Dang CV, Mendell JT. c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature* 2005 ; 435 : 839-43.
9. Lu J, Getz G, Miska EA, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005 ; 435 : 834-38.

RESUMES DES CONFERENCES

PRESENTATION DU CENTRE D'ETUDES, DE RECHERCHE ET DE VALORISATION EN ONCOLOGIE

E. Gilson

Laboratoire de Biologie Moléculaire de la Cellule, ENSL, CNRS UMR5161 INRA U1237

IFR128 et Service "Biologie des Tumeurs Solides - Génomique - Protéomique"

Centre Hospitalier Lyon-Sud - 69495 Pierre-Bénite cedex FRANCE

+ "Equipes CERVO" : UMR5161, Jacques Samarut, Geneviève Fourel, Eric Gilson; EA3737, Gilles Salles; EA3738, François-Noël Gilly, Véronique Trillet-Lenoir; U407, Jean André.

La recherche, en cancérologie, est de plus en plus caractérisée par des interactions fortes entre les sujets cognitifs les plus fondamentaux de la biologie et la recherche clinique. Cette évolution nécessite, plus que jamais, des lieux de travail et d'échange entre les chercheurs fortement impliqués dans la recherche fondamentale et les cliniciens engagés dans la recherche clinique. Dans cet esprit, le Centre d'Etudes, de Recherche et de Valorisation en Oncologie (CERVO), soutenu par l'Université Claude Bernard Lyon-1, les Hospices Civils de Lyon, la Cancéropole Lyon-Auvergne Rhône-Alpes (CLARA), le CNRS, l'ENS Lyon et l'INSERM, va permettre de mobiliser, sur le même campus hospitalo-universitaire du Centre Hospitalier Lyon-Sud, plusieurs équipes de recherche dans le but de développer des projets scientifiques regroupés autour de trois thèmes :

- Epigénétique des cancers lymphoïdes,
- Récepteurs Hormonaux et Cancers Hormono-dépendants,
- Ciblage pharmacologique a visée thérapeutique.

Plusieurs de ces projets ont pour objectif, de mieux comprendre la contribution d'altérations épigénétiques dans l'oncogenèse, allant de l'exploration fonctionnelle des télomères à l'étude des complexes chromatiniens impliquant les récepteurs nucléaires d'hormone.

ETUDE DE L'HETEROGENEITE MOLECULAIRE DES LYMPHOMES B DE LA ZONE MARGINALE SPLENIQUE ET GANGLIONNAIRE

A Traverse-Glehen, A Verney, L Baseggio, P Felman, E Callet-Bauchu, C Thieblemont, M FFrench, JP Magaud, B Coiffier, F Berger, G Salles.

Les lymphomes B de la zone marginale splénique et ganglionnaire constituent un groupe particulier de lymphomes inclus récemment dans les classifications, encore mal connus et pour lesquels aucune anomalie moléculaire récurrente n'a été identifiée. Ils sont caractérisés par un certain degré d'hétérogénéité morphologique et clinique reflétant probablement différents mécanismes moléculaires sous-jacents. Il est donc important, tant pour le clinicien que pour le pathologiste, de clarifier cette hétérogénéité et surtout de caractériser les lésions génétiques dans le but d'identifier, de manière précise, la cellule à l'origine du lymphome, les mécanismes de l'initiation et de la progression tumorale et par là, avoir une meilleure connaissance du diagnostic, du pronostic et du traitement.

Le processus d'hypermutation somatique des gènes variables des immunoglobulines (Ig) est un mécanisme majeur de diversification du répertoire des lymphocytes B et l'analyse des gènes d'immunoglobulines des cellules B pathologiques a montré la présence de mutations dans la majorité des cas de lymphomes. Dans une série de 49 lymphomes B de la zone marginale splénique et ganglionnaire, nous avons mis en évidence une hétérogénéité moléculaire avec environ 1/3 de cas ne présentant pas de mutations somatiques au niveau des gènes des Ig dans les lymphomes spléniques alors que tous les cas ganglionnaires étudiés étaient mutés. L'utilisation de segments de gènes d'Ig particuliers reflétaient enfin la présence d'une pression de sélection antigénique.

Nous avons recherché des mutations somatiques sur d'autres oncogènes cellulaires impliqués dans la différenciation lymphocytaire B (BCL6, PAX5, PIM1 et RHO-H). L'absence fréquente de mutations de BCL6 (3 cas mutés/50) suggère un profil mutationnel différent de celui observé au niveau des cellules B normales des centres germinatifs (30 à 40 % sur les centrocytes et centroblastes) et au niveau d'autres lymphomes où les mutations de BCL6 sont fréquentes. Pour les autres oncogènes étudiés, le taux de mutations est également faible avec 2 cas mutés sur 50 pour chaque gène sans distribution particulière des cas mutés entre les formes spléniques et ganglionnaires. La faible fréquence des mutations somatiques sur ces oncogènes suggère que le processus d'hypermutations somatiques ne contribue pas à la lymphomagenèse dans ces lymphomes. Ceci est en accord avec l'absence de translocations dans ces lymphomes. En effet, les cassures doubles brins de l'ADN générées lors du processus d'hypermutation ont été proposées comme pouvant contribuer à la survenue de translocations.

Ces résultats indiquent :

- l'hétérogénéité de ces pathologies, entre elles mais aussi à l'intérieur du groupe des lymphomes spléniques,
- que l'origine cellulaire des lymphomes de la zone marginale est distincte des cellules B des centres germinatifs et présente certaines caractéristiques des cellules B mémoires impliqués dans les réponses immunitaires thymo-indépendantes de type 2
- que ces lymphomes sont l'une des rares entités où BCL6 n'ait pas muté.

DEVELOPPEMENTS DANS LA GENOMIQUE ET LA PROTEOMIQUE DES CANCERS PROSTATIQUES

V. Vlaeminck-Guillem^{1,2}, N. Allioi¹, S. Vincent¹, J. André^{1,2,3}, J. Samarut^{1,2,3}

¹*Laboratoire de Biologie Moléculaire de la Cellule, ENS Lyon UMR CNRS 5661, INRA 1237*

²*Service de Biologie des Tumeurs Solides, Centre Hospitalier Lyon Sud*

³*Université Claude Bernard Lyon 1*

L'amélioration du pronostic du cancer prostatique dépend de l'**identification de nouveaux marqueurs diagnostiques et/ou pronostiques** permettant un diagnostic plus précoce et un traitement plus adapté. Une première approche, l'**analyse protéomique du sérum**, consiste à rechercher, par une technique de protéomique appliquée, la **signature spectrométrique sérique spécifique** d'une situation clinique (cancer prostatique) par rapport à une situation clinique de référence (sujet sain). Une fois cette signature spectrométrique identifiée, nous tenterons de la valider comme un outil permettant un diagnostic (cancer ou non) ou la prédiction d'un pronostic de survie (cancer agressif ou indolent, potentiel métastatique ou non ...). Cette étude est développée en collaboration avec le Service d'Urologie du CHLS (Pr. P. Perrin).

Le **récepteur des androgènes** est le médiateur des effets anti-apoptotiques et proliférants des androgènes sur les cellules prostatiques normales et cancéreuses. Il apparaît potentiellement impliqué dans la survenue et la progression des cancers de la prostate. Appartenant à la famille des récepteurs nucléaires, il se comporte comme un facteur transcriptionnel. Caractériser les **complexes transcriptionnels dans lesquels le récepteur des androgènes est inclus (gènes cibles et cofacteurs)** apparaît donc comme une seconde approche pertinente pour identifier de nouveaux marqueurs ou de nouvelles cibles thérapeutiques en cancérologie prostatique. La recherche des gènes cibles utilisera une **puce à ADN** permettant d'identifier les gènes dont l'expression est stimulée par l'exposition de cellules prostatiques en culture aux androgènes et une puce dédiée à la recherche des gènes cibles après purification des séquences liant le récepteur des androgènes par la technique d'immunoprécipitation de la chromatine (**ChIP-chip**). Pour caractériser les partenaires transcriptionnels du récepteur des androgènes, nous l'utiliserons comme appât pour **purifier, par affinité**, les protéines interagissant physiquement avec lui. Les complexes protéiques purifiés seront étudiés selon les techniques de **protéomique analytique**.

LES CANCERS SONT-ILS DES MALADIES IMMUNITAIRES ?

S. Lebecque⁽¹⁾⁽²⁾, F. Berger⁽²⁾, G. Devouassoux⁽³⁾, Y Pachéco⁽³⁾, A. Risler⁽⁴⁾, G. Salles⁽⁵⁾ et I. Treilleux⁽⁶⁾

⁽¹⁾ INSERM U503 IFR128 Université Lyon 1; Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon Sud

⁽²⁾ Service d'Anatomie Pathologique

⁽³⁾ Service de Pneumologie,

⁽⁴⁾ EA3091 Université Lyon 1

⁽⁵⁾ Service d'Onco-hématologie

⁽⁶⁾ Centre Léon Bérard, Service d'Anatomie Pathologique

Tél : 04.37.28.24.12 Fax : 04.37.28.23.41 serge.lebecque@chu-lyon.fr

Les cancers se distinguent des tissus normaux par l'expression de certains gènes et par les perturbations "inflammatoires" qui les accompagnent à des degrés divers. Ces caractères sont normalement susceptibles de déclencher la reconnaissance et l'élimination par le système immunitaire inné et/ou adaptatif. Le concept d'immunosurveillance des tumeurs a été formellement démontré dans des modèles murins. Ceux-ci ont permis de définir 3 phases successives dans la relation système immunitaire/tumeur : l'élimination, l'échappement, puis l'"édition". Chez l'homme, la situation est moins claire.

Nos travaux et ceux de la littérature récente ont mis en évidence : (1) la présence très précoce des cellules immunitaires sur les sites tumoraux ; (2) la diversité des réponses immunitaires *in situ* dans un même type de cancer précoce selon les individus ; (3) la corrélation entre les caractéristiques qualitatives et quantitatives des réponses immunitaires *in situ* et l'évolution clinique des patients cancéreux ; (4) la différence entre les caractéristiques de la réponse *in situ* dans les tumeurs primaires et dans les sites métastatiques ganglionnaires.

Notre travailons actuellement à étendre à des séries cliniques plus larges nos premières observations. Dans les **cancers pulmonaires précoces non à petites cellules** (NSCLC), nous voulons confirmer l'importance de la densité des cellules dendritiques matures intratumorales comme facteur de bon pronostic.

Dans les **lymphomes folliculaires** (LF), nous voulons définir plus précisément la nature des cellules immunitaires présentes sur le site tumoral qui conditionnent l'évolution clinique. Dans le **cancer du sein**, nous poursuivons au travers d'une collaboration l'analyse de l'infiltration des tumeurs précoces par des cellules dendritiques plasmacytoïdes et leur association à un très mauvais pronostic.

La seconde partie de notre projet consistera à étudier les mécanismes par lesquels le système immunitaire peut affecter l'évolution clinique des cancers. Nous analyserons les cellules immunitaires isolées à partir de prélèvements tumoraux pour définir leurs activités immunitaires, angiogéniques, pro-inflammatoires, et leur influence sur la prolifération tumorale.

Ce projet apportera des éléments de réponse aux questions suivantes :

- La réponse immunitaire *in situ* influence-t-elle significativement l'évolution des NSCLC, des LF et des adénocarcinome mammaires précoces ?
- Peut-on définir et expliquer des signatures immunitaires *in situ* associées à un pronostic favorable ou défavorable ?
- Certains marqueurs immunitaires ont-ils une valeur pronostique utile au traitement de ces cancers ?

En conclusion, une analyse systématique de la nature des réponses immunitaires dans les cancers précoces aidera à identifier les dysfonctionnements du système immunitaire qui permettent l'émergence clinique et l'extension des tumeurs. Cette étude pourrait ouvrir la voie à de nouvelles approches thérapeutiques mais aussi préventives des cancers et de leurs rechutes.

UTILISATION DE LA TSH HUMAINE RECOMBINANTE EN PREPARATION A LA RADIOTHERAPIE METABOLIQUE DES METASTASES DE CANCERS DIFFERENCIES DE LA THYROÏDE

C. Bournaud¹, C. Cugnet¹, F. Borson-Chazot¹ et J. Orgiazzi²

¹Centre de Médecine Nucléaire, Groupement Hospitalier Est

²Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Lyon Sud

Largement utilisée en préparation aux explorations diagnostiques dans le cadre de la surveillance des cancers thyroïdiens différenciés, la TSH humaine recombinante (rhTSH) est depuis peu disponible en préparation à la totalisation isotopique des cancers thyroïdiens différenciés à faible risque de récurrence. L'utilisation de la rhTSH en préparation à la radiothérapie métabolique de métastases de cancers thyroïdiens différenciés a été rapportée dans quelques études rétrospectives, mais l'expérience reste limitée.

Nous rapportons les résultats d'une enquête nationale sur l'utilisation de la rhTSH en préparation au traitement par ¹³¹I de métastases de cancers thyroïdiens différenciés. Huit services de Médecine Nucléaire (Lyon, Marseille, Paris Hôpital Saint Louis, Angers, Toulouse, Clermont-Ferrand, Nancy et Reims) ont utilisé la rhTSH dans cette indication, à titre compassionnel, chez 46 patients (32 femmes et 14 hommes), d'âge moyen 67 ans, présentant des métastases principalement osseuses (n = 24) et pulmonaires (n = 26). La majorité de ces patients avaient déjà reçu une ou plusieurs doses d'¹³¹I après préparation par la méthode conventionnelle (sevrage en L-Thyroxine), et l'activité moyenne administrée s'élevait à 15,25 GBq.

Au total, 71 doses thérapeutiques d'¹³¹I ont été administrées après préparation par la rhTSH. Le taux de TSH est en moyenne de 211 mU/l 24 heures après la seconde injection de rhTSH. A cette date, l'augmentation du taux de thyroglobuline par rapport au taux sous traitement freinateur est en moyenne de 200%, avec une grande variabilité inter-individuelle (0 à 590 %). Parmi les 41 patients pour lesquels l'analyse est possible, la comparaison des clichés de scintigraphie lors de la dernière dose en sevrage thérapeutique et après préparation par rhTSH montre une concordance dans 33 cas. Dans 6 cas, les sites métastatiques qui captaient l'¹³¹I en situation de sevrage en L-Thyroxine ne sont pas visualisés sur les clichés après préparation par la rhTSH, alors que les taux de thyroglobuline restent élevés. Trois à six mois plus tard, le taux de thyroglobuline sous traitement freinateur est stable ou en diminution de plus de 25 % par rapport au taux lors de la radiothérapie métabolique chez plus de la moitié des patients.

Les données de cette enquête montrent la bonne tolérance de la rhTSH en préparation à la radiothérapie métabolique des métastases de cancers thyroïdiens différenciés, son efficacité à stimuler le captage de l'iodure par le tissu thyroïdien métastatique. Toutefois, des études prospectives incluant l'analyse de la cinétique de captage de l'iodure sont nécessaires pour évaluer l'efficacité de cette modalité de préparation à la radiothérapie métabolique.

APPORTS DU GATING DANS LE TRAITEMENT DES CANCERS BRONCHIQUES

O. Chapet

Département de radiothérapie Oncologie, Centre Hospitalier Lyon Sud, Pierre-Bénite

Le cancer bronchique représente la première cause de mortalité par cancer chez l'homme. Si la chirurgie est le principal traitement des formes non métastatiques, elle n'est réalisable que dans 20 % des cas en raison de contre-indications fréquentes : insuffisance respiratoire ou tumeur inextirpable. L'alternative thérapeutique locale est alors la radiothérapie externe. L'irradiation des tumeurs thoraciques est l'une des plus complexes car reposant sur un subtil équilibre à définir pour chaque patient entre le souhait d'obtenir un contrôle local de la maladie et la nécessité de fixer des limites raisonnables de probabilités de toxicités notamment pulmonaires, cardiaques et oesophagiennes. Or, il a été clairement démontré que les chances de contrôler localement la maladie dépendaient directement de la dose d'irradiation délivrée à la tumeur. Le développement de la radiothérapie de conformation avec reconstruction en 3D (à partir d'un scanner) de la tumeur et des différents organes a déjà permis de mieux appréhender les risques de toxicité et d'augmenter la dose délivrée à la tumeur. Cependant, les résultats, en terme de contrôle local, restent très insuffisants. Une meilleure optimisation du rapport bénéfique (contrôle tumoral)/risques (toxicités) repose maintenant sur le développement de nouvelles technologies permettant notamment de réduire les volumes à irradier. En effet, les tumeurs bronchiques bougent avec la respiration selon une amplitude variable. Il est ainsi nécessaire d'ajouter, autour de la tumeur, des marges de sécurité intégrant ce mouvement ce qui augmente considérablement le volume de tissus sains irradiés. Depuis 2003, une nouvelle technique d'irradiation, asservie à la respiration du patient (gating), est utilisée dans le Service de Radiothérapie de Lyon Sud.

Elle consiste, à l'aide d'un spiromètre, à synchroniser sous l'accélérateur les temps d'irradiation avec la respiration du patient. L'irradiation est réalisée au cours de phase d'apnée en inspiration profonde. Il est ainsi possible d'obtenir une position immobile et reproductible de la tumeur. La suppression du mouvement respiratoire autorise une diminution des marges appliquées autour de la tumeur et ainsi des volumes de tissus sains irradiés. Le gating fait actuellement l'objet d'une évaluation médico-économique dans le cadre d'un Soutien aux Thérapeutiques Innovantes et Coûteuses (STIC).

**PRESENTATION DE LA PLATEFORME DE RECHERCHE
"INFECTION, IMMUNITE ET VACCINATION"**

J. Marvel

*INSERM U 503 "Immunobiologie fondamentale et clinique", IFR 128
21 avenue Tony Garnier - 69007 LYON*

L'Unité I2V "Immunité, Infection, Vaccination" dont la création est demandée à l'INSERM pour l'année 2007, résulte de la réunion des équipes d'Immunologie de l'IFR128 du Biopole de Gerland. Des équipes, travaillant dans le domaine de la vaccination ou de l'infectieux, participent également à ce projet d'Unité.

Au cours du dernier quadriennal, les immunologistes de l'IFR 128 ont entrepris le développement de la plateforme de recherche située sur le campus Lyon Sud. Celle-ci devrait permettre le transfert rapide vers la clinique de recherche d'amont des équipes de l'I²V. Cet espace de 200m², localisé dans des locaux UCBL1 de l'UFR Lyon-Sud, regroupera des équipes permanentes et des études cliniques ou de transferts qui utiliseront la plateforme pour la durée du projet. Les équipes permanentes sont l'équipe dirigée par S. Lebecque, dont les thématiques de recherche sur des cancers primaires nécessitent une forte proximité avec l'Hôpital et le plateau d'Immunomonitorage dirigé par J. Bienvenu. Les projets, développés sur la plateforme, émaneront des autres équipes constituant l'Unité I2V dont les responsables sont : André P./Lotteau V., Bonnefoy-Berard N., Defrance T., Kaiserlian D., Marvel J., Nicolas J. F., Rabourdin-Combe C., Vandenesch F., Etienne J. et Verrier B.

Les projets cliniques, qui se développeront sur la plateforme, comprennent entre autres des études dans les domaines suivants :

- **Maladies inflammatoires, auto immunes et allergiques**

- Rôle des lymphocytes T CD8+ dans l'initiation des lésions intestinales au cours de la maladie de Crohn.
- Tolérance orale dans l'allergie alimentaire aux protéines de lait de vache chez l'enfant.
- Etude du niveau d'expression de Bfl-1 chez des patients présentant un lupus clinique avec ou non des atteintes néphrologiques.
- Physiopathologie de l'allergie aux médicaments.
- Recherche de nouvelles cibles thérapeutiques et de nouveaux médicaments visant à combattre la polyarthrite rhumatoïde (PR).

- **Cancer**

- Evaluation de Bfl-1 comme cible thérapeutique dans la leucémie lymphoïde chronique et les lymphomes B.
- Injection intra ou juxta ganglionnaire de cellules dendritiques autologues chargées par des fragments de cellules allogéniques de mélanome chez des malades atteints de mélanome avec métastases viscérales.
- Essais cliniques prospectifs de phase I/II ouverts, pour mesurer la tolérance à un vaccin autologue issu de cellules d'origine tumorale modifiées par DNP dans le cadre du traitement de patients atteints d'une carcinose péritonéale.

- **Infection et vaccination**

- Vaccination transcutanée par le ROUVAX.
- Immunothérapie de la dermatite atopique par vaccination anti-rougeoleuse.

Ces projets de transfert associent plusieurs Services et Unités du Centre Hospitalier Lyon-Sud (Néphrologie, Immunologie Clinique, Gastro-Entérologie, Chirurgie, Hématologie, Pneumologie, Rhumatologie et Laboratoire d'Immunologie).

PHYSIOPATHOLOGIE DES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN

D. Kaiserlian

Equipe "Immunité, Vaccination, Tolérance"

INSERM-U404, CERVI-IFR128 Bio-Sciences, Lyon-Gerland

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) comprennent deux entités principales caractérisées par une inflammation intestinale chronique ou récurrente: la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH). L'étiologie des MICI est en grande partie inconnue. Il est toutefois certain que les MICI résultent de l'interaction chez un même individu de facteurs à la fois génétiques, environnementaux et immunologiques. La MC et de la RCH se distinguent par des lésions intestinales respectivement profondes et superficielles de la muqueuse intestinale, impliquant des lymphocytes T. La sévérité de la colite constitue une indication chirurgicale, dont les récurrences sont fréquentes. Le traitement actuel des poussées est basé sur l'utilisation de corticoïdes souvent mal tolérés. Il n'existe, à l'heure actuelle, aucun test diagnostique prédictif des poussées et le traitement de fond par des immunosuppresseurs n'est pas toujours efficace et à l'origine parfois de complications.

Nous avons récemment développé des modèles précliniques de colite aiguë et de colite chronique chez la souris, qui reproduisent la physiopathologie de la MC (*Thèse de doctorat d'Université de Stéphane Nancey*). Nous avons ainsi démontré que des lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques, spécifiques d'antigènes du soi modifiés ou de peptides viraux présentés dans le colon, sont responsables d'une réponse de type hypersensibilité retardée de type IV colique, à l'origine des poussées inflammatoires et des lésions épithéliales.

Les données obtenues suggèrent que l'augmentation dans le sang ou la lamina propria de l'intestin de lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques (producteurs de granzyme B) pourrait constituer un marqueur prédictif de l'initialisation des poussées inflammatoire dans la MC, plus précoce et plus sensible que l'examen endoscopique ou les tests biochimiques actuellement utilisés. La validité de cette hypothèse est actuellement vérifiée dans une situation clinique privilégiée, la récurrence post-opératoire au site d'anastomose iléo-caecale chez patients atteints de MC ayant subi une résection du colon.

Ces études devraient permettre (i) de mieux comprendre les mécanismes immunologiques précoces à l'origine des lésions intestinales, (ii) de proposer des marqueurs immunologiques prédictifs des poussées et (iii) de développer une approche thérapeutique ciblée sur les effecteurs T coliques visant à prolonger les phases de remissions.

**IMMUNOR : INFECTIONS NOSOCOMIALES EN REANIMATION
ROLE DE L'ALTERATION DE L'ETAT IMMUNITAIRE (PHRC REGIONAL 2004)**

*A. Lepape (Réanimation NORD CHLS),
G. Monneret (Laboratoire d'Immunologie Hôpital Neuro-Cardiologique)*

Introduction

Les infections nosocomiales (IN), en réanimation, sont un problème fréquent : dans les Services de Réanimation français, entre 15 et 20 % des patients hospitalisés \geq 48 h présentent une IN au cours de leur séjour. Le rôle des dispositifs invasifs (intubation, voies veineuses centrales et sonde urinaire) est fondamental.

Rationnel

Les IN ont surtout été étudiées sous l'angle de la bactérie en cause et des mesures de prévention. Il est cependant fort probable qu'il existe une part de risque lié à l'hôte (le patient) en relation avec des modifications innées ou acquises de ses défenses immunitaires. Une des caractéristiques de l'affaiblissement immunitaire est constituée par la réduction des fonctions monocytaires. En particulier, la diminution de l'expression des molécules HLA-DR (complexe majeur d'histocompatibilité de classe II) à la surface des monocytes réduit considérablement la capacité de présentation de l'antigène. Ce niveau d'expression est considéré comme étant un reflet global de la fonctionnalité du système immunitaire. De ce fait, une diminution de HLA-DR à la surface des monocytes a été proposée comme marqueur biologique de la dépression immunitaire.

IMMUNOR

Ce projet, financé par un PHRC régional (2004), a pour but d'étudier la relation entre la survenue des IN et l'évolution de l'état immunitaire évalué par la mesure de l'HLA-DR monocyttaire (réalisée par cytométrie en flux). La population étudiée est constituée de malades de réanimation ventilés au moins 48 heures et dont la durée de séjour est au moins de 4 jours. Si un lien est établi entre immunité et IN, des études ultérieures d'immunomodulation pourront être menées pour améliorer la réponse immunitaire en stratifiant les patients sur la base de l'HLA-DR monocyttaire.

INTOLERANCE A L'ASPIRINE : PHYSIOPATHOLOGIE ET MARQUEURS MOLECULAIRES

G. Devouassoux – Y. Pacheco - Service de Pneumologie, EA 3091. CHLS, HCL.

L'asthme intolérant à l'aspirine représente une sous population de patients asthmatiques, qui se caractérise par des symptômes bronchospastiques et rhinitiques, dans les minutes ou heures qui suivent l'ingestion d'aspirine ou d'AINS. La physiopathologie de l'asthme intolérant à l'aspirine fait intervenir, une inhibition de la cyclo-oxygénase par l'aspirine et les molécules apparentées, avec excès de production de leucotriènes cystéinés. Le blocage du métabolisme de l'acide arachidonique et l'interaction avec des facteurs de transcriptions spécifiques ou avec leur voie d'activation viennent d'ailleurs compléter avec une certaine efficacité l'arsenal thérapeutique. Parmi ces nouvelles cibles thérapeutiques, la LTC₄ synthase, enzyme responsable de la production des sulfido-peptido leucotriènes (LTC₄, LTD₄, LTE₄), semble être sur-exprimée au niveau des mastocytes et des éosinophiles chez les patients asthmatiques intolérants à l'aspirine. Ceci pourrait expliquer l'efficacité des antagonistes des récepteurs aux sulfido-peptido leucotriènes. Un polymorphisme du promoteur de la LTC₄ synthase a d'ailleurs été rapporté comme pouvant être associé au phénotype d'asthme intolérant à l'aspirine. Différentes mutations ont été décrites dans la région promotrice du gène codant pour la 5 lipoxygénase, enzyme essentielle dans la biosynthèse des leucotriènes. Malgré ces anomalies du métabolisme de l'acide arachidonique, la physiopathologie de l'intolérance à l'aspirine responsable du développement d'une maladie inflammatoire des muqueuses reste incertaine. Sur sang périphérique, en utilisant des techniques microarray, notre équipe a obtenu des résultats préliminaires, qui permettent de séparer les populations asthmatiques tolérantes et non tolérantes à l'aspirine.

Parmi les gènes d'intérêt, c'est la sur-expression du gène codant pour la galectine-10 au sein de la population asthmatique intolérante à l'aspirine qui apparaît la plus discriminative. Dans ce contexte d'intolérance à l'aspirine, la description d'une intervention potentielle des galectines reste à notre connaissance inconnue. Elles appartiennent à la grande famille des lectines animales. Quatorze galectines différentes sont actuellement décrites. Parmi celles-ci, il est déjà bien établi que la galectine-3 est impliquée dans la réaction inflammatoire allergique, capable d'influencer l'adhésion cellulaire, le chimiotactisme mono-macrophagique, l'angiogénèse. Enfin, elle pourrait jouer un rôle dans le maintien de l'inflammation, grâce à une fonction anti-apoptotique. Des actions pro-inflammatoires sont aussi décrites pour les galectines-1, -9 et -14. La galectine-10 ou protéine de Charcot-Leyden est étroitement associée aux lysophospholipases des éosinophiles Elle est exprimée principalement par le basophile, l'éosinophile et le neutrophile, possède des caractéristiques physico-chimiques d'auto-cristallisation, qui explique la mise en évidence, il y a plus de 150 ans, de cristaux hexagonaux dans l'expectoration riche en éosinophiles de patients asthmatiques. L'acide butyrique, molécule proche de l'aspirine, est capable d'exercer une activité transcriptionnelle sur le gène codant pour la galectine-10. Si les fonctions physiopathologiques précises de la galectine-10 restent pour l'instant, inconnues, la mise en évidence d'une hyper-expression de son ARN messenger dans ce contexte d'asthme intolérant à l'aspirine justifie la poursuite de son étude au niveau protéique. Nous nous proposons de poursuivre cette étude génétique par une analyse de l'expression protéique de l'ensemble de ces galectines, sur sang périphérique et polypes nasosinusiens et de les comparer en fonction du statut clinique vis-à-vis de l'aspirine et des AINS.

LA CAPSULE VIDEO-ENDOSCOPIQUE

J. C. Saurin

La capsule vidéo-endoscopique a d'abord été un prototype de l'anglais Paul Swain, médecin et inventeur de génie, à qui l'on doit entre autres l'invention des systèmes de suture per-endoscopique pour le traitement du reflux gastro-œsophagien. Le système actuellement commercialisé pour l'examen de l'intestin grêle a été conçu par la firme israélienne Given Imaging, et la qualité technologique innovante du produit a justifié une publication dans la revue *Nature* en 2000. Les études, chez l'homme, ont montré l'innocuité et la fiabilité de l'examen de l'intestin grêle par capsule vidéo-endoscopique dans une situation clinique souvent difficile à éclaircir, celle de saignements digestifs restant inexplicables après un bilan endoscopique standard.

L'innocuité a été démontrée dans des études contrôlées mais aussi au moyen de registres systématiques nationaux, en particulier américains. Le passage de la capsule (26 x 11 mm) dans un intestin grêle normal ne provoque aucun symptôme particulier. Une inquiétude concernant le risque de dérèglement des pace-maker a été écartée par plusieurs études de monitoring. La capsule ne peut être symptomatique que dans la situation d'une sténose de l'intestin grêle. La notion de "rétention" de capsule est définie par le blocage, pendant quelques jours à plusieurs mois, de la capsule en amont d'une sténose digestive. Ce blocage de la capsule ne survient, en pratique, que dans 1 % des cas de saignement digestif inexplicables. Dans cette situation, des douleurs abdominales sont observées dans un cas sur cinq (deux cas pour 1 000 patients), les autres patients restant asymptomatiques pendant des périodes qui peuvent durer plusieurs mois.

Plusieurs études contrôlées prospectives ont montré la supériorité de la capsule vidéo-endoscopique par rapport à l'examen de référence antérieur, l'entéroscopie poussée, en ce qui concerne le nombre de diagnostics réalisés. Le pourcentage de patients, pour lesquels un diagnostic est obtenu au niveau de l'intestin grêle, dans le cadre des saignements inexplicables, varie de 55 % à 69 % pour la capsule vidéo contre 30 % à 38 % pour l'entéroscopie poussée par voie haute (Tableau 1). Cependant, dans cette situation près de 30 % des patients présentent des lésions du tube digestif en dehors de l'intestin grêle, qui ont échappé aux investigations antérieures, et ne sont en général pas identifiées par la capsule vidéo. Ces lésions, lorsqu'elles se situent dans l'estomac ou l'œsophage, sont en revanche bien identifiées par l'entéroscopie haute.

	Vidéo capsule +	Entéroscopie +
Lewis 2002 (20 pts)	55 % (11/20)	30 % (6/20)
Ell 2002 (32 pts)	66 % (21/32)	28 % (9/32)
Saurin 2003 (58 pts)	69 % (40/58)	38 % (22/58)
Myolonaki 2003 (50 pts)	68 % (34/50)	32 % (16/50)
Hartmann 2003* (42 pts)	71 % (30/42)	74 % (31/42)

Tableau : Pourcentage d'exams aboutissant à un diagnostic au niveau de l'intestin grêle chez des patients présentant un saignement digestif inexplicable.

Autres pathologies

La capsule vidéo est utilisée pour certaines pathologies multiviscérales impliquant l'intestin grêle comme des polyposes hamartomateuses (maladie de Peutz-Jeghers) ou la maladie de Rendu-Osler (bilan de l'extension des localisations digestives pour définir l'intérêt d'un

traitement endoscopique), mais une évaluation scientifique est nécessaire dans ces indications alternatives. L'application, dans le cadre des maladies inflammatoires digestives (maladie de Crohn, colites indéterminées), se fait actuellement dans le cadre d'études et doit rester prudente car plusieurs cas d'incarcération symptomatique ont été décrits dans cette situation (30 % des patients présentant une maladie de Crohn ont une sténose digestive).

Implications pratiques quotidiennes

Les saignements inexplicés du tube digestif représentent moins de 5 % des hémorragies digestives, mais représentent tout de même 5 000 cas par an en France. La capsule vidéo a deux qualités majeures par comparaison avec le seul examen alternatif réalisable en pratique clinique, l'entéroscopie poussée par voir haute : une très forte valeur prédictive négative et une tolérance parfaite. En pratique clinique, elle est en passe de devenir l'examen de première intention dans l'exploration de ces saignements inexplicés. La conduite à tenir, pour prévenir une éventuelle incarceration de la capsule dans une sténose, fait l'objet d'un débat : un examen préalable de l'intestin grêle par une technique radiologique (transit baryté de l'intestin grêle ou entéroscanner) paraît préférable chez des sujets jeunes (< 50 ans) pour lesquels la fréquence des tumeurs de l'intestin grêle est plus élevée.

L'innocuité et la tolérance de la technique ont permis d'utiliser ce procédé chez certains enfants âgés de plus de 8 ans (en deçà, il existe une difficulté et un risque pour l'enfant à ingérer la capsule). Les indications, chez l'enfant, sont essentiellement les saignements inexplicés mais d'autres situations cliniques, comme les polyposes hamartomateuses (maladie de Peutz-Jeghers), peuvent bénéficier de ce procédé en l'absence d'examen comparable en efficacité et surtout aussi peu invasif.

Bibliographie

- Iddan, G., Meron, G., Glukhovsky, A., Swain, P. Wireless capsule endoscopy. Nature 2000 ; 407 ; 417.
- Ell, C., Remke, S., May, A., Helou, L., Henrich, R., Mayer, G. The first prospective controlled trial comparing wireless capsule endoscopy with push enteroscopy in chronic gastrointestinal bleeding. Endoscopy 2002 ; 34 ; 685.
- Saurin, J. C., Delvaux, M., Gaudin, J. L., Fassler, I., Villarejo, J., Vahedi, K., Bitoun, A., Canard, J. M., Souquet, J. C., Ponchon, T., Florent, C., Gay, G. Diagnostic value of endoscopic capsule in patients with obscure digestive bleeding : blinded comparison with video push-enteroscopy. Endoscopy 2003 ; 35 ; 576.
- Pennazio, M., Santucci, R., Rondonotti, E., Abbiati, C., Beccari, G., Rossini, F. P., De Franchis, R. Outcome of patients with obscure gastrointestinal bleeding after capsule endoscopy: report of 100 consecutive cases. Gastroenterology 2004 ; 126 ; 643.