



Nouvelle approche thérapeutique pour la cicatrisation des ulcères cutanés d'origine microvasculaire : étude de phase I/II

Alicia Guigui

► To cite this version:

Alicia Guigui. Nouvelle approche thérapeutique pour la cicatrisation des ulcères cutanés d'origine microvasculaire : étude de phase I/II. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02320470

HAL Id: dumas-02320470

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02320470>

Submitted on 18 Oct 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

Année : 2019

**NOUVELLE APPROCHE THERAPEUTIQUE POUR LA CICATRISATION DES
ULCERES CUTANES D'ORIGINE MICROVASCULAIRE : ETUDE DE PHASE I/II**

MÉMOIRE DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES DE
PHARMACIE HOSPITALIERE-PRATIQUE ET RECHERCHE
Conformément aux dispositions du décret N° 90-810 du 10 septembre 1990, tient lieu de
THÈSE
PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
DIPLOME D'ÉTAT

Alicia GUIGUI
[Données à caractère personnel]

MÉMOIRE SOUTENU PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE
GRENOBLE

Le : 11/10/2019

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE

Président du jury :

M. Le Professeur Pierrick Bedouch

Membres :

M. Le Professeur Jean-Luc Cracowski (Directeur de thèse)

M. Le Docteur Sylvain Kotzki (Tuteur universitaire)

Mme. Le Docteur Claire Demiot

Mme. Le Docteur Audrey Lehmann

Mme. Le Docteur Roseline Mazet

M. Le Docteur Matthieu Roustit

L'UFR de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les mémoires ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

Liste des Enseignants à l'UFR de pharmacie

Doyen de la Faculté : **M. le Pr. Michel SEVE**

Vice-doyen et Directrice des Etudes :
Mme Christine DEMEILLIERS

Année 2019 - 2020

ENSEIGNANTS – CHERCHEURS

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE
MCF	ALDEBERT	DELPHINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheREx
PU-PH	ALLENET	BENOIT	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheMAS
PU	BAKRI	ABDELAZIZ	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
MAST	BARDET	JEAN-DIDIER	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheMAS
MCF	BATANDIER	CECILE	LBFA – INSERM U1055
PU-PH	BEDOUCHE	PIERRICK	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheMAS
MCF	BELAIDI-CORSAT	ELISE	HP2, Inserm U1042
MAST	BELLET	BEATRICE	-
MCF	BOUCHERLE	BENJAMIN	DPM - UMR 5063 CNRS
PU	BOUMENDJEL	AHCENE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	BOURGOIN	SANDRINE	IAB – CRI INSERM U823
MCF	BRETON	JEAN	LCIB – UMR E3 CEA
MCF	BRIANCON-MARJOLLET	ANNE	HP2 – INSERM U1042
PU	BURMEISTER	WIM	IBS – UMR 5075 CEA CNRS
MCU-PH	BUSSER	BENOIT	Institute for Advanced Biosciences, UGA / Inserm U 1209 / CNRS 5309
Professeur Emerite	CALOP	JEAN	
MCF	CAVAILLES	PIERRE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
MCU-PH	CHANOINE	SEBASTIEN	CR UGA - INSERM U1209 - CNRS 5309
MCF	CHOISNARD	LUC	DPM – UMR 5063 CNRS
MCU -PH	CHOVELON	BENOIT	DPM – UMR 5063 CNRS
PU-PH	CORNET	MURIEL	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheREx
Professeur Emérite	DANEL	VINCENT	-
PU	DECOUT	JEAN-LUC	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF Emérite	DELETRAZ-DELPORTE	MARTINE	LPSS – EAM 4129 LYON
MCF	DEMEILLERS	CHRISTINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
PU-PH	DROUET	CHRISTIAN	GREPI EA7408
PU	DROUET	EMMANUEL	IBS – UMR 5075 CEA CNRS HIV & virus persistants Institut de Biologie Structurale
MCF	DURMORT	CLAIRE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS
PU-PH	FAURE	PATRICE	HP2 – INSERM U1042

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE
MCF	FAURE-JOYEUX	MARIE	HP2 – INSERM U1042
PRCE	FITE	ANDREE	-
MCU-PH	GARNAUD	CECILE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX
PRAG	GAUCHARD	PIERRE-ALEXIS	-
MCU-PH	GERMI	RAPHAELE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS HIV & virus persistants Institut de Biologie Structurale
MCF	GEZE	ANNABELLE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF Emérite	GILLY	CATHERINE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	GODIN-RIBUOT	DIANE	HP2 – INSERM U1042
Professeure Emérite	GRILLOT	RENEE	-
MCF Emérite	GROSSET	CATHERINE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	GUIEU	VALERIE	DPM – UMR 5063 CNRS
AHU	HENNEBIQUE	AURELIE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX
MCF	HININGER-FAVIER	ISABELLE	LBFA – INSERM U1055
MCF	KHALEF	NAWEL	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
MCF	KOTZKI	SYLVAIN	HP2 – UMR S1042
MCF	KRIVOBOK	SERGE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	LENORMAND	JEAN-LUC	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX
PU	MARTIN	DONALD	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
PRCE	MATTHYS	LAURENCE	-
AHU	MAZET	ROSELINE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	MELO DI LIMA	CHRISTELLE	LECA – UMR CNRS 5553
AHU	MINOVES	MELANIE	HP2 – INSERM U1042
PU	MOINARD	CHRISTOPHE	LBFA - INSERM U1055
PU-PH	MOSSUZ	PASCAL	IAB – INSERM U1209
MCF	MOUHAMADOU	BELLO	LECA – UMR 5553 CNRS
MCF	NICOLLE	EDWIGE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	OUKACINE	FARID	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	PERES	BASILE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	PEUCHMAUR	MARINE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	PEYRIN	ERIC	DPM – UMR 5063 CNRS
AHU	PLUCHART	HELENE	TIMC-IMAG – UMR 5525 CNRS, ThEMAS
MCF	RACHIDI	WALID	LCIB – UMR E3 CEA
MCF	RAVELET	CORINNE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	RIBUOT	CHRISTOPHE	HP2 – INSERM U1042
PAST	RIEU	ISABELLE	-
Professeure Emérite	ROUSSEL	ANNE-MARIE	
PU-PH	SEVE	MICHEL	LBFA – INSERM U1055
MCF	SOUARD	FLORENCE	DPM – UMR 5063 CNRS

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE
MCF	SPANO	MONIQUE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS
MCF	TARBOURIECH	NICOLAS	IBS – UMR 5075 CEA CNRS
MCF	VANHAVERBEKE	CECILE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	WOUESSIDJEW	DENIS	DPM – UMR 5063 CNRS

AHU : Assistant Hospitalo-Universitaire
 ATER : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches
 BCI : Biologie du Cancer et de l'Infection
 CHU : Centre Hospitalier Universitaire
 CIB : Centre d'Innovation en Biologie
 CRI : Centre de Recherche INSERM
 CNRS : Centre National de Recherche Scientifique
 DCE : Doctorants Contractuels Enseignement
 DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire
 HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire
 IAB : Institute for Advanced Biosciences
 IBS : Institut de Biologie Structurale
 LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes
 LBFA : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée
 LCBM : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux
 LCIB : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie
 LECA : Laboratoire d'Ecologie Alpine
 LPSS : Laboratoire Parcours Santé Systémique
 LR : Laboratoire des Radio pharmaceutiques
 MAST : Maître de Conférences Associé à Temps Partiel
 MCF : Maître de Conférences des Universités
 MCU-PH : Maître de Conférences des Universités et Praticiens Hospitaliers
 PAST : Professeur Associé à Temps Partiel
 PRAG : Professeur Agrégé
 PRCE : Professeur certifié affecté dans l'enseignement

A mon Parrain,

Remerciements

Au jury,

A mon directeur de thèse, M le Professeur Jean-Luc Cracowski,

Je vous remercie de m'avoir proposé ce travail, merci de me permettre d'apprendre au quotidien à vos côtés. Merci pour les opportunités offertes à Lyon, à Sion ou à Stockholm. Travailler avec vous est une chance et un réel plaisir.

A mon président de thèse, M le Professeur Pierrick Bedouch,

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse. Merci pour ce que vous m'avez appris au cours de mon cursus d'interne, notamment en pneumologie. Merci de m'avoir permis d'accéder à cette année recherche qui se conclue par cette thèse.

A M le Docteur Sylvain Kotzki,

Je te remercie d'être mon tuteur pédagogique, merci pour le temps passé aux essais cliniques, ton soutien et le partage. Merci pour les conseils que je n'oublie pas.

A Mme le Docteur Audrey Lehmann,

Je te remercie de me faire le plaisir de siéger dans ce jury. C'est grâce à toi que dès l'externat j'ai développé cet attrait pour les essais cliniques. Merci pour ton soutien et ta présence autant professionnellement que personnellement.

A Mme le Docteur Roseline Mazet,

Je te remercie de me faire l'honneur de juger ce travail et merci également pour ta gentillesse tout au long de mes études de pharmacie.

A M le Docteur Matthieu Roustit,

Je te remercie pour cette année et demi passée au CIC, merci pour ta disponibilité, ta patience, ta confiance, tes conseils et les réponses à toutes mes questions.

A Mme le Docteur Claire Demiot,

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail.

TABLE DES MATIERES

INDEX DES FIGURES ET TABLEAUX.....	10
LISTE DES ABREVIATIONS	11
INTRODUCTION.....	13
La recherche clinique, les essais cliniques et la pharmacologie clinique	13
Généralités.....	13
Les études de phase I.....	14
Les études de phase I/II	16
Les études de phase II.....	16
La sclérodermie systémique.....	17
Epidémiologie.....	17
Classification	17
Pathologie et complications.....	18
Traitements actuels des ulcères digitaux	18
L'iontophorèse d'analogue des prostacyclines	21
L'iontophorèse.....	21
Le treprostinil	22
ARTICLE.....	24
INTRODUCTION	26
METHODS	27
RESULTS	33
DISCUSSION.....	40
DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE.....	43
CONCLUSION.....	46
BIBLIOGRAPHIE	47
ANNEXES.....	50
RÉSUMÉ.....	57

INDEX DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 : Designs classiques de phase I	15
Figure 2: Ulcère digital sur le pouce d'une patiente atteinte de sclérodémie systémique	18
Figure 3 : Voies d'action des traitements des ulcères digitaux.....	19
Figure 4 : Représentation schématique du transport iontophorétique.....	21
Figure 5 : Cathodal iontophoresis on leg, fingers and sole of the foot	30
Figure 6 : Flowchart of the first study visit	31
Figure 7 : Cutaneous vascular conductance	35
Figure 8 : Individual line charts comparing placebo and treprostinil	36
Figure 9 : Evolution of the mean cutaneous temperature.....	37
Tableau 1: Les critères de classification ACR-EULAR adapté de Hoogen et Al (12)	17
Table 1 : Summary of adverse effects according to the skin site, drug and electrode.	34
Table 2 : Description of the adverse events reported for patients with SSc.....	39

LISTE DES ABREVIATIONS

ACR : American college of rheumatology

ALD : Affection de longue durée

AMM : Autorisation de mise sur le marché

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique

ARN : Acide ribonucléique

ATD : Accelerated Titration Design

ATP : Adénosine triphosphate

BL : Baseline

CRM : Continual reassessment method

CSP : Code de la santé publique

CTCAE : Common terminology criteria for Adverse events

CTGF : Connective Tissue Growth Factor – Facteur de croissance du tissu conjonctif

DLT : Dose limiting toxicity : toxicité limitant la dose

DMT : Dose Maximale Tolérée

EMA : European medicines agency – Agence européenne du médicament

EULAR : European league against rheumatism

FDA : Food and Drug Administration

GMPC : Guanosine monophosphate cyclique

GRADE : Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation

GTP : Guanosine triphosphate

HPLC : Chromatographie liquide haute performance

HTAP : Hyper tension artérielle pulmonaire

INSERM : Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale

IP : Prostacyclin receptor – récepteur à la prostacycline

iPDE5 : Phosphodiesterase type 5 inhibitor – Inhibiteurs de la Phosphodiesterase de type 5

IV : Intraveineuse

NIH : National Institutes of Health

NO : Nitric oxide – oxide nitrique

NOX4 : Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 4 - Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxidase de type 4

PDE-5 : Phosphodiesterase type 5 - Phosphodiesterase de type 5

PNDs : Protocole national de diagnostic et de soin

RIPH : Recherche Impliquant la Personne Humaine

sGC : Soluble Guanylate cyclase - Guanylate cyclase soluble

SSc : Sclérodermie systémique

TGF- β : Transforming-growth-factor beta – Facteur de croissance transformant beta

VEGF : Vascular endothelial growth factor - Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire

INTRODUCTION

La recherche clinique, les essais cliniques et la pharmacologie clinique

Généralités

Selon l'INSERM(1) la recherche clinique est « l'ensemble des études scientifiques réalisées sur la personne humaine, en vue du développement des connaissances biologiques ou médicales ». La recherche clinique est encadrée par la loi n° 2012-300 du 5 mars 2012 (dite Loi Jardé) modifiée par ordonnance le 16 juin 2016 et appliquée depuis l'année 2018(2). Trois catégories de recherche impliquant la personne humaine sont donc définies par le code de la santé publique : les recherches interventionnelles (RIPH catégorie 1), les recherches à risques et contraintes minimales (RIPH catégorie 2) et les recherches observationnelles ou non interventionnelles (RIPH catégorie 3).

Les essais cliniques pour le développement d'un médicament suivent traditionnellement 4 phases. Les études de phase I évaluent la pharmacocinétique, la pharmacodynamie, la toxicité et la dose maximale tolérée sur des petits groupes de volontaires sains ou malades. Les études de phase II évaluent la sécurité et l'efficacité sur des groupes de volontaires malades permettant de définir une dose minimale efficace. Les études de phase III permettent de déterminer l'efficacité et l'intérêt des traitements en les comparant aux traitements de référence ou à un placebo par exemple, ils incluent un grand nombre de volontaires malades. Elles peuvent aboutir à une demande d'AMM auprès de l'ANSM ou plus fréquemment de l'EMA. La phase IV commence après l'obtention de celle-ci et dure toute la vie du médicament, c'est la pharmacovigilance. Actuellement, cette séparation en phases distinctes s'estompe afin d'accélérer le développement du médicament, et de nombreuses études recouvrent plusieurs phases et prévoient d'adapter les protocoles aux résultats intermédiaires, ce qu'on appelle les essais adaptatifs(3), ce qui aboutit à une complexité croissante de la méthodologie de ces essais (4).

La pharmacologie clinique est définie par l'OMS comme l'ensemble des activités se rattachant au devenir et aux effets des médicaments chez l'homme ainsi qu'à leur usage. Elle comprend, entre autres, les études de pharmacocinétique, de pharmacodynamie, les essais cliniques et la pharmacovigilance mais aussi la pharmacoépidémiologie et la pharmacodépendance par exemple.

L'étude de pharmacologie clinique présentée dans ce travail est une étude de phase I/II.

Les études de phase I

Les essais cliniques de phase I ont pour but d'évaluer la toxicité, la pharmacodynamie et la pharmacocinétique des traitements. Ils sont nécessaires afin d'identifier la dose maximale tolérée à recommander pour les essais de phase II. Il existe plusieurs grands types de design pour les études de phase I :

i) Les designs classiques dits conventionnels ou standards (Figure 1)

Ce type de design est le plus largement répandu car il est très simple à comprendre et à mettre en œuvre. Il permet d'anticiper la logistique et le nombre approximatif de volontaires (sains ou malades) inclus dans l'étude. Il se base sur l'augmentation progressive des doses supposant l'existence d'une relation monotone croissante entre la dose et la toxicité. Le modèle majoritaire de design classique est l'escalade de dose par cohorte de 3 sujets (Figure 1a), le «3+3», décrit successivement par Storer(5) et Liu(6). Cela consiste en la recherche de la DLT « dose limiting toxicity ou toxicité limitant la dose », dose à laquelle apparaît un effet indésirable inacceptable. L'inacceptabilité est définie par le caractère irréversible et/ou la gravité gradée selon les recommandations du NIH CTCAE, en version 5.0 à ce jour(7). La dose maximale tolérée (MTD) est choisie comme la dose ayant présenté moins de 2 DLT pour 6 sujets traités. Cependant, Reiner estime à seulement 30% la proportion de dose maximale tolérée définie par cette méthode comme étant acceptable(8). De plus, dans le cas des essais en cancérologie réalisés sur des malades, elle conduit de facto à l'exposition de nombreux sujets à des doses subthérapeutiques. Une variante de cette méthode, « l'accelerated titration design (ATD)» (figure 1b) utilise le même concept mais en exposant seulement un individu pour les doses les plus faibles (6). L'ATD est l'équivalent du design classique avec une titration prévoyant un seul sujet par palier de dose jusqu'à la survenue d'une DLT. Puis l'essai bascule en un design classique 3+3. Cela permet d'explorer un plus grand nombre de paliers de doses et de diminuer le temps d'étude ainsi que le nombre de sujets avec des doses infra-thérapeutiques(9) mais avec comme inconvénient la variabilité inter-sujets.

Le « biased coin design » (figure 1c) va encore plus loin et consiste à déterminer la dose du sujet suivant selon la toxicité observée chez le sujet précédent en accroissant la dose en l'absence de toxicité et diminuant la dose sinon. Ce modèle est peu utilisé car il ne tient pas compte de l'historique de tous les sujets précédents mais uniquement du dernier sujet traité.

Ses variantes, le « k-in-a-row design » et « Group up-and-down design » tentent de tenir compte de l'historique pour traiter un sujet ou une série de 3 sujets. Ces méthodes sont peu utilisées mais ont l'avantage d'introduire le concept développé ci-dessous avec de meilleures méthodes d'adaptation continue de la dose à la toxicité.

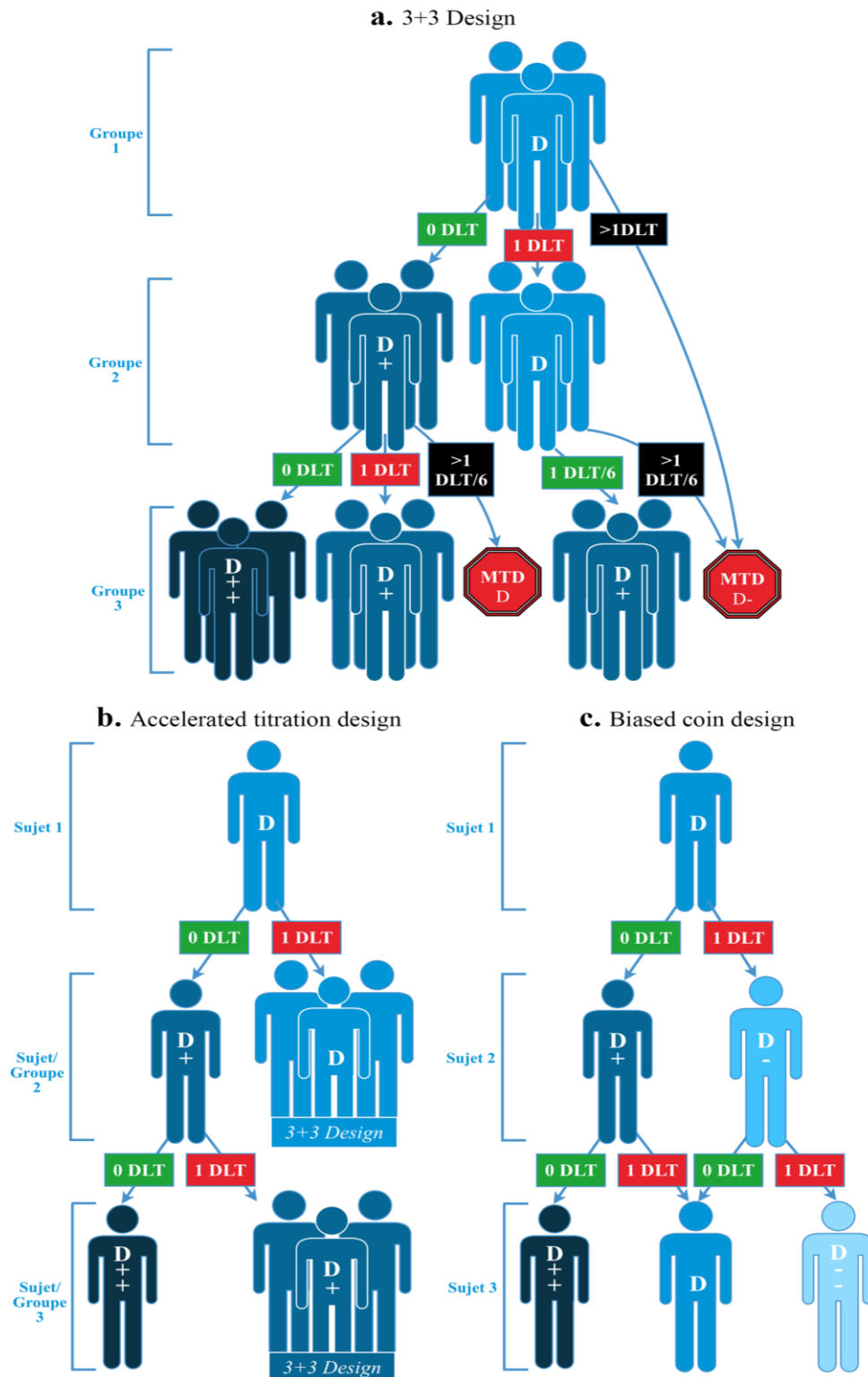


Figure 1 : Designs classiques de phase I

ii) Les « continual reassessment method » (CRM)

La CRM est une méthode d'escalade de dose guidée par un modèle bayésien basé sur un résultat de toxicité binaire (10) appelé également méthode de réévaluation séquentielle. Le principe est d'attribuer à chaque nouveau sujet la meilleure estimation actuelle de la dose maximale tolérée. La DMT est, ici, la dose associée à 20% de DLT. Ce seuil, bien qu'arbitraire, est le plus couramment utilisé mais peut varier selon les molécules. Un modèle de courbe de dose-toxicité basé sur toutes les données recueillies précédemment permet d'estimer la probabilité de DLT avant chaque nouvelle administration. En résumé, la dose attribuée à un sujet ou un volontaire sain se base sur les résultats des administrations chez les sujets précédents. Ce design permet de diminuer la proportion de volontaires recevant des doses faibles mais elle ne permet pas de réduire la durée de l'essai clinique et nécessite une évaluation très fiable des DLT déterminées par modélisation.

Cependant, l'efficacité d'un traitement n'est pas explorée par les essais cliniques de phase I dits conventionnels, c.à.d. que la dose maximale tolérée ne tient pas compte du rapport bénéfice/risque, en particulier en cancérologie. Dans *Annals of Oncology* en 2017, Yan explique que cette absence de données ne permet pas de recommander la bonne dose pour les phases ultérieures. Les études de phase I/II seraient plus efficaces et identifieraient avec plus de fiabilité la dose optimale en termes de sécurité et d'efficacité.(11)

Les études de phase I/II

Les études de phase I/II ont pour but de déterminer la dose ayant une probabilité d'efficacité élevée et une probabilité de toxicité faible. Ces études sont menées sur des volontaires sains et des patients. Elles peuvent associer plusieurs critères de jugements principaux : critères composites, critères combinés(12). Elles sont principalement utilisées en oncologie (impossibilité de traiter des volontaires sains), dans des maladies rares avec un faible pouvoir de recrutement ou si des études préliminaires ont déjà montré la sécurité de la molécule.

Les études de phase II

Les essais de phase II permettent d'estimer l'efficacité d'une dose chez un petit nombre de malades. Leur but est d'établir la dose optimale en termes d'efficacité à utiliser pour les phases III sur des populations de patients beaucoup plus importantes.

La sclérodermie systémique

Epidémiologie

En France, actuellement 6000 à 9000 personnes sont atteintes de sclérodermie systémique. Ce chiffre est extrapolé par les rédacteurs du PNDS des résultats des études épidémiologiques réalisées entre 2004 et 2016. Les patients sont intégrés dans le parcours de soin encadré par l'ALD 21 : « périartérite noueuse, lupus érythémateux aigu disséminé, sclérodermie systémique ». Cette pathologie a une prédominance féminine de 4/1 homme. (13)

Classification

Le diagnostic de sclérodermie systémique est posée quand un patient présente un score minimum de 9 sur l'échelle de critères définie par l'ACR/EULAR représentée sur le Tableau 1. Deux formes principales de SSc sont décrites : la SSc cutanée diffuse et la SSc cutanée limitée. Elles se distinguent par une fibrose cutanée dépassant ou non le niveau des coudes et des genoux en proximalité. Une troisième SSc dite sine scleroderma ou sclérodermie systémique limitée est décrite comme ne présentant pas de fibrose cutanée.

Tableau 1: Les critères de classification ACR-EULAR adapté de Hoogen et Al (12). Chaque item comporte une valeur chiffrée additionnée. Le total pour poser un diagnostic de SSc doit être supérieur ou égal à 9.

Item	Sous-item(s)	Score
Epaississement cutané au niveau des doigts des deux mains proximale aux articulations métacarpophalangiennes (MCP) (critère suffisant)	-	9
Epaississement cutané des doigts (seul compte le score le plus important)	Doigts boudinés Sclérodactylie (distalement aux articulations MCP mais proximale aux interphalangiennes)	2 4
Lésions pulpaire (seul compte le score le plus important)	Ulcères digitaux pulpaire Cicatrices d'ulcères	2 3
Télangiectasies	-	2
Anomalies capillaroscopiques	-	2
Atteintes pulmonaires	HTAP et/ou fibrose pulmonaire	2
Phénomène de Raynaud	-	3
Anticorps spécifiques de la SSc	Anti-topoisomérase I Anticorps anti-centromères Anti-ARN polymérase de type III	3

Pathologie et complications

La SSc est une maladie auto-immune associant fibrose cutanée (+/- viscérale) et dysfonction endothéliale et microvasculaire. Le phénomène de Raynaud est un des premiers signes cliniques de la pathologie. Les complications sont nombreuses car l'atteinte peut être multi organes : pneumopathie infiltrante, HTAP, atteintes rénale, cutanée et musculo-squelettique, gastro-intestinale, cardiaque, phénomène de Raynaud et artériopathie digitale. Les ulcères digitaux sont une complication fréquente avec une prévalence de plus de 40%(14). L'atteinte microvasculaire entraînant un défaut de perfusion cutanée, associée ou non à un traumatisme local ou des facteurs mécaniques (calcinose, tension cutanée), est à l'origine des ulcères digitaux. Ceux-ci sont très douloureux, parfois multiples et souvent récidivant, ils sont très handicapants pour les patients et peuvent conduire à des amputations. (Figure 2)



Figure 2: Ulcère digital sur le pouce d'une patiente atteinte de sclérodémie systémique
Source : banque personnelle

Traitements actuels des ulcères digitaux

En 2017, l'EULAR a publié ses nouvelles recommandations de prise en charge de la sclérodémie systémique et notamment des ulcères digitaux.(15) Les 3 avis émis concernant les ulcères digitaux sont classés en rang A selon le système GRADE.(16)

Premièrement, l'iloprost (analogue de la prostacycline) par voie IV est indiqué comme traitement des ulcères digitaux. Le schéma thérapeutique utilisé en France est de 0,5 à 2 ng/kg/min, pendant 6-8 heures, 5 jours successifs en s'adaptant à la tolérance du patient.(13)

Deuxièmement, les inhibiteurs de la PDE-5 (sildénafil) sont recommandés pour prévenir le développement de nouveaux ulcères à la posologie de 20mg 3 fois par jour et amélioreraient leur guérison à la posologie de 100 à 200mg par jour. Ils peuvent donc être envisagés comme traitement. Cependant, cette recommandation discutable repose sur un essai clinique négatif et le médicament n'a pas l'AMM dans cette indication.

Troisièmement, le bosentan (inhibiteur des récepteurs à l'endothéline de 62.5mg à 125mg 2 fois par jour) est recommandé de manière préventive afin de réduire l'incidence de nouveaux ulcères, en particulier chez les patients présentant plusieurs ulcères digitaux malgré un traitement par inhibiteurs calcique, inhibiteurs de la PDE-5 ou analogue de la prostacycline.

Les mécanismes d'action des traitements cités sont représentés de manière schématique et simple sur une cellule musculaire lisse de microvaisseaux dans la figure 3.

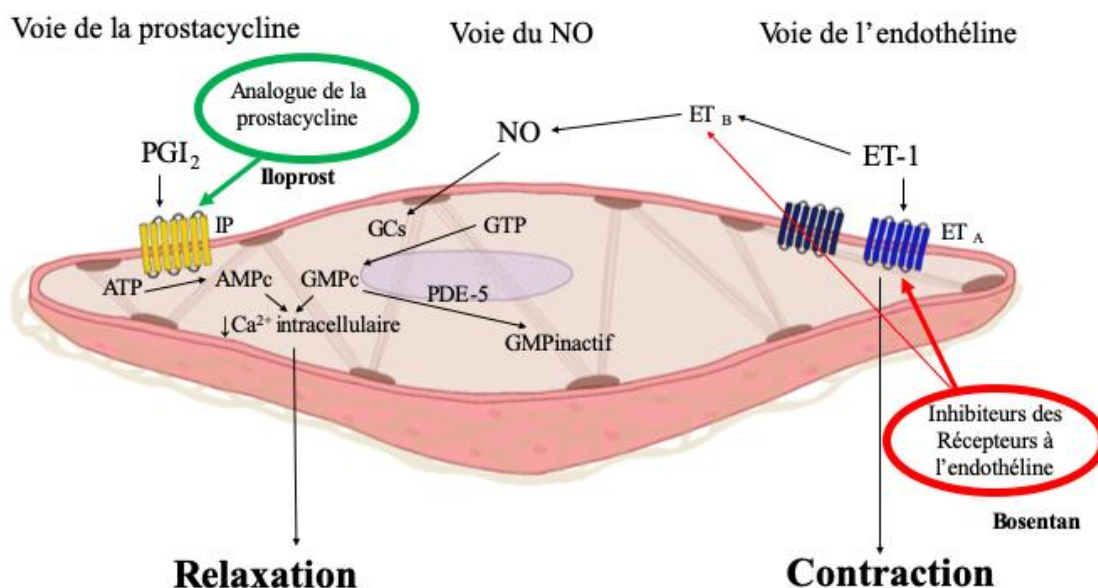


Figure 3 : Voies d'action des traitements des ulcères digitaux

Les cellules endothéliales produisent la PGI₂ (protacycline) à partir d'acide arachidonique. Elle se fixe sur le récepteur IP à la surface de la cellule musculaire lisse ce qui conduit à l'augmentation de l'AMPc (adénosine monophosphate cyclique) et donc la diminution du

calcium intracellulaire et la relaxation de la cellule (vasodilatation). Les analogues de la prostacycline ont une action vasodilatatrice en mimant l'action de la prostacycline endogène.

Les inhibiteurs de la Phosphodiesterase-5 (i-PDE5) ont une action sur la voie du NO. Le NO libéré par la cellule endothéliale pénètre dans la CML et active la GC cytoplasmique qui produit le GMPc à partir du GTP. Le GMPc par diminution de la concentration intracellulaire de calcium entraîne la relaxation de la CML. Les i-PDE5 permettent l'augmentation de la concentration de GMPc (guanylate monophosphate cyclique) intracellulaire en inhibant sa dégradation par la phosphodiesterase-5.

L'ET-1 (endothéline 1) est un puissant vasoconstricteur endogène ayant une concentration augmentée dans les collagénoses comme la sclérodémie systémique. En se fixant sur les récepteurs à l'endothéline ETa et ETb de la cellule musculaire lisse, le bosentan, inhibiteur mixte, s'oppose aux effets de l'ET-1.

La prise en charge de ces plaies associe les traitements précédents à un nettoyage minutieux, le débridement et des pansements adaptés. D'autre part de nombreuses mesures préventives peuvent être mises en place comme l'éviction au froid et une hygiène cutanée et unguéale correcte.

Les recommandations françaises du PNDS et celles du groupe d'expert de l'EULAR sont en accord sur la place de l'iloprost comme principal traitement curatif des ulcères digitaux des patients atteints de sclérodémie systémique. Cependant, cet analogue de la prostacycline administré par voie intraveineuse va peu diffuser sur sa cible (l'ulcère digital) du fait même de la pathologie. En effet, dans la SSc, l'atteinte de la réactivité microvasculaire et surtout la profonde raréfaction capillaire digitale va diminuer la distribution du traitement dans les zones pathologiques. Il sera donc nécessaire d'augmenter les doses ce qui conduit à l'apparition d'effets indésirables systémiques dans les tissus de densité capillaire normale (céphalées, bouffées vasomotrices, hypotension, vomissements...), ces effets étant dose-limitants. De plus la voie intraveineuse et les 5 jours d'hospitalisation sont de réels freins à ce traitement pour les patients.

Notre étude se place donc dans ce contexte, proposant d'évaluer une voie d'administration locale d'un analogue de la prostacycline afin d'éviter les effets indésirables systémiques de l'administration IV et permettant d'atteindre le site ulcéré. Des études antérieures, précliniques et cliniques, de l'équipe ont permis de sélectionner, parmi une douzaine de

molécules agissant sur la voie du NO ou sur la voie de la PGI₂, le tréprosinil comme molécule d'intérêt. La voie locale d'administration choisie, et également précédemment étudiée par l'équipe, est l'iontophorèse.

L'iontophorèse d'analogue des prostacyclines

L'iontophorèse

L'iontophorèse est une méthode d'administration transdermique de médicaments basée sur le transfert de molécules chargées en utilisant un courant électrique de faible intensité (Figure 4).

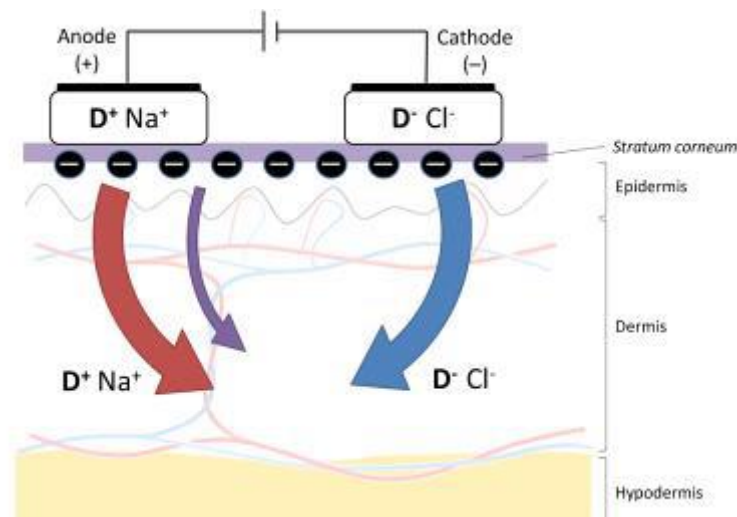


Figure 4 : Représentation schématique du transport iontophorétique

Les médicaments chargés positivement (D^+) migrent sous l'anode tandis que les médicaments chargés négativement (D^-) migrent sous la cathode. Les flèches rouges et bleues représentent l'électromigration anodique et cathodique, respectivement. La flèche violette représente l'électro osmose. Tiré de la référence (17).

Cette méthode allie l'effet propre du courant de faible intensité dans le traitement des ulcères de la peau et la libération d'une molécule active localement. En effet, en mimant les signaux électriques endogènes, l'application d'un courant électrique exogène de faible intensité améliorerait la cicatrisation en augmentant la migration des kératinocytes, fibroblastes et neutrophiles(18). La libération de PGI₂ est également augmentée lors de la stimulation par un courant (CIV : current induced vasodilation).(19)

L'utilisation de l'électrostimulation est reconnue par la FDA comme une technique non médicamenteuse de traitement des ulcères chroniques de pression ou du diabète. Il a existé sur le marché plusieurs dispositifs médicaux (DM) utilisés pour le traitement des plaies dont :

- le POSiFECT® RD qui a été développé en partant des données sur les multiples rôles des courants ioniques dans la cicatrisation. Ceux-ci font partie du processus de cicatrisation normal, ils favorisent la fixation du collagène, la formation du tissu cicatriciel, l'angiogenèse et la migration des leucocytes. Il est composé d'un pansement unique circulaire, les électrodes sont intégrées dans le pansement ainsi que le générateur.

- le WoundEl® a pour indication les plaies chroniques avec retard de cicatrisation (angiodermites nécrosantes, ulcères veineux et artériels, plaies du pied diabétique et escarres). Le générateur est relié à deux électrodes : une dispersive et une électrode pansement à placer sur la plaie.

Cependant, le choix du protocole de stimulation électrique à appliquer est extrêmement hétérogène entre les études au niveau de la quantité de courant appliquée (dépend du temps et de l'intensité), du type de courant (continu ou alternatif), courant pulsé ou non. Dans une méta-analyse récente de l'équipe, C.Khoury a confirmé l'efficacité globale de la stimulation électrique dans la cicatrisation des plaies chroniques, en suggérant la supériorité du courant pulsé à haute tension (HVPC) sur les autres types de courant, ainsi que la relation négative entre cicatrisation, taille et ancienneté de l'ulcère.(20)

Le treprostinil

La PGI2 a un effet vasodilatateur puissant et un rôle clé dans la réparation tissulaire par l'augmentation de l'angiogenèse dépendant du VEGF. Des travaux de 2014 ont rapporté que la cascade de signalisation passant par la NADPH oxydase 4 (NOX4), qui est impliquée dans la prolifération, la migration et l'activité proangiogénique des cellules endothéliales, était augmentée par les analogues de PGI2.(21) Le treprostinil est un analogue stable de la PGI2.

Il s'agit d'un médicament rétrocédable dans le cadre de son AMM : la prise en charge de l'HTAP idiopathique ou à transmission héréditaire. Il est, dans cette indication, utilisé par perfusion sous cutanée ou intraveineuse continue et doit être introduit en milieu hospitalier. Cependant, en 2008, un collège de spécialistes français déconseillait le treprostinil en perfusion sous cutanée du fait de sa mauvaise tolérance.(22)

Dans les études précédentes, il a été montré qu'une solution de treprostinil est effectivement administrable par iontophorèse. La tolérance est bonne à 250µM et augmente la perfusion cutanée au niveau des avant-bras chez les volontaires sains et les patients atteints de sclérodermie systémique en situation normale ainsi que lors d'un refroidissement local de la main et pendant la phase de réchauffement. De plus, l'iontophorèse d'une solution de treprostinil à 2.5mM est également bien tolérée et augmente la perfusion cutanée sur la jambe, la plante du pied et la pulpe du doigt des volontaires sains.(23–25,25–30)

Mais avant de passer à une étude de type IIb/III de preuve d'efficacité sur les ulcères digitaux des patients atteints de sclérodermie systémique, nous avons été confrontés à la nécessité de changer la galénique du produit afin de permettre l'application sur l'ulcère. La forme galénique choisie a été un hydrogel.

Par conséquent, nous avons dû démontrer l'innocuité de cette nouvelle forme galénique chez le volontaire sain, ce qui correspond à la première étape de notre étude. Puis nous avons cherché, dans la seconde étape à démontrer sa sécurité en application sur les ulcères des patients atteints de sclérodermie systémique.

L'étude est donc une phase I/II, comparative versus placebo.

ARTICLE

Treprostinil hydrogel iontophoresis in systemic sclerosis-related digital skin ulcers: a safety study

Abstract :

Introduction: Digital skin ulcers are a severe complication of systemic sclerosis (SSc). The first-line treatment is intravenous iloprost, but it induces dose-limiting adverse events. Local administration of treprostinil through skin iontophoresis may be a safe alternative. We conducted a two-stage, randomized, placebo-controlled single ascending dose study in healthy volunteers and patients with SSc-related digital ulcer (SSc-DU). We further explored the effect of the procedure on skin blood flux.

Methods: In a first group of healthy subjects, treprostinil and placebo iontophoresis were performed at 3 different locations (i.e. 6 skin sites): the sole of the foot, the leg, and the fingers. We used a 1mg/mL hydrogel of treprostinil. We then randomly treated SSc-DUs in a 3/1 ratio with treprostinil and placebo, respectively. We used concentrations from 0.1 to 1 mg/mL. All adverse events were recorded and rated (according to the CTCAE), while skin microvascular blood flux was recorded with laser speckle contrast imaging and expressed as cutaneous vascular conductance (CVC).

Results: Among the 12 healthy volunteers, we observed 60 local adverse effects: burns (n=2), skin pain, erythema and pruritus. They were graded 1 or 2 on the 5-point CTCAE scale. No systemic adverse effect was observed. Treprostinil iontophoresis significantly increased skin blood flux on the leg (AUC0-4h at 88460 ± 6436 versus 12730 ± 3397 %BL.min respectively, $P < 0.001$) and on the sole of the foot (AUC0-3h at 20124 ± 6119 versus 3142 ± 3036 %BL.min respectively, $P = 0.018$) with a trend on the finger (AUC0-3h was 10773 ± 4888 %BL.min for treprostinil versus 5402 ± 4343 %BL.min for placebo ($P = 0.093$)). Among five patients with SSc-UD, two resolutive local adverse effects graded 1/5 were reported (1 pruritus and 1 edema), on active electrodes with placebo. There was no systemic adverse effect.

Conclusion: Iontophoresis of treprostinil hydrogel was safe in SSc patients with digital ulcers, with no systemic adverse effect and only minor local adverse effects related to the iontophoresis procedure. Treprostinil hydrogel at 1 mg/mL will therefore be used in the next study, i.e. daily repeated iontophoresis in SSc-related ulcers with an individual scale up of iontophoresis current.

Key words: Systemic sclerosis, microvascular dysfunction, prostacyclin, treprostinil, iontophoresis

INTRODUCTION

Systemic sclerosis (SSc), is a rare disease (31 to 350 patients / million inhabitants)(31), characterized by microvascular dysfunction, cutaneous fibrosis and dysimmunity. Vascular dysfunction is a key element in its pathogenesis(32), Raynaud's phenomenon being most of the time the first manifestation of the disease, preceding skin fibrosis. Digital ulcers are a subsequent serious and disabling complication. Its pathophysiology involves vascular ischemia triggering mechanical factors such as calcinosis, local trauma or tight skin under tension. Bosentan, an endothelin receptor antagonist, is indicated to prevent the occurrence of new digital ulcers in patients with active ulcers(15). However, it has no efficacy on the healing of existing ulcers. The European League against Rheumatism (EULAR) guidelines recommend intravenous iloprost as a treatment for active digital ulcers in patients with SSc(15). Yet, repeated iloprost infusions require patient hospitalization and are associated with serious dose-limiting adverse effects (headache, flushing, nausea, vomiting, maxillary pain, myalgia).

The paradox is that patients with SSc exhibit decreased finger capillary density(33), which limits drug diffusion to the site of ulceration when administered intravenously. High doses are therefore required to reach a sufficient concentration at the level of the ulcer, at the cost of systemic effects. Local administration of the drug may help to circumvent this problem.

We previously showed that cathodal iontophoresis allows local delivery of a liquid solution of a prostacyclin analogue, treprostinil (25), into the dermis, with limited systemic diffusion(26). When performed on human intact skin, the procedure induces a sustained increase in cutaneous perfusion at the forearm, fingers, and feet level, and is well tolerated (23,26,27,30). However, several issues remain to be solved before assessing efficacy through a randomized controlled trial. Firstly, the liquid formulation cannot be used on skin ulcers and a sterile viscous formulation is required; and whether iontophoresis of a hydrogel of treprostinil is safe, and allows drug delivery into the skin, is unknown. Secondly, the safety of the procedure when applied directly to digital ulcers remains to be verified, as skin permeation is enhanced due to the loss of epidermis. The objectives of this study were therefore to assess the safety of a cathodal iontophoresis of treprostinil hydrogel administered on healthy volunteers' finger pad, leg and sole of the foot, with a specific focus on cutaneous safety. We subsequently tested the safety of ascending doses of treprostinil hydrogel

iontophoresis in patients with SSc-related digital ulcers. Secondary objectives were to assess the local pharmacodynamic effect on skin perfusion.

METHODS

Study protocol

The study (NCT03120533, N° EudraCT: 2016-000883-40) was approved by the Grenoble Institutional Review Board (Comité de protection des personnes Sud-est V) on the 24 May 2016 and conformed to the principles outlined in the Declaration of Helsinki. Participants gave written informed consent before participation. The study protocol was amended 5 times.

This study was conducted in Grenoble Clinical Research Center, France, between June 2017 and June 2019. We enrolled 13 healthy volunteers recruited from the database of the clinical research center and 5 patients with SSc-related digital ulcers recruited from patients consulting Grenoble University Hospital Vascular Medicine Department.

All participants were aged ≥ 18 years. Women of child-bearing potential were required to use effective contraception to be enrolled. Patients with SSc had to fulfil the ACR/EULAR diagnostic criteria for SSc(34) and the major inclusion criteria were: presence of at least 1 ischemic digital cutaneous ulcer, with ulceration classified as "active ulcers" according to the North American working group definition(35), with the longest dimension ≥ 2 mm.

The main exclusion criterion was contraindication to treprostinil. Non-inclusion criteria for SSc patients included systemic treatment with any prostacycline analogue, initiation or change of dosage of bosentan, sildenafil or calcium channel blockers, and digital sympathectomy or botulinum toxin injection all in the past month or scheduled for the following month; and clinically infected digital ulcers.

Study design

This was a two-stage, randomized, placebo-controlled, double-blind study in healthy volunteers (stage 1) and patients with SSc-related digital ulcers (stage 2)

In stage 1, each participant attended 3 visits: a selection visit, a study visit, during which iontophoresis was performed at three different sites, and a control visit (at day 7 ± 4) with a clinical examination.

Patients with SSc-related digital ulcers included in stage 2 attended six visits: a selection visit, 4 study visits with an ascending dose protocol (Visit 1 V1: current titration

with placebo, and treprostinil hydrogel at 0.1, 0.3, and 1 mg/mL during visit V2, V3, and V4 respectively), and an end of study visit.

During study visits, on arrival at the laboratory, subjects were placed in a temperature-controlled room (23 ± 1 °C) and remained supine for the whole experiment.

Each subjects was followed up during 3 hours.

Preparation of drugs

Treprostinil or placebo hydrogel were prepared by mixing treprostinil (REMODULIN®) 10mg/mL (Bioproject Pharma, Paris, France) or sodium chloride 0.9% (Aguettant, Lyon, France), respectively, with Suprasorb G gel (Lohmann & Rauscher, Rengsdorf, Germany). Three concentrations were prepared 0.1, 0.3, and 1 mg/mL, by an aseptic transfer technique under a vertical laminar flow hood (ISO 5) in a ISO 8 environmet(36). The hydrogel was conditioned in 1-mL sterile syringes. Each syringe was intended for a single use and was blindly labelled by an independent, unblinded pharmacist.

Treprostinil or placebo iontophoresis protocol

Single dose administration to healthy volunteers

During the study visit, after 30 minutes of acclimatization, three iontophoresis of a hydrogel of treprostinil at 1 mg/mL were consecutively performed at different locations: the lower anterior part of the leg, the fingers and the sole of the foot. At each location two rectangular sites were chosen and marked using a surgical pencil. We chose two fingers among the index, the middle and the annular. Baseline skin blood flux was recorded for at least 5 min at all sites.

For the leg and sole of the foot, 1 mL of treprostinil or placebo hydrogel was applied at location, randomly chosen and blinded to the operator (hydrogels were labeled “proximal” or “distal” for the leg; and “medial” or “lateral” for the foot). A gauze pad was applied above the gel and 2 rectangular sterilized Ag–AgCl electrodes (Axion® GmbH ; Leonberg ; Germany) were placed over the gauzes on each site (Figure 4). The electrode was then fixed to the skin using a transparent patch (Tegaderm Film, 3M Deutschland GmbH; Neuss; Germany).

At the finger sites, 1 mL treprostinil or placebo hydrogel was applied at each location, randomly chosen (hydrogels were labeled “medial” or “lateral”). Digital electrodes were

made of Ag-AgCl gloves cut and sterilized at low temperature with hydrogen peroxide. The hydrogel was directly in contact with Ag–AgCl electrodes (Axion® GmbH ; Leonberg ; Germany). However, after the administration in the first participant, in whom an adverse event occurred, the protocol was modified to add a gauze between the gel and the electrode, similarly to the foot and leg sites (Figure 5).

For all sites, active electrodes were connected to the cathode, whereas the anode was connected to dispersive electrodes placed approximately 10 cm apart (Axion® GmbH ; Leonberg ; Germany) (Figure 4). Computer-controlled generators were used (PF 751 Peri-Iont USB Power Supply, Perimed, Järfälla, Sweden) to provide a continuous, low-intensity current. Voltage was continuously recorded to estimate skin resistance.

For healthy volunteers the intervention was volunteers the intervention was as such: firstly, iontophoresis was performed at 240 μ A for 20 minutes (288 mC), simultaneously on the medial and lateral sides of the right leg (Figure 5A). Secondly, iontophoresis at 240 μ A for 120 minutes (1728 mC) was simultaneously performed on the finger pads of 2 fingers of the right hand (Figure 5B). After the side effect observed in the first healthy volunteer iontophoresis (see results), the protocol duration and current intensity were halved to 120 μ A for 60 minutes in order to decrease the quantity of current (432 mC) at this site. Finally, the procedure was repeated on the sole of the right foot (Figure 5C) at 240 μ A for 120 minutes (1728 mC). After the fifth volunteer, the steering committee decided to amend the protocol on the foot, the duration being halved (240 μ A for 60 minutes; i.e. 864 mC). All characteristics of iontophoresis are described in Appendix_Table_1.



Figure 5 : Cathodal iontophoresis on leg, fingers and sole of the foot

Cathodal iontophoresis of treprostinil and placebo hydrogel was performed in healthy volunteers. (A) on the leg, gauze was applied above the gel and 2 rectangular sterilized Ag–AgCl electrodes (= active electrodes) were placed over the gauze on each site and passive electrodes were placed 10 cm apart on the leg and on the top of the foot; (B) on the finger pads, gauze was applied above the gel and 2 sterilized Ag–AgCl finger electrodes (= active electrodes) were placed over the gauze on each finger and passive electrodes were placed 10 cm apart on the palm; (C) on the sole, gauze was applied above the gel and 2 rectangular sterilized 7.2 cm² Ag–AgCl electrodes (= active electrodes) were placed over the gauze on each site and passive electrodes were placed 10 cm apart on the sole of the foot.

Single ascending dose administration to patients with SSc-related digital ulcer

The first study visit was used to determine the current intensity that was safe for each patient. After a 30-minutes acclimatization period one digital ulcer was chosen. Baseline digital skin blood flux was recorded during 5 minutes. Then 1 mL hydrogel of placebo was applied on the ulcer, gauze placed over it and then the sterilized Ag–AgCl digital electrode (Axion® GmbH ; Leonberg ; Germany) connected to the cathode. The passive electrode (anode) was placed on the proximal part of the palm. The current was supplied and voltage monitored similarly to healthy volunteers

The current intensity was chosen as such (Figure 6): Placebo iontophoresis was initially performed with a current charge of 208.8 mC (58 μ A during 60 min). If no adverse effect occurred, and the patient reported no pain using visual numerical score (VNS), a second iontophoresis at 414 mC (115 μ A for 60 min) was made. Providing, no adverse effect occurred, and no pain was reported by the patient then these conditions were used for the subsequent study visits. If an adverse event occurred, or if the pain on the visual numerical score was >0 subsequent digital iontophoresis were made at lower current 104.4 mC (29 μ A for 60 min).

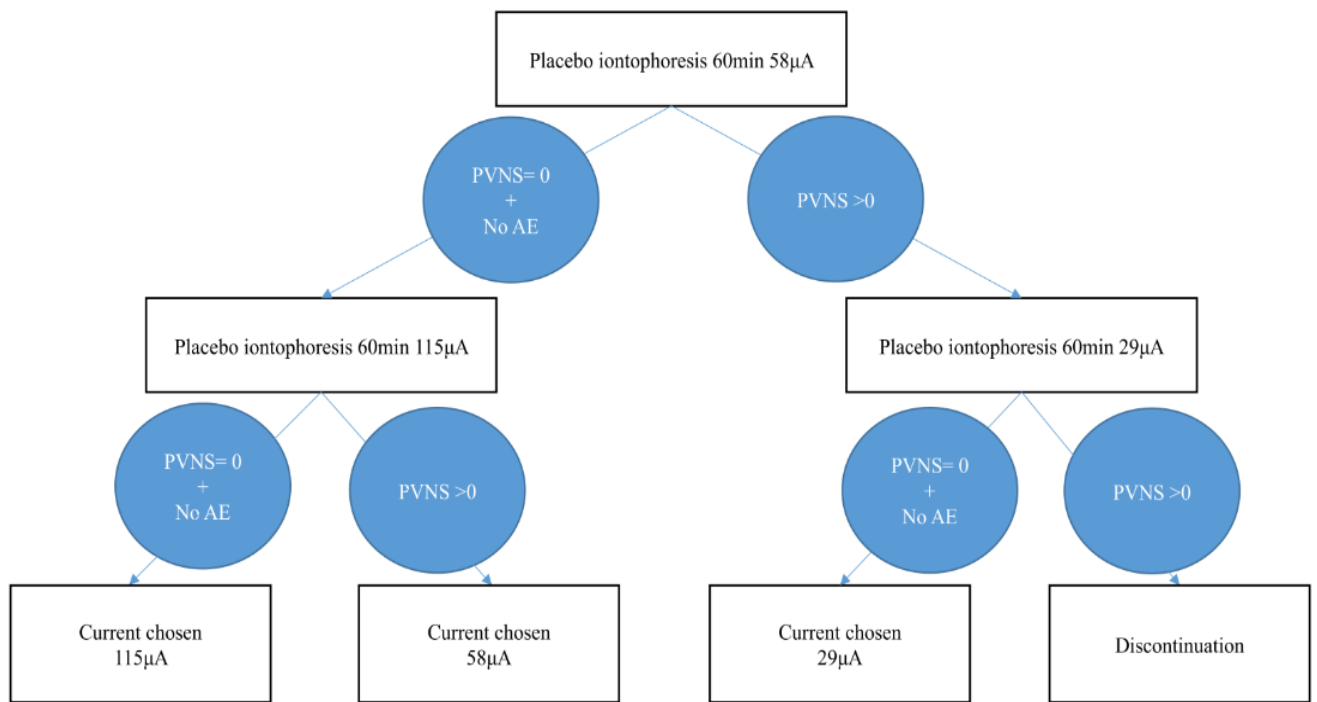


Figure 6 : Flowchart of the first study visit

Flowchart of the first study visit in patients with systemic sclerosis to determine the current to be used at the subsequent visits, for each patient (PVNS = Pain Visual Numeric Score, AE: Adverse effect).

For study visits 2 to 4, the 4 patients were randomized to treprostinil or placebo with a 3:1 ratio (patient P underwent only visit 1 due to an adverse effect under placebo iontophoresis and was not randomized). After a clinical examination and a 30-minutes acclimatization, iontophoresis was performed with treprostinil concentration at 0.1 mg/mL for visit 2; 0.3 mg/mL for visit 3; and 1 mg/mL for visit 4, or placebo, in a blind manner according to the randomization.

Safety assessment

All adverse events were graded according to the NIH Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) version 4.03(37). Pain was assessed using a visual numeric scale. An evaluation of any damage to the skin was made clinically and via photographs of the iontophoresis sites before and immediately after iontophoresis. Blood pressure was regularly recorded on the contralateral arm and used to verify the lack of systemic effect.

Skin microvascular blood flux measurements

Before recording, the site of interest was immobilized on a vacuum air cushion to avoid movement artifacts. Cutaneous blood flux was measured by laser speckle contrast

imaging (LSCI; PeriCam PSI System, Perimed, Järfälla, Sweden). The LSCI wavelength was set at 785 nm, and the laser head was placed ≈ 20 cm above the skin (with a resolution of around 6.9 pixels/cm). The image size was approximately 12×12 cm, and the acquisition rate was 1 s⁻¹. On the finger and sole of the foot, cutaneous blood flux was measured immediately after the end of iontophoresis, and at 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 min. On the leg, skin blood flux was measured immediately after the end of iontophoresis, and at 15, 30, 60, 120, 180, 240 and 300 min for the leg site in healthy volunteers.

Skin temperature measurements

Measurement of the cutaneous temperature was performed, using an Infra-Red portable camera (FLIR® T450SC; Lyon, France). The camera was placed about 40cm above the area of interest. The resolution of the detector was 320 X 240 pixels, the thermic resolution was inferior to 40 mK at 30 °C; the spatial resolution was 1.39 mrad and the picture acquisition frequency was 60 Hz.

Data Analysis

Data were analyzed with the recommended signal processing software (PIMSoft 1.1.1; Perimed, Järfälla, Sweden). Skin blood flux was expressed as cutaneous vascular conductance (CVC), which is the flux in arbitrary perfusion units divided by the mean arterial pressure in mmHg. The percentage change from baseline flux (% BL) and the area under the curve for 4 hours (AUC0–4 h, expressed as % BL·min) for the leg site, and the area under the curve for 3 hours (AUC0–3 h, expressed as % BL·min) after the end of iontophoresis for both the finger and foot sites were then calculated. The Shapiro-Wilk test was used to assess whether the data were normally distributed. CVC AUC (% BL.min) were compared using paired sample t tests for normally-distributed data, or non-parametric tests if not (finger AUC). A two way ANOVA for repeated measures was also performed on the CVC expressed as a percentage of baseline to test the effect of treprostinil, the time effect, and their interaction. Skin absolute temperature variations were tested using a similar two way ANOVA for repeated measures. A p-value <0.05 was considered as statistically significant. Statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics version 21.

RESULTS

Single dose administration to healthy volunteers

Study Population

Between 23 June and 12 July 2017 thirteen healthy volunteers were selected and twelve (4 men and 8 women) were included in the study. Their mean age was 22.6 ± 0.8 years, and mean BMI was 22.8 ± 4 kg/m². Mean systolic and diastolic arterial blood pressures were 118 ± 10 mmHg and 69 ± 7 mmHg, respectively. Mean heart rate was 68 ± 13 bpm. Five of the women were on hormonal contraception.

For the leg, 10 out of 12 volunteers underwent the planned 20 min iontophoresis. In one patient, iontophoresis was stopped due to pain after 14 minutes and for another iontophoresis was stopped after 17 minutes due to a burning sensation (no burn was clinically observed).

For the fingers, the first healthy volunteer underwent the originally planned iontophoresis of 240 μ A for 120 minutes (1728 mC) without any gauze, which caused an adverse event; after which iontophoresis was reduced to 120 μ A for 60 min, and gauze used, for the rest of the healthy volunteers. One volunteer requested the finger iontophoresis to be stopped after 20 min.

For the foot, the 5 first subjects underwent the planned 120 min of iontophoresis. For the sixth volunteer foot iontophoresis was stopped at 110 min at their request. Subsequently the duration of iontophoresis was reduced to 60 min for the remaining 7 volunteers.

See Appendix_Table_1 for all iontophoresis duration.

Skin and Systemic Safety of the Iontophoresis of Treprostinil

Sixty localized adverse effects were reported by the 12 healthy volunteers (Table 1). Details of iontophoresis and all adverse effects are given in the Appendix_Table_1. Adverse effects were rated as 1/5 or 2/5 according to the NIH CTCAE classification. The majority (55) were expected dermatological effects related to treprostinil pharmacodynamics (erythema) or to the iontophoresis (skin pruritus): 40 localized erythemas immediately after iontophoresis, which occurred more frequently when treprostinil was applied (27 with treprostinil vs 11 with placebo and 2 with passive electrodes) (Table 1).

Table 1 : Summary of adverse effects according to the skin site, drug and electrode.

Adverse effect	Skin site	Total n (%)	Electrode / drug n (% AE for applied electrodes at the site)		
			Passive	Active with placebo	Active with treprostinil
Erythema	Leg	21 (43.75)	0(0)	9(75)	12(100)
	Finger	9 (18.75)	0(0)	2(16.7)	7(58.3)
	Foot	10 (20.8)	2(8.3)	0(0)	8(66.7)
	Total	40 (27.8)	2(2.8)	11(30.6)	27(75)
Skin pruritus	Leg	5 (10.4)	5 (20.8)	0 (0)	0 (0)
	Finger	7 (14.6)	6(25)	1 (8.3)	0 (0)
	Foot	3 (6.25)	3 (12.5)	0 (0)	0 (0)
	Total	15(10.4)	14 (19.4)	1 (2.8)	0 (0)
Pain	Leg	2 (4.2)	1 (4.2)	0 (0)	1 (8.3)
	Finger	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Foot	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Total	2 (1.4)	1 (1.4)	0 (0)	1 (2.8)
Burn	Leg	1 (2.1)	0 (0)	1 (8.3)	0 (0)
	Finger	2* (1.4)	0 (0)	1* (8.3)	1* (8.3)
	Foot	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Total	3(2.1)	0 (0)	2 (5.6)	1 (2.8)
All		60(41.7)	17 (23.6)	14 (38.9)	29 (80.6)

Adverse effects were rated 2/5 () according to the NIH CTCAE classification*

We observed burns on the fingers of the first healthy volunteer, who underwent iontophoresis for 120 min: 2 electrical burns of 3 mm diameter, located on the dorsal face of the treated fingers (where no hydrogel had been applied). Patient assessed pain using the VNS was 2/10 on the index and 3/10 on the middle finger. The patient recovered; with no consequences observed at an additional visit 2 months later. These burns suggested a Joule effect burn, and prompted the study steering committee to immediately decrease the duration (from 120 minutes to 60 minutes) and intensity (from 240 to 120 μ A) of the iontophoresis on the fingers, and the addition of a gauze on the finger site below the electrode.

No systemic adverse effect was reported. No variation of the blood pressure was observed in any of the 12 subjects. (Appendix_Figure_1)

Effect of Cathodal Iontophoresis of Treprostinil on Skin Blood Flux on the Leg, Sole of the Foot, and Finger Pad

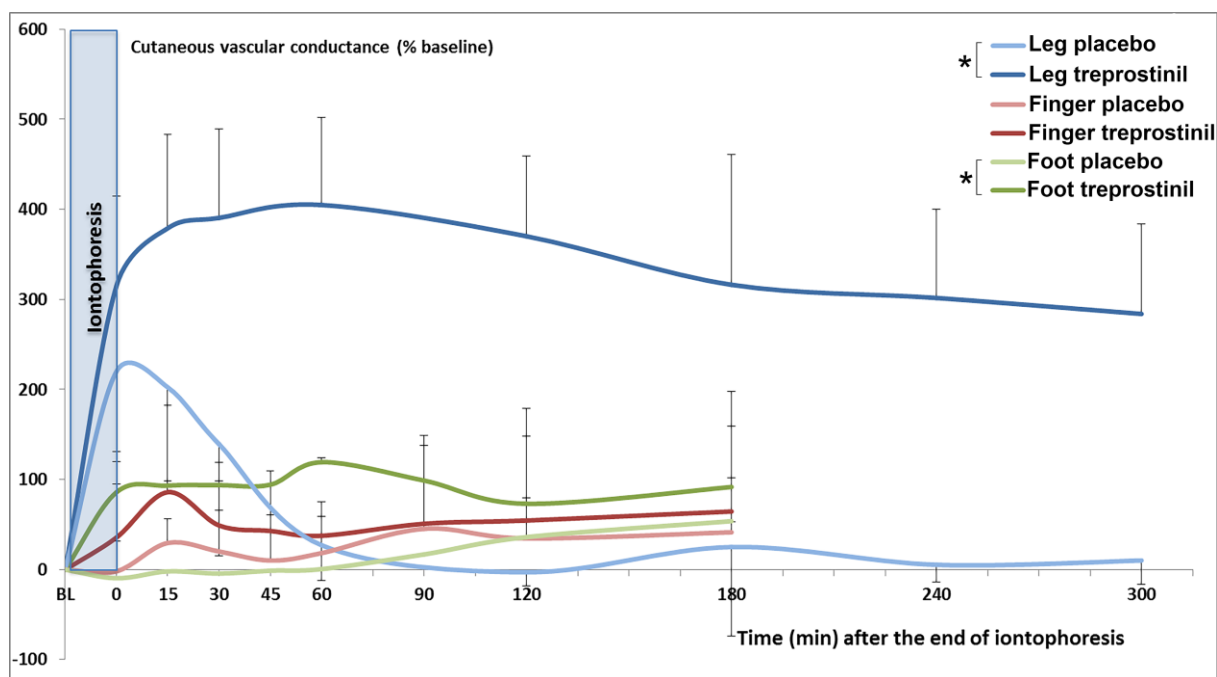


Figure 7 : Cutaneous vascular conductance

Cutaneous vascular conductance below the skin of the leg, fingers and sole of the foot expressed in % of baseline according to the treatment, until five hours after iontophoresis, for the treatment on healthy volunteers.

On the leg, treprostinil induced a significant increase in CVC compared to placebo (AUC_{0-4h} at 88460 ± 6436 versus 12730 ± 3397 %BL.min respectively, $P < 0.001$) (Figure 7). We observed a treatment effect with higher conductance for treprostinil ($P < 0.001$), a time effect ($P < 0.001$) and a time–treatment interaction ($P < 0.001$). Indeed, for the treprostinil, a peak flow was observed 1 hour after the end of iontophoresis and the cutaneous flux remained well above baseline flux 5 hours after the end of the iontophoresis. In contrast, the peak flow under placebo was observed a few minutes after the end of iontophoresis and the cutaneous flux returned to baseline levels within an hour after the end of iontophoresis (Figure 7).

On the finger pad, we observed a non-significant trend towards higher flux with treprostinil, the AUC_{0-3h} was 10773 ± 4888 %BL.min for treprostinil versus 5402 ± 4343 %BL.min for placebo ($P = 0.093$). We also observed a non-significant trend towards a

higher conductance with treprostinil ($P=0.09$), no time effect ($P=0.57$) and no time–treatment interaction ($P=0.42$). Peak perfusion was reached 15 minutes after the end of treprostinil iontophoresis.

On the sole of the foot, treprostinil induced a significant increase in the cutaneous vascular conductance compared to placebo (AUC_{0-3h} at 20124 ± 6119 versus $3142 \pm 3036\%$ BL.min respectively, $P=0.018$). We observed a treatment effect with higher conductance for treprostinil ($P=0.01$), no time effect ($P=0.54$) and a time–treatment interaction ($P=0.014$). After the end of iontophoresis with treprostinil, a plateau phase was observed.

Individual line charts comparing placebo and treprostinil are shown in Figure 8.

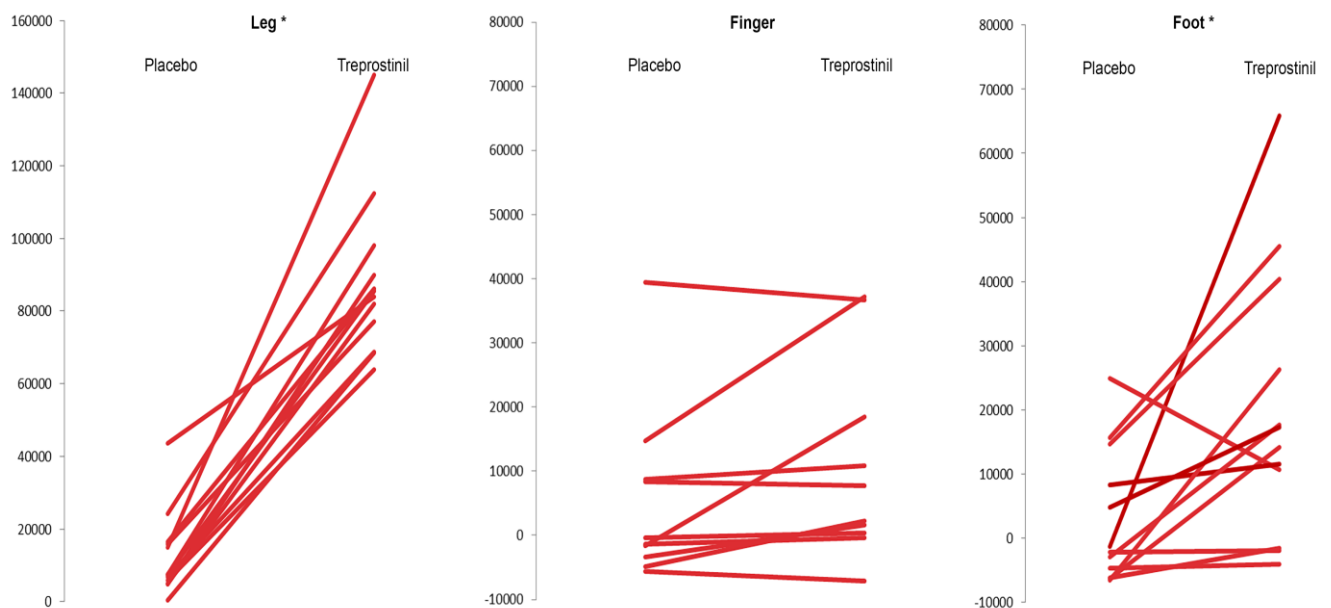


Figure 8 : Individual line charts comparing placebo and treprostinil Individuals healthy volunteers AUC of Cutaneous vascular conductance on the leg, fingers and sole of the foot.

Effect of Cathodal Iontophoresis of Treprostinil on the Temperature of the Leg, Sole of the Foot, and Finger Pad

At leg sites, we observed a treatment effect with higher temperatures for treprostinil ($P=0.002$), no time effect ($P=0.112$) and a time–treatment interaction ($P<0.001$). On the fingers, we observed no treatment effect ($P=0.56$), a time effect ($P=0.001$) and no time – treatment interaction ($P=0.263$). On the sole of the foot, we observed no treatment effect

($P=0.47$), a time effect ($P=0.001$) and no time–treatment interaction ($P=0.79$) (Figure 9).

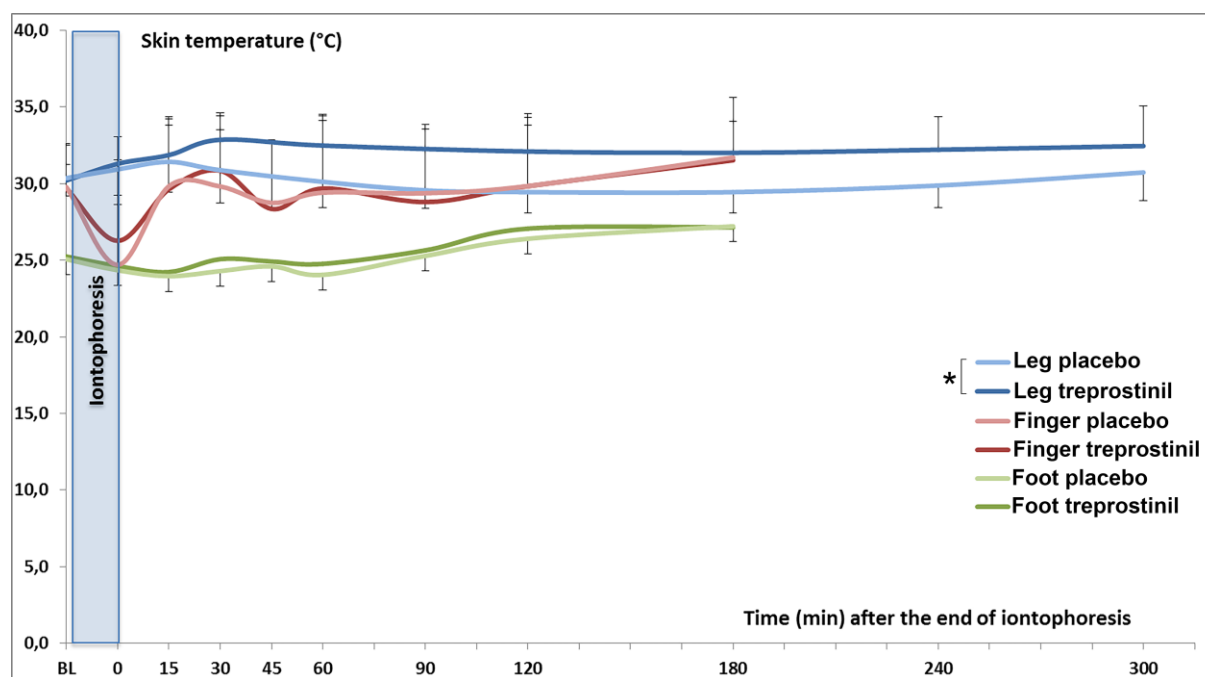


Figure 9 : Evolution of the mean cutaneous temperature
Evolution of the mean cutaneous temperatures on the leg, fingers and sole of the foot expressed in °C according to the treatment on healthy volunteers.

Single ascending dose administration on patients with SSc-related digital ulcer

Study Population

Five women, mean age 56 ± 14 years, were included. Three had limited cutaneous systemic sclerosis and two had a diffuse cutaneous systemic sclerosis pattern. Their mean Body Mass Index (kg/m^2) was 22.6 ± 2.9 , their mean Rodnan-modified skin score were 13.2 ± 9.7 and their Raynaud's condition score were 3.3 ± 2.6 . Four patients completed the study (6 visits), and one patient attended visit 0 and 1 only because of an adverse effect. The iontophoresis and follow-up characteristics are given in Appendix_Table_2.

After un-blinding: patient O had been treated with placebo and the other patients had received treprostinil. Current chosen at the first visit for the 4 patients who completed the study were 414 mC ($115 \mu\text{A}$ for 60 min) for patient M, O and Q and 104,4 mC ($29 \mu\text{A}$ for 60 min) for patient N (Appendix_Table_2).

Skin and Systemic Safety of the Iontophoresis of Treprostinil

Among the five patients enrolled, 7 localized adverse events were reported and resolved, with no severe adverse effect.

The adverse effect (observed at the end of 1st iontophoresis) of subject P resulted in discontinuation of the patient's participation after investigator/patient discussion and as a precaution due to the severity of the finger phenotype. This patient was replaced by patient Q as it was written on the protocol (as permitted by the protocol providing the patient had not received treprostinil hydrogel iontophoresis).

Two adverse events were attributed to the device, but none to the gel of treprostinil itself as they occurred during occurred during the first visit V1 (placebo iontophoresis) and were attributed to the iontophoresis device. No adverse effects were linked to the treprostinil hydrogel itself. There was one occurrence of a tingling sensation with no pain (VNS: 0/10) without any skin damage; and one case of mild finger edema and increased peri-ulcer erythema with no pain (VNS: 0/10) (Table 2). No systemic adverse effect was reported. These adverse effects were rated 1/5 on the NIH CTCAE classification. Regarding the adverse event attributed to the device, for patient N the adverse effect result in the immediate stoppage of iontophoresis (after 8 minutes) with a switch to 104.4 mC (29 μ A for 60 min) in the next iontophoresis session, that was well tolerated. We analyzed all patients. No significant variation in blood pressure was observed in any of the 5 subjects. (Appendix_Figure_2A)

Table 2 : Description of the adverse events reported for patients with SSc

Subject-Visit	Electrode site	Treatment	Treated finger	Reaction type	Intensity	NIH CTCAE grade	Causality
M	NA	NA	right annular	Painful middle right ulcer	Moderate	Pain of skin 2/5 : Moderate pain	Not attributed to the procedure
M	NA	NA	right annular	Neuralgia of the superior right molar	Moderate	Toothache 2/5 : Moderate pain	Not attributed to the procedure
N-V1	Active	Placebo	right middle finger	Tinglings, no pain (VAS: 0/10), no skin damage.	Mild	Pruritus 1/5 : Mild or localized: topical intervention indicated	Attributed to the iontophoresis device
N	NA	NA	right middle finger	Headache after a plane flight	Moderate	Headache 2/5 : Moderate pain	Not attributed to the procedure
N	NA	NA	right middle finger	Allergic rhinitis	Moderate	Allergic rhinitis : 2/5 Moderate symptoms; medical intervention indicated	Not attributed to the procedure
P-V1	Active	Placebo	right annular	Mild finger edema and increased periulcer erythema No pain (VAS : 0/10)	Mild	Localized edema 1/5 : Localized to dependent areas, no disability or functional impairment	Attributed to the iontophoresis device
Q	NA	NA	left annular	Left thumb infection, painful	Moderate	Skin infection 2/5 : Oral intervention indicated (e.g.,antibiotic, antifungal, antiviral)	Not attributed to the procedure

Effect of cathodal iontophoresis of Treprostinil on skin blood flux and temperature of the ulcer

Due to a technical issue, skin blood flow for patient O (visits 3 and 4) and for patient N (visit 1), could not be recorded. Only descriptive data are provided considering the low number of subjects; however, there was no clear-cut increase in skin blood flux and no variation in temperature. Individual values are given in supplementary online material: Appendix_Figure_2B and Appendix_Figure_2C.

DISCUSSION

We first showed that treprostinil hydrogel iontophoresis was feasible on the intact skin of healthy legs, fingers and soles of the feet in healthy volunteers. Mild or moderate adverse effects were observed, without severe or systemic effects. Secondly, single dose treprostinil hydrogel iontophoresis was feasible on digital ulcers in patients with SSc, and safe up to a concentration of 1 mg/mL. Mild adverse effects occurred, related to the iontophoresis process.

During iontophoresis, ionized drug penetration and permeation are proportional to the drug's concentration, to the current intensity, and inversely proportional to the thickness of the stratum corneum(17,38). As we had previously demonstrated in rodents, the electrical charge carried, i.e. intensity x duration, was correlated with the pharmacodynamic effect of liquid treprostinil iontophoresis, with a plateau for high concentrations(24). In the present study, the skin surface covered by the hydrogel conducted the electrical current. The volume of the hydrogel was constant (1mL), and the surface of electrical conduction was equal to the surface covered by the hydrogel soaking the gauze, slightly variable between subjects. As a consequence, the volume of the hydrogel was constant (1mL), and the surface of electrical conduction was equal to the surface covered by the hydrogel soaking the gauze, but slightly variable between subjects. The electrode used on the fingers was flexible and for this reason we did not initially use gauze, considering that all electrical charge would be driven through the hydrogel. However, following the occurrence of 2 electrical burns on the dorsum of the fingers in areas not covered by the hydrogel, we concluded that our procedure can induced electrical short circuits, and we therefore modified the protocol, systematically introducing gauze on the finger and forcing the current to be directed through the hydrogel, resulting in no more burns. In addition, the steering committee decided to halve the duration and intensity of iontophoresis in order to reduce the charge density by 4.

Our choice of treprostinil concentrations and vehicle was based on a previous study in healthy volunteers in which we had shown a concentration dependent effect up to treprostinil

concentrations of 1 mg/mL on the forearm without any safety issues related to treprostinil skin permeation(23). In addition, the liquid formulation of 1 mg/mL treprostinil was safe on healthy volunteers and SSc patients without ulcerations(26,29,30). Therefore, as no systemic adverse effect related to treprostinil was expected we ran the hydrogel treprostinil iontophoresis on the leg, finger and foot in a single day for each healthy volunteer.

The stratum corneum of the skin acts as the main barrier protecting the human body against toxic agents and microorganisms, and therefore is also a barrier to iontophoretic drug delivery(39). The stratum corneum thickness differs depending on the body sites(40), being finer on the leg, and explaining the large vasodilation observed despite lower current. Penetration and permeation are facilitated by skin injury, as in atopic dermatitis(41). When the stratum corneum is bypassed iontophoretic drug permeation is enhanced(42), and in addition, the loss of the epidermal layer that occurs in ulcerated skin will also facilitate drug permeation. This is why in patients we conducted treprostinil dose escalation with 3 concentrations (0.1; 0.3; 1 mg/mL) at lower current, demonstrating that treprostinil hydrogel iontophoresis was safe up to 1 mg/mL. In addition, ulcerated skin is more sensitive to nociception, a second reason why we chose to reduce the current density in patient with digital ulcers. Indeed, one patient felt a tingling sensation during the initial low 58 μ A current, showing that as expected, skin tolerability to an electrical current is lower in some patients with digital ulceration. In addition, another patient with severe sclerodactyly, who had already lost several phalange, experienced finger edema following the placebo procedure, probably related to an axon reflex. This stresses the need for scale up of iontophoresis current for each individual. Furthermore, there is no linear proportionality between the drug dose delivered and charge carried especially at low current(43).

As a consequence of the lower currents, individual skin blood flux and temperature measurements failed to show the expected increase in blood flux anticipated from our previous results. One possibility would be to increase treprostinil concentration, but increasing the treprostinil concentration (>1mg/mL) in the gel formulation is not technically possible. However, we suppose that repeated iontophoresis over time is likely to overcome the lower permeation observed for a single dose. In addition, we suppose a poor clearance of the product in patients with SSc.

Treprostinil is currently marketed as a subcutaneous treatment of pulmonary arterial hypertension. In patients with this condition systemic adverse effects are frequently observed, such as headache or diarrhoea(44), and severe injection site reactions are often reported resulting in 8% to 41.7% drug discontinuation in previous studies(45,46). Such systemic adverse effects

did not occur in our study, and apart from the local erythema, localized adverse effects were related to the iontophoresis procedure but not to treprostinil itself. Localized erythema were far more frequent with treprostinil, and although we reported this as an adverse effect, it was an expected pharmacodynamic effect related to its potent vasodilator properties. Indeed, increased skin blood flux were observed in the leg and foot of healthy volunteers, as seen in our previous studies with the liquid formulation of treprostinil(26,27,30). In the fingers only a trend was observed, probably related to the small size of the study with only 10 volunteers.

The study had some limitation. As expected, patient recruitment was difficult. Recognizing that the pathology is rare and that its clinical presentation in some patients is severe, we had only planned to enroll a small number of patients.

CONCLUSION

Iontophoresis of treprostinil hydrogel was safe in SSc patients with digital ulcers, with no systemic adverse effect and only minor local adverse effects related to the iontophoresis procedure. Treprostinil hydrogel at 1 mg/mL will therefore be used in the next study, i.e. daily repeated iontophoresis in SSc-related ulcers with an individual scale up of iontophoresis current.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Dr C. Cornu from the Clinical Research Center INSERM (Lyon) for presiding the Data Safety monitoring Board and Dr. A. Foote (Grenoble Alpes University Hospital) for critically reading and editing the manuscript.

FUNDING

The study was supported by the Grenoble Alps technology transfert society Linksium, the “Association des sclérodermiques de France”, and Bioprojet.

DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE

Cette thèse présente les résultats d'une étude clinique visant à étudier la sécurité de l'iontophorèse d'hydrogel de treprostinil sur les ulcères digitaux des patients atteints de sclérodermie systémique. Cette étude s'intègre dans la continuité des différents travaux de l'équipe du Pr Cracowski et du Dr Matthieu Roustit, pré-cliniques et cliniques.

L'étape 1 sur les volontaires sains était nécessaire malgré les études précédentes de l'équipe sur l'iontophorèse de solution liquide de treprostinil afin de démontrer l'innocuité de la nouvelle formulation en hydrogel. La mise au point de cet hydrogel a nécessité une collaboration très active avec le service de pharmacotechnie. Le treprostinil devait être mélangé à un hydrogel dont le cahier des charges était : -hydrogel, -d'application cutanée, -stérile, -format compatible avec la préparation aseptique par transfert. L'hydrogel sélectionné a été le SUPRASORB G qui est un gel amorphe composé de polymère de carboxyméthylcellulose, de polymère glycol et d'eau. Il se présente en seringue stérilisée à l'oxyde d'éthylène. Il a un marquage CE de DMS de classe IIb avec comme indication le traitement des plaies profondes. Le gel réhydrate les tissus favorisant l'action de détersion physiologique. Il est stable 3 ans après stérilisation dans les conditions de stockage normales ($T^{\circ} < 25^{\circ}\text{C}$, à l'abri de l'humidité). La préparation des seringues d'hydrogel de treprostinil a été faite dans le laboratoire de pharmacotechnie du CHUGA conformément aux bonnes pratiques de préparation. La stérilité était maintenue par transfert aseptique. Le gel final a été contrôlé sur plusieurs points : son aspect (limpide, incolore, exempt de particules), l'identification par chromatographie, le dosage du treprostinil par HPLC, la stérilité. Le treprostinil est un produit onéreux, un flacon ouvert a une durée de conservation de 30 jours c'est pourquoi plusieurs études de stabilité ont été effectuées : les seringues de produit final sont stables 49 jours entre $+2$ et $+8^{\circ}\text{C}$ lorsqu'elles ont été préparées à partir d'un flacon déjà ouvert depuis 29 jours, ce qui a permis de maximiser la durée d'utilisation des préparations.

Les volontaires sains de l'étape 1 ont ainsi bénéficié d'un traitement sur 3 zones d'intérêt, la pulpe digitale, la plante du pied et la face supra malléolaire interne de la jambe pour servir de base pour les études ultérieures sur des sites de plaie chronique observés respectivement sur les doigts dans la sclérodermie systémique, dans le pied diabétique et les ulcères jambiers du diabète.

Les essais cliniques de phase I sont indispensables au développement des traitements, ils permettent d'éviter l'exposition des patients à des molécules inadaptées qui auraient passé la barrière des essais pré cliniques. C'est la raison pour laquelle il est nécessaire et obligatoire de déclarer tous les effets et événements indésirables. Dans notre essai, une grande majorité des

effets indésirables déclarés étaient des effets attendus dus à la procédure d'iontophorèse elle-même ou au treprostinil (prurit et érythèmes). Ils étaient non graves et résolutifs malgré leur nombre qui peut paraître important.

Notre objectif secondaire est négatif, nous n'avons pas démontré d'effet pharmacodynamique chez les patients atteints de sclérodémie systémique, c'est-à-dire d'augmentation significative du flux sanguin cutané, alors même que l'augmentation de flux était nette sur la jambe et le pied, avec une tendance sur les doigts des volontaires sains. Ceci était attendu compte tenu de la réduction de la durée et surtout de l'intensité de l'iontophorèse, rendant probable une réduction importante du flux iontophorétique. De plus, l'augmentation de flux après l'administration d'une dose unique n'est qu'un indicateur mais pas un réel biomarqueur d'efficacité de l'action pharmacodynamique du treprostinil. L'action vasodilatatrice majeure du treprostinil observée chez les volontaires sains n'est pas le seul bénéfice de ce traitement permettant la cicatrisation des ulcères. Le treprostinil a une action antifibrosante et anti agrégante plaquettaire qui peuvent avoir leur propre rôle. L'action antifibrosante serait due au blocage de l'induction du CTGF pro fibrotique et de l'augmentation de la synthèse de collagène des fibroblastes exposés au TGFB, par l'action de l'AMPc induite par la prostacycline(47). Cet aspect des rôles annexes du treprostinil reste à explorer par l'équipe clinique. L'équipe pré clinique du laboratoire, retrouve bien l'action anti plaquettaire chez le modèle murin de sclérodémie systémique. D'autre part, la répétition des iontophorèses est prévue dans le cadre du traitement des ulcères et on peut envisager un effet vasodilatateur modéré en cas d'administration de doses cumulées.

De cette étude vont découler deux prochaines études cliniques. La première sera une étude thérapeutique d'efficacité chez le patient sclérodémique avec ulcère ischémique, multicentrique, de phase II, contrôlée, randomisée en ouvert avec évaluation du critère de jugement par un centre indépendant. L'efficacité du traitement sera jugée sur un critère clinique intermédiaire, le pourcentage de réduction de la zone ulcérée. Les patients seront traités par iontophorèse cathodale de treprostinil à 1mg/mL de manière journalière pendant 30 minutes durant 3 semaines. La quantité de courant administrée sera adaptée à chaque patient selon sa tolérance.

Les ulcères d'origine microvasculaire sont digitaux pour la plupart lorsque les patients sont atteints de sclérodémie systémique mais atteignent principalement les pieds lorsque les patients sont diabétiques. La seconde étude sera donc une étude de phase I/II chez le patient diabétique de type 2 sur les ulcères de pied. Pour cette étude, il a été décidé de changer le matériel

d'iontophorèse et d'utiliser la console et les électrodes Woundel®. Nous espérons avoir moins d'effet indésirable à type de prurit. Ce nouveau dispositif médical avec marquage CE a été choisi car il est transportable et plus facilement envisageable pour les traitements à domicile entre autre. Cependant il n'est pas possible de l'utiliser pour les patients atteints de sclérodémie systémique car les électrodes pansements ne sont pas assez conformables pour être apposées sur les doigts. Cette étude suivra un plan plus traditionnel d'étude de phase I/II c'est-à-dire une « accelerated titration dose » puis une phase 3+3 pour la première étape chez les patients diabétiques. Elle sera suivie d'une seconde étape sur 3 groupes parallèles à la dose déterminée à l'étape 1: traitement standard, iontophorèse de placebo, iontophorèse de treprostinil.

En ce qui concerne les difficultés de recrutement rencontrées, nous avons reçu le soutien de l'association de patients « association des sclérodermiques de France » et avons bénéficié d'un lien fort avec les médecins du service de médecine vasculaire. Nous voulons pour la prochaine étude essayer de nous associer plus fortement avec le pharmacien clinicien du service concerné. La collaboration inter professionnelle et inter service a été indispensable et doit continuer à perdurer pour les études futures.

CONCLUSION

THÈSE SOUTENUE PAR : Alicia GUIGUI

TITRE :

Nouvelle approche thérapeutique pour la cicatrisation des ulcères cutanés d'origine microvasculaire : étude de phase I/II

CONCLUSION :

La sclérodémie systémique (SSc) est une maladie auto-immune associant fibrose cutanée et dysfonctions endothéliale et microvasculaire. Le défaut de perfusion cutanée, possiblement associée à un traumatisme local ou des facteurs mécaniques, est à l'origine d'ulcères digitaux. Dououreux, multiples et récidivants, ils sont très handicapants et peuvent conduire à des amputations. L'iloprost (analogue de la prostacycline PGI₂) intraveineux en est le principal traitement. Mais les contraintes d'administration, les nombreux effets indésirables systémiques et la moindre distribution de ce traitement chez les patients atteints de SSc nous ont menés à l'utilisation d'une voie d'administration locale : l'iontophorèse.

Ce travail consiste en étude clinique de phase I/II, qui vise à démontrer la sécurité de l'iontophorèse cathodale d'un hydrogel de treprostinil (analogue stable de la PGI₂) sur le pied, la jambe et les doigts de volontaires sains puis sur les ulcères digitaux de patients atteints de SSc. Nous avons exploré les effets pharmacodynamiques du treprostinil sur le flux sanguin cutané grâce au laser speckle à imagerie de contraste.

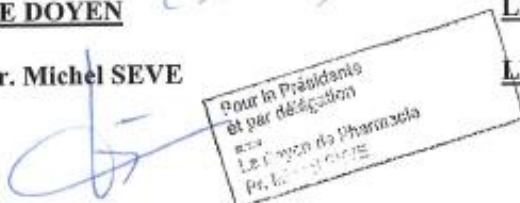
Nous avons observé des brûlures chez le premier sujet inclus liées au dispositif d'iontophorèse, ce qui nous a conduit à modifier notre procédé. Ensuite, nous avons observé des événements indésirables locaux, résolutifs et non graves. Un effet vasodilatateur du treprostinil, c'est à dire une augmentation de la conductance vasculaire cutanée, a été retrouvé chez les sujets sains, mais pas les patients atteints de SSc.

La suite de cette étude sera d'évaluer la sécurité d'une administration quotidienne répétée chez les patients atteints de sclérodémie systémique ainsi que l'efficacité sur un critère clinique intermédiaire : le pourcentage de réduction de la zone ulcérée.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le : 23/09/19
LE DOYEN

Pr. Michel SEVE



LE DIRECTEUR DE THÈSE :

LE TUTEUR UNIVERSITAIRE : KOTZKI Sylvain

46

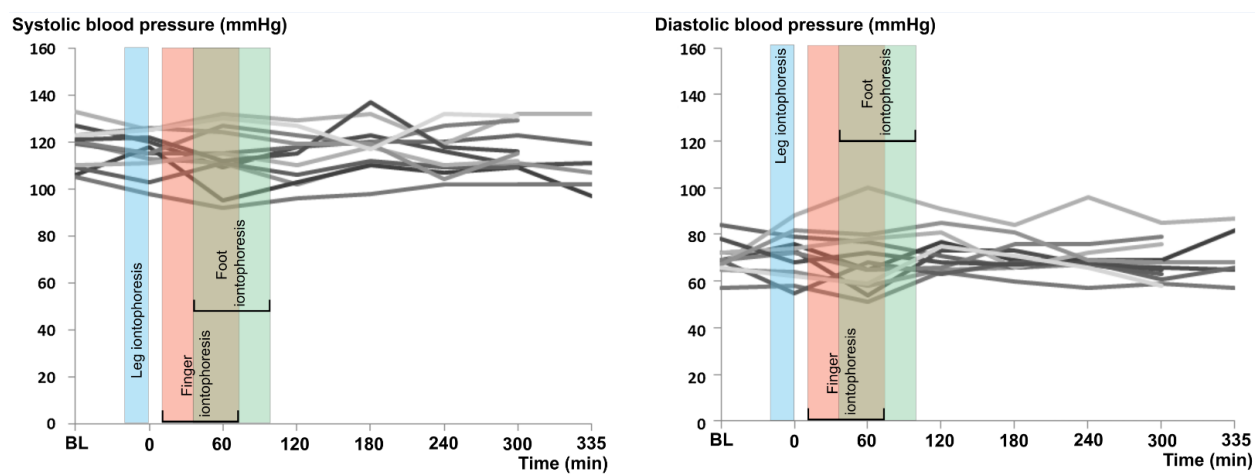
BIBLIOGRAPHIE

1. Essais cliniques portant sur les dispositifs médicaux et dispositifs médicaux de diagnostic in vitro - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. [cité 8 juill 2019]. Disponible sur: [https://www.ansm.sante.fr/Activites/Dispositifs-medicaux-et-dispositifs-medicaux-de-diagnostic-in-vitro/Essais-cliniques-portant-sur-les-dispositifs-medicaux-et-dispositifs-medicaux-de-diagnostic-in-vitro/\(offset\)/1](https://www.ansm.sante.fr/Activites/Dispositifs-medicaux-et-dispositifs-medicaux-de-diagnostic-in-vitro/Essais-cliniques-portant-sur-les-dispositifs-medicaux-et-dispositifs-medicaux-de-diagnostic-in-vitro/(offset)/1)
2. LOI n° 2012-300 du 5 mars 2012 relative aux recherches impliquant la personne humaine. 2012-300 mars 5, 2012.
3. Bhatt DL, Mehta C. Adaptive Designs for Clinical Trials. *N Engl J Med*. 7 juill 2016;375(1):65-74.
4. Rosenblatt M. The Large Pharmaceutical Company Perspective. *N Engl J Med*. 5 janv 2017;376(1):52-60.
5. Storer BE. Design and analysis of phase I clinical trials. *Biometrics*. sept 1989;45(3):925-37.
6. Liu S, Cai C, Ning J. Up-and-down designs for phase I clinical trials. *Contemp Clin Trials*. sept 2013;36(1):218-27.
7. CTCAE_v5_Quick_Reference_8.5x11.pdf [Internet]. [cité 12 juill 2019]. Disponible sur: https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/CTCAE_v5_Quick_Reference_8.5x11.pdf
8. Reiner E, Paoletti X, O'Quigley J. Operating characteristics of the standard phase I clinical trial design. *Comput Stat Data Anal*. 28 mai 1999;30(3):303-15.
9. Simon R, Freidlin B, Rubinstein L, Arbuck SG, Collins J, Christian MC. Accelerated titration designs for phase I clinical trials in oncology. *J Natl Cancer Inst*. 6 août 1997;89(15):1138-47.
10. O'Quigley J, Pepe M, Fisher L. Continual reassessment method: a practical design for phase I clinical trials in cancer. *Biometrics*. mars 1990;46(1):33-48.
11. Yan F, Thall PF, Lu KH, Gilbert MR, Yuan Y. Phase I-II clinical trial design: a state-of-the-art paradigm for dose finding. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 01 2018;29(3):694-9.
12. Alam MI, Coad DS, Bogacka B. Combined criteria for dose optimisation in early phase clinical trials. *Stat Med*. 27 juin 2019;
13. Sclerodermie_systemique_FR_fr_PNDS.pdf [Internet]. [cité 16 juill 2019]. Disponible sur: https://www.orpha.net/data/patho/PNDS/Sclerodermie_systemique_FR_fr_PNDS.pdf
14. Hachulla E, Clerson P, Launay D, Lambert M, Morell-Dubois S, Queyrel V, et al. Natural history of ischemic digital ulcers in systemic sclerosis: single-center retrospective longitudinal study. *J Rheumatol*. déc 2007;34(12):2423-30.
15. Kowal-Bielecka O, Fransen J, Avouac J, Becker M, Kulak A, Allanore Y, et al. Update of EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 1 août 2017;76(8):1327-39.
16. Guyatt G, Oxman AD, Akl EA, Kunz R, Vist G, Brozek J, et al. GRADE guidelines: 1. Introduction-GRADE evidence profiles and summary of findings tables. *J Clin Epidemiol*. avr 2011;64(4):383-94.
17. Roustit M, Blaise S, Cracowski J-L. Trials and tribulations of skin iontophoresis in therapeutics. *Br J Clin Pharmacol*. janv 2014;77(1):63-71.
18. Zhao M, Song B, Pu J, Wada T, Reid B, Tai G, et al. Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase-gamma and PTEN. *Nature*. 27 juill 2006;442(7101):457-60.
19. Gohin S, Sigaudou-Roussel D, Conjard-Duplany A, Dubourg L, Saumet JL, Fromy B. What can current stimulation tell us about the vascular function of endogenous prostacyclin in healthy rat skin in vivo? *J Invest Dermatol*. janv 2011;131(1):237-44.

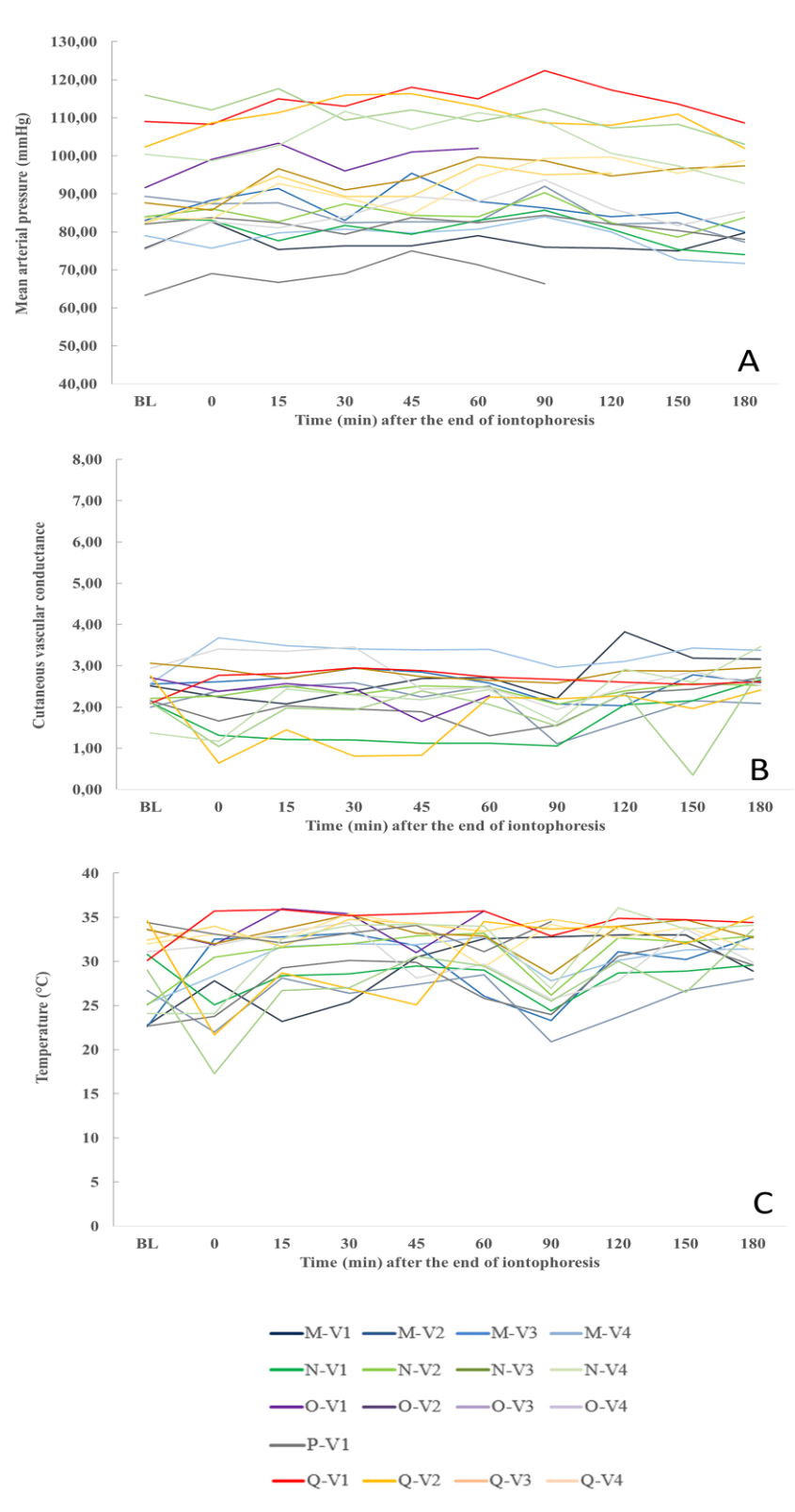
20. Khouri C, Kotzki S, Roustit M, Blaise S, Gueyffier F, Cracowski J-L. Hierarchical evaluation of electrical stimulation protocols for chronic wound healing: An effect size meta-analysis. *Wound Repair Regen Off Publ Wound Heal Soc Eur Tissue Repair Soc.* 2017;25(5):883-91.
21. Peshavariya HM, Liu G-S, Chang CWT, Jiang F, Chan EC, Dusting GJ. Prostacyclin signaling boosts NADPH oxidase 4 in the endothelium promoting cytoprotection and angiogenesis. *Antioxid Redox Signal.* 10 juin 2014;20(17):2710-25.
22. Francès C, Allanore Y, Cabane J, Carpentier P, Dumontier C, Hachulla E, et al. [Management of digital ulcers from systemic scleroderma]. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. févr 2008;37(2 Pt 2):271-85.
23. Blaise S, Roustit M, Hellmann M, Millet C, Cracowski J-L. Cathodal iontophoresis of treprostinil induces a sustained increase in cutaneous blood flux in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol.* janv 2013;53(1):58-66.
24. Kotzki S, Roustit M, Arnaud C, Godin-Ribuot D, Cracowski J-L. Effect of continuous vs pulsed iontophoresis of treprostinil on skin blood flow. *Eur J Pharm Sci Off J Eur Fed Pharm Sci.* 25 mai 2015;72:21-6.
25. Blaise S, Roustit M, Millet C, Ribaut C, Boutonnat J, Cracowski JL. Cathodal iontophoresis of treprostinil and iloprost induces a sustained increase in cutaneous flux in rats. *Br J Pharmacol.* févr 2011;162(3):557-65.
26. Roustit M, Gaillard-Bigot F, Blaise S, Stanke-Labesque F, Cracowski C, Seinturier C, et al. Cutaneous iontophoresis of treprostinil in systemic sclerosis: a proof-of-concept study. *Clin Pharmacol Ther.* avr 2014;95(4):439-45.
27. Hellmann M, Roustit M, Gaillard-Bigot F, Cracowski J-L. Cutaneous iontophoresis of treprostinil, a prostacyclin analog, increases microvascular blood flux in diabetic malleolus area. *Eur J Pharmacol.* 5 juill 2015;758:123-8.
28. Tonelli AR, Ahmed MK, Alkukhun L, Cikach F, Aulak K, Dweik RA. Treprostinil Iontophoresis in Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 oct 2015;192(8):1014-6.
29. Gaillard-Bigot F, Roustit M, Blaise S, Cracowski C, Seinturier C, Imbert B, et al. Treprostinil Iontophoresis Improves Digital Blood Flow during Local Cooling in Systemic Sclerosis. *Microcirc N Y N* 1994. avr 2016;23(3):266-70.
30. Gaillard-Bigot F, Roustit M, Jourdil J-F, Stanke-Labesque F, Cracowski J-L. Vascular Effects of Treprostinil Cutaneous Iontophoresis on the Leg, Finger, and Foot. *J Clin Pharmacol.* 2017;57(9):1215-20.
31. Fransen J, Inanc M. *EULAR Textbook on Systemic Sclerosis. Chapter 3. Epidemiology.* BMJ Publishing Group Limited; 2013. 369 p.
32. Trojanowska M. Cellular and molecular aspects of vascular dysfunction in systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6(8):453-60.
33. Hughes M, Herrick AL. Digital ulcers in systemic sclerosis. *Rheumatology.* janv 2017;56(1):14-25.
34. Hoogen F van den, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis.* 11 janv 2013;72(11):1747-55.
35. Baron M, Chung L, Gyger G, Hummers L, Khanna D, Mayes MD, et al. Consensus opinion of a North American Working Group regarding the classification of digital ulcers in systemic sclerosis. *Clin Rheumatol.* févr 2014;33(2):207-14.
36. Décision du 5 novembre 2007 relative aux bonnes pratiques de préparation.
37. CTCAE Files [Internet]. [cité 15 mai 2019]. Disponible sur: <https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/About.html>

38. Kalia YN, Naik A, Garrison J, Guy RH. Iontophoretic drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 27 mars 2004;56(5):619-58.
39. Naik null, Kalia null, Guy null. Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. *Pharm Sci Technol Today.* 1 sept 2000;3(9):318-26.
40. Holbrook KA, Odland GF. Regional differences in the thickness (cell layers) of the human stratum corneum: an ultrastructural analysis. *J Invest Dermatol.* avr 1974;62(4):415-22.
41. Yoshiike T, Aikawa Y, Sindhvananda J, Suto H, Nishimura K, Kawamoto T, et al. Skin barrier defect in atopic dermatitis: increased permeability of the stratum corneum using dimethyl sulfoxide and theophylline. *J Dermatol Sci.* avr 1993;5(2):92-6.
42. Kumar V, Banga AK. Modulated iontophoretic delivery of small and large molecules through microchannels. *Int J Pharm.* 15 sept 2012;434(1-2):106-14.
43. Tesselaar E, Henricson J, Jonsson S, Sjöberg F. A Time-Response Model for Analysis of Drug Transport and Blood Flow Response during Iontophoresis of Acetylcholine and Sodium Nitroprusside. *J Vasc Res.* 2009;46(4):270-7.
44. Hiremath J, Thanikachalam S, Parikh K, Shanmugasundaram S, Bangera S, Shapiro L, et al. Exercise improvement and plasma biomarker changes with intravenous treprostinil therapy for pulmonary arterial hypertension: a placebo-controlled trial. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant.* févr 2010;29(2):137-49.
45. Simonneau G, Barst RJ, Galie N, Naeije R, Rich S, Bourge RC, et al. Continuous subcutaneous infusion of treprostinil, a prostacyclin analogue, in patients with pulmonary arterial hypertension: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 mars 2002;165(6):800-4.
46. Chung L, Fiorentino D. A pilot trial of treprostinil for the treatment and prevention of digital ulcers in patients with systemic sclerosis. *J Am Acad Dermatol.* mai 2006;54(5):880-2.
47. Stratton R, Shiwen X, Martini G, Holmes A, Leask A, Haberberger T, et al. Iloprost suppresses connective tissue growth factor production in fibroblasts and in the skin of scleroderma patients. *J Clin Invest.* juill 2001;108(2):241-50.

ANNEXES



Appendix_Figure_1. Evolution of systolic and diastolic blood pressure (in mmHg) for the healthy volunteers during the study visit



Appendix_Figure_2. A: Mean arterial pressure (mmHg) following iontophoresis (min) at each study visit for stage 2 patients. **B:** Evolution of the cutaneous vascular conductance at each visit for stage 2 patients **C:** Evolution of the cutaneous temperature (°C) at each study visit for stage 2 patients. (BL: baseline)

Appendix_Table_1: Summary of iontophoresis and adverse effects on healthy volunteers.

Subject	Leg intensity μA	Leg duration min	Finger intensity μA	Finger duration min	Foot intensity μA	Foot duration min	Site	Electrode site	Treatment	Reaction type	Intensity	NIH CTCAE grade
A	240	20	240	120	240	120	Finger	Active	Placebo	Burn	Moderate	2/5
							Finger	Active	Treprostinil	Burn	Moderate	3/5
							Leg	Active	Placebo	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Foot	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
B	240	20	120	20	240	110	Finger	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Active	Placebo	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Foot	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Foot	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5
C	240	20	240	60	240	120	Leg	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
D	240	20	120	60	240	120	Finger	Active	Placebo	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Active	Placebo	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
E	240	20	120	60	240	120	Finger	Active	Placebo	Erythema	Mild	1/5
							Finger	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Foot	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
F	240	20	120	60	240	60	Finger	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Finger	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5

G	240	20	120	60	240	60	Leg	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Active	Placebo	Erythema	Mild	1/5
							Foot	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Finger	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Finger	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5
							Finger	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5
							Leg	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5
							Leg	Active	Placebo	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5
							Foot	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5
H	240	17	120	60	240	60	Leg	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Active	Treprostinil	Pain	Mild	1/5
							Finger	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Active	Placebo	Erythema	Mild	1/5
							Foot	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Foot	Passive	Not applicable	Erythema	Mild	1/5
							Foot	Passive	Not applicable	Erythema	Mild	1/5
							Finger	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5
I	240	14	120	60	240	60	Finger	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Finger	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5

J	240	20	120	60	240	60	Leg	Passive	Not applicable	Pain	Mild	1/5
							Leg	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Finger	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Finger	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5
							Finger	Active	Placebo	Skin pruritus	Mild	1/5
							Finger	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5
							Leg	Active	Placebo	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5
							Leg	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5
							Foot	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5
							Foot	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Foot	Passive	Not applicable	Skin pruritus	Mild	1/5
							Leg	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
K	240	20	120	60	240	60	Leg	Active	Placebo	Erythema	Mild	1/5
							Foot	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Active	Placebo	Burn	Mild	1/5
L	240	20	120	60	240	60	Leg	Active	Treprostinil	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Active	Placebo	Erythema	Mild	1/5
							Leg	Active	Placebo	Erythema	Mild	1/5

Appendix_Table_2 : Iontophoresis and follow-up characteristics of step 2 patients

* The duration of follow-up was shortened at the patient's request.

Patient	Visit	Treated finger	Current charge mC	Current intensity μA	Iontophoresis duration (min)	Concentration of treprostinil or placebo mg.mL^{-1}	Adverse effect or PVNS>0	Duration of follow up (min)
M	V1	right annular	208.8	58	60	0	no	
	V1		414	115	60	0	no	180
	V2		414	115	60	0.1	no	180
	V3		414	115	60	0.3	no	180
	V4		414	115	60	1	no	180
N	V1	right middle finger	208.8	58	8	0	Yes	
	V1		104.4	29	60	0	no	180
	V2		104.4	29	60	0.1	no	180
	V3		104.4	29	60	0.3	no	180
	V4		104.4	29	60	1	no	180
O	V1	right middle finger	208.8	58	60	0	no	
	V1		414	115	60	0	no	60*
	V2		414	115	60	0.1	no	180
	V3		414	115	60	0.3	no	120*
	V4		414	115	60	1	no	180
P	V1	right annular	208.8	58	54*	0	Yes	90*
Q	V1	left annular	208.8	58	60	0	no	
	V1		414	115	60	0	no	180
	V2		414	115	60	0.1	no	180
	V3		414	115	60	0.3	no	180
	V4		414	115	60	1	no	180



Serment de Galien



« Je jure en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque ».

**NOUVELLE APPROCHE THERAPEUTIQUE POUR LA CICATRISATION DES
ULCERES CUTANES D'ORIGINE MICROVASCULAIRE : ETUDE DE PHASE I/II**

RÉSUMÉ

La sclérodermie systémique (SSc), maladie rare, associe fibrose cutanée et atteinte microvasculaire. Les ulcères digitaux en sont une complication fréquente. Récidivants, douloureux et handicapants ils peuvent conduire à l'amputation. Le traitement curatif de première ligne est l'iloprost intraveineux (IV). L'administration de cet analogue de la prostacycline (PGI₂) est contraignante, nécessite une hospitalisation et présente des effets indésirables systémiques dose-limitants. La diffusion de l'iloprost IV est diminuée chez les patients atteints de SSc du fait de la raréfaction capillaire et de la dysfonction microvasculaire. Nous avons proposé une administration par voie locale d'un analogue de la PGI₂, le treprostinil, grâce à l'iontophorèse. Cette étude de phase I/II nous a permis d'explorer la sécurité d'utilisation d'un hydrogel de treprostinil par iontophorèse cathodale en dose unique sur peau saine (pied, jambe, doigts) de volontaires sains et en dose unique croissante sur les ulcères digitaux de patients atteints de SSc. L'augmentation du flux sanguin cutané a été recherchée par imagerie de contraste Speckle. Deux brûlures sur les doigts du premier volontaire inclus a conduit à la diminution de la quantité de courant. Les effets indésirables déclarés par la suite étaient locaux, non graves, non systémiques et résolutifs. L'effet pharmacodynamique du treprostinil a été retrouvé au niveau des pieds et jambes des volontaires sains mais pas sur les doigts. La sécurité d'utilisation de la dose unique croissante démontrée dans cette étude nous permet de passer à l'étape suivante d'administrations répétées sur plusieurs semaines sur les ulcères digitaux des patients.

MOTS CLÉS : Sclérodermie systémique, dysfonction microvasculaire, prostacycline, treprostinil, iontophorèse

FILIERE : Pharmacie Hospitalière – Pratique et Recherche