



HAL
open science

La peau comme fenêtre du système nerveux : physiopathologie et biomarqueurs

Mathilde Stevens

► **To cite this version:**

Mathilde Stevens. La peau comme fenêtre du système nerveux : physiopathologie et biomarqueurs. Neurobiologie. Université de Limoges, 2019. Français. NNT : 2019LIMO0029 . tel-02970703

HAL Id: tel-02970703

<https://theses.hal.science/tel-02970703v1>

Submitted on 19 Oct 2020

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.

Université de Limoges

ED 615 - Sciences Biologiques et Santé (SBS)

Equipe de recherche : EA6309 'Maintenance myélinique et neuropathies périphériques'

Thèse pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université de Limoges
Biosanté

Présentée et soutenue par
Mathilde Duchesne

Le 18 octobre 2019

La peau comme fenêtre du système nerveux : Physiopathologie et biomarqueurs

Thèse co-dirigée par le Pr Laurent MAGY et le Dr Claire DEMIOT

JURY :

Rapporteurs

- Mme le Pr Pascale MARCORELLES, PU-PH, Anatomopathologie, CHU de Brest
- M. le Pr Jean-Pascal LEFAUCHEUR, PU-PH, Physiologie, Explorations Fonctionnelles, CHU Henri Mondor, Créteil

Examineurs

- Mme le Dr Claire DEMIOT, MCU, Pharmacologie, Université de Limoges
- M. le Pr Jean-Philippe CAMDESSANCHE, PU-PH, Neurologie, CHU de Saint-Etienne
- M. le Pr Laurent MAGY, PU-PH, Neurologie, CHU Dupuytren, Limoges

A ma mère,

Tout obstacle renforce la détermination. Celui qui s'est fixé un but n'en change pas.

Léonard de Vinci

REMERCIEMENTS

Je remercie avant tout le Professeur Laurent Magy, pour avoir accepté d'encadrer ce travail de thèse durant ces trois ans. Je te remercie pour ton implication, ta disponibilité, tes conseils toujours très pertinents et ta bonne humeur. J'admire ta faculté de manier avec autant d'élégance le sérieux dans le travail et l'humour. Je te remercie aussi et surtout pour ton soutien et ton accueil depuis mon arrivée à Limoges il y a trois ans en tant que jeune chef de clinique. Merci de ton aide pour m'intégrer dans la partie « clinique » de la pathologie neuromusculaire. Ce soutien et cette équipe que nous formons tous ensemble alimentent beaucoup mon envie et ma motivation de travailler dans ce domaine passionnant.

Merci au Docteur Claire Demiot d'avoir co-encadré ce travail de thèse. Je te remercie pour tes conseils et ta disponibilité. Ton parcours et ton expérience apportent une ouverture d'esprit et des perspectives qui enrichissent ce travail. J'espère avoir l'occasion de continuer à travailler avec toi.

Un grand merci au Professeur Pascale Marcorelles et au Professeur Jean-Pascal Lefaucheur. Vous me faites l'honneur de faire partie de ce jury de thèse et d'y consacrer du temps pour juger ce travail en tant que rapporteurs. Je vous en remercie et vous témoigne toute ma reconnaissance.

Je remercie également le Professeur Jean-Philippe Camdessanché de me faire le plaisir et l'honneur de juger ce travail de thèse en tant que membre du jury, que j'ai eu l'occasion et le plaisir de rencontrer lors de divers congrès.

Je remercie infiniment le Professeur Jean-Michel Vallat, qui m'a ouvert la voie sur le monde de la neuropathologie neuromusculaire, m'a guidée et soutenue dès mes débuts. Vous êtes mon « parrain » de la neuropathologie et de mon parcours de recherche. Votre rigueur, votre savoir, votre implication et votre détermination sont pour moi un exemple à suivre. Travailler à vos côtés a été ma première motivation pour venir rejoindre l'équipe de Limoges. J'espère apprendre encore beaucoup à vos côtés. Je vous témoigne tout mon profond respect et ma reconnaissance.

Je remercie le Professeur François Labrousse, sans qui je n'aurais pas eu la possibilité de venir travailler à Limoges. Je vous remercie de votre soutien sans faille, de votre gentillesse, de votre

écoute dans les moments de stress. Je vous remercie aussi de m'avoir permis de réaliser ce travail de thèse en l'intégrant à mon activité dans le service. Vos conseils et votre écoute auront été précieux durant ces trois années, et le seront encore.

Merci au Professeur Franck Sturtz, directeur de mon équipe de recherche, qui s'est toujours rendu disponible lorsque j'en avais besoin. Merci aussi pour vos conseils durant ces trois ans.

Merci au Docteur Stéphane Mathis, qui m'a initiée à la pathologie neuromusculaire durant ma première année d'internat, et m'a donné l'opportunité de rencontrer l'équipe de Limoges (au cours de ballades Poitiers-Limoges dans ta voiture « bas de gamme », n'ayant jamais eu l'occasion de monter dans ton bolide). C'est toujours un plaisir de te rencontrer au cours de congrès ou parfois à Limoges. Enfin, je dois m'incliner face à ta capacité de rédaction hors pair qui dépasse l'entendement.

Je remercie chaleureusement et avec beaucoup d'amitié toute l'équipe du laboratoire de neurologie, sans laquelle je ne pourrais pas réaliser tous ces projets. Laurence, tu as été là depuis mon Master 2. Au-delà de tes qualités professionnelles, c'est un réel plaisir et un vrai soutien de travailler avec toi. Un grand merci pour tout ce que tu as fait (trop long à énumérer !). Fanny, en plus d'être une excellente technicienne et surtout extrêmement dévouée dans ton travail, tu es devenue une amie. Tu as été là dans les bons comme les mauvais moments, et je t'en remercie infiniment. Je remercie aussi Alice, que j'ai appris à connaître avec plaisir petit à petit depuis mon arrivée en tant que jeune chef. Tes heures passées « au congel » m'auront permis d'avancer dans cette thèse et je t'en remercie. Merci aussi à Laure, la dernière arrivée dans l'équipe, qui travaille avec une grande minutie.

Je remercie mille fois (et ce n'est pas assez !) celle qui m'a accompagnée et a participé grandement à cette thèse, Camille. Tu as accepté de te lancer dans une aventure de Master 1 à mes côtés, et nous avons finalement réalisé un travail ensemble qui est allé bien au-delà de ton Master. Ta motivation, ton implication, ton sérieux, ta rigueur mais aussi ta fraîcheur et ta bonne humeur ont fait de toi une formidable alliée. Tu en as bavé à compter ces vaisseaux mais ces efforts n'ont pas été vains ! J'espère de tout cœur que l'on continuera à travailler ensemble et qu'on réalisera de beaux projets.

Je remercie évidemment toute l'équipe du 6^e, l'EA6309, qui ont de près ou de loin aidé à l'élaboration de ce travail. Un très grand merci à Aurore, pour toute cette aide précieuse que tu m'as apportée, et cela dans une constante bonne humeur très appréciable. Merci aussi à Justine,

pour ce soutien mutuel durant cette année qui a été remplie de challenges pour toutes les deux. Même si ce n'est jamais vraiment fini, on franchit les étapes une par une, et c'est agréable d'avoir quelqu'un avec qui partager ça.

Je remercie l'ensemble du service d'anatomo-pathologie. Merci surtout à mes deux collègues en or et aujourd'hui amies, avec qui nous formons les drôles de dames de l'anatomo-pathologie du CHU de Limoges 😊. Merci pour votre soutien et vos encouragements qui m'ont beaucoup aidée. Merci aussi à Manu, pour m'avoir dépannée dans des moments critiques ! Merci à tous les autres : Karine, Isabelle, Véronique, Valère, Sophie, le Pr Paraf, les internes, Armand, Bertrand, Emeline, Antonio, Raphaël, Maxence, et les internes de passage (mais qui laisseront un excellent souvenir), Odile et Clémence. Merci à Elodie, à Chouchou, à Pascale, à Alain, et à tout le reste du service évidemment. Merci aussi à Laura (ancienne du service !). Et merci à Angélique pour tous tes conseils, toi qui es aussi passée par ces étapes.

Un merci à tous mes amis, avec une mention particulière pour ceux qui ont été « moralement » présents durant ce travail : Caro, Marion et Philippe (président du fanclub).

Un immense merci à toute ma famille, qui m'encourage. Un grand merci à mon frère Pierre, qui lui aussi est en doctorat, et encore pour quelques temps ! Mais bientôt c'est toi qui écriras tes remerciements (tu verras ce n'est pas si simple). Merci à ma sœur Lucie qui a suivi les avancées de cette thèse de très près aussi. Je te remercie pour tes messages sur Whatsapp, plus ou moins pertinents et avouables. Merci à mes parents, et surtout merci à ma maman. Tu me procures une motivation redoutable depuis toujours, tu es un exemple pour moi et cela à bien des égards.

Pour terminer, je vais remercier celui qui me suit et me soutient au quotidien depuis quelques temps déjà, mon co-équipier de choc, mon co-pilote, Fabrice. Tu illumines mon quotidien depuis notre rencontre, et me motives à me surpasser chaque jour. Je te remercie pour tout ce que tu m'apportes, et pour tous ces projets que nous réalisons à deux. Ensemble nous n'oublions pas l'essentiel, et faisons tout notre possible pour allier harmonieusement le travail et notre vie personnelle.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES PUBLICATIONS	12
ABBREVIATIONS	13
TABLE DES TABLEAUX	15
TABLE DES FIGURES	16
PREAMBULE	18
CHAPITRE I. REVUE DE LA BIBLIOGRAPHIE	19
I.1. LE SYSTEME NERVEUX – GENERALITES	19
I.1.1. INTRODUCTION.....	19
I.1.2. GENERALITES SUR LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL.....	20
I.1.3. GENERALITES SUR LE SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE.....	23
I.1.4. LE SYSTEME NERVEUX SOMATIQUE.....	27
I.1.4.1. SYSTEME NERVEUX MOTEUR.....	27
<i>I.1.4.1.1. Voies motrices volontaires ou pyramidales</i>	27
<i>I.1.4.1.2. Voies motrices involontaires ou extra-pyramidales</i>	27
I.1.4.2. SYSTEME NERVEUX SENSITIF.....	28
I.1.4.3. CAS DE LA SENSIBILITE THERMO-ALGIQUE.....	29
<i>I.1.4.3.1. Nocicepteurs</i>	29
<i>I.1.4.3.2. Neurotransmetteurs et neuromodulateurs</i>	31
<i>I.1.4.3.3. Voies thermo-algiques</i>	31
<i>I.1.4.3.4. Contrôle de la douleur</i>	32
I.1.5. SYSTEME NERVEUX AUTONOME	32
I.1.5.1. GENERALITES.....	32
I.1.5.2. SYSTEME NERVEUX AUTONOME SYMPATHIQUE.....	34
I.1.5.3. SYSTEME NERVEUX AUTONOME PARASYMPATHIQUE	35
I.2. COMPOSITION DU SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE	36
I.2.1. DU NEURONE AU NERF	36
I.2.1.1. LE NEURONE	36
I.2.1.2. LE NERF PERIPHERIQUE	37
I.2.2. CELLULE DE SCHWANN ET MYELINE	39
I.2.3. FIBRES NERVEUSES	41
I.2.3.1. FIBRES NERVEUSES MOTRICES.....	41
I.2.3.2. FIBRES NERVEUSES SENSITIVES	41
I.2.4. VASCULARISATION DU SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE.....	43
I.2.5. INNERVATION CUTANEE	44
I.2.5.1. RAPPELS HISTOLOGIQUES.....	44
I.2.5.2. SYSTEME NERVEUX CUTANE SOMATIQUE	45

I.2.5.3. SYSTEME NERVEUX CUTANE AUTONOME	47
I.2.5.4. CELLULE DE LANGERHANS ET INNERVATION CUTANEE.....	47
I.2.5.4.1. <i>Introduction</i>	47
I.2.5.4.2. <i>Rôle de la cellule de Langerhans</i>	48
I.2.5.4.3. <i>Origines et potentiel prolifératif</i>	49
I.2.5.4.4. <i>Morphologie</i>	52
I.2.5.4.5. <i>Cellules de Langerhans et fibres nerveuses intra-épidermiques</i>	52
I.3. LES NEUROPATHIES PERIPHERIQUES	54
I.3.1. DEFINITION	54
I.3.2. MECANISMES LESIONNELS DES NEUROPATHIES	54
I.3.2.1. LA TOPOGRAPHIE DE L'ATTEINTE	54
I.3.2.2. LA CIBLE LESIONNELLE	54
I.3.2.3. LA CAUSE.....	55
I.3.3. SYMPTOMATOLOGIE DES NEUROPATHIES PERIPHERIQUES	56
I.3.4. NEUROPATHIES PERIPHERIQUES D'ORIGINE GENETIQUE	57
I.3.4.1. GENERALITES.....	57
I.3.4.2. MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH.....	58
I.3.4.2.1. <i>Généralités et classification</i>	58
I.3.4.2.2. <i>Maladie de Charcot-Marie-Tooth type 1A</i>	60
I.3.5. NEUROPATHIES PERIPHERIQUES ACQUISES	62
I.3.5.1. GENERALITES.....	62
I.3.5.2. PRINCIPALES ETIOLOGIES DES NEUROPATHIES PERIPHERIQUES ACQUISES	62
I.3.5.2.1. <i>Neuropathie diabétique</i>	62
I.3.5.2.2. <i>Neuropathies et troubles métaboliques ou endocriniens (hors diabète)</i>	63
I.3.5.2.3. <i>Neuropathies alcoolique et carentielles</i>	64
I.3.5.2.4. <i>Neuropathies infectieuses</i>	65
I.3.5.2.5. <i>Neuropathies et pathologie tumorale</i>	68
I.3.5.2.6. <i>Neuropathies et maladies systémiques</i>	70
I.3.5.2.7. <i>Neuropathies dysimmunes</i>	73
I.3.5.2.8. <i>Neuropathies toxiques et médicamenteuses</i>	74
I.3.6. LE SYNDROME POEMS.....	76
I.3.6.1. DEFINITION	76
I.3.6.2. HISTORIQUE	76
I.3.6.3. PHYSIOPATHOLOGIE DU SYNDROME POEMS.....	77
I.3.6.4. MANIFESTATIONS CLINIQUES ET BIOLOGIQUES	78
I.3.6.5. NEUROPATHIE PERIPHERIQUE DANS LE SYNDROME POEMS	81
I.3.6.5.1. <i>Clinique</i>	81
I.3.6.5.2. <i>Examens complémentaires</i>	81
I.3.6.5.3. <i>Neuropathologie</i>	82
I.3.6.5.4. <i>Physiopathologie</i>	82
I.3.6.6. CRITERES DIAGNOSTIQUES	83
I.4. LA NEUROPATHIE DES PETITES FIBRES	85

I.4.1. DEFINITION ET EPIDEMIOLOGIE	85
I.4.2. ETIOLOGIES.....	85
I.4.2.1. ACQUISES.....	85
I.4.2.2. HEREDITAIRES	86
I.4.2.3. SYNDROMIQUES	88
I.4.2.4. IDIOPATHIQUES	88
I.4.3. SYMPTOMATOLOGIE DE L' ATTEINTE DES PETITES FIBRES	88
I.4.3.1. DOULEURS NEUROPATHIQUES	88
I.4.3.1.1. Définition et symptômes	88
I.4.3.1.2. Terminaisons nerveuses libres et douleur.....	91
I.4.3.1.3. La complexité de la douleur.....	92
I.4.3.1.4. Prise en charge.....	93
I.4.3.2. DYSAUTONOMIE.....	94
I.4.3.3. AUTRES SYMPTOMES.....	94
I.5. EXPLORATION DES PETITES FIBRES NERVEUSES	96
I.5.1. EXPLORATIONS NON INVASIVES	96
I.5.1.1. EXPLORATIONS NEUROPHYSIOLOGIQUES	96
I.5.1.1.1. L'électroneuromyogramme	96
I.5.1.1.2. Les potentiels évoqués laser.....	96
I.5.1.1.3. Le testing sensitif quantifié.....	97
I.5.1.1.4. La microneurographie.....	97
I.5.1.2. TESTS DU SYSTEME NERVEUX AUTONOME.....	98
I.5.1.3. CONDUCTANCES ELECTROCHIMIQUES CUTANEEES – SUDOSCAN®	101
I.5.2. ANALYSE HISTOLOGIQUE	103
I.5.2.1. BIOPSIE NERVEUSE	103
I.5.2.1.1. Technique	103
I.5.2.1.2. Place de la biopsie nerveuse dans l'analyse des petites fibres	103
I.5.2.2. BIOPSIE CUTANEE.....	104
I.5.2.2.1. Technique	104
I.5.2.2.2. Place de la biopsie cutanée dans l'analyse des petites fibres.....	106
I.5.2.2.2.1. Dans l'analyse des fibres nerveuses intra-épidermiques	106
I.5.2.2.2.2. Dans l'analyse de l'innervation des glandes sudoripares	107
I.6. DEMARCHE DIAGNOSTIQUE FACE A UNE NEUROPATHIE DES PETITES FIBRES.....	108
CHAPITRE II. OBJECTIFS GENERAUX DE LA THESE.....	110
CHAPITRE III. ETUDES EXPERIMENTALES	111
III.1. OBJECTIF 1 – COMPARAISON DE LA BIOPSIE CUTANEE AUX DONNEES ELECTROPHYSIOLOGIQUES DANS L'ETUDE DE LA PERTE EN PETITES FIBRES	111
III.1.1. AVANT-PROPOS	111

III.1.1.1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS	111
III.1.1.2. PRINCIPAUX RESULTATS	112
III.1.2. ARTICLE 1 – ASSESSING SUDOMOTOR IMPAIRMENT IN PATIENTS WITH PERIPHERAL NEUROPATHY: COMPARISON BETWEEN ELECTROCHEMICAL SKIN CONDUCTANCE AND SKIN BIOPSY	113
III.1.3. RESULTATS COMPLEMENTAIRES	122
III.1.3.1. CONCORDANCE ENTRE LES EXAMENS	122
III.1.3.2. INFLUENCE DU POIDS SUR LES FNIE	123
<i>III.1.3.2.1. Méthodologie</i>	123
<i>III.1.3.2.2. Résultats</i>	123
III.1.3.3. INTERPRETATION ET DISCUSSION DES RESULTATS COMPLEMENTAIRES	127
III.2. OBJECTIF 2 – ETUDE DE LA PERTE EN PETITES FIBRES ET DE L’IMPLICATION DES CELLULES DE LANGERHANS CHEZ LES PATIENTS CMT1A.....	130
III.2.1. AVANT-PROPOS	130
III.2.1.1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS	130
III.2.1.2. PRINCIPAUX RESULTATS	131
III.2.2. ARTICLE 2 – SKIN BIOPSY FINDINGS IN PATIENTS WITH CMT1A: BASELINE DATA FROM THE CLN-PXT3-01 STUDY PROVIDE SOME NEW INSIGHTS INTO THE PATHO-PHYSIOLOGY OF THE DISORDER	132
III.2.4. RESULTATS COMPLEMENTAIRES	141
III.2.4.1. QUANTIFICATION DES CELLULES DE LANGERHANS DANS DIFFERENTES NEUROPATHIES	141
<i>III.2.4.1.1. Méthodologie</i>	141
<i>III.2.4.1.2. Résultats</i>	141
III.2.4.2. INTERPRETATION ET DISCUSSION DES RESULTATS COMPLEMENTAIRES	145
III.3. OBJECTIF 3 – RELATION ENTRE LA PERTE EN PETITES FIBRES ET LA PROLIFERATION VASCULAIRE CUTANEE DANS LE SYNDROME POEMS.....	147
III.3.1. AVANT-PROPOS	147
III.3.1.1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS	147
III.3.1.2. PRINCIPAUX RESULTATS	148
III.3.2. ARTICLE 3 – DERMAL AND NERVE NEOVASCULARIZATION AS A BIOMARKER OF THE POLYNEUROPATHY IN POEMS SYNDROME: A PRELIMINARY CASE-CONTROL STUDY	149
CHAPITRE IV. DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	175
IV.1. DISCUSSION GENERALE	175
IV.2. PERSPECTIVES	178
IV.2.1. BIOMARQUEURS CUTANES.....	178
IV.2.2. CELLULE DE LANGERHANS	183

IV.2.3. POIDS ET FIBRES NERVEUSES INTRA-EPIDERMiques	183
IV.2.4. NEOVASCULARISATION CUTANEE DANS LE SYNDROME POEMS.....	184
CONCLUSION.....	185
IMPLICATION TECHNIQUE PERSONNELLE	186

LISTE DES PUBLICATIONS

Mathilde Duchesne, Laurence Richard, Jean-Michel Vallat, Laurent Magy. **Assessing sudomotor impairment in patients with peripheral neuropathy: comparison between electrochemical skin conductance and skin biopsy.** *Clinical Neurophysiology*, Avril 2018 (DOI : 10.1016/j.clinph.2018.04.608).

Mathilde Duchesne, Aurore Danigo, Laurence Richard, Jean-Michel Vallat, Shahram Attarian, MD, Pierre-Marie Gonnaud, Arnaud Lacour, Yann Péréon, Tania Stojkovic, Klaus-Armin Nave, Viviane Bertrand, Serguei Nabirovitchkin, Daniel Cohen, Claire Demiot, Laurent Magy. **Skin biopsy findings in patients with CMT1A: baseline data from the CLN-PXT3003-01 study provide new insights into the pathophysiology of the disorder.** *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, Février 2018 (DOI : 10.1093/jnen/nly001).

Camille Guibert, Laurence Richard, Stéphanie Durand, Fanny Maquin, Claire Demiot, Jean-Michel Vallat, Arnaud Jaccard, Laurent Magy, Mathilde Duchesne. **Dermal and nerve neovascularization as a biomarker of the polyneuropathy in POEMS syndrome: a preliminary case-control study.** En préparation.

Camille Guibert, Laurence Richard, Stéphanie Durand, Claire Demiot, Laurent Magy, Mathilde Duchesne. **Dermal neovascularisation as early biomarker in POEMS syndrome: a preliminary case-control study.** *Communication affichée au congrès international de la Peripheral Nerve Society*, Gènes, Juin 2019

ABBREVIATIONS

ATP : Adénosine triphosphate

CL : Cellule de Langerhans

CMT : Charcot-Marie-Tooth

CCE : Conductances cutanées électrochimiques

CCEM : Conductances cutanées électrochimiques des mains

CCEP : Conductances cutanées électrochimiques des pieds

CGRP : Calcitonin gene-related peptide

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

DFAN : Densité des fibres amyéliniques dans le nerf

DFNIE : Densité des fibres nerveuses intra-épidermiques

DFNGS : Densité des fibres nerveuses des glandes sudorales

ENMG : Electroneuromyogramme

FAN : Fibres amyéliniques dans le nerf

FNIE : Fibres nerveuses intra-épidermiques

FNGS : Fibres nerveuses des glandes sudorales

HLA : Human leukocyte antigen

ME : Microscopie électronique

MO : Microscopie optique

NGS : New generation Sequencing

NHSA : Neuropathie héréditaire sensitive et autonome

NP : Neuropathie périphérique

NPF : Neuropathie des petites fibres

PEL : Potentiels évoqués lasers

PGP 9.5 : Protein gene product 9.5

PIDC : Polyneuropathie inflammatoire démyélinisante chronique

QSART : Quantitative sudomotor axon reflex testing

QDIRT : Quantitative direct and indirect testing

QST : Quantitative sensory testing

RCS : Réponses cutanées sympathiques

SNP : Système nerveux périphérique

SNA : Système nerveux autonome

TRPV1 : Transient receptor potential vanilloid type 1

TST : Thermoregulatory sweat testing

TTR : Transthyretine

VACHT : Vesicular acetylcholine transporter

VIP : Vasoactive intestinal peptide

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1. Symptômes rencontrés au cours des douleurs neuropathiques.....	90
Tableau 2. Symptômes dysautonomiques dans la neuropathie des petites fibres	94
Tableau 3. Caractéristiques générales des patients témoins.....	124
Tableau 4. Densité des FNIE après ajustement au poids, à la taille et au BMI.....	125
Tableau 5. Corrélation entre les densités des FNIE proximale et distale.....	125
Tableau 6. Densité des cellules de Langerhans et des FNIE sur prélèvement cutané distal dans sept situations	142

TABLE DES FIGURES

Figure 1. Organisation schématique du système nerveux	20
Figure 2. Vue latérale du tronc cérébral	22
Figure 3. Représentation schématique de la moelle épinière	23
Figure 4. Représentation schématique de l'organisation des paires de nerfs spinaux du système nerveux périphérique humain.....	24
Figure 5. Moelle : composants sensoriels, moteurs et autonomes du système nerveux périphérique.....	26
Figure 6. Afférences somatosensorielles à la moelle	29
Figure 8. Relation entre un nerf rachidien thoracique et le système nerveux sympathique.....	34
Figure 9. Neurone sensitif pseudo-unipolaire (ou neurone en T),	37
Image issue du site www.ressources.unisciel.fr/DAEU-biologie/P2/co/P2_chap4_c04.html .	37
Figure 10. Représentation schématique d'une coupe de nerf et d'un fascicule nerveux	38
Figure 11. Cellule de Schwann	39
Figure 12. Coupe transversale de nerf en microscopie électronique.....	40
Figure 13. Fibres nerveuses sensibles myélinisées et amyéliniques et leurs projections spinales	42
Figure 15. Histologie de la peau.....	44
Figure 16. Innervation cutanée	46
Figure 17. Représentation schématique des propriétés de la cellule de Langerhans (32).....	48
Figure 18. Ontogenèse des cellules de Langerhans entre l'état de repos et l'inflammation (38)	50
Figure 19. Cycle de vie des cellules de Langerhans	51
Figure 20. Causes générales des neuropathies périphériques (59).....	55
Figure 21. Principales atteintes dans l'amylose à chaînes légères (116).....	73
Figure 22. Critères diagnostiques du syndrome POEMS (134)	84

Figure 23. Dépistage des douleurs neuropathiques : questionnaire DN4.....	91
Figure 24. SUDOSCAN® : principes généraux	102
Figure 25. Coupe semi-fine d'un fascicule nerveux en microscopie optique	104
Figure 26. Méthode de comptage des FNIE d'après l'EFNS (274).	105
Figure 27. Répartition des densités de FNIE en proximal et en distal sans et avec ajustement au poids, à la taille et au BMI	126
Figure 28. Corrélation entre les densités de FNIE distale et proximale avant et après ajustement au poids, à la taille et au BMI.....	127
Figure 29. Corrélation en fonction de l'âge entre les densités de FNIE distale et proximale avant et après ajustement au poids, à la taille et au BMI.....	128
Figure 30. Comparaison de la densité des cellules de Langerhans en fonction de la pathologie	142
Figure 31. Aspect morphologique des cellules de Langerhans dans les sept groupes étudiés	143
Figure 32. Corrélation de la densité des cellules de Langerhans avec les fibres nerveuses intra-épidermiques et avec l'âge	144
Figure 31. Relargage par voie antidromique	181

PREAMBULE

Les neuropathies douloureuses, dont la prévalence est évaluée à 7% en France, représentent un réel enjeu sanitaire. D'une part leur diagnostic est encore aujourd'hui difficile à poser du fait de la symptomatologie douloureuse dont l'évaluation est complexe mêlant des données psychophysiologiques, mais aussi du fait de la petite taille des fibres atteintes (fibres A δ et fibres C, appelées « petites fibres ») non perceptibles via l'examen de référence pour les neuropathies périphériques qu'est l'électroneuromyogramme (ENMG). D'autre part, les moyens thérapeutiques pour soulager les patients souffrant de ces neuropathies douloureuses sont peu efficaces, présentant des effets indésirables contraignants, et ne ciblant pas la cause directe de l'atteinte des fibres, étant purement symptomatiques. Or, les douleurs sont ici des douleurs neuropathiques chroniques, particulièrement invalidantes et affectant inéluctablement l'humeur des patients et leur qualité de vie, ce qui accroît la difficulté de prise en charge.

La biopsie cutanée est un examen rapide, facile de réalisation, ne nécessitant aucun soin particulier, et qui peut être répété. C'est aujourd'hui l'examen de référence dans la démarche diagnostique des neuropathies douloureuses par quantification des petites fibres situées dans l'épiderme (appelées fibres nerveuses intra-épidermiques). Au-delà d'un certain seuil de perte en fibres, on parle de neuropathie des petites fibres pour peu que les grosses fibres soient indemnes ou moins affectées. Néanmoins, l'interprétation de cette quantification reste difficile du fait d'un problème de valeurs normales d'une part (la densité des fibres variant en fonction de l'âge, du sexe et de l'ethnie), mais surtout par manque de compréhension de la relation entre une « perte en fibres » et la présence de symptômes positifs tels que les douleurs neuropathiques. La biopsie de peau restant un examen prometteur et accessible, il paraît intéressant de l'exploiter au maximum. En effet, elle peut permettre de mieux comprendre la physiopathologie de la perte en fibres en mettant en évidence des anomalies liées à la symptomatologie. Cela ouvrirait d'une part la voie sur des thérapeutiques plus ciblées et donc plus efficaces, et cela permettrait d'autre part d'affiner la puissance diagnostique de cet examen en ne se limitant pas à une quantification des fibres à un instant donné mais à un faisceau d'arguments extraits de cette biopsie.

CHAPITRE I. REVUE DE LA BIBLIOGRAPHIE

I.1. LE SYSTEME NERVEUX – GENERALITES

I.1.1. INTRODUCTION

D'un point de vue anatomique, le système nerveux se divise en système nerveux central (SNC) et système nerveux périphérique (SNP). Le SNC, composé de la moelle spinale et de l'encéphale, a pour rôles la réception, l'enregistrement, l'intégration et l'interprétation des signaux provenant de la périphérie, afin d'organiser une réponse adaptée.

Le SNP a quant à lui pour fonctions principales d'acheminer les perceptions sensorielles perçues par les récepteurs périphériques (à l'exception de la vision et de l'odorat) vers le SNC, et de transmettre les ordres moteurs de celui-ci vers les tissus périphériques. Il se compose du système nerveux somatique (lui-même divisé en moteur et sensitif) et du système nerveux autonome (ou végétatif), lui-même divisé en système sympathique et parasympathique.

Il existe donc plusieurs voies de transmission de l'information :

- Des voies motrices efférentes, allant de la moelle à la fibre musculaire.
- Des voies sensibles afférentes, allant des récepteurs périphériques spécifiques à la moelle.
- Des voies afférentes et efférentes du système nerveux autonome (SNA) assurant l'innervation des viscères et de certaines structures de la peau, permettant le maintien d'une homéostasie de l'organisme.

D'un point de vue fonctionnel, le système somatique comprend deux grandes fonctions : motrice et sensitive. Au sein de cette sensibilité (ou somesthésie), on distingue la sensibilité extéroceptive (sensibilité des téguments et de tout ce qui est originaire de l'ectoderme) de la sensibilité proprioceptive (sensibilité de l'organisme à sa propre position et à son propre mouvement). La sensibilité extéroceptive comprend le tact épicrotique (tact fin), le tact protopathique (ou tact grossier, non discriminatif) et la sensibilité thermo-algique (**Figure 1**).

La sensibilité proprioceptive (sensibilité de ce qui est originaire du mésoderme embryonnaire) se compose de la sensibilité proprioceptive consciente (qui renseigne sur la position d'un membre dans l'espace) et de la sensibilité proprioceptive inconsciente (destinée essentiellement aux informations pour le tonus du tronc, des membres, ...). Cette sensibilité somatique proprioceptive et extéroceptive s'oppose à la sensibilité intéroceptive (ou sensibilité viscérale, qui renseigne l'organisme sur l'état des viscères et les variations physico-chimiques du milieu intérieur, médiée par le système végétatif). A cette somesthésie s'ajoutent d'autres modalités sensorielles desservies par les organes sensoriels : la vision, l'odorat, le goût, et l'ouïe.

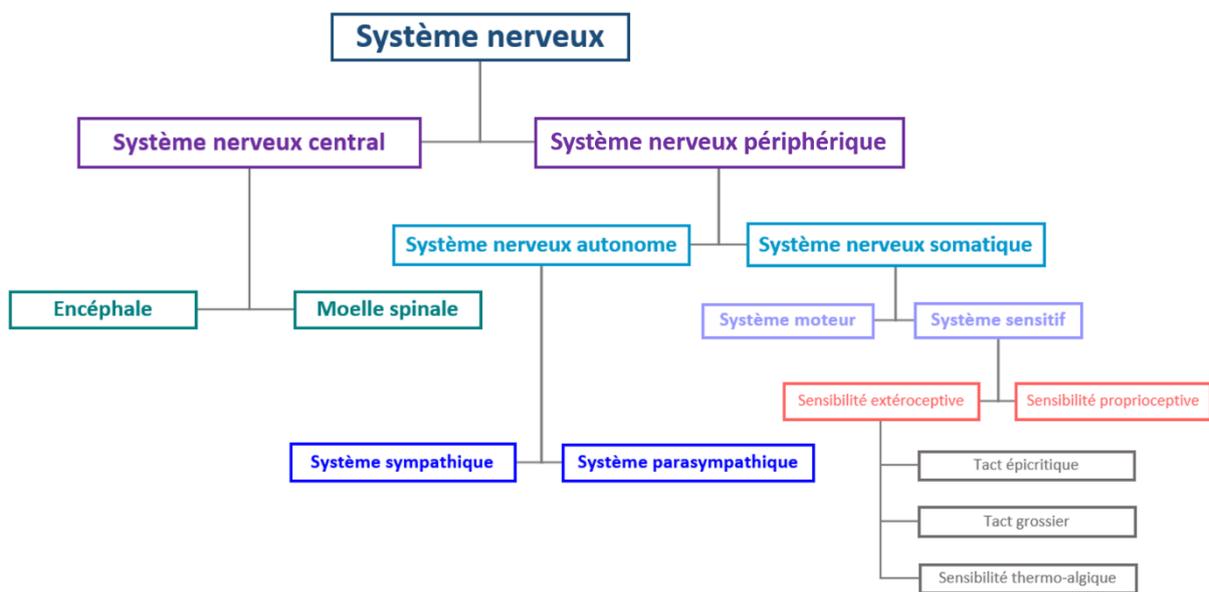


Figure 1. Organisation schématique du système nerveux

I.1.2. GENERALITES SUR LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL

Le SNC est formé des parties du système nerveux enfermées dans des structures osseuses : l'encéphale (lui-même composé de plusieurs structures anatomiques : cerveau, tronc cérébral, cervelet) et la moelle épinière (ou moelle spinale). Il est classiquement divisé en substance blanche et en substance grise, dont les noms proviennent de leurs propriétés anatomiques (la substance grise étant visuellement plus sombre que la substance blanche lors de la découpe du cerveau). La substance grise correspond en fait aux corps cellulaires des neurones, et la substance blanche à leurs axones et dendrites.

Le cerveau est la partie la plus rostrale et la plus importante du SNC. Il se compose du télencéphale, divisé en deux hémisphères cérébraux séparés par une profonde scissure sagittale, et du diencéphale, médian, auquel sont reliés les deux hémisphères cérébraux.

Le cervelet, situé en arrière du cerveau, est avant tout un centre de contrôle du mouvement, et est en étroite relation avec les hémisphères cérébraux et la moelle spinale. Il apparaît comme une masse formée de deux hémisphères latéraux et d'une partie médiane appelé vermis. Il est relié au reste du SNC par six pédoncules cérébelleux, permettant le passage des fibres nerveuses.

Le tronc cérébral fait suite aux hémisphères cérébraux, communique en arrière avec le cervelet, et se poursuit en caudal par la moelle spinale. Il comprend de haut en bas : les pédoncules cérébraux recouverts en arrière par les tubercules quadrijumeaux (ou encore mésencéphale), la protubérance annulaire (ou encore pont de Varole), et le bulbe rachidien. Le tronc cérébral est relié au cervelet par l'intermédiaire de trois paires de cordons de substance blanche : les pédoncules cérébelleux supérieurs avec les pédoncules cérébraux, les pédoncules cérébelleux moyens avec la protubérance et les pédoncules cérébelleux inférieurs avec le bulbe. C'est au niveau de la face antérieure du tronc cérébral que naissent les différentes paires de nerfs crâniens, à l'exception des deux premières paires (nerfs optiques et nerfs olfactifs), et du nerf pathétique (IV) qui naît à la face postérieure et apparaît ensuite à la face antérieure après avoir contourné le pédoncule cérébral (**Figure 2**).

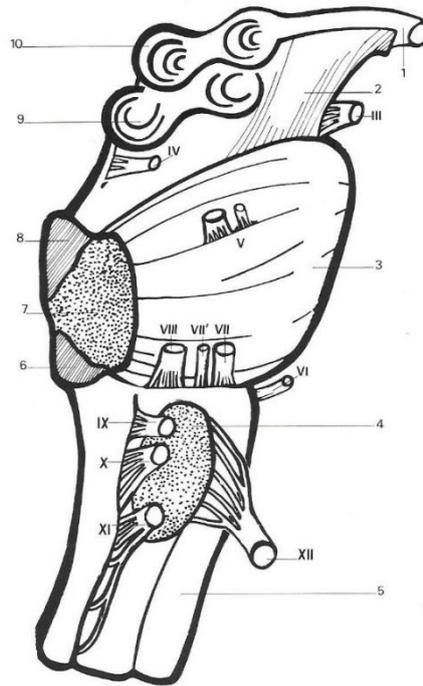


Figure 2. Vue latérale du tronc cérébral

1. Chiasma optique. 2. Pédoncule cérébral. 3. Protubérance annulaire. 4. Olive bulbaire. 5. Bulbe rachidien. 6. Pédoncule cérébelleux inférieur. 7. Pédoncule cérébelleux moyen. 8. Pédoncule cérébelleux supérieur. 9. Tubercule quadrijumeau postérieur. 10. Tubercule quadrijumeau antérieur.

D'après *Le système nerveux central à l'usage des étudiants en médecine*, 2002, G. Braillon (Braillon 2002)

La moelle spinale apparaît comme un cordon blanc mesurant 45 centimètres de long environ, pour un diamètre d'un centimètre. Elle fait suite au bulbe rachidien et est prolongée par le « filum terminale » qui mesure 25 centimètres en moyenne. Elle présente deux renflements (cervical et lombaire), ainsi qu'un sillon postérieur (ou dorsal) peu marqué, et un sillon antérieur (ou ventral) plus profond. De part et d'autre de ces sillons, deux sillons collatéraux sont présents (**Figure 3**).

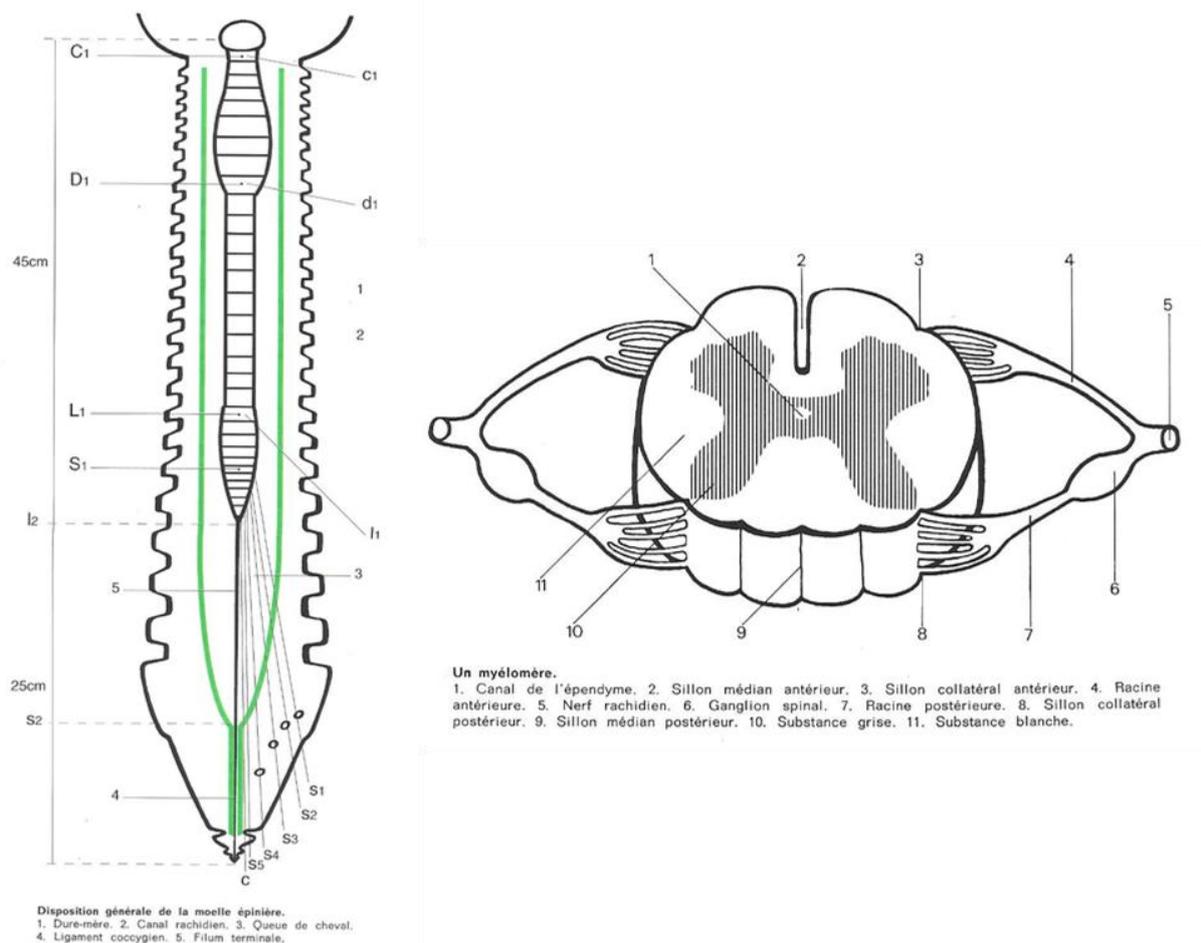


Figure 3. Représentation schématique de la moelle épinière

D'après *Le système nerveux central à l'usage des étudiants en médecine*, 2002, G. Braillon (Braillon 2002)

I.1.3. GENERALITES SUR LE SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE

Le SNP est composé des nerfs périphériques, des plexus, des troncs nerveux et des ganglions. Il est à la fois somatique (moteur et sensitif) et autonome. Le système nerveux somatique se compose de nerfs sensitifs, de nerfs moteurs, et de nerfs mixtes remplissant les deux fonctions. Il se divise en nerfs crâniens et en nerfs rachidiens en fonction de la zone du corps innervée.

Les nerfs crâniens naissent au niveau du tronc cérébral, et sont au nombre de douze paires (mais le nerf optique et le nerf olfactif, qui sont des prolongements encéphaliques, ne sont pas considérés comme appartenant au SNP). Ils permettent de véhiculer les informations sensitivomotrices au niveau de la tête et du cou. Trois de ces nerfs sont purement sensoriels (I,

II et VIII), cinq sont purement moteurs (III, IV, VI, XI et XII) et enfin quatre de ces nerfs (V, VII, IX, X) sont dits mixtes c'est-à-dire sensitivomoteurs (Guthrie 2007) .

Les nerfs spinaux naissent de la moelle spinale. On compte trente et une paires réparties de la façon suivante : huit nerfs spinaux cervicaux (de C1 à C8), douze nerfs spinaux thoraciques (de T1 à T12), cinq nerfs spinaux lombaires (de L1 à L5), cinq nerfs spinaux sacrés (de S1 à S5) et un nerf spinal coccygien (C1) (**Figure 4**).

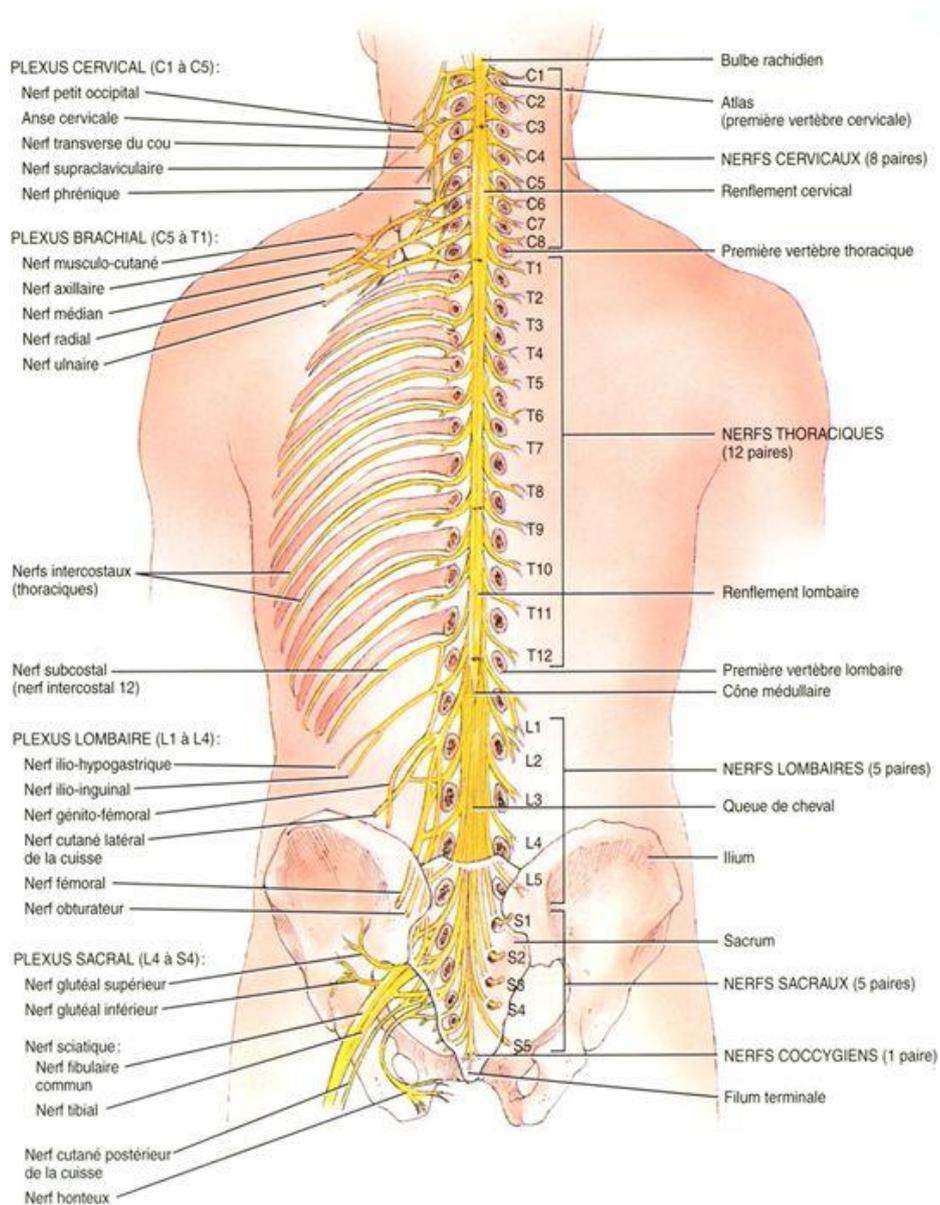


Figure 4. Représentation schématique de l'organisation des paires de nerfs spinaux du système nerveux périphérique humain

Illustration issue de *Principes d'anatomie et de physiologie*, 2001, Tortora et Grabowski (Tortora, Grabowski et al. 2002)

Les nerfs périphériques rachidiens sont issus de la réunion des racines dorsale et ventrale (segments initiaux du SNP) qui émergent du SNC. Ils se composent d'axones des motoneurones périphériques, d'axones des neurones sensoriels primaires, et d'axones des neurones autonomes pré- et post-ganglionnaires (**Figure 5**). Les racines ventrales, qui naissent au niveau antérieur de la moelle spinale (corne antérieure), sont motrices et autonomes. Les racines dorsales, qui naissent au niveau postérieur de la moelle spinale (corne postérieure), sont sensibles, et ont la particularité de contenir les ganglions rachidiens. Ainsi :

- Les axones des motoneurones périphériques sont issus de la corne ventrale de la moelle spinale et empruntent les racines ventrales puis les nerfs pour se terminer au niveau de la jonction neuromusculaire.
- Les neurones sensoriels périphériques sont en relation par leur extrémité distale avec les récepteurs sensoriels, et par leur extrémité proximale avec la corne postérieure de la moelle spinale. Leurs corps cellulaires se situent dans le ganglion rachidien au niveau de la racine dorsale.
- Les axones des neurones pré-ganglionnaires du SNA, issus de la corne inter-médio-latérale de la moelle spinale, empruntent les racines ventrales pour se terminer dans les ganglions autonomes. Les axones des neurones postganglionnaires du SNA empruntent les nerfs splanchniques et périphériques (Felten and Shetty 2011).

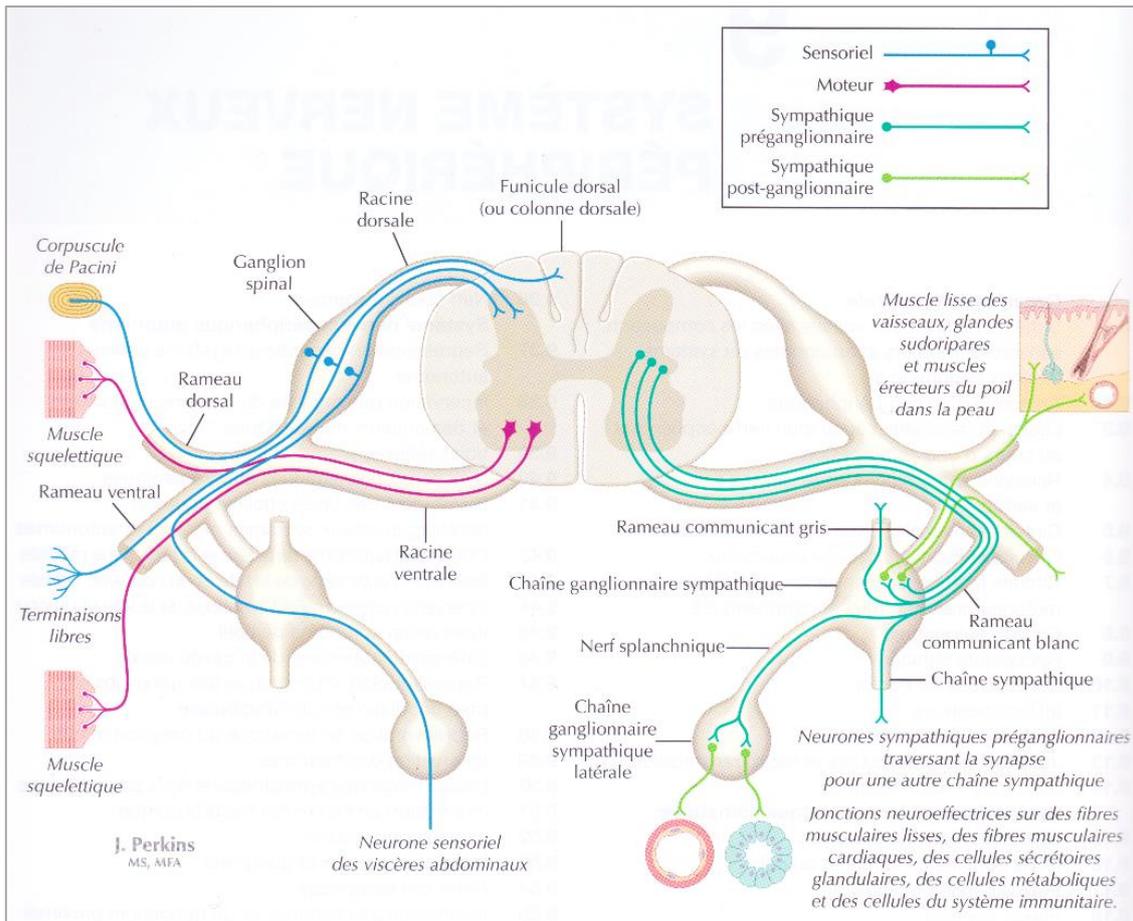


Figure 5. Moelle : composants sensoriels, moteurs et autonomes du système nerveux périphérique

D'après une illustration de Perkins, *Atlas de Neurosciences humaines de Netter 2e édition*, 2011, Felten & Shetty (Felten and Shetty 2011)

Les nerfs rachidiens échangent des informations entre eux en réalisant des réseaux complexes anastomotiques appelés plexus nerveux. Il en existe plusieurs : plexus cervical, brachial, lombaire, sacré. Ces plexus nerveux vont ensuite donner naissance aux troncs nerveux (ou nerfs), qui eux-même donneront différentes branches collatérales (**Figure 5**). Ainsi, de cette organisation anatomique, la pathologie du système nerveux périphérique se différencie en syndromes radiculaires (sciatique, névralgie cervico-brachiale, ...), syndromes plexiques et syndromes tronculaires (mononeuropathies, polyneuropathies, ...).

I.1.4. LE SYSTEME NERVEUX SOMATIQUE

I.1.4.1. SYSTEME NERVEUX MOTEUR

I.1.4.1.1. Voies motrices volontaires ou pyramidales

Deux types de voies permettent la commande motrice volontaire : la voie cortico-spinale et la voie cortico-nucléaire.

La voie cortico-spinale débute par un premier motoneurone central dont le corps cellulaire (cellule de Betz) se trouve dans le cortex (aire 4 de la circonvolution frontale ascendante) et dont l'axone emprunte le faisceau cortico-spinal. A la partie inférieure du bulbe, ce faisceau se divise en deux contingents : le plus volumineux, appelé faisceau pyramidal croisé, réalise une décussation au niveau de la ligne médiane puis descend dans le cordon latéral de la moelle ; le deuxième contingent, appelé faisceau pyramidal direct, se termine sur les colonnes de motoneurones spinaux les plus internes, avec des projections bilatérales. Dans les deux cas, l'axone finit par faire une synapse avec le second motoneurone, périphérique (appelé motoneurone α), dont le corps cellulaire se trouve dans la corne antérieure de la substance grise de la moelle. Ce dernier emprunte ensuite la racine ventrale puis le nerf rachidien pour se terminer dans le muscle strié squelettique et former la jonction neuromusculaire (muscles distaux pour la voie croisée, muscles axiaux pour la voie directe).

Enfin, la voie cortico-nucléaire (ou géniculée) permet la commande de la motricité de la tête et du cou. Le premier motoneurone naît au niveau de la partie inférieure de la circonvolution frontale ascendante, et a son axone qui se projette de façon bilatérale au niveau du tronc cérébral pour finir par faire une synapse avec le deuxième neurone au niveau des noyaux moteurs des nerfs crâniens. L'axone de ce deuxième neurone s'engage alors dans les nerfs crâniens correspondants pour se terminer dans le muscle strié (Braillon 2002).

I.1.4.1.2. Voies motrices involontaires ou extra-pyramidales

Ces voies sont particulièrement complexes, comportant une multitude de circuits. Elles comprennent en effet des voies afférentes et des voies efférentes entre lesquelles se trouvent des centres. D'une façon générale, cette motricité involontaire passe par le cervelet qui coordonne les mouvements automatiques qui comporte deux aspects : la statique (tonus de

posture et équilibre) et la coordination dynamique (harmonie du geste volontaire et ses mouvements associés).

I.1.4.2. SYSTEME NERVEUX SENSITIF

Il permet de transmettre la sensibilité qui recouvre la transduction, l'encodage et la perception des informations provenant de stimuli issus de l'environnement extérieur mais aussi du milieu intérieur. La somesthésie se décompose donc en sensibilités extéroceptive et proprioceptive, permettant la perception de plusieurs sensations : le toucher (fin et grossier), la pression, la vibration, la position des membres, le chaud et le froid, et enfin la douleur (**Figure 1**).

Le système nerveux sensitif est donc divisé en sous-systèmes fonctionnellement distincts ayant chacun un ensemble spécifique de récepteurs périphériques et de voies centripètes qui leurs sont propres. Néanmoins, tous les neurones somatosensoriels ont leur corps cellulaire dans le ganglion rachidien, et empruntent tous la corne dorsale. Leurs afférences au sein de la moelle spinale diffèrent ensuite en fonction du sous-système (**Figure 6**).

Les axones transmettant les informations cutanées tactiles épicritiques et proprioceptives conscientes se projettent sur la partie profonde de la corne dorsale, la corne intermédiaire et jusqu'à la corne ventrale (couches VI à VIII de Rexed) et empruntent ensuite la voie des colonnes dorsales ipsilatérales, puis la voie lemniscale. Les axones véhiculant les informations thermo-algiques et du tact grossier se projettent sur la partie superficielle et externe de la corne dorsale, réalisent une synapse avec des neurones de second ordre qui traversent la moelle et empruntent la voie spinothalamique controlatérale. La proprioception inconsciente emprunte quant à elle les voies spino-cérébelleuses, sans passer par le cortex cérébral (**Figure 6**).

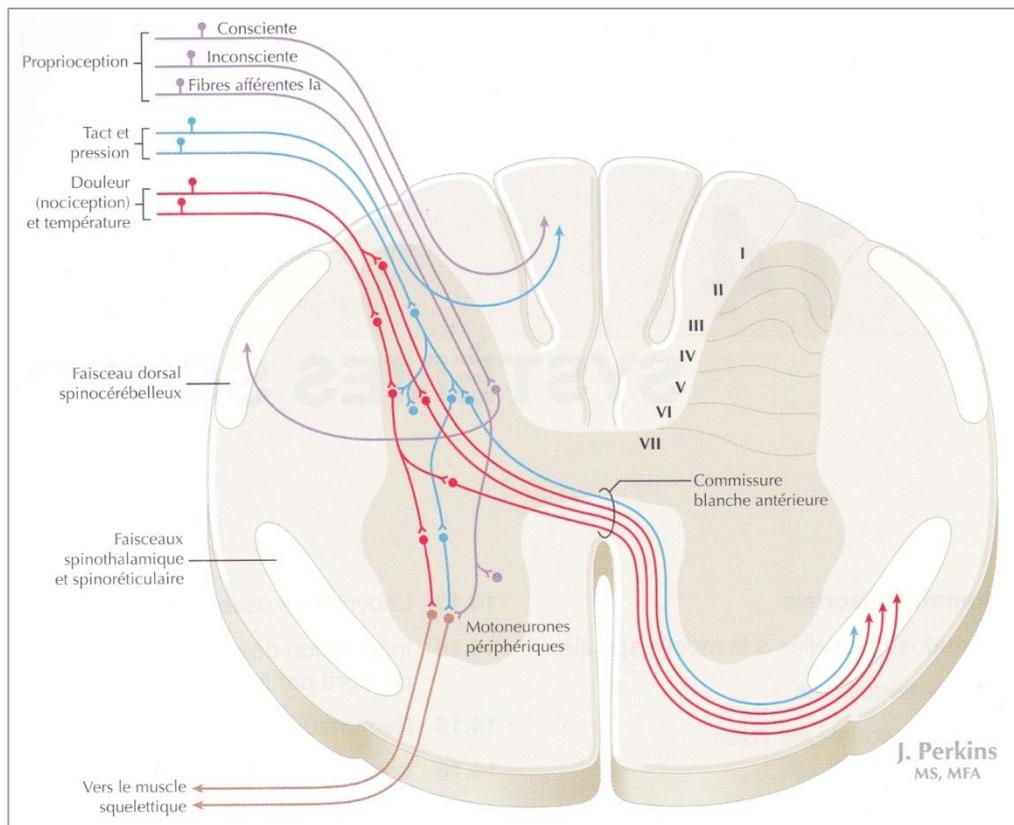


Figure 6. Afférences somatosensorielles à la moelle

I à VII : couches ou lames de Rexed

D'après une illustration de Perkins, *Atlas de Neurosciences humaines de Netter*, 2e édition 2011, Felten & Shetty (Felten and Shetty 2011)

I.1.4.3. CAS DE LA SENSIBILITE THERMO-ALGIQUE

I.1.4.3.1. Nocicepteurs

La douleur est avant tout un signal d'alarme nous permettant de nous protéger de stimuli nocifs à notre intégrité. Cette transmission de l'information thermo-algique se fait par l'intermédiaire de récepteurs thermo-algiques appelés nocicepteurs. Un nocicepteur est un récepteur sensoriel qui, en réponse à un stimulus potentiellement nocif, déclenche un message nerveux qui passe d'abord par la moelle épinière, où se déclenche un réflexe de sauvegarde de l'intégrité physique (réflexe de retrait), avant d'être relayé jusqu'au cerveau où il génère une perception de douleur, et cela via deux voies neuronales principales (voie spinothalamique et voie spino-réticulospinale). Ils sont innervés par les « petites fibres », c'est-à-dire les fibres A δ (douleur rapide) et les fibres C (douleur lente, sourde et durable).

On distingue quatre types de nocicepteurs :

- Les nocicepteurs type mécanorécepteurs qui répondent à des stimuli mécaniques intenses (piqûre, pincement, torsion) et sont principalement en rapport avec les petites fibres myélinisées de type A δ . Leur décharge dure aussi longtemps que dure la stimulation, sans adaptation. Les champs de ces récepteurs sont larges (1 à 8 cm²) composés de zones ponctuelles et des zones silencieuses.
- Les nocicepteurs thermiques, qui répondent à des stimuli thermiques élevés (supérieurs à 45°C) ou au contraire bas (inférieur à 10°C). Leurs champs sont ponctuels. Ils sont en rapport avec les fibres amyéliniques de type C. La fréquence de décharge augmente de manière linéaire en fonction de la température.
- Les nocicepteurs sensibles aux agents chimiques, répondant à des stimuli externes (type agents toxiques) ou internes (substances produites par des tissus lésés). Ils sont, comme les nocicepteurs thermiques, en rapport avec les fibres amyéliniques de type C.
- Les nocicepteurs polymodaux, qui sont eux aussi en rapport avec les fibres amyéliniques de type C, répondant à la fois à des stimuli mécaniques intenses mais aussi à des stimuli thermiques.

La plupart de ces nocicepteurs, présents sur les fibres A δ et C, appartiennent à la famille des TRP (Transient Receptor Potential), canaux dit « à potentiel de récepteur transitoire ». La peau est particulièrement pourvue de terminaisons nerveuses sensibles à la douleur (200/cm²). Le TRPV1 (transient receptor potential vanilloïd type 1), qui fait donc partie de cette superfamille des TRP, est un canal ionique non sélectif qui, en réponse à un stimulus, induit un courant entrant de cations, principalement de calcium et sodium, qui entraîne une dépolarisation de la cellule. Parmi les principaux stimuli pouvant activer TRPV1, on dénombre la température ressentie comme douloureuse, un milieu acide, les vanilloïdes telles que la capsaïcine et la résinifératoxine, ou les endovanilloïdes (Danigo, Magy et al. 2013, Bevan, Quallo et al. 2014). De plus, TRPV1 peut être activé de façon indirecte par des facteurs de croissance, certains lipides et de nombreuses molécules de l'inflammation (Cortright and Szallasi 2004, Gouin, L'Herondelle et al. 2017). L'activation de TRPV1 par un stimulus induit une hyperalgésie (réponse exagérée à un stimulus normalement douloureux) primaire et secondaire suivie d'une allodynie (réponse à un stimulus normalement indolore). Si l'hyperalgésie primaire résulte d'une réponse à la stimulation de nocicepteurs périphériques suivie d'une cascade

d'événements associés au développement d'une inflammation conduisant à l'hypersensibilisation de la zone lésée, l'hyperalgésie secondaire et l'allodynie correspondent à des phénomènes plus centraux aboutissant à une hypersensibilisation qui s'étend au-delà de la zone lésée (Calvino 2003, Jensen and Finnerup 2014, Lolignier, Eijkelkamp et al. 2015, Watanabe, Ueda et al. 2015).

1.1.4.3.2. Neurotransmetteurs et neuromodulateurs

De nombreux neurotransmetteurs et neuromodulateurs interviennent au niveau périphérique dans la transmission du message nociceptif : la substance P, la somatostatine, le vasoactive intestinal peptide (VIP), la cholecystokinine (CCK), ou encore le peptide lié au gène de la calcitonine (calcitonine gene related polypeptide : CGRP). En effet, la stimulation périphérique des nocicepteurs s'accompagne d'une réaction locale inflammatoire liée à la libération de ces substances chimiques qui maintiennent voire accentuent la douleur.

1.1.4.3.3. Voies thermo-algiques

De façon schématique, les neurones de premier ordre intervenant dans la voie de la douleur (qui ont leur corps cellulaire dans le ganglion spinal sur la racine dorsale) pénètrent dans la moelle spinale au niveau de la corne dorsale : à ce niveau les fibres bifurquent en branches ascendantes et descendantes (formant le faisceau de Lissauer) pour finir par atteindre la substance grise de la corne dorsale un ou deux segments spinaux plus haut ou plus bas, et faire synapse avec les neurones de second ordre. Ces derniers bifurquent au niveau spinal et empruntent la voie spinothalamique controlatérale.

Plus précisément, les fibres A δ se projettent sur les neurones des couches I, II et V de la corne dorsale (**Figure 6**), qui vont croiser la ligne médiane et former la voie spinothalamique qui se projette à son tour sur le thalamus (noyau ventro-postéro-latéral). Les neurones thalamiques se projettent ensuite sur le cortex somatosensoriel (localisation) qui à son tour projette sur le cortex somatosensoriel secondaire (intégration). Les fibres C se projettent sur les neurones des couches I et II de la corne dorsale qui ont des projections bilatérales (**Figure 6**), et qui empruntent ensuite la voie spinoréticulaire en se projetant sur les neurones de la formation réticulée, qui à leur tour se projettent sur les noyaux non spécifiques du thalamus (médial, dorsal et antérieur).

L'information est ensuite traitée par les aires corticales cingulaire, insulaire et préfrontale pour l'interprétation de l'information nociceptive. Cette voie spino-réticulo-thalamique est liée à l'aspect émotionnel et végétatif de la douleur.

I.1.4.3.4. Contrôle de la douleur

La sensibilité thermo-algique est soumise à un système de contrôles inhibiteurs et excitateurs, qui modulent son intégration dans le SNC contribuant à la plasticité des réponses comportementales. On différencie les contrôles supraspinaux (ou voies descendantes) des contrôles médullaires segmentaires. Les voies descendantes, qui ont leur origine dans le tronc cérébral (noyaux parabrachial, raphé dorsal, locus coeruleus, et formation réticulaire bulbaire), régulent la transmission des informations nociceptives par l'intermédiaire de neurotransmetteurs (noradrénaline, sérotonine, dopamine, histamine acétylcholine), exerçant un effet facilitateur ou inhibiteur sur les neurones de la corne dorsale. Les contrôles segmentaires se divisent en deux processus : l'action inhibitrice des grosses fibres (théorie du *gate control* de Melzack et Wall (Melzack 1982)) qui bloquent le message nociceptif au niveau médullaire en envoyant des messages tactiles ; et le système opioïde médullaire : des récepteurs aux opioïdes ainsi que des opioïdes endogènes (enképhalines, endorphines et dynorphines) situés au niveau de la corne dorsale de la moelle bloquent la libération de substance P (Vibert 2005, Chen, Ennes et al. 2018). Cette modulation de la douleur se fait par l'intermédiaire d'interneurones.

I.1.5. SYSTEME NERVEUX AUTONOME

I.1.5.1. GENERALITES

Le système nerveux autonome est indépendant du contrôle volontaire, et a pour rôle général de moduler et de réguler la vie « végétative » inconsciente afin de maintenir une homéostasie corporelle et d'adapter le fonctionnement des organes aux différents « stress » externes et internes (**Figure 7**). Il assure l'innervation du cœur, des glandes (exocrines et quelques glandes endocrines), des muscles lisses, de cellules métaboliques (hépatocytes, graisse brune), et de certaines cellules du système immunitaire. Il intervient de cette manière dans le contrôle des

fonctions viscérales : rythmes cardiaque et respiratoire, salivation, sudation, digestion, diamètre des pupilles, et fonction sexuelle.

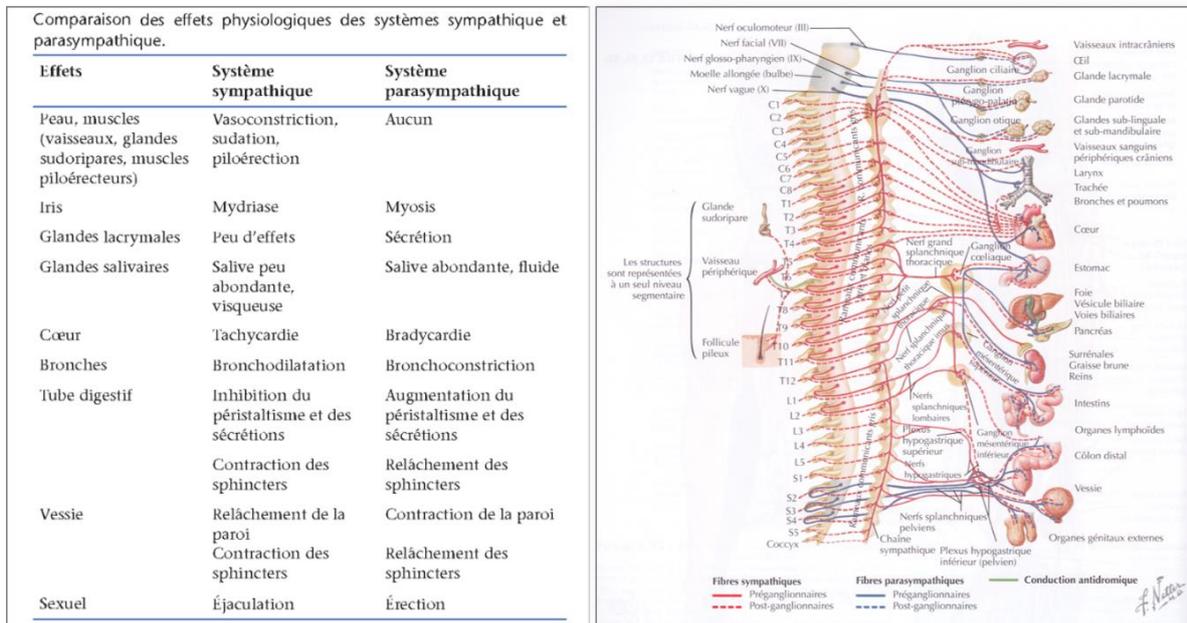


Figure 7. Système nerveux autonome

A gauche : fonctions principales des systèmes sympathique et parasympathique. D'après J. Serratrice, A. Verschueren, G. Serratrice. *Système nerveux autonome*. EMC - Neurologie 2013;10(1):1-18 [Article 17-003-J-10].

A droite : schéma récapitulatif de l'innervation des organes par le SNA.

D'après une illustration de Perkins, *Atlas de Neurosciences humaines de Netter*, 2e édition 2011, Felten & Shetty (Felten and Shetty 2011)

Le SNA a la particularité d'être composé d'un système efférent et d'un système afférent. Les neurones efférents autonomes diffèrent de ceux du système nerveux cérébrospinal par le fait qu'il existe une séquence de deux neurones entre le SNC et la structure innervée. Le corps cellulaire du premier neurone (appelé neurone pré-ganglionnaire) est situé dans la moelle spinale ou le tronc cérébral, tandis que le second est situé à la périphérie dans un ganglion autonome (appelé neurone post-ganglionnaire). Les neurones efférents se divisent en deux systèmes anatomiquement et fonctionnellement distincts : système sympathique et système parasympathique.

I.1.5.2. SYSTEME NERVEUX AUTONOME SYMPATHIQUE

Le système sympathique (noradrénergique) conditionne le corps aux réponses urgentes dans les conditions de stress, de peur ou d'excitation (réponse de combat ou de fuite). Il a une segmentation thoraco-lombaire. Il est constitué de neurones naissant de la corne inter-médio-latérale de la moelle spinale, de niveau médullaire étendu de T1 à L2. Les axones pré-ganglionnaires sortent de la moelle par la racine ventrale, rejoignent le nerf rachidien, et se terminent soit dans la chaîne ganglionnaire sympathique (de part et d'autre de la moelle spinale), soit dans un plexus (coélique, mésentérique supérieur, mésentérique inférieur). Les ganglions sympathiques sont reliés aux nerfs rachidiens par les rameaux communicants (blanc et gris) (**Figure 8**). Le neurotransmetteur du neurone pré-ganglionnaire est l'acétylcholine, celui du post-ganglionnaire la noradrénaline (à l'exception des glandes sudorales dont l'innervation est cholinergique).

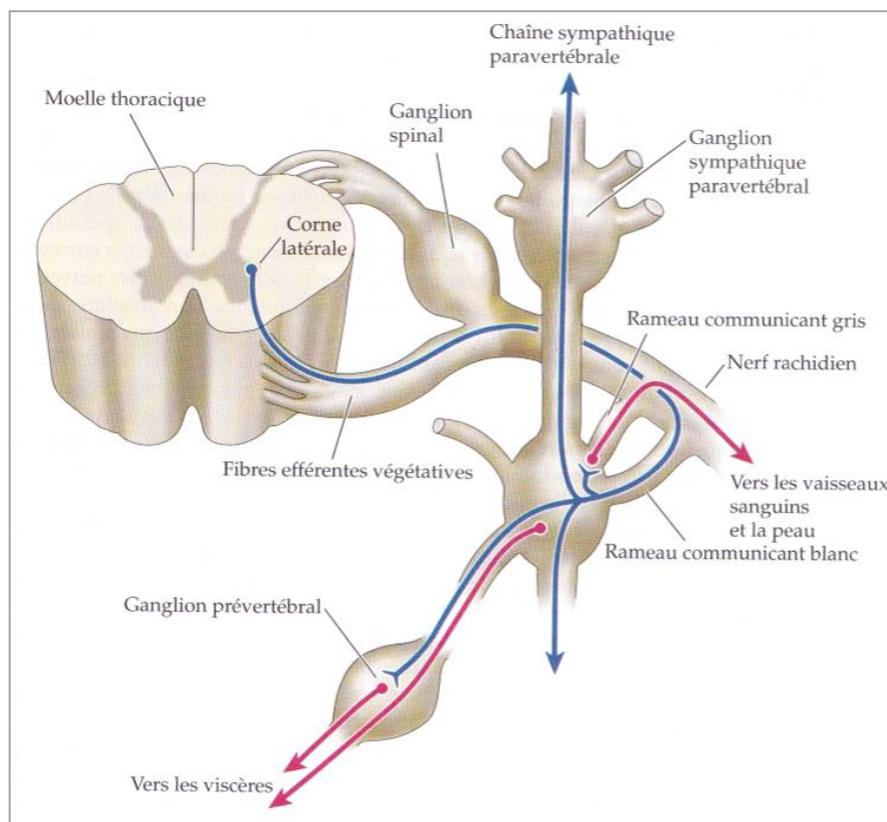


Figure 8. Relation entre un nerf rachidien thoracique et le système nerveux sympathique

Organisation des efférences pré-ganglionnaires sympathiques vers les ganglions sympathiques.

D'après une illustration de Perkins, *Atlas de Neurosciences humaines de Netter*, 2e édition 2011, Felten & Shetty (Felten and Shetty 2011)

I.1.5.3. SYSTEME NERVEUX AUTONOME PARASYMPATHIQUE

Le système parasympathique (cholinergique) régule les fonctions réparatrices, homéostatiques et digestives, dans un but de conservation de l'énergie.

Il a une segmentation crânio-sacrée. Il est constitué des neurones situés dans le tronc cérébral (nerfs crâniens III, VII, IX, X) et dans la moelle spinale sacrée de S2 à S4 (au niveau de la substance grise inter-médio-latérale). Les corps cellulaires des neurones pré-ganglionnaires sont situés dans les noyaux des nerfs crâniens ou dans la corne inter-médio-latérale de la moelle spinale sacrée pour l'innervation des viscères pelviens. Le corps cellulaire des neurones parasympathiques post-ganglionnaires se trouve dans des ganglions situés à proximité de la structure qu'ils innervent. Le neurotransmetteur pré- et post-ganglionnaire est principalement l'acétylcholine. Cependant, le fonctionnement du SNA est plus complexe et ne se limite pas à l'antagonisme noradrénaline/acétylcholine : il fait intervenir de nombreux autres neuromodulateurs et neuromédiateurs tels que l'Adénosine triphosphate (ATP), le neuropeptide Y, le VIP, la substance P, la CGRP, le peptide natriurétique atrial, l'épinéphrine, ou encore la norépinéphrine (Freeman and Chapleau 2013).

I.2. COMPOSITION DU SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE

I.2.1. DU NEURONE AU NERF

I.2.1.1. LE NEURONE

Le neurone, unité fonctionnelle de base du système nerveux, est une cellule hautement différenciée spécialisée dans la communication intercellulaire par l'intermédiaire de synapses. Il reçoit, traite et transmet des informations sous forme d'influx nerveux. Les neurones matures de l'adulte sont des cellules hors cycles qui ne se renouvellent pas car elles ne se divisent plus (à l'exception des cellules neurosensorielles olfactives).

Le neurone, qui est délimité par une membrane plasmique, est constitué d'un corps cellulaire (encore appelé soma ou périkaryon) d'où partent des prolongements (ou neurites) de deux types : les dendrites et l'axone. Les dendrites, qui ont une fonction réceptrice, conduisent l'influx nerveux de la périphérie vers le corps cellulaire. Leurs terminaisons, qui sont libres ou capsulées, captent les stimuli cutanés ou les informations des glandes, des muqueuses, des organes et des articulations. L'axone est toujours unique mais peut avoir des collatérales : il conduit l'influx nerveux du corps cellulaire jusqu'à ses cibles (muscle, vaisseaux, dendrites d'autres neurones, etc...). Ses terminaisons nerveuses se composent de vésicules présynaptiques contenant des neurotransmetteurs.

La transmission d'information se fait donc via un influx nerveux. Le neurone au repos possède un potentiel électrique (potentiel de repos) transmembranaire. Lorsqu'il est excité (ou stimulé) au-delà d'un certain seuil apparaît un potentiel d'action, qui va se propager le long de l'axone pour finir par atteindre les terminaisons nerveuses et entraîner une libération de neurotransmetteurs dans la fente synaptique qui iront se lier à leurs récepteurs post-synaptiques, modifiant le potentiel membranaire de la cellule suivante. La transmission d'information neuronale repose donc sur des moyens électriques mais surtout chimiques.

Plusieurs types de neurones existent en fonction de leur rôle. La particularité des neurones sensitifs somatiques périphériques est leur pseudo-unipolarité (**Figure 9**) : leur dendrite unique et leur axone émergent du corps cellulaire (situé dans le ganglion rachidien) de façon accolée, puis se séparent pour relier, respectivement, le récepteur sensoriel d'un côté et le SNC de l'autre.

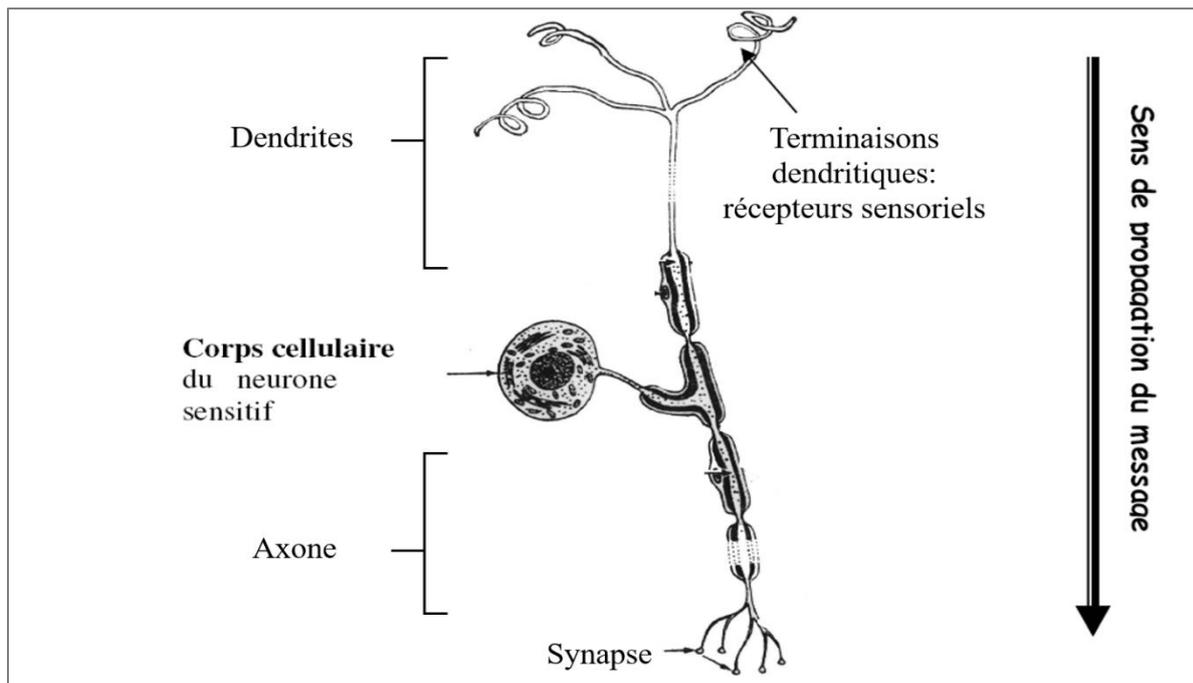


Figure 9. Neurone sensitif pseudo-unipolaire (ou neurone en T),

Image issue du site www.ressources.unisciel.fr/DAEU-biologie/P2/co/P2_chap4_c04.html

I.2.1.2. LE NERF PERIPHERIQUE

Un nerf est un regroupement de fibres nerveuses (axones et dendrites) qui conduisent de façon centrifuge ou centripète une information électrique codée (influx nerveux) du SNC vers le SNP et inversement. Il est donc formé par des fibres nerveuses issues de neurones sensoriels primaires en provenance des ganglions rachidiens, de motoneurones périphériques et de fibres du système nerveux autonome. De ce fait, quatre types de fibres sont potentiellement présentes dans un nerf : les fibres somato-motrices (fibres efférentes destinées à innover les muscles squelettiques striés), les fibres somato-sensibles (fibres afférentes véhiculant la sensibilité thermo-algique et proprioceptive en direction de l'encéphale), les fibres viscéro-motrices (fibres efférentes destinées à l'innervation des muscles lisses viscéraux et du muscle cardiaque), et les fibres viscéro-sensibles (fibres afférentes recueillant les informations en provenance des viscères).

Les fibres nerveuses se regroupent en fascicules nerveux délimités par le périnèvre et contenant l'endonèvre. Ces fascicules se regroupent également et sont entourés par une enveloppe protectrice plus externe appelé épinèvre, formant ainsi le nerf à proprement parler. Chaque nerf est engainé dans une couche externe conjonctive (ou mésonèvre). Le périnèvre, l'endonèvre et l'épinèvre correspondent à du tissu conjonctif de soutien qui contient, en autres, les vaisseaux

nourriciers et des fibroblastes au sein de fibres de collagène produites par ces derniers (**Figure 10**). De façon schématique, l'épinèvre est un tissu irrégulier et dense majoritairement composé de fibres de collagène, et a un rôle de protection des nerfs contre les étirements et blessures. Le périnèvre est une enveloppe lamellaire correspondant à un agencement de couches concentriques de cellules aplaties appelées cellules périneurales (qui sont des cellules myoépithéliales) étroitement unies entre elles par des zones de jonction serrées. Les cellules périneurales sont bordées sur leurs deux faces d'une membrane basale. Le périnèvre possède des propriétés élastiques. L'endonèvre est directement au contact des fibres nerveuses, et se compose d'un liquide endoneural (théoriquement équivalent au liquide céphalo-rachidien (Reinhold and Rittner 2017)) contenant des fibres de collagène, des capillaires sanguins, des macrophages, des mastocytes et des fibroblastes (Coujard, Poirier et al. 1998).

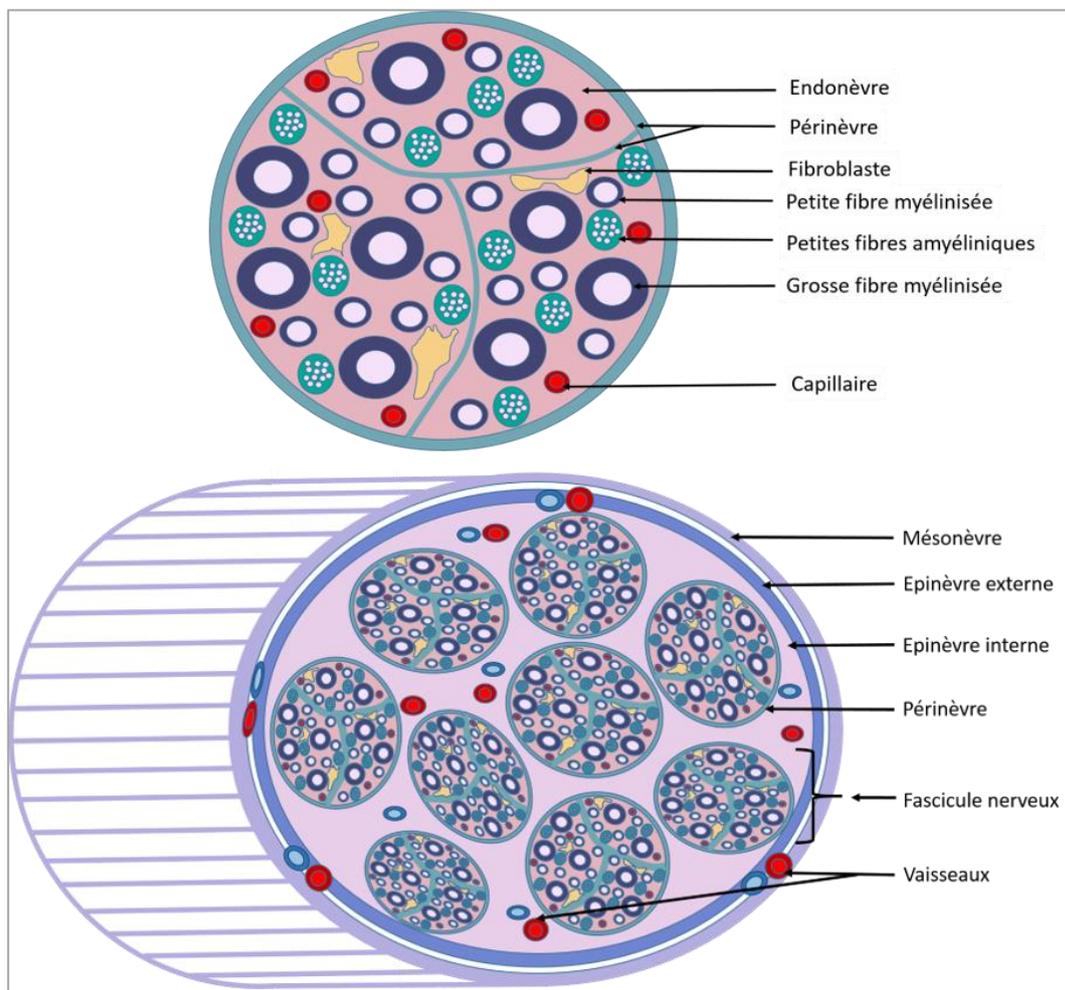


Figure 10. Représentation schématique d'une coupe de nerf et d'un fascicule nerveux

En haut : fascicule nerveux en coupe transversale. En bas : nerf en coupe transversale.

D'après M. Duchesne.

I.2.2. CELLULE DE SCHWANN ET MYELINE

La cellule de Schwann, issue de la crête neurale, est une cellule névrogliale uniquement présente dans le SNP, qui est à l'origine de la formation de la gaine de myéline. Elle est myélinisante lorsque l'axone a un diamètre supérieur à 1 μm (dans ce cas elle n'entoure qu'un seul axone), ou non myélinisante lorsque l'axone a un diamètre inférieur à 1 μm (dans ce cas, plusieurs fibres amyéliniques sont comprises dans les invaginations du cytoplasme d'une seule cellule de Schwann : on parle de « cellules de Remak ») (**Figures 11 et 12**). La différenciation en cellule myélinisante ou non se fait au cours du développement. En plus de leur fonction principale de myélinisation, les cellules de Schwann ont un rôle dans la survie neuronale, le guidage de la croissance axonale, participent aux processus de dégénérescence-régénération axonale et sont ainsi capables de se réorganiser et de proliférer, d'éliminer les débris axonaux et de faciliter la repousse axonale. Elles synthétisent et sécrètent de nombreuses molécules de la matrice extracellulaire de l'endonèvre (glycoprotéines, collagène et protéoglycanes entre autres). De plus, elles ont également un rôle immunitaire important car elles participent d'une part à l'activation du système immunitaire, et d'autre part elles peuvent engendrer une réaction inflammatoire ou au contraire contrôler une réaction inflammatoire excessive puisque la cellule de Schwann peut induire la libération de cytokines pro-inflammatoires (telles que l'interleukine 1 β , l'interleukine 6, le tumor necrosis factor et certaines chémokines) et de molécules anti-inflammatoires (comme l'interleukine 10) (Kobsar, Maurer et al. 2002, Berghoff, Samsam et al. 2005). Enfin, les cellules de Schwann peuvent également avoir un rôle de cellules présentatrices d'antigène et exprimer le CMH-II (Hartlehnert, Derksen et al. 2017).

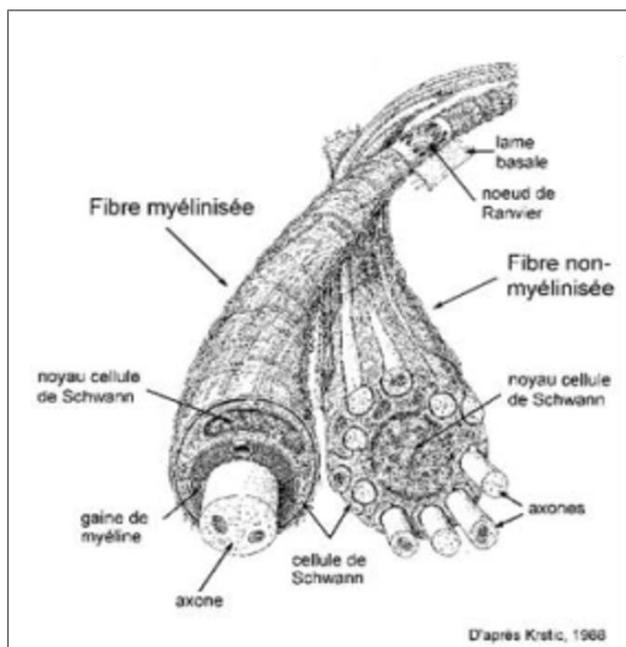


Figure 11. Cellule de Schwann

A gauche : axone unique myélinisé dans une seule cellule de Schwann.

A droite : plusieurs axones amyéliniques dans une seule cellule de Schwann.

En fonction de la présence ou de l'absence de gaine de myéline autour de ces fibres nerveuses, on distingue les fibres nerveuses myélinisées de celles dites « amyéliniques ».

La gaine de myéline est une structure multilamellaire de membrane, et est ainsi riche en lipides. La présence d'une gaine de myéline et son épaisseur ont un impact sur la vitesse de conduction de l'influx nerveux. Cette gaine comporte deux domaines distincts : la myéline compacte contenant les protéines P0, PMP22 (Peripheral Myelin Protein 22) et MBP (Myelin Binding Protein), et la myéline non compacte localisée au niveau des incisures de Schmidt-Lanterman et des boucles latérales paranodales contenant les protéines MAG (Myelin Associated-Glycoprotein), connexine 32, intégrine, alpha 6-bêta 4 et la E-Cadhérine. La gaine de myéline se divise en segments (ou internodes) correspondant aux territoires de chaque cellule de Schwann. Elle provient de l'enroulement progressif des membranes plasmiques des cellules de Schwann autour de l'axone, réalisant une alternance de lignes denses et d'espaces clairs (qui contiennent eux-même une ligne fine dense intermédiaire) en microscopie électronique. La gaine de myéline est interrompue au niveau des nœuds de Ranvier qui marquent la séparation entre deux territoires schwanniens (Quarles. 1999, Inouye and Kirschner 2016).

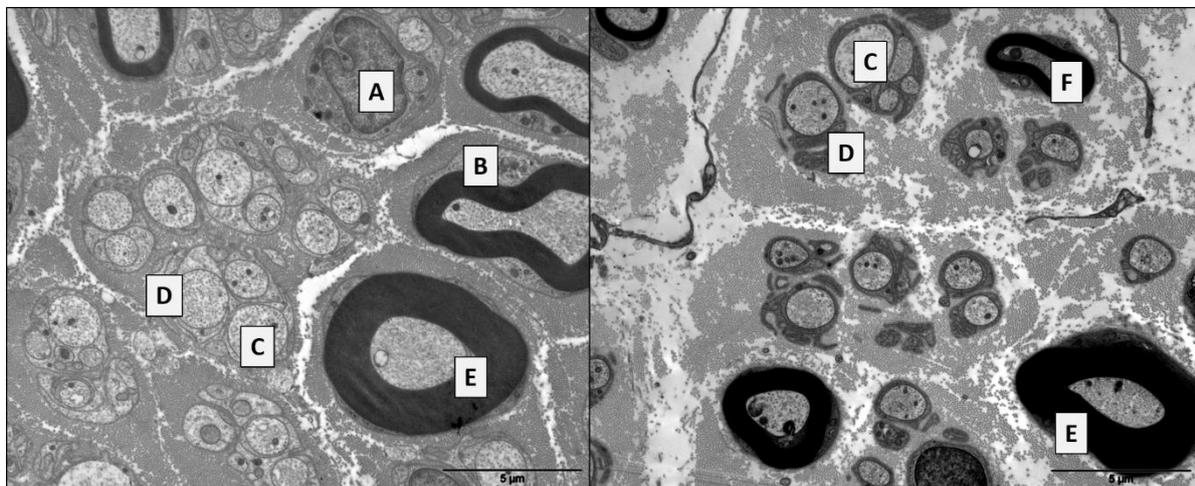


Figure 12. Coupe transversale de nerf en microscopie électronique

Grossissement x 7500. A : noyau d'une cellule de Schwann. B : cytoplasme schwannien autour d'une fibre myélinisée. C : fibre amyélinique. D : cytoplasme schwannien autour de fibres amyéliniques. E : grosse fibre myélinisée. F : petite fibre myélinisée.

Photos M. Duchesne.

I.2.3. FIBRES NERVEUSES

I.2.3.1. FIBRES NERVEUSES MOTRICES

Les fibres motrices sont deux types de fibres : les motoneurones α (ou fibres $A\alpha$ motrices) de gros diamètre (12 à 15 μm) avec une vitesse de conduction de l'ordre de 80m/S, et les motoneurones γ (ou fibres $A\gamma$ motrices) de petit diamètre (5 μm) avec une vitesse de conduction plus lente (20m/s). Les axones des motoneurones α innervent les fibres musculaires extra-fusales squelettiques striées, et se divisent en trois groupes en fonction du type de fibre musculaire qu'ils innervent : S-motoneurone α innervant les fibres musculaires de type I (ou S pour slow), FR-motoneurones α innervant les fibres musculaires de type IIa (ou FR pour fast and resistant) et les FF-motoneurones α innervant les fibres musculaires de type IIb (ou FF pour fast and fatigable) (Burke, Levine et al. 1973). Les motoneurones γ se destinent à la partie musculaire du fuseau neuromusculaire (mécanorécepteur situé à l'intérieur du muscle strié sensible aux changements de longueur du muscle), sans jouer de rôle dans la contraction mais qui permet de réguler la tension du fuseau de façon indépendante à la longueur du muscle. Ces deux motoneurones ont leur corps cellulaire situé dans la corne antérieure de la moelle spinale, et sont tous deux des fibres myélinisées.

I.2.3.2. FIBRES NERVEUSES SENSITIVES

Parmi les fibres sensibles, on distingue les fibres myélinisées de grand diamètre (fibres $A\alpha$ et $A\beta$ empruntant la voie lemniscale), les fibres nerveuses myélinisées de petit diamètre (fibres $A\delta$) et les fibres amyéliniques (fibres C) empruntant toutes les deux la voie extra-lemniscalle. Les fibres C, plus petites, se divisent en fibres somatiques (sensibilité thermo-algique) et fibres autonomiques. On appelle « petites fibres » les fibres $A\delta$ et C (**Figure 13**).

Les fibres $A\alpha$ (anciennement appelées fibres Ia et Ib) sont reliées aux récepteurs proprioceptifs présents dans le muscle squelettique, comprenant les fuseaux neuromusculaires (innervation via les fibres $A\alpha$ type Ia) et les récepteurs neurotendineux de Golgi (innervation via les fibres $A\alpha$ type Ib). Les fibres $A\beta$ (anciennement appelées fibres de type II) sont reliées aux mécanorécepteurs cutanés présents dans le derme. Les fibres $A\delta$ (anciennement appelées fibres de type III) sont quant à elles reliées aux nocicepteurs et thermorécepteurs cutanés.

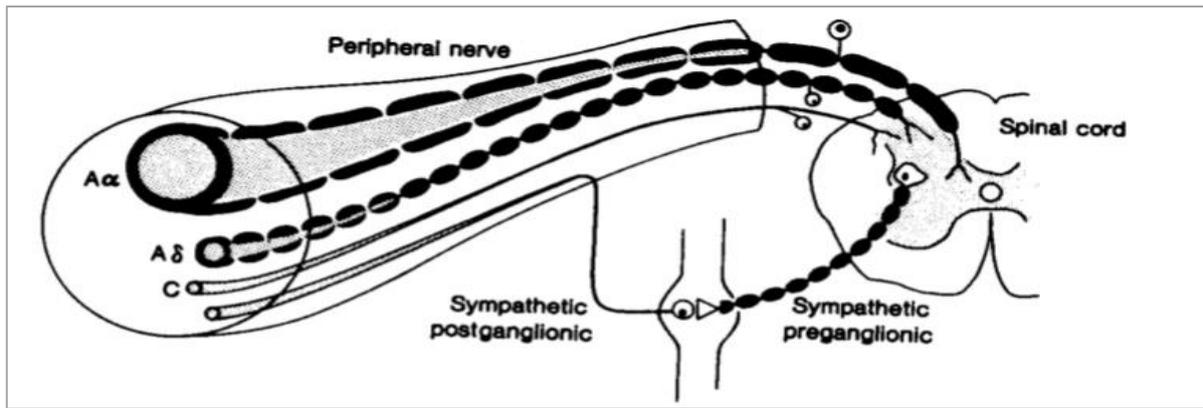


Figure 13. Fibres nerveuses sensibles myélinisées et amyéliniques et leurs projections spinales

D'après Vinik, 2015

Les fibres $A\delta$ sont de deux types : unimodales (nocicepteurs mécaniques) et multimodales (nocicepteurs mécano-thermiques). Les fibres C (anciennement appelées fibres de type IV) ont la particularité d'être polymodales, c'est-à-dire qu'elles sont reliées à des récepteurs qui répondent à des stimuli multiples de type mécaniques, thermiques et chimiques.

Les différents types de fibres sensibles sont représentés dans ce tableau :

FIBRES	DIAMETRE	MYELINE	VITESSE	FONCTIONS
$A\alpha$	13-30 μm	Oui	80-120 m/s	Proprioception squelettique consciente et inconsciente
$A\beta$	6-12 μm	Oui	35-75 m/s	Tact, proprioception consciente, pallesthésie
$A\delta$	1-5 μm	Oui	5-35 m/s	Douleur, température
C	0.1-1.6 μm	Non	0.5-2 m/s	Douleur, température, système nerveux autonome

I.2.4. VASCULARISATION DU SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE

Essentielle au maintien tissulaire par son rôle nourricier, la vascularisation dans le SNP a également un rôle de barrière sang-nerf (Ugrenovic, Jovanovic et al. 2007). La vascularisation des nerfs périphériques est divisée en deux systèmes longitudinaux qui communiquent par de nombreuses anastomoses. Le premier est le système vasculaire extra-neural (ou extrinsèque) le long des troncs nerveux dans l'épinèvre en péri-fasciculaire. Le second est le système vasculaire intra-neural (ou intrinsèque), qui est intra-fasciculaire (Reinhold and Rittner 2017, Caillaud, Richard et al. 2019). Les vaisseaux épineuriaux de la vascularisation extrinsèque vont donner des vaisseaux de plus taille qui vont traverser le périnèvre pour atteindre l'endonèvre et former la vascularisation intrinsèque, composée d'artérioles, de veinules et de capillaires (**Figure 14**).

La composante vasculaire et le tissu nerveux sont séparés par une barrière hémato-nerveuse, formée essentiellement par le périnèvre et l'endonèvre (Mizisin and Weerasuriya 2011). Le périnèvre, constitué de couches lamellaires de myofibroblastes, a principalement des fonctions mécaniques. L'endonèvre, qui contrôle les échanges nerf-sang, est composé de fibroblastes, de cellules de Schwann, de macrophages et de collagène, et contient un liquide endoneurial semblable au liquide céphalo-rachidien du SNC, ce qui lui donne un aspect plus lâche.

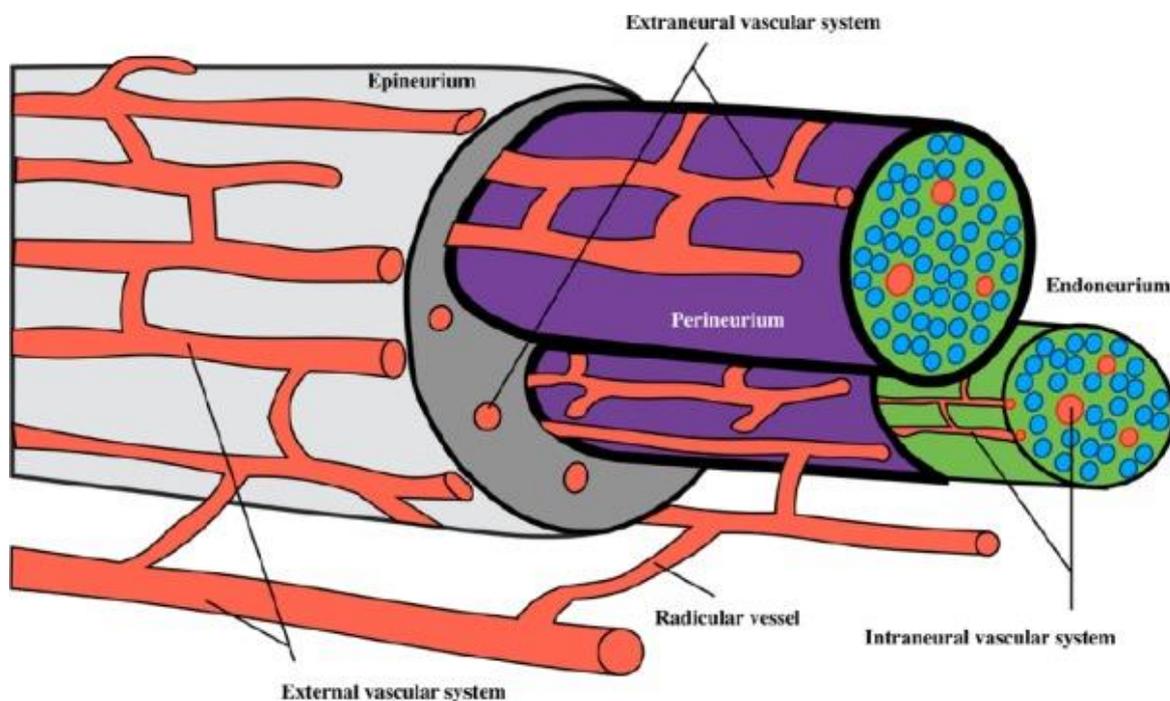


Figure 14. Vascularisation du nerf périphérique (Caillaud, Richard et al. 2019)

I.2.5. INNERVATION CUTANEE

I.2.5.1. RAPPELS HISTOLOGIQUES

La peau est un des plus grands organes du corps, représentant environ 16% du poids corporel. Elle est composée de deux couches : un épithélium de surface, l'épiderme, et une couche sous-jacente de tissu conjonctif, le derme (ce dernier étant divisé en derme papillaire, derme réticulaire et derme profond). Le derme repose sur une couche de tissu conjonctif plus lâche, l'hypoderme (**Figure 15**).

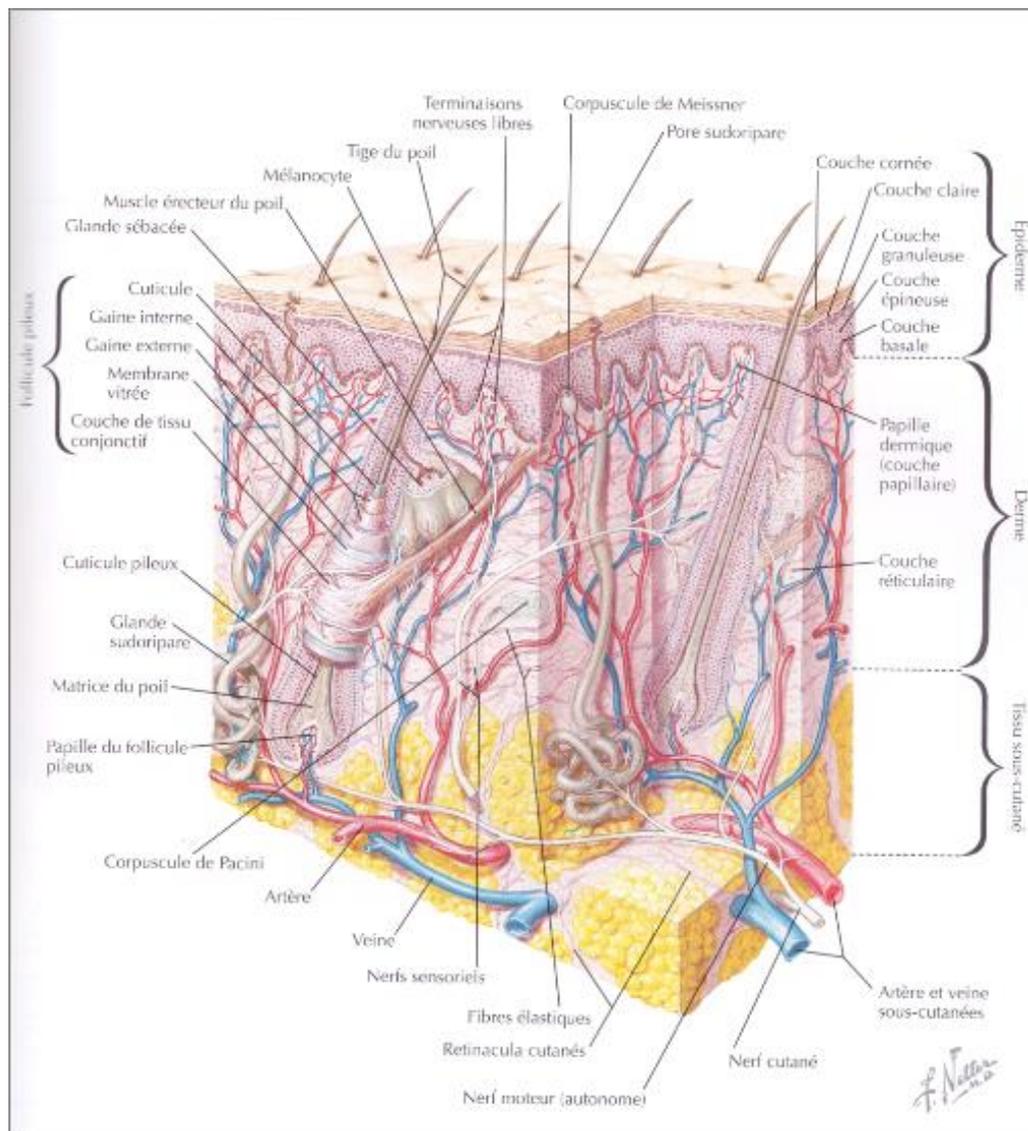


Figure 15. Histologie de la peau

D'après une illustration de Netter, Atlas de neurosciences humaines de Netter, 2e édition, 2011, Felten & Shetty (Felten and Shetty 2011)

L'épiderme est un épithélium malpighien kératinisé composé de plusieurs couches de kératinocytes. Selon les différents aspects successifs que prennent les kératinocytes, il est possible de distinguer cinq zones : la couche basale (la plus profonde), la couche à cellules à épines, la couche granuleuse, la couche claire et la couche cornée.

La peau est associée à des annexes que l'on trouve dans le derme : les follicules pileux, et deux types de glandes : les glandes sébacées qui produisent le sébum, et les glandes sudoripares qui produisent la sueur. Ces dernières se divisent en glandes sudoripares eccrines, largement distribuées à travers le tégument, et en glandes sudoripares dites apocrines (mais dont la sécrétion est en fait mérocrine), localisées au niveau des creux axillaires, du pubis et de la région périnéale.

Les glandes sudoripares eccrines sont tubulaires simples enroulées, donnant un aspect pelotonné (**Figure 15**). Leur partie sécrétrice est en position profonde dans le derme ou à la jonction derme/hypoderme. Un fin canal traverse les différentes couches cutanées pour s'ouvrir au niveau d'un pore sudoripare à la surface de la peau. La partie sécrétrice de la glande est tapissée par un épithélium cubique (contenant deux types de cellules : cellules claires et cellules foncées), et entre l'épithélium et la membrane basale se trouvent des cellules myoépithéliales qui se contractent pour favoriser la décharge de la sécrétion. Le canal de la glande est tapissé par un épithélium cubique comprenant deux couches de cellules cubiques. Les glandes sudoripares sont innervées par les fibres amyéliniques du système nerveux autonome.

I.2.5.2. SYSTEME NERVEUX CUTANE SOMATIQUE

L'innervation cutanée somatique est riche et complexe : elle est constituée de terminaisons libres amyéliniques situées dans l'épiderme, et de terminaisons dites encapsulées dans le derme et l'hypoderme correspondant à des récepteurs cutanés :

- Les terminaisons nerveuses libres : elles correspondent aux fibres nerveuses intra-épidermiques (FNIE) qui franchissent la jonction dermo-épidermique et perdent leur engainement schwannien, puis poursuivent leur trajet entre les kératinocytes (Lauria and Devigili 2007). Ce sont les seules fibres nerveuses présentes dans l'épiderme (il n'y a pas de fibre myélinisée dans l'épiderme). Les FNIE sont issues des petites fibres (A δ et C) somatiques, et conduisent la sensibilité thermo-algique.

- Les terminaisons nerveuses encapsulées : ce sont les divers récepteurs sensitifs situés dans le derme ou l'hypoderme, et correspondent aux extrémités des fibres cutanées myélinisées. Ce sont tous des mécanorécepteurs. On distingue (**Figure 16**) :

- Les corpuscules de Meissner : situés dans les papilles du derme de la peau glabre. La terminaison de la fibre nerveuse myélinisée est entourée de cellules de Schwann disposées en pile d'assiettes. Ils permettent la détection du mouvement et le contrôle de la préhension.

- Les corpuscules de Merkel : situés à l'extrémité des crêtes épidermiques primaires, elles résultent de l'association d'une cellule de Merkel (situées dans la couche basale de l'épiderme) et d'une terminaison nerveuse libre. Ils interviennent dans le tact fin en permettant la perception de la forme et de la texture.

- Les corpuscules de Pacini : situés dans le derme et l'hypoderme. L'axone de la fibre nerveuse myélinisée se situe dans le centre du corpuscule où il est entouré de lamelles cellulaires concentriques faites de cellules de Schwann, donnant un aspect d'oignon en coupe transversale. Ils détectent la vibration.

- Les corpuscules de Ruffini : situés dans le derme. La fibre nerveuse est entourée de fibres collagènes, puis d'une enveloppe conjonctive en continuité avec le périnèvre. Sensibles à l'étirement de la peau, ils détectent la force tangentielle, la forme de la main et la direction des déplacements.

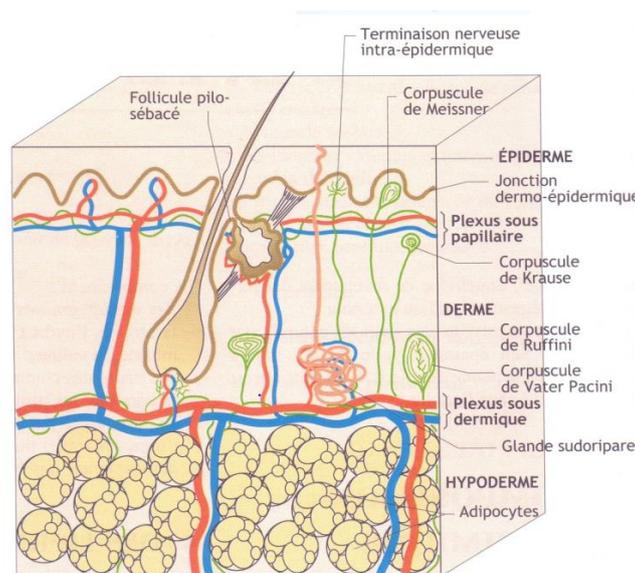


Figure 16. Innervation cutanée

D'après Hernandez M., Mercier-Fresnel M.-M. Le nouveau précis d'esthétique cosmétique : préparation aux examens d'État. 6ème édition. Paris : Vigot, 2003. 347 p. ISBN : 978-2-7114-1625-7.

I.2.5.3. SYSTEME NERVEUX CUTANE AUTONOME

Les fibres nerveuses du système cutané autonome sont uniquement des fibres de type C, donc amyéliniques. Elles sont pour la grande majorité des fibres sympathiques (cholinergiques), et ne représentent qu'une minorité des fibres nerveuses cutanées. Elles innervent : les vaisseaux (sanguins, lymphatiques, et anastomoses artérioveineuses), les muscles érecteurs du poil, les glandes sudoripares (apocrines et eccrines), et les follicules pileux.

Les fibres amyéliniques autonomiques cutanées, contrairement aux fibres amyéliniques somatiques cutanées, sont situées exclusivement dans le derme (elles n'entrent donc pas en compte dans la quantification des fibres nerveuses intra-épidermiques ou FNIE). Les fibres amyéliniques autonomiques quantifiées dans la biopsie cutanée sont les fibres nerveuses innervant les glandes sudorales (FNGS).

I.2.5.4. CELLULE DE LANGERHANS ET INNERVATION CUTANEE

I.2.5.4.1. Introduction

Décrite en 1868 par Paul Langerhans (Langerhans 1868), la cellule de Langerhans (CL) est largement répartie dans l'épiderme, et correspond à la seule cellule myéloïde épidermique. Son origine a longtemps été débattue, de même que sa classification. Les études récentes tendant à classer la CL comme un sous-ensemble spécialisé de la lignée des macrophages, mais avec la particularité d'avoir des propriétés de cellules dendritiques (**Figure 17**). En effet, elle possède diverses propriétés qu'elle partage avec les macrophages telles que l'auto-renouvellement et l'ontogenèse, et avec les cellules dendritiques puisque les CL sont des cellules présentatrices d'antigène capables de migrer activement vers les ganglions lymphatiques. Rares dans la couche basale, elles sont habituellement situées dans la couche supérieure de la couche des cellules à épines (Fawcett 2002) et représentent 2 % à 4 % de la population des cellules épidermiques. Leur densité varie de 200 à 1 000 cellules/mm² (Fawcett, Jensch et al. 2002). En outre, les CL sont également présentes dans la cornée et les muqueuses buccale, gingivale, œsophagienne et génitale.

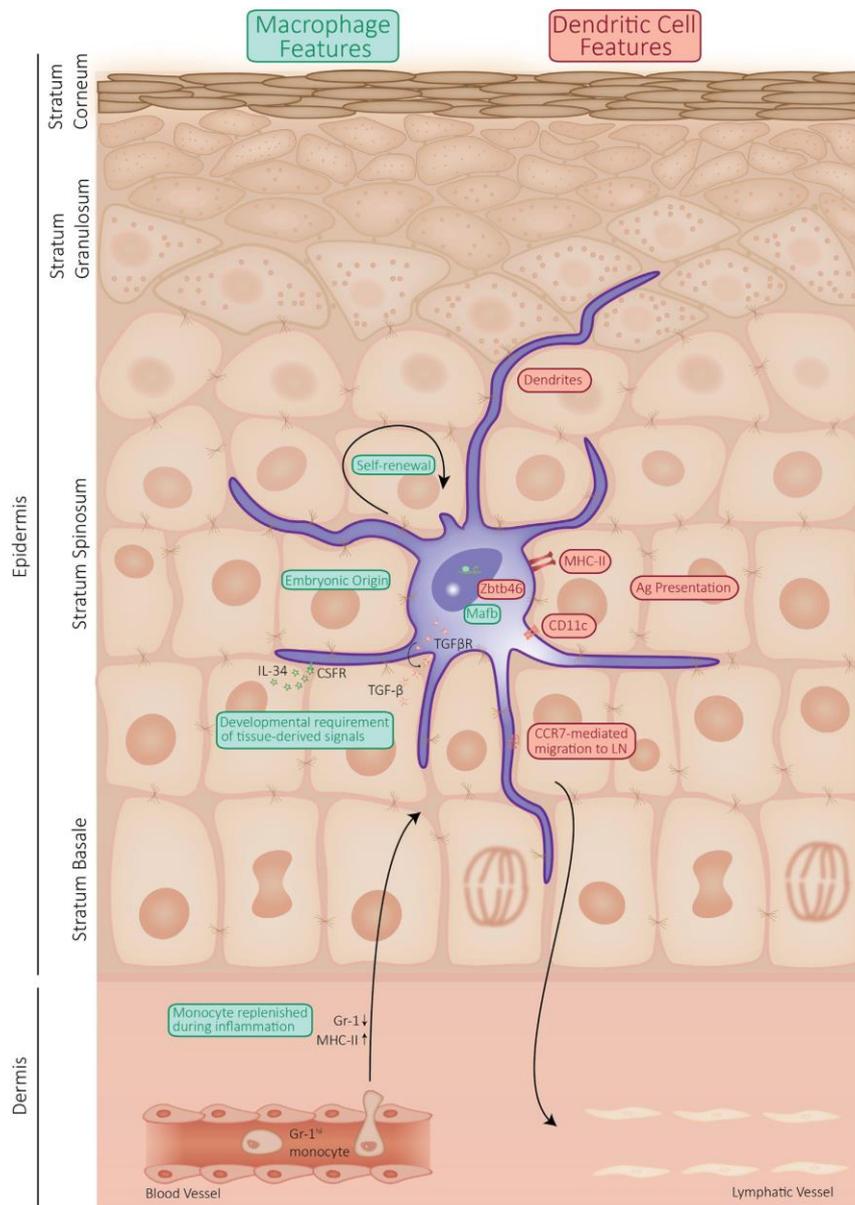


Figure 17. Représentation schématique des propriétés de la cellule de Langerhans (Deckers, Hammad et al. 2018)

En vert : propriétés des CL partagées avec les macrophages. En rouge : propriétés des CL partagées avec les cellules dendritiques.

1.2.5.4.2. Rôle de la cellule de Langerhans

Il a été démontré depuis longtemps que les CL étaient des cellules présentatrices d'antigènes capables de capter des antigènes au niveau cutané puis de les acheminer de la peau jusqu'aux ganglions lymphatiques afin de les présenter aux lymphocytes T (Romani, Lenz et al. 1989). Les CL sont également en contact étroit avec les kératinocytes par l'intermédiaire de molécules

d'adhésion (EpCAM) (Deckers, Hammad et al. 2018), de même qu'avec les FNIE (Gaudillere, Misery et al. 1996), et semblent impliquées dans le maintien de l'innervation cutanée par production, entre autres, de NTFs (neurotrophic factors) (Torii, Yan et al. 1997). L'activation des cellules de Langerhans se fait soit directement par une boucle autocrine (IL-1 β), soit par l'intermédiaire de cytokines produites par les kératinocytes environnants (comme le TNF α par exemple). Leur rôle principal est donc immunitaire : la CL intervient dans la défense de l'organisme mais aussi dans la tolérance immune. Néanmoins, le rôle exact et précis des CL reste encore aujourd'hui mal élucidé.

1.2.5.4.3. Origines et potentiel prolifératif

Il a été démontré depuis longtemps que les CL avaient une origine hématopoïétique (Katz, Tamaki et al. 1979). Cependant, les différentes études récentes réalisées sur les CL apportent des résultats conceptuellement difficiles à intégrer. Les CL proviennent majoritairement de l'hématopoïèse primitive, et de manière minoritaire de l'hématopoïèse définitive comprenant les cellules souches hématopoïétiques (**Figures 18 et 19**).

Au cours du développement embryonnaire, des progéniteurs érythro-myéloïdes mésodermiques émergent des îlots sanguins du sac vitellin pour donner les progéniteurs des macrophages de l'hématopoïèse primitive. A partir de là, une première vague ensemence directement la peau, puis une deuxième vague migre vers le foie fœtal (organe hématopoïétique) et se différencie en monocytes fœtaux qui ensuite iront ensemencer la peau (Collin and Milne 2016, Doebel, Voisin et al. 2017). Une étude plaide également en faveur d'une contribution majeure de l'hématopoïèse définitive à ces monocytes hépatiques fœtaux (Sheng, Ruedl et al. 2015). Au stade prénatal, les CL restent immatures et peu dispersés mais prolifèrent afin d'organiser un réseau. Ce n'est que peu de temps après la naissance qu'elles acquièrent le phénotype complet de CL (Doebel, Voisin et al. 2017). Les macrophages primitifs du sac vitellin ayant la capacité de proliférer *in situ*, donnent naissance à des populations durables de cellules telles que les CL, la microglie et les macrophages, qui auront la capacité de s'auto-renouveler et ainsi persister tout au long de la vie (Ginhoux and Jung 2014).

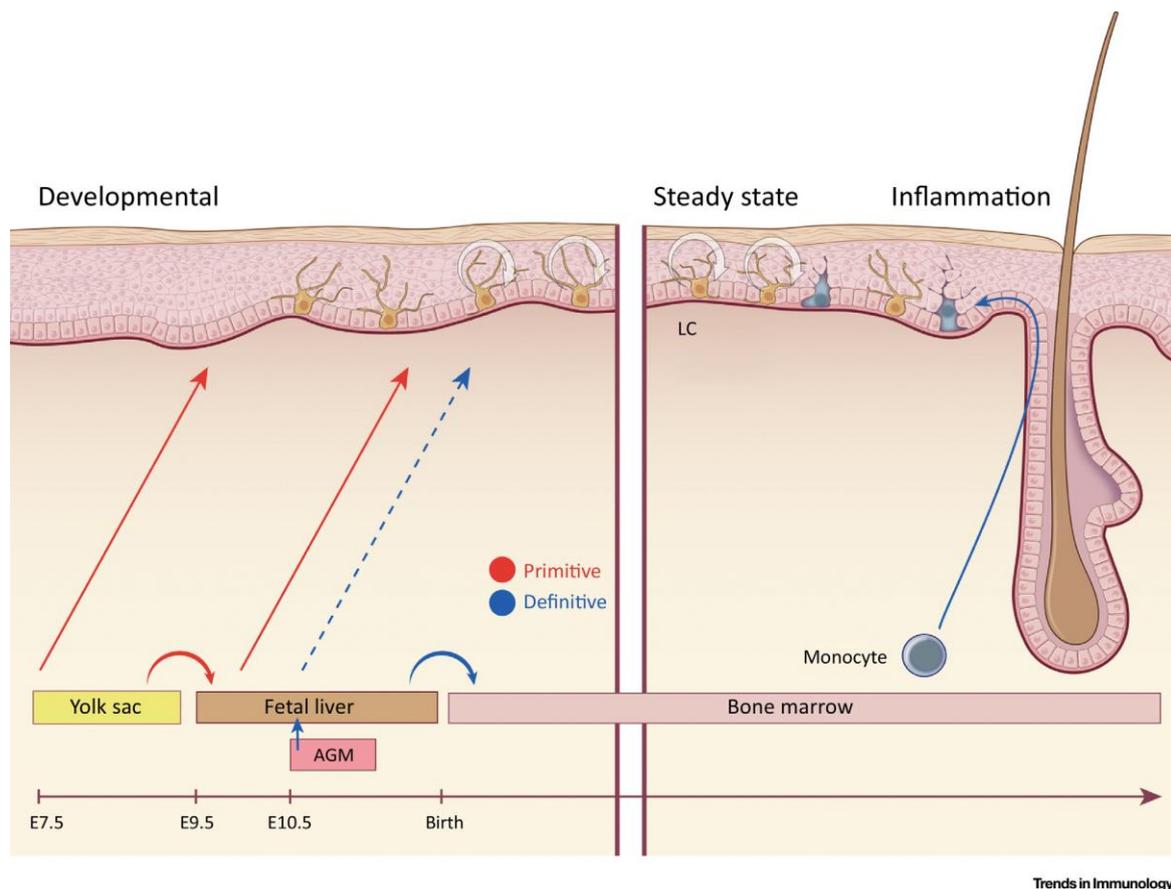


Figure 18. Ontogénèse des cellules de Langerhans entre l'état de repos et l'inflammation (Doebel, Voisin et al. 2017)

Si le potentiel prolifératif de la CL dans l'épiderme humain a été démontré depuis longtemps, de même que la modulation de cette prolifération par des agents exogènes (Czernielewski and Demarchez 1987), la régulation de la densité des CL est incomplètement comprise. Un certain nombre de preuves corroborent l'opinion selon laquelle les CL s'auto-renouvellent indépendamment des précurseurs de la moelle osseuse chez l'homme (Collin and Milne 2016), impliquant la voie de signalisation ERK/mTOR, elle-même dépendante de la protéine p14 qui interagit avec le TGF β (Kellersch and Brocker 2013, Sparber, Scheffler et al. 2014, Sparber, Tripp et al. 2015). Les données récentes reconnaissent également une distinction entre les voies de signalisation du TGF β qui interviennent dans la formation des CL et celles nécessaires pour promouvoir la stabilité du réseau de CL dans l'épiderme. Dans des conditions homéostatiques, les CL s'auto-entretiennent localement par prolifération à faible niveau sans apport majeur de la moelle osseuse. Dans des conditions inflammatoires ou en cas de déplétion majeure des CL, une population transitoire de monocytes circulants dérivés de la moelle osseuse est tout d'abord

recrutée dans l'épiderme via les follicules pileux donnant lieu à des CL de courte durée de vie, puis les CL stables de longue durée issues d'un précurseur myéloïde colonisent à nouveau l'épiderme (Collin and Milne 2016). Actuellement, les différences fonctionnelles entre les cellules myéloïdes résidentes de longue durée et celles recrutées par un phénomène inflammatoire restent méconnues.

Ainsi, le développement, la différenciation et la prolifération des CL sont étroitement contrôlés, par un réseau de facteurs de transcription, de cytokines et de facteurs de croissance, fortement influencés par le microenvironnement tissulaire (Deckers, Hammad et al. 2018). Les signaux qui contrôlent leur développement et leur différenciation semblent distincts de ceux qui maintiennent un réseau stable de CL (Collin and Milne 2016).

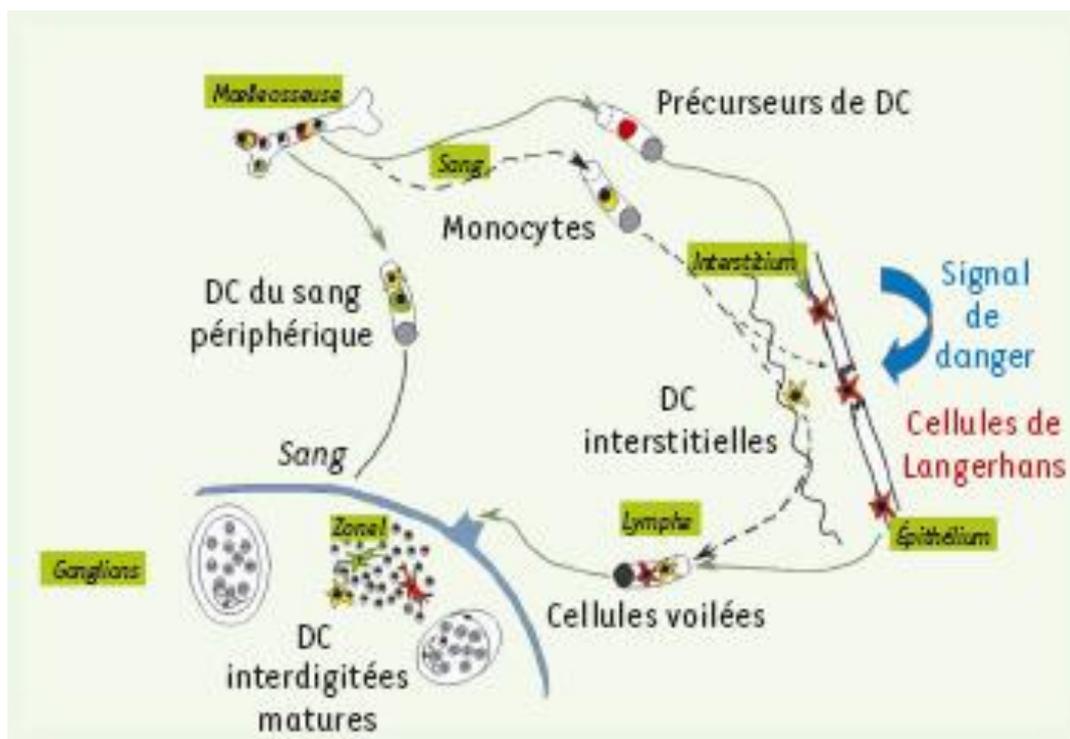


Figure 19. Cycle de vie des cellules de Langerhans

Les cellules de Langerhans subissent des changements phénotypiques et fonctionnels. Un signal de danger entraîne la migration des CL vers les organes lymphoïdes secondaires, où elles sont appelées cellules dendritiques interdigitées mature, capables de présenter des complexes CMH-Ag (complexe majeur d'histocompatibilité-antigène) à des lymphocytes T spécifiques (Valladeau 2006).

I.2.5.4.4. Morphologie

La CL est étoilée du fait d'extensions cytoplasmiques longues et fines, avec un noyau plurilobé de forme irrégulière, et dont le cytoplasme, qui est pauvre en mitochondries et en réticulum endoplasmique, contient des granulations discoïdes appelées granules de Birbeck, constitués de deux membranes accolées, séparées par une zone régulièrement striée en « fermeture éclair » (Birbeck MS 1961). Ces granules de Birbeck internalisent des virus et feraient partie du complexe de recyclage endosomal. Ils se caractérisent par l'expression élevée d'une lectine de type II, la langerine (Valladeau, Ravel et al. 2000), également exprimée par certaines cellules dendritiques présentes dans le derme mais non l'épiderme, différentes des CL dermiques en transit de la peau vers les ganglions (Merad, Ginhoux et al. 2008).

Du fait de leurs propriétés communes à la fois aux macrophages et aux cellules dendritiques, les CL possèdent des récepteurs de surface et des marqueurs immunologiques particuliers (comme par exemple tous les composants intervenant dans la présentation antigénique tels que l'HLA-DR, le CMH I (complexe majeur d'histocompatibilité) et le CMH II), et utilisent l'endocytose médiée par un récepteur, la micropinocytose et la phagocytose (Merad, Ginhoux et al. 2008, Zaba, Krueger et al. 2009, Deckers, Hammad et al. 2018). La CL est mise en évidence par les anticorps dirigés contre le CD1a (molécule du complexe majeur d'histocompatibilité de type I qui présente les lipides microbiens aux cellules T), la langerine (ou CD207) spécifique des granules de Birbeck, le CD45 (marqueur pan-leucocytaire), les marqueurs propres aux lignées hématopoïétiques myéloïdes (CD13 ou CD33), ainsi que l'E-cadhérine (molécule d'adhérence qui leur permet une adhérence homotypique avec les kératinocytes).

I.2.5.4.5. Cellules de Langerhans et fibres nerveuses intra-épidermiques

Il a été démontré que la longueur des FNIE était plus importante dans des conditions inflammatoires telles que le psoriasis ou le lichen chronique (Cui, Xiao et al. 2009). De plus, des relations étroites entre les CL et les FNIE ont été mises en évidence (Gaudillere, Misery et al. 1996), ainsi qu'une augmentation de leur contact dans des situations inflammatoires (Cui, Xiao et al. 2009). On sait également que les CL produisent des NTFs (neurotrophic factors) (Torii, Yan et al. 1997), et qu'une déplétion en CL entraîne une diminution des FNIE dans des modèles expérimentaux (Doss and Smith 2014). Les CL semblent donc intervenir dans le

maintien et la régulation de la densité de l'innervation cutanée mais les mécanismes impliqués ne sont pas clairs.

Il a également été rapporté que les CL ont la capacité de devenir immunoréactives pour la PGP 9.5 (Lindenlaub and Sommer 2002, Lauria, Lombardi et al. 2005), voire de produire la PGP 9.5 (Hamzeh, Gaudillere et al. 2000). Cependant, une autre population de cellules situées au niveau de la couche basale de l'épiderme semble réagir avec l'anticorps PGP 9.5, dont la signification est encore mal élucidée (Wendelschafer-Crabb, Kennedy et al. 2006). Des études ont montré qu'il existait une augmentation des CL positives pour la PGP 9.5 au cours d'une section de nerf (Lindenlaub and Sommer 2002) ou au cours d'une chimiothérapie neurotoxique à base de paclitaxel ou de vincristine (Siau, Xiao et al. 2006, Jin, Flatters et al. 2008) chez le rat. Chez l'homme, Casanova-Molla et al. ont rapporté une augmentation du nombre de CL chez des patients diabétiques souffrant de douleurs neuropathiques secondaires à l'atteinte des petites fibres (Casanova-Molla, Morales et al. 2012). En revanche, il ne semble pas y avoir de corrélation entre la symptomatologie douloureuse et le nombre de CL, ni de corrélation entre la densité des FNIE et les CL PGP 9.5 positives (Casanova-Molla, Morales et al. 2012).

D'autre part, il a été décrit que les CL avaient généralement une taille réduite (forme arrondie) dans les neuropathies des petites fibres (NPF), faisant évoquer un changement dans leur état d'activation par le biais d'un processus pro-inflammatoire en cours (Casanova-Molla, Morales et al. 2012).

Ainsi, du fait de leurs propriétés pro-inflammatoires et de leur interaction avec les FNIE, il semble tout à fait possible que les CL jouent un rôle dans le processus de dégénérescence axonale dans le cadre d'une NPF, voire contribuent à la sensibilisation axonale comme l'un des mécanismes physiopathologiques de la douleur neuropathique chez les patients atteints de NPF. Cependant, même si un rôle des CL dans les neuropathies douloureuses et d'autres affections douloureuses est supposé, à ce jour aucune preuve formelle n'a été rapportée pour appuyer cette hypothèse.

I.3. LES NEUROPATHIES PERIPHERIQUES

I.3.1. DEFINITION

Les neuropathies périphériques (NP) correspondent à toute altération du SNP. S'il est habituel d'exclure les affections de la moelle épinière (telles que la sclérose latérale amyotrophique ou la syringomyélie), l'atteinte du motoneurone périphérique comme dans l'amyotrophie spinale rentrent dans le cadre des NP. Il existe une grande diversité de situations où le SNP peut être atteint, allant de la simple atteinte d'un tronc nerveux à une atteinte diffuse du SNP (Bouche, Léger et al. 2003). On classe les NP en fonction de la topographie de l'atteinte, du processus physiopathologique sous-jacent (axone ou myéline) et de la durée d'installation et d'évolution. Ces critères dépendent de la cause et donc des mécanismes lésionnels en jeu.

I.3.2. MECANISMES LESIONNELS DES NEUROPATHIES

I.3.2.1. LA TOPOGRAPHIE DE L'ATTEINTE

On distingue les polyneuropathies (dont l'atteinte est le plus souvent distale et symétrique, par atteinte axonale), les mononeuropathies (atteinte d'un seul tronc nerveux, souvent d'origine traumatique ou canalaire), les mononeuropathies multiples ou multinévrites (atteinte simultanée ou successive de plusieurs troncs nerveux, d'origine vasculaire, infectieuse, dysimmunitaire ou héréditaire), les polyradiculopathies (atteinte proximale par lésion d'une ou plusieurs racines nerveuses, le plus souvent par atteinte de la myéline), les polyradiculoneuropathies (atteinte proximale et distale), les plexopathies (atteinte d'un plexus nerveux) et les neuronopathies ou ganglionopathies (atteinte du corps cellulaire). A cela s'ajoute la répartition des troubles en fonction du type de fibres atteintes (motrices ou sensibles), et s'il existe ou non une composante dysautonomique et/ou douloureuse (Bouche, Léger et al. 2003).

I.3.2.2. LA CIBLE LESIONNELLE

Il peut s'agir de la gaine de myéline, de l'axone ou du corps cellulaire (on parle alors de neuronopathie). L'atteinte axonale primitive peut être subaiguë ou chronique (contexte

métabolique ou toxique le plus souvent) et induire une dégénérescence de distal vers proximal (ou dégénérescence rétrograde de type « dying back »), ou bien aiguë et induire une dégénérescence de proximal vers distal (dégénérescence Wallérienne). De plus, une atteinte primitivement démyélinisante importante ou prolongée peut également aboutir à une perte en fibres témoin d'une atteinte axonale secondaire. Il peut par ailleurs coexister une tentative de régénérescence caractérisée par la constitution de « bouquets de régénérescence » constitués de regroupements de petites fibres myélinisées (« clusters »).

I.3.2.3. LA CAUSE

Il existe de nombreuses causes de NP, quelles soient acquises ou d'origine génétique. En fonction de la cause dépendra le type lésionnel et la topographie de l'atteinte, tout en sachant que plusieurs causes peuvent coexister et rendre le diagnostic et donc la prise en charge thérapeutique souvent difficile. La **Figure 20** résume les causes les plus générales de NP.

Tableau 2.1 Causes générales des neuropathies.

Mononeuropathies	– neuropathies associées aux maladies de système (lupus)
Neuropathies canalaires ou par enclavement (exemple : syndrome du canal carpien)	<i>Neuropathies toxiques :</i>
Traumatismes directs ou indirects des nerfs (une mononeuropathie multiple peut débuter par l'atteinte isolée d'un nerf)	– médicaments
Mononeuropathies multiples (multinévrites)	– toxiques environnementaux
Vascularites nerveuses (PAN, maladies de système, VIH)	<i>Neuropathies par carence vitaminique :</i>
Diabète (y compris les radiculopathies lombo-sacrées)	– thiamine, B1, B6
Sarcoïdose	– B12, folates
Lèpre	<i>Neuropathies associées aux cancers :</i>
Neuropathie motrice multifocale (en général avec bloc de conduction persistant)	– neuropathies paranéoplasiques
Maladie de Tangier	– neuropathies par effet direct (infiltration)
Formes focales initiales ou multifocales des polyradiculonévrites chroniques (syndrome de Lewis-Sumner)	<i>Neuropathies associées à une paraprotéïnémie</i>
Neuropathies héréditaires par hypersensibilité à la pression	– gammopathies monoclonales bénignes ou malignes (myélome multiple)
Polyneuropathies symétriques	– cryoglobulinémie
<i>Neuropathies dysimmunes (inflammatoires/dysimmunes) :</i>	– <i>POEMS syndrome</i>
– syndrome de Guillain-Barré et apparentés	– amylose AL
– polyradiculonévrites chroniques et apparentés	<i>Neuropathies métaboliques :</i>
– neuropathies par vascularites (multinévrites extensives)	– diabète
– neuropathies de la sarcoïdose	– hypothyroïdie
	– insuffisance rénale
	<i>Neuropathies infectieuses :</i>
	– VIH
	– lèpre
	– maladie de Lyme
	<i>Neuropathies de causes diverses :</i>
	– neuropathies de réanimation
	– neuropathies et lymphomes
	<i>Neuropathies héréditaires (CMT et autres)</i>

Figure 20. Causes générales des neuropathies périphériques (Bouche, Léger et al. 2003)

I.3.3. SYMPTOMATOLOGIE DES NEUROPATHIES PERIPHERIQUES

L'atteinte du SNP est à l'origine d'une multitude de symptômes en fonction du type d'atteinte et surtout du type de fibres atteint. On différencie les signes subjectifs (ressentis par le patient) tels que les troubles sensitifs (engourdissements, paresthésies, dysesthésies, crampes, radiculalgies), les troubles moteurs (fatigabilité, déficit), les douleurs neuropathiques et les troubles végétatifs (hypersudation ou hypo-sudation, troubles digestifs, troubles vésico-sphinctériens, troubles cardiovasculaires), et les signes objectifs (mis en évidence lors de l'examen clinique) tels que l'amyotrophie et le déficit moteur, le déficit sensitif, la dysautonomie et l'aréflexie. De plus, on distingue les signes « positifs » sensitifs (paresthésies, hyperesthésies, allodynie) ou moteurs (crampes, fasciculations) et les signes « négatifs » sensitifs ou moteurs, ayant pour origine une perte de fonction.

Les symptômes essentiels peuvent être simplifiés comme suit :

- *Déficit moteur flasque, amyotrophie, et fasciculations* : atteinte du motoneurone périphérique (ou fibres nerveuses motrices)
- *Déficit sensitif et algo-paresthésies* : atteinte de la sensibilité extéroceptive ou superficielle (regroupant la sensibilité thermo-algique, tact épicrotique et tact grossier) et/ou de la sensibilité proprioceptive ou profonde. Cela se traduira par des plaintes subjectives (paresthésies, picotements, engourdissements, brûlures, décharges etc...) et une hypoesthésie objectivée par l'examen clinique (hypoesthésie superficielle, profonde ou thermo-algique).
- *Atteinte végétative* : hypotension orthostatique, troubles de la sudation, anomalies pupillaires, troubles sphinctériens, troubles digestifs, troubles trophiques, troubles vasomoteurs, troubles du rythme, arthropathies.
- *Abolition des réflexes ostéotendineux* : résulte d'une atteinte de l'arc réflexe impliquant le réflexe myotatique (motoneurone γ) (ou réflexe polysynaptique d'étirement).

I.3.4. NEUROPATHIES PERIPHERIQUES D'ORIGINE GENETIQUE

I.3.4.1. GENERALITES

Les neuropathies périphériques héréditaires peuvent se présenter sous la forme d'une neuropathie « pure » ou dans le cadre d'un trouble neurologique multisystémique plus complexe.

Les NP héréditaires « pures » présentent généralement un phénotype caractéristique d'une neuropathie isolée, dépendante de la longueur, évoluant au fil des décennies. On distingue (Mathis, Goizet et al. 2015) :

- **La Maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) : cf. chapitre suivant**

- **La neuropathie motrice héréditaire distale (dHMN pour distal Hereditary Motor Neuropathy) : ce sont des formes motrices pures de neuropathies héréditaires, considérée comme une dégénérescence dépendante de la longueur des motoneurones rachidiens, ce qui explique leurs désignations alternatives de formes « spinale » de CMT (« spinal CMT ») ou de formes distales d'atrophie musculaire spinale (dSMA). Les patients présentent un phénotype typique de CMT mais ne présentent aucun symptôme ou signe sensoriel, ni d'atteinte des potentiels sensitifs à l'ENMG. La transmission peut être autosomique dominante, autosomique récessive ou liée à l'X.**

- **La neuropathie héréditaire aux points de pression (HNPP pour Hereditary Neuropathy with Liability to Pressure Palsy) : c'est un trouble autosomique dominant produisant des épisodes récurrents de mononévrite sensorimotrice sans douleur. Il est dû à une suppression hétérozygote du chromosome 17p11.2.**

- **Les neuropathies sensibles et dysautonomiques héréditaires (HSAN pour Hereditary Sensitive and Autonomic Neuropathies) : elles représentent un groupe rare d'affections du SNP qui sont génétiquement et cliniquement hétérogènes caractérisées par la présence d'une atteinte des formations périphériques sensibles périphériques associées, ou dans de rares cas dominée par une atteinte du système nerveux autonome, allant de phénotypes à implication sensorielle pure à des phénotypes avec des taux variables d'atteinte motrice et de perturbations autonomes légères, jusqu'à des neuropathies autonomes presque pures.**

- **La névralgie amyotrophiante héréditaire** : c'est une neuropathie focale héréditaire autosomique dominante caractérisée par des épisodes de neuropathie du plexus brachial avec faiblesse musculaire et atrophie (parfois avec hypoesthésie et paresthésie), généralement précédée d'une douleur intense dans le bras affecté. Le gène *SEPT9* (Septin 9) est le seul gène connu dans cette maladie.

- **Le syndrome du canal carpien familial**

- **La paralysie faciale familiale**

Les autres neuropathies héréditaires rentrant dans le cadre de tableaux multisystémiques sont nombreuses et résumées dans l'étude de Rossor et al. (Rossor, Carr et al. 2017). Parmi elles on distingue la **neuropathie amyloïde familiale** par mutation de la transthyréline (TTR), les **cytopathies mitochondriales**, la **maladie de Krabbe**, le **syndrome d'Anderman** (neuropathie et agénésie du corps calleux), la **maladie de Fabry** (déficit en α -galactosidase A), les **neuropathies à axones géants**.

I.3.4.2. MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH

I.3.4.2.1. Généralités et classification

Les premières descriptions de la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) ont été faites par Charcot et Marie en France et Tooth en Angleterre, et datent de 1886 (Charcot 1886, Tooth 1886). Elle représente un groupe de neuropathies héréditaires sensitivo-motrices génétiquement hétérogènes mais qui présentent certains caractères cliniques communs, notamment une atrophie péronière d'évolution progressive. En fait, la maladie de CMT chevauche souvent deux autres neuropathies héréditaires plus rares : la neuropathie motrice héréditaire distale (dHMN), qui a une implication principalement motrice, et les neuropathies sensitives et dysautonomiques héréditaires (HSAN), qui impliquent des nerfs essentiellement sensoriels et autonomes. Ces trois troubles représentent un continuum, souvent appelé collectivement CMT et troubles associés. La maladie de CMT reste la maladie génétique la plus fréquente en neurologie. La prévalence générale à travers le monde est de 1/2500, sans prédominance ethnique (Pisciotta and Shy 2018). Sa prévalence est estimée à 12 pour 100000 habitants en Islande (Gudmundsson,

Olafsson et al. 2010), à 10,8 pour 100000 habitants au Japon (Kurihara, Adachi et al. 2002), et la prévalence européenne se situe entre 10 et 28 pour 100000 habitants (Pareyson, Saveri et al. 2017).

Dyck et Lambert furent les premiers à proposer une classification fondée sur des critères cliniques, génétiques, électrophysiologiques et histologiques (Dyck and Lambert 1968). La classification actuelle des neuropathies de CMT est avant tout basée sur le caractère de la transmission de l'anomalie génétique et les données électro-cliniques. Les formes autosomiques dominantes (AD) sont subdivisées en formes démyélinisante (CMT1, soit environ 40 à 50% des CMT) et axonale (CMT2, soit environ 20% des CMT). CMT4 et CMTX désignent respectivement les formes autosomiques récessive (AR) et liée à l'X (Murphy, Laura et al. 2012). Le terme de maladie de Dejerine-Sottas est actuellement utilisé principalement pour désigner des phénotypes cliniques sévères précoces, indépendamment du modèle héréditaire (Landrieu and Baets 2013, Mathis and Vallat 2017). De façon simplifiée, on distingue donc (Elliott, Kwon et al. 1997) :

- CMT1 : formes démyélinisantes à transmission autosomique dominante
- CMT2 : formes axonales (à transmission autosomique dominante ou récessive)
- CMT3 : syndrome de Déjerine-Sottas
- CMT4 : formes démyélinisantes à transmission autosomique récessive
- CMT5 : formes de CMT avec atteinte pyramidale
- CMT6 : formes de CMT avec atrophie optique
- CMTX : formes à transmission liée à l'X.

Le CMT1A, associé à la duplication du gène périphérique de la protéine de myéline 22 (*PMP22*), est le sous-type de CMT le plus courant et représente 60 à 70% des patients atteints de CMT1. Les mutations dans le gène beta-1 de la jonction gap (*GJB1*) aboutissent au CMTX1 ce qui représente environ 10 à 20% des cas de CMT. Les patients CMT1B, dont la maladie est secondaire à une mutation dans le gène de la protéine zéro de la myéline (*MPZ*), représentent moins de 5% des CMT. D'une façon générale, environ 90% des patients atteints de CMT

génétiqumnt confirmée présentent une mutation dans l'un des gènes suivants : *PMP22*, *GJB1*, *MPZ*, *MFN2* ou *GDAP1* (Pareyson, Saveri et al. 2017).

Une classification simplifiée a été proposée plus récemment par Mathis et al. (Mathis, Goizet et al. 2015), spécifiant dans la dénomination de chacune des formes son mode de transmission (AD : autosomique dominante, AR : autosomique récessive, XL : X-linked, Spo : formes Sporadiques, ou Mit : héritage mitochondrial), le phénotype (CMT, HSAN, dHMN, etc...), son caractère démyélinisant (de) ou axonal (ax) ou intermédiaire (in), et le gène impliqué (avec la possibilité de mettre le terme "inconnu" dans le cas d'un gène ou d'une mutation non encore identifiée). Cela donnerait par exemple pour le CMT1A par duplication du gène *PMP22* : AD-CMTde-*PMP22*dup.

1.3.4.2.2. Maladie de Charcot-Marie-Tooth type 1A

Le sous-type CMT1A est donc la forme de CMT la plus répandue. Elle est associée à une duplication du bras court du chromosome 17 (17p12) qui contient le gène *PMP22* (Lupski, de Oca-Luna et al. 1991). Ce gène code pour une protéine membranaire de petite taille qui fait partie des constituants de la myéline compacte. Si au stade embryonnaire cette protéine est d'expression diffuse dans l'organisme, elle n'est au stade adulte exprimée que quasi exclusivement au niveau des cellules de Schwann, donc du SNP. Cependant son rôle est encore mal élucidé.

Cliniquement, les premiers symptômes surviennent le plus souvent précocement, dans la première décade (Marques, Freitas et al. 2005, Colombaro, Micallef et al. 2014), même si certains cas se manifestent plus tardivement (Birouk, Gouider et al. 1997) ou qu'au contraire certains patients naissent avec des malformations congénitales (Marques, Freitas et al. 2005). Cependant il existe une grande variabilité phénotypique entre les patients, et cela même au sein d'une même famille. Le phénotype clinique le plus fréquemment observé correspond au phénotype classiquement décrit dans les neuropathies de type CMT avec une atteinte principalement motrice : amyotrophie et déficit moteur distaux des membres inférieurs, aréflexie ostéo-tendineuse (le plus souvent généralisée), et des déformations des pieds qui deviennent creux (Bouche, Léger et al. 2004). Concernant l'atteinte sensitive, il existe une altération des grandes fibres sensibles qui entraîne des troubles proprioceptifs, causant des difficultés d'équilibre (Shy, Lupski et al. 2005). La douleur est également rapportée chez 55 à

70 % des patients CMT1A (Shy, Lupski et al. 2005, Colombari, Micallef et al. 2014, van Paassen, van der Kooij et al. 2014, Nolano, Manganelli et al. 2015), même si en pratique il est difficile de faire la part entre de réelles douleurs neuropathiques et des douleurs secondaires aux troubles moteurs et déformations ostéoarticulaires induites. La déficience auditive neurosensorielle a également été rapportée chez certains patients CMT1A (Colombari, Micallef et al. 2014), avec pour certains une réelle altération de la perception de la parole, malgré une détection sonore normale ou quasi normale (van Paassen, van der Kooij et al. 2014).

Histologiquement, on observe des lésions aspécifiques mais aussi des lésions plus caractéristiques du CMT1A. La démyélinisation caractérise le sous-type CMT1 (ou CMTde) : elle correspond d'une part à une perte en myéline et est suivie d'un processus de remyélinisation, donnant un aspect de myéline normalement compactée mais trop fine. Fréquemment, ces fibres hypomyélinisées sont entourées de proliférations de cellules de Schwann dites en « bulbes d'oignon ». Avec le temps, dans les neuropathies chroniques, le processus de démyélinisation / remyélinisation induit une perte axonale de gravité variable, mais pouvant être assez importante dans ce contexte. On considère généralement que la perte axonale est responsable de l'invalidité chez les patients atteints d'un CMT. Néanmoins, cette démyélinisation semble stable dans le temps alors que la perte axonale évolue au cours des années (Vallat 2003). Ultrastructuralement, on observe ces nombreuses formations en « bulbes d'oignon » qui apparaissent comme des proliférations concentriques de fragments cytoplasmiques allongés (nucléés ou non) de cellules de Schwann souvent trop minces par rapport au diamètre de l'axone qu'elles entourent. Un autre signe histologique rencontré dans le CMT1A est la « tomacula » traduisant une hypermyélinisation, donnant un aspect « en chapelet de saucisses » à la fibre nerveuse myélinisée, et est le plus souvent rencontré dans le cadre de l'HNPP (Mathis, Corcia et al. 2014). Toutes ces lésions entraînent des « neuropathies hypertrophiques » (nerfs épais et palpables) non spécifiques de CMT1A et peuvent être observées dans le syndrome de Dejerine-Sottas, ainsi que dans 10% à 43% des neuropathies acquises chroniques démyélinisantes telles que la polyneuropathie inflammatoire démyélinisante chronique (PIDC) (Oh 1990). Cependant, dans les CMT1A, les formations de « bulbes d'oignon » sont plus diffuses avec des espaces intermédiaires « vides » contrairement aux PIDC où l'on retrouve du collagène. De plus, les bulbes d'oignons sont fortement immunoréactifs pour certains composants de la matrice extracellulaire tels que la ténascine C dans les échantillons de nerfs PIDC (Oka, Kawasaki et al. 2013), alors que l'immunoréactivité est rare dans le CMT1A (Duchesne, Mathis et al. 2018).

I.3.5. NEUROPATHIES PERIPHERIQUES ACQUISES

I.3.5.1. GENERALITES

Il existe de nombreuses causes de NP acquises, qu'elles soient aiguës ou chroniques. D'une manière générale, les NP acquises aiguës (installation inférieure à 4 semaines) comprennent : syndrome de Guillain-Barré (formes démyélinisante et axonale), porphyrie aiguë intermittente, NP toxiques, diabète, NP alcoolico-carencielles, diphtérie, NP urémiques. Les NP acquises subaiguës (4-8 semaines) comprennent : diabète, NP alcoolico-carencielle, NP carencielles, NP toxiques, maladies systémiques (vascularites, sarcoïdose), hémopathies, NP paranéoplasique, NP infectieuses (maladie de Lyme, lèpre), NP amyloïde, polyradiculonévrites idiopathiques et secondaires (lupus, POEMS, SIDA, myélome, sarcoïdose). Enfin, les NP acquises chroniques comprennent : NP amyloïde, gammopathie monoclonale, NP toxiques, maladies de système telle que le syndrome de Gougerot-Sjögren, diabète, hypothyroïdie, insuffisance rénale chronique, NP alcoolico-carencielles et NP carencielles, polyradiculonévrite chronique, polyneuropathies anti-MAG.

I.3.5.2. PRINCIPALES ETIOLOGIES DES NEUROPATHIES PERIPHERIQUES ACQUISES

I.3.5.2.1. Neuropathie diabétique

On distingue quatre types de diabète : le diabète de type 1, d'origine auto-immune, est la conséquence d'une destruction des cellules bêta du pancréas ; le diabète de type 2 (non insulino-dépendant), est une résistance à l'insuline plutôt qu'un déficit de production de l'hormone ; les diabètes secondaires (origine génétique de sécrétion d'insuline, endocrinopathie, insuffisance pancréatique exocrine, toxiques ou médicamenteux) ; et le diabète gestationnel (découvert au cours de la grossesse, quel que soient son type et son évolution) (Bouche, Léger et al. 2003).

Le diabète de type 2 devrait toucher environ 366 millions de personnes dans le monde d'ici 2030. L'incidence de la neuropathie au cours de la vie est d'environ 45% chez les patients atteints de diabète de type 2 et de 54% à 59% chez les patients atteints de diabète de type 1. L'étude électrophysiologique effectuée au moment du diagnostic du diabète démontre que la neuropathie est déjà présente. Une douleur neuropathique importante survient chez 7,5% à 24% de tous les patients atteints de diabète. La douleur neuropathique est également l'une des

manifestations les plus courantes d'une tolérance au glucose diminuée. A noter que les traitements qui améliorent la neuropathie sous-jacente réduisent également la gravité de la douleur neuropathique (Russell and Zilliox 2014).

Il existe différentes atteintes possibles dans la neuropathie diabétique. En 2011, un groupe d'experts de Toronto a fourni des critères pour le diagnostic de la neuropathie diabétique (Dyck, Albers et al. 2011). On distingue les polyneuropathies symétriques des neuropathies focales/multifocales. Les atteintes symétriques comprennent plusieurs tableaux : la polyneuropathie axonale sensitive ou sensori-motrice chronique, la neuropathie à petites fibres, la cachexie neuropathique diabétique, la polyneuropathie sensitive distale aiguë, la neuropathie hyperglycémique rapidement réversible, la neuropathie autonome, la neuropathie motrice proximale symétrique des membres inférieurs. Parmi les atteintes focales/multifocales, on distingue les neuropathies crâniennes (notamment oculo-motrice), les mononeuropathies du tronc et des membres (piégeage, ischémie), la neuropathie motrice asymétrique proximale des membres inférieurs (ou radiculoplexopathie lombosacrée diabétique) (Vinik, Nevoret et al. 2013, Russell and Zilliox 2014).

1.3.5.2.2. Neuropathies et troubles métaboliques ou endocriniens (hors diabète)

- L'hypoglycémie : bien qu'elle soit à l'origine de nombreuses complications du SNC, c'est une cause exceptionnelle de NP. Elle peut être iatrogène ou due à un insulinome (Bouche, Léger et al. 2003).

- L'insuffisance rénale : deux formes cliniques sont rencontrées, la polyneuropathie urémique, de type distale, symétrique, sensitivomotrice atteignant préférentiellement les membres inférieurs, avec composante douloureuse, et la neuropathie focale, dominée par le syndrome du canal carpien (Bouche, Léger et al. 2003).

- Les dysthyroïdies : les troubles du métabolisme thyroïdien sont à l'origine d'une atteinte du SNP. L'hypothyroïdie entraîne deux types de neuropathies : les mononeuropathies par compression (isolées ou multiples), et les polyneuropathies sensitives ou sensitivomotrices. La prévalence d'une NP dans l'hypothyroïdie varie de 10% à 70% (Bouche, Léger et al. 2003, Gupta, Arora et al. 2016). Certains auteurs estiment cependant que les mononeuropathies compressives telles que le syndrome du canal carpien sont trop souvent associées à

l'hypothyroïdie (Shiri 2014). L'hyperthyroïdie en revanche n'est pas reconnue comme pourvoyeuse d'une atteinte d'une SNP, même si des cas très isolés ont été rapportés, dont le lien avec l'anomalie thyroïdienne est contestable (Bouche, Léger et al. 2003).

- L'hyperlipidémie : les NP liées à ce trouble métabolique sont rares et principalement décrites dans les hyperlipidémies de type IV et V. Il s'agit alors d'une polyneuropathie sensitivomotrice distale des membres inférieurs avec composante douloureuse (Bouche, Léger et al. 2003). De rares cas de polyradiculopathies ont également été rapportés dans l'hypertriglycéridémie (Nesbitt, Wong et al. 2015).

1.3.5.2.3. Neuropathies alcoolique et carentielles

La consommation excessive d'alcool est connue pour donner une NP, d'autant qu'elle est bien souvent associée à des carences (notamment en vitamine B12, thiamine et folate) qui d'ailleurs semblent contribuer largement au développement de la neuropathie (Mellion, Silbermann et al. 2014). Il s'agit d'une axonopathie distale chronique longueur-dépendante, qui présente parfois des signes d'atteintes aiguës en neuropathologie (ovoïdes de myéline sur la biopsie nerveuse) en faveur d'une progression rapide (Katona and Weis 2017). Elle s'exprime par des symptômes distaux et symétriques touchant les membres inférieurs, d'évolution subaiguë ou chronique. Classiquement, les patients présentent des signes moteurs et sensitifs mais également thermiques, avec notamment le tableau clinique de pieds brûlants (ou *burning feet*) (Bouche, Léger et al. 2003). En effet, plusieurs études ont aujourd'hui montré que la NP alcoolique s'accompagnait d'une atteinte des petites fibres (Mellion, Silbermann et al. 2014).

Les carences en thiamine (Béribéri), en vitamine B12 (Cobalamine) et en folates, qui sont bien souvent associées, sont connues pour donner des neuropathies. La carence en thiamine donne un tableau similaire à la neuropathie alcoolique. La carence en cobalamine aboutit à des anomalies au niveau des colonnes postérieures et latérales de la moelle spinale, des nerfs périphériques et crâniens et du cortex cérébral. Cliniquement, les manifestations sont progressives, symétriques et prédominent sur les modalités des grosses fibres sensitives avec un certain respect des modalités des petites fibres. La carence en folates donne exceptionnellement des complications neurologiques qui sont semblables à celles observées dans la carence en vitamine B12, cependant il existe une interdépendance entre ces deux vitamines, ce qui rend difficile la comparaison des atteintes. De manière plus générale, un

syndrome de carences multiples avait été décrit à la fin de XIXe siècle par Strachan, se traduisant par une polyneuropathie douloureuse avec amblyopie et surdité (Bouche, Léger et al. 2003).

1.3.5.2.4. Neuropathies infectieuses

- Maladie de Lyme : encore appelée borréliose de Lyme, il s'agit d'une maladie infectieuse due à une bactérie (un spirochète : *Borrelia burgdorferi*), transmise par l'intermédiaire d'une piqûre de tique (*Ixodes*) infectée, vecteur du spirochète. Cette zoonose peut toucher plusieurs organes et systèmes, la peau mais aussi les articulations et le système nerveux. Cliniquement, la maladie de Lyme est généralement décrite comme se produisant en 3 étapes. La première est précoce (3 à 30 jours après l'exposition aux tiques) et localisée, caractérisée par un *erythema migrans* qui commence au site de la morsure de la tique. Cela s'accompagne souvent de symptômes systémiques, tels que fièvre, fatigue, arthralgie et myalgie. Puis une phase de dissémination précoce (de quelques jours à plusieurs semaines après l'expositions aux tiques) fait suite à cette atteinte cutanée. Les signes et symptômes les plus fréquemment identifiés comprennent un *erythema migrans* secondaire, une cardite aiguë, une atteinte du système nerveux et des crises brèves d'arthrite mono-articulaire ou oligo-articulaire. L'atteinte neurologique typique est une méningoradiculite. Cependant, d'autres tableaux moins fréquents tels que la méningite lymphocytaire aiguë, la myélite aiguë transverse, l'encéphalite, la paralysie du nerf facial et d'autres neuropathies crâniennes sont possibles. Enfin, la troisième étape est une chronicisation de la maladie, survenant des mois voire des années après l'exposition aux tiques, et provoque des symptômes dans les articulations et/ou le système nerveux. Les arthrites mono-articulaires et oligo-articulaires, touchant le plus souvent les genoux, peuvent être intermittentes ou chroniques. L'atteinte du système nerveux peut inclure une neuropathie périphérique ou une encéphalomyélite. Les autres symptômes systémiques ne sont généralement pas présents au cours de cette étape (Bouche, Léger et al. 2003, Hu 2016).

- Lèpre : appelée encore maladie de Hansen, il s'agit d'une maladie chronique causée par *Mycobacterium leprae* (bacille intracellulaire gram-positif alcool-acide-rapide). Elle peut affecter tous les tissus, mais elle touche principalement la peau et le système nerveux périphérique. Du fait d'un tropisme pour les macrophages et les cellules de Schwann, *M.*

leprae est la seule bactérie à pouvoir pénétrer dans le nerf de cette façon. En 2008, plus de 1000 nouveaux cas ont été signalés dans 17 pays (Inde, Brésil, Indonésie, République démocratique du Congo, Bangladesh, Nigéria, Népal, Éthiopie, Myanmar, Tanzanie, Philippines, Sri Lanka, Soudan, Madagascar, Chine, Mozambique et en Angola). Ces pays représentent 94% des nouveaux cas détectés dans le monde en 2008 d'après l'Organisation Mondiale de la Santé (de Freitas and Said 2013). Cliniquement, les tableaux les plus fréquents sont les mononévrites, les mononévrites multiples et les polynévrites. Les lésions cutanées sont absentes dans la forme de présentation neurologique pure. Les atteintes nerveuses périphériques isolées sont courantes, des cas d'atteintes des nerfs crâniens sont décrits, et il existe des signes d'atteinte des petites fibres tels qu'une dysautonomie et des douleurs neuropathiques (Nascimento 2013).

- Neuropathies dues aux rétrovirus : l'HTLV-1 (Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus type 1) donne très exceptionnellement des NP. En revanche, la polyneuropathie symétrique distale, qui affecte 30 à 50% des personnes infectées par le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine), reste l'une des complications neurologiques du VIH les plus courantes de l'ère des antirétroviraux. Il s'agit le plus souvent d'une polyneuropathie symétrique distale, qui peut être directement causée par le VIH ou peut résulter d'une toxicité des antirétroviraux secondaire au dysfonctionnement mitochondrial. Les deux tableaux ne peuvent pas être différenciés sur la base de la présentation clinique ni sur l'examen électrophysiologique ou neuropathologique. Cependant, l'apparition temporelle des symptômes peut être utile, car la NP associée au traitement antirétroviral commence habituellement dans les 3 à 6 mois suivant le début du traitement et peut évoluer de manière plus subaiguë. Les signes communs incluent une réduction de la sensibilité à la piqûre d'épingle, à la température et à la vibration, avec réflexes ostéotendineux diminués ou absents. La proprioception est généralement épargnée et les atteintes motrices sont rares. Les études de conduction nerveuse peuvent montrer des signes non spécifiques de neuropathie axonale. La biopsie cutanée peut montrer une densité de couche de fibres nerveuses épidermiques compatible avec une neuropathie à petites fibres (Saylor 2018).

- Neuropathie et hépatite C / cryoglobulinémie : l'infection par le virus de l'hépatite C (VHC) peut entraîner des troubles neurologiques centraux incluant la méningite, l'encéphalite, la leucoencéphalite, l'encéphalomyélite, ainsi que des troubles psychiatriques diverses. Moins fréquemment, une atteinte du système nerveux périphérique est également décrite. Quarante à

75% de patients positifs pour le VHC présentent une NP symptomatique, qui s'avère plus importante lorsqu'il existe une cryoglobulinémie associée. Bien que la présence d'une cryoglobuline sérique soit un marqueur pronostique de gravité, des symptômes peuvent être signalés même en son absence, sous-tendant le rôle direct du virus dans la précipitation de la maladie. Les mécanismes supposés sont des dépôts vasculaires d'ARN du VHC contenant une cryoglobuline, l'invasion virale directe et l'inflammation périvasculaire. Les atteintes sont diverses, allant de l'axonopathie sensorielle à la mononévrite multiple. L'atteinte sensorimotrice d'un ou plusieurs nerfs distaux est la plus fréquente, elle tend à devenir symétrique, entraînant une perte de sensation et une faiblesse musculaire. La polyneuropathie sensorielle implique une infiltration périvasculaire de lymphocytes et de monocytes de vaisseaux de petite taille. La mononévrite multiplex serait secondaire à une inflammation des vaisseaux de taille moyenne avec nécrose vasculaire. Les neuropathies sensorielles asymétriques touchent aussi bien les grandes fibres que les petites. La polyneuropathie démyélinisante et la polyradiculoneuropathie sont moins fréquentes en cas d'infection par le VHC. Les neuropathies motrices pures et les neuropathies autonomes sont rares dans le VHC (Mathew, Faheem et al. 2016).

- Autres : la brucellose (*Brucella melitensis* et *Brucella abortus*) peut donner des complications neurologiques de type méningoencéphalite, méningoencéphalomyélite, épидурite ou encore des polyradiculonévrites aiguës ou chroniques. La leptospirose (due à la bactérie *Leptospira*) peut donner une méningite lymphocytaire, une encéphalite, une atteinte musculaire ou encore une polyradiculonévrite. L'*Herpes simplex* donne classiquement une méningite voire une atteinte radiculaire lombosacrée, et exceptionnellement ont été rapportés des cas de polyradiculonévrite aiguë. Le virus varicelle-zona, qui peut être réactivé dans les ganglions rachidiens, entraîne généralement un zona, mais peut aussi, en particulier chez les personnes immunodéprimées et les personnes âgées, s'étendre au système nerveux central et aboutir à une leucoencéphalite multifocale, une ventriculite, une encéphalite focale, une myélite focale, une vascularite ou encore une méningoradiculite avec atteinte nécrosante. Le CMV donne des atteintes centrales telles que l'encéphalite nodulaire, la ventriculoencéphalite ou des myéломéningoradiculites, mais peut aussi toucher le système nerveux périphérique : le tableau le plus classique est le syndrome de Guillain-Barré (13% à 22% selon les études), mais le CMV entraîne également des tableaux de neuropathies chroniques (radiculopathies, méningoradiculites, myéломéningoradiculites, ou encore des neuropathies sensitives ou sensitivo-motrices

démyélinisantes multifocales). La mononucléose infectieuse (due au virus Epstein-Barr) atteint très exceptionnellement le système nerveux. Enfin, la diphtérie (toxi-infection due au bacille de Klebs-Loeffler *Corynebacterium diphtheriae*) donne une atteinte neurologique dans 20% des cas : soit par atteinte des nerfs crâniens, soit par une polyneuropathie aiguë ou subaiguë sensitivo-motrice ascendante démyélinisante (Bouche, Léger et al. 2003). Si l'atteinte douloureuse n'est pas décrite, une dysautonomie est par ailleurs rapportée dans certains cas (Sanghi 2014).

1.3.5.2.5. Neuropathies et pathologie tumorale

- Neuropathies néoplasiques et paranéoplasiques au cours des tumeurs solides : les NP sont fréquemment rencontrées chez les patients atteints d'une tumeur maligne, et les étiologies sont multiples. Il est primordial d'éliminer une cause métastatique qui peut se manifester par une compression ou une infiltration des nerfs périphériques et des plexus par les cellules tumorales, ou par une méningite carcinomateuse lorsque des cellules tumorales se développent dans les espaces sous-arachnoïdiens. En dehors de tout contexte métastatique et en fonction du type de cancer initial et du traitement reçu par le patient, les néoplasies solides peuvent s'accompagner d'un syndrome paranéoplasique, de complications iatrogènes (chirurgie, chimiothérapie, radiothérapie), de troubles métaboliques associés ou non à des carences vitaminiques, et enfin de complications vasculaires. Un syndrome paranéoplasique se définit par la survenue, au cours d'un cancer ou préalablement aux premiers signes cliniques du cancer, d'une manifestation non liée à un processus métastatique et dont l'évolution est parallèle au cancer, et dont les symptômes régressent avec le traitement efficace du cancer sous-jacent (Graus, Delattre et al. 2004, Antoine and Camdessanche 2017). Ils concernent un cas pour 10000 cancers et surviennent le plus souvent au cours des cancers pulmonaires à petites cellules, mais peuvent se voir dans d'autres néoplasies (Rosenfeld and Dalmau 2018). La physiopathologie est basée sur une réponse immunitaire ciblant des antigènes « onco-neuronaux » (épitopes partagés par des cellules tumorales et des cellules normales du système nerveux). Bien que de nombreux anticorps onco-neuronaux de valeur diagnostique aient été découverts (anti-Hu, anti-Yo, anti-CV2, anti-Ri, anti-Ma2, anti-amphiphysin), le désordre est souvent induit par une réponse cytotoxique des cellules T. L'hétérogénéité des tableaux cliniques des syndromes paranéoplasiques reflète la distribution des antigènes onco-neuronaux dans le système nerveux (Chan and Baehring 2019). S'il existe des syndromes paranéoplasiques extra-neurologiques,

plusieurs tableaux concernent une atteinte du SNC (notamment l'encéphalite limbique, la dégénérescence cérébelleuse subaiguë, l'opsoclonus-myoclonus) ou du SNP. Concernant le SNP, les manifestations peuvent se présenter comme une polyneuropathie (motrice, sensitive ou sensitivomotrice) ou être focales/multifocales (plexopathies, multinévrites). Le tableau le plus courant est le syndrome de Denis-Brown (ou neuropathie sensitive subaiguë), en général dans le cadre d'un carcinome pulmonaire à petites cellules en rapport avec l'anticorps anti-Hu (Chan and Baehring 2019), qui se manifeste par des douleurs, des paresthésies, des dysesthésies à type de brûlures et un engourdissement des extrémités des quatre membres, asymétrique, d'évolution ascendante, avec une atteinte dominante de la sensibilité proprioceptive (Bouche, Léger et al. 2003). D'autres atteintes du SNP sont décrites telles que la pseudo-obstruction intestinale chronique, la neuropathie sensitivomotrice distale et symétrique, la polyradiculoneuropathie, et les neuropathies autonomes pures (Leypoldt and Wandinger 2014). Enfin, des vascularites paranéoplasiques ont été rapportées, donnant des tableaux de neuropathie sensitivomotrice douloureuse symétrique ou asymétrique (Rosenfeld and Dalmau 2018).

- Neuropathies et hémopathies : si l'atteinte du SNP est relativement rare dans les leucémies (aigües et chroniques), la survenue d'une NP en rapport avec un lymphome est plus répandue et est de diagnostic particulièrement difficile du fait de l'hétérogénéité des présentations cliniques et des multiples étiologies possibles qui peuvent d'ailleurs se chevaucher. Il existe quatre catégories d'atteinte du SNP : l'infiltration des nerfs (ou neurolymphomatose), les syndromes paranéoplasiques et neuropathies dysimmunitaires, les causes iatrogènes, et la sécrétion d'une immunoglobuline monoclonale (cf. paragraphe suivant). La neurolymphomatose peut être primitive (absence d'hémopathie connue) ou secondaire (évolution d'une hémopathie connue), le diagnostic est souvent difficile et nécessite un recours à la biopsie nerveuse avec une recherche de clonalité (Duchesne, Mathis et al. 2015, Duchesne, Roussellet et al. 2018). Les tableaux cliniques sont une polyneuropathie ou polyradiculopathie douloureuse, une atteinte des nerfs crâniens, une polyneuropathie non douloureuse ou une mononeuropathie (Baehring and Batchelor 2012).

- Neuropathies et dysglobulinémies : on distingue trois mécanismes de NP liées à une sécrétion anormale d'une immunoglobuline (Ig) monoclonale : les NP liées aux dépôts endoneuraux d'immunoglobuline ou de cryoglobuline (le plus souvent dans le cadre d'une IgM) réalisant des tableaux de multinévrite, la NP par dépôts amyloïdes (amylose AL), et les NP démyélinisantes dysimmunitaires liées à une activité propre à l'immunoglobuline (réactivité de l'immunoglobuline contre un composant du nerf périphérique). Dans ce dernier cas, le tableau le plus fréquent est la neuropathie démyélinisante liée à la production d'une IgM à activité anti-MAG (pour Myelin Associated-Glycoprotein). Il s'agit d'un tableau typique de neuropathie à prédominance sensitive, démyélinisante, distale, le plus souvent associé à la maladie de Waldenström (Chassande, Leger et al. 1998). Beaucoup plus rarement, certaines IgM possèdent une activité anti-sulfatide, ou anti-chondroïtine sulfate, ou encore anti-protéine du cytosquelette (Bouche, Léger et al. 2004). D'autres neuropathies médiées par des anticorps anti-glycolipides ont été rapportées associées aux lymphomes (Marfia, Pachatz et al. 2005, Stubgen 2015). Les maladies hématologiques présentant une dysglobulinémie à IgG ou IgA (myélome malin, plasmocytome solitaire, certains lymphomes non hodgkiniens, la leucémie lymphoïde chronique et les MGUS) peuvent également donner des NP. Concernant les MGUS, la NP survient dans environ 3% des cas, avec le plus souvent un tableau clinique similaire à une PIDC, même si des atteintes axonales ont également été décrites (Chaudhry, Mauermann et al. 2017).

1.3.5.2.6. Neuropathies et maladies systémiques

- Neuropathies des vascularites : les vascularites sont définies par l'inflammation et la destruction de la paroi des vaisseaux. Tous les vaisseaux peuvent être touchés, et ce sont des maladies qui sont soit systémiques soit localisées. L'atteinte du SNP correspond donc à une neuropathie ischémique (et non inflammatoire). On distingue les vascularites primitives (d'origine auto-immune) et les vascularites secondaires (cancer, médicaments, infections, toxiques, ...). L'installation clinique est en général rapide, et les tableaux les plus fréquemment rencontrés sont les mononévrites, les multinévrites, et plus rarement des polyneuropathies extensives ou encore polyneuropathies sensitivo-motrices distales. Tous les types de fibres peuvent être touchés, et on observe le plus souvent une atteinte sensitivo-motrice douloureuse (Bouche, Léger et al. 2003, Gwathmey, Burns et al. 2014).

- Maladies de système : certaines maladies systémiques auto-immunes peuvent donner une atteinte du SNC et du SNP. Le syndrome de Gougerot-Sjögren entraîne le plus souvent des neuropathies sensitives ou des polyneuropathies sensitivo-motrices de nature axonale touchant les fibres de petits et gros diamètres, mais il peut également se manifester par une mononévrite ou une multinévrite. L'atteinte du système nerveux autonome isolé est rare, bien qu'elle soit fréquente lorsqu'elle rentre dans le cadre du tableau de neuropathie sensitive (Bouche, Léger et al. 2004). En fait, on différencie principalement trois tableaux : la neuropathie sensitive pure, la polyneuropathie sensorimotrice axonale, et les autres types d'atteintes qui sont moins fréquentes. Les premiers symptômes de neuropathie précèdent souvent de plusieurs années le diagnostic de syndrome. Enfin, l'atteinte du SNC est également classiquement décrite (Bhattacharyya and Helfgott 2014). Les manifestations neurologiques du lupus érythémateux systémique concernent principalement le SNC (survenant dans 54%) et beaucoup plus rarement le SNP (dans 1% à 13%) (Bhattacharyya and Helfgott 2014). Parmi les patients atteints de neuropathie, les sous-types les plus courants sont la polyneuropathie (55%), la mononeuropathie périphérique (11%) et les neuropathies crâniennes (12%). La multinévrite est moins fréquente (estimée à 9%). Les nerfs crâniens touchés incluent III, V, VI et VII (Bhattacharyya and Helfgott 2014). Concernant la polyarthrite rhumatoïde, l'atteinte du SNP est le plus souvent due à une compression des troncs nerveux (secondaire aux déformations articulaires). Néanmoins, il a été rapporté sur 108 patients que 57% présentaient des signes électrophysiologiques de neuropathie, alors qu'environ 25% seulement présentaient des signes et/ou des symptômes de neuropathie à l'examen clinique. Il s'agit le plus souvent d'une neuropathie axonale (85%), principalement sensitive pure mais parfois sensorimotrice (Agarwal, Singh et al. 2008, Bhattacharyya and Helfgott 2014).

- Sarcoïdose : la sarcoïdose est une maladie inflammatoire multisystémique d'origine inconnue. Les poumons sont de loin le tissu le plus fréquemment touché, mais d'autres organes peuvent être impliqués, notamment la peau, les yeux, le foie et les ganglions lymphatiques. Les manifestations neurologiques de la sarcoïdose sont relativement rares. Les lésions hypothalamiques et hypophysaires sont fréquentes. En ce qui concerne le SNP, les nerfs crâniens sont principalement touchés, et la paralysie faciale (souvent bilatérale) est la manifestation neurologique la plus courante de la sarcoïdose (Said 2013). Beaucoup plus rarement, des polyneuropathies, des multinévrites, des neuropathies avec bloc de conduction et des neuropathies motrices pures ont été rapportées (Said 2013).

- Neuropathie amyloïde : il existe plusieurs types de neuropathies amyloïdes, selon qu'elles soient héréditaires ou acquises, et selon qu'elles soient systémiques ou isolées, dépendant de la protéine concernée. La neuropathie amyloïde acquise la plus fréquente est l'amylose à chaînes légères (amylose AL). Elle résulte d'une dyscrasie plasmocytaire dans laquelle les plasmocytes monoclonaux produisent des fragments de chaîne légère d'immunoglobuline (le plus souvent lambda) qui vont changer leur conformation et devenir amyloïde, entraînant leur insolubilité qui se traduit par la présence de dépôts dans les tissus. L'amylose AL est le plus souvent associée au myélome, aux gammopathies de signification indéterminée (MGUS pour monoclonal gammopathy of undetermined significance), et plus rarement aux lymphoproliférations monoclonales B. D'une manière générale, les manifestations cliniques neurologiques de l'amylose AL et de l'amylose par mutation de la TTR se chevauchent (**Figure 21**). Les patients décrivent généralement une neuropathie douloureuse, dépendante de la longueur, débutant au niveau des pieds, avec engourdissement, sensation de brûlure et allodynie, pouvant être particulièrement gênante la nuit. Classiquement, l'examen précoce peut ne montrer que des signes d'atteinte des petites fibres (réduction de la sensibilité à la piqûre), puis évoluer vers une atteinte des fibres sensibles de gros diamètre et une atteinte motrice, sensitive des grandes fibres sensorielles et des fibres nerveuses motrices. De plus, 65% des patients atteints d'amylose AL développent les symptômes d'une neuropathie autonome, affectant les systèmes cardiaque, gastro-intestinal et génito-urinaire (Kapoor, Rossor et al. 2018). La **Figure 21** résume les différentes atteintes dans l'amylose AL.

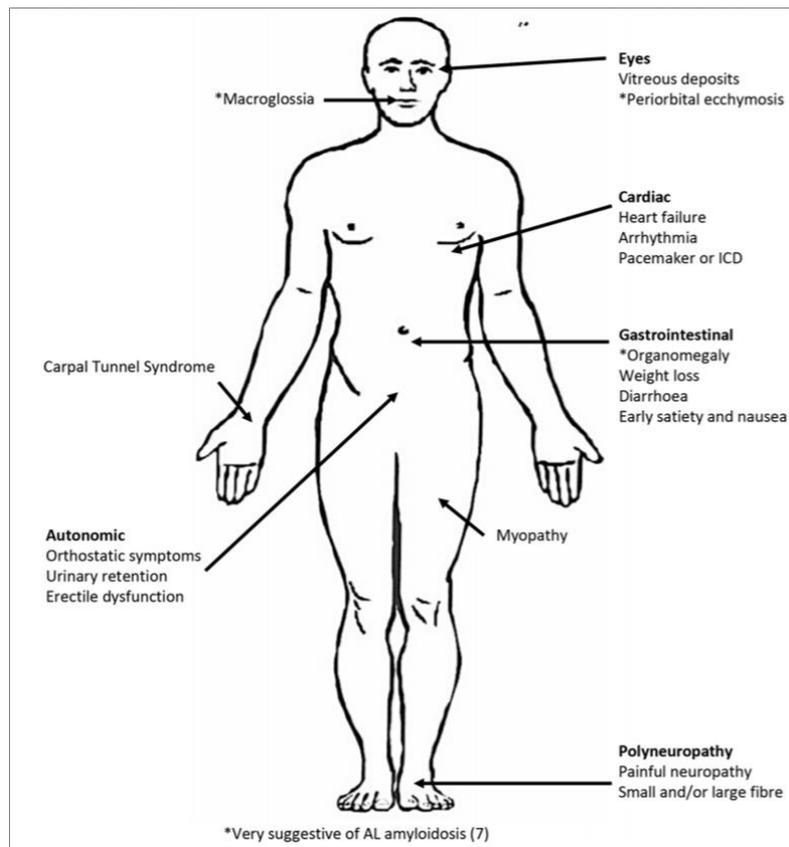


Figure 21. Principales atteintes dans l'amylose à chaînes légères (Kapoor, Rossor et al. 2018)

1.3.5.2.7. Neuropathies dysimmunes

- Polyradiculonévrites chroniques : on désigne sous le terme de PIDC un groupe d'affections que l'on pense être à médiation immunitaire. La prévalence de la PIDC est estimée entre 1/200 000 (enfants) et 1-7/100 000 (adultes). La PIDC peut se manifester à tout âge, mais est plus fréquente entre 40 et 60 ans. Les PIDC sont toutes, par définition, chroniquement progressives ou en rechute depuis plus de 8 semaines. Ils présentent des résultats électrophysiologiques et/ou pathologiques de démyélinisation segmentaire et répondent aux traitements anti-inflammatoires, immunomodulateurs ou immunosuppresseurs. La cause de la PIDC est inconnue, bien que des anomalies de l'immunité cellulaire et humorale aient été démontrées (Lewis 2017). Récemment, des auto-anticorps dirigés contre les régions nodales-paranodales (anticorps anti-contactin-1 et neurofascin-155) ont été mis en évidence et seraient pour certains cas de PIDC à l'origine de la maladie (Querol, Siles et al. 2017). On différencie ainsi les PIDC typiques, les PIDC atypiques ne répondant pas strictement aux critères clinico-biologico-électrophysiologiques : 1) manifestations cliniques chroniques (depuis minimum 2 mois) avec

évolution progressive, en escalier ou à rechute ; 2) faiblesses musculaires symétriques des membres supérieurs et/ou inférieurs associées à des troubles sensitifs ; 3) diminution ou une absence des réflexes tendineux ; 4) ralentissements ou blocs de conduction au niveau de plusieurs nerfs sur l'ENMG, associé si possible à une réponse aux immunoglobulines et à une hyperprotéïnorachie (Lewis 2017). Les douleurs neuropathiques ainsi que la dysautonomie ne sont pas classiques dans la PIDC (Dyck and Tracy 2018), bien que rapportés (Boukhris, Magy et al. 2007).

- Polyradiculonévrites aiguës : on désigne sous le terme de syndrome de Guillain-Barré l'installation rapide d'une paralysie symétrique des membres associée à une aréflexie ostéotendineuse avec signes sensitifs minimes et atteinte variable du système nerveux autonome. Actuellement et avec plus de recul, la douleur et l'atteinte du système nerveux autonome sont considérés comme des symptômes « classiquement » rencontrés dans ce syndrome. De même, en plus du processus démyélinisant longtemps été considéré comme le seul mécanisme dans ce syndrome, il est décrit aujourd'hui des formes axonales pures (Wijdicks and Klein 2017). Face à la multiplicité des tableaux cliniques qui ont émergé au cours du temps (Creange 2016), les critères diagnostiques ont fini par être revus à plusieurs reprises par souci d'homogénéisation. En 2011, une étude a publié des recommandations (Sejvar, Kohl et al. 2011) pour le diagnostic et la dénomination des différentes formes du syndrome. La pathogénie de la maladie est encore mal comprise. La maladie résulterait d'une réponse immunitaire aberrante à un élément déclencheur, le plus souvent viral. Il est classiquement décrit une association avec le *Campylobacter jejuni* mais également avec le cytomégalovirus, le virus Epstein-Barr, le virus de la grippe A, *Mycoplasma pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, et les virus des hépatites (A, B et E) (Wijdicks and Klein 2017).

1.3.5.2.8. Neuropathies toxiques et médicamenteuses

- Neuropathies toxiques : certaines agents chimiques et métaux lourds utilisés dans le milieu industriel ou agricole sont potentiellement neurotoxiques. Les neuropathies toxiques peuvent impliquer des fibres de petite taille ou de grande taille, ou les deux, et une atteinte du système nerveux autonome. En général, les fibres nerveuses sensorielles sont plus fréquemment atteintes mais parfois, un patient peut présenter une neuropathie motrice prédominante (Karam and Dyck

2015). Le monomère d'acrylamide est un agent industriel utilisé dans la fabrication du papier, de la peinture, de divers textiles, de cosmétiques ou encore dans l'industrie pétrolière. Présenté sous la forme d'une poudre blanche, il est surtout toxique lorsqu'il se produit une exposition cutanée, entraînant une neuropathie sensorimotrice axonale longueur-dépendante régressive après arrêt de l'intoxication (Bouche, Léger et al. 2004). Le chlorure d'allyle (pesticides), le bisulfate de carbone (fongicides, insecticides, production de fibres de viscose et de films de cellophane), le diméthylaminopropionitrile (agent catalyseur fabriqué dans la fabrication de mousse de polyuréthane), l'oxyde d'éthylène (synthèse de réfrigérant et d'antigel dans l'industrie automobile, agent stérilisant), les hexacarbonés (solvants industriels), l'acide dichlorophénoxyacétique (herbicide), le bromure de méthyle (insecticides), le tétrachlorobiphényle (agents plastifiants, isolants électriques) et les organophosphorés (insecticides, herbicides) peuvent induire une NP. Une étude récente résume l'ensemble des atteintes secondaires aux toxiques (Karam and Dyck 2015).

- Neuropathies et métaux lourds : l'exposition à des métaux lourds tels que le plomb, l'arsenic, le mercure ou le thallium constitue un risque de développer une NP.

- Neuropathies médicamenteuses : les traitements utilisés en cancérologie, en infectiologie (comme les antirétroviraux du VIH) peuvent présenter une toxicité vis-à-vis du SNP. Les neuropathies toxiques causées par des agents chimiothérapeutiques demeurent une préoccupation importante pour les patients atteints de cancer, car la neuropathie est souvent une complication limitant la dose du traitement. La chimiothérapie est non seulement la principale cause de neuropathies toxiques, mais elle est parfois inévitable, la poursuite du traitement étant nécessaire pour le patient. En outre, le cancer lui-même peut provoquer une neuropathie paranéoplasique, rendant les nerfs plus sensibles à la neurotoxicité induite par la chimiothérapie (Karam and Dyck 2015). Les chimiothérapies les plus neurotoxiques pour le SNP sont : le thalidomide (neuropathie survenant chez plus de 80% des patients), les vinca-alcaloïdes (vincristine, vinblastine, vinflunine, et vinorelbine), les taxanes (paclitaxel, docetaxel, et cabazitaxel), les sels de platine (cisplatine, carboplatine, et oxaliplatine), le bortezomib (inhibiteur du protéasome). Les anti-infectieux les plus neurotoxiques sont : les fluoroquinolones, le linézolide, le chloramphénicol, le dapsonne, le métronidazole, les

nitrofuranes, l'éthambutol, les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse, l'isoniazide et la chloroquine. Les traitements cardioprotecteurs connus pour leur neurotoxicité sont : l'amiodarone, le procainamide, l'hydralazine, la perhexiline et les statines. Enfin, d'autres médicaments possèdent également un pouvoir neurotoxique pour le SNP tels que la colchicine, le disulfiram, les phénytoïnes, le lithium, la pyridoxine et les sels d'or (Karam and Dyck 2015).

- Neuropathies post-radiques : différents tableaux cliniques peuvent se voir, et cela quel que soit le type de radiothérapie effectuée. On distingue les plexopathies brachiales (les plus fréquentes), les plexopathies lombosacrées, les neuropathies motrices pures (membres inférieurs), les neuropathies tronculaires des membres, les atteintes des nerfs crâniens et enfin les tumeurs post-radiques (complications extrêmement rare) (Bouche, Léger et al. 2003).

I.3.6. LE SYNDROME POEMS

I.3.6.1. DEFINITION

Le syndrome POEMS est une affection multisystémique paranéoplasique rare. L'acronyme POEMS, proposé en 1980 par Bardwick (Bardwick, Zvaifler et al. 1980) signifie : P pour polyneuropathie, O pour organomégalie, E pour endocrinopathie, M pour gammopathie monoclonale et S pour anomalies cutanées (skin change en anglais). Sa fréquence serait plus importante au Japon, où il est également nommé syndrome de Crow-Fukase du fait de sa description en 1956 par Crow (Crow 1956). La prévalence est, au Japon, de 0,3 pour 100000 habitants.

I.3.6.2. HISTORIQUE

La première description du syndrome POEMS date de 1938, par l'Allemand L. Scheinker (Scheinker 1938) dans le cadre d'une autopsie d'un patient qui présentait un plasmocytome solitaire associé à une polyneuropathie et des anomalies cutanées. En 1956, R. Crow a établi un lien entre la survenue d'une dyscrasie plasmocytaire et d'une polyneuropathie à partir de la description de deux patients qui, en plus de lésions de myélome ostéosclérotique et d'une

neuropathie, présentaient des symptômes à type de mélanodermie, d'hippocratisme digital et d'œdèmes des chevilles (Crow 1956). Puis, du fait de la sur-incidence d'une polyneuropathie associée au myélome, plusieurs auteurs ont suggéré l'existence d'un syndrome distinct du myélome multiple « isolé », et c'est en 1970 qu'a été abordée l'association de manifestations systémiques associées à la neuropathie dans le contexte de lésions ostéosclérotiques (Iwashita, Ohnishi et al. 1977). L'acronyme POEMS apparaît finalement en 1980 (Bardwick, Zvaifler et al. 1980).

I.3.6.3. PHYSIOPATHOLOGIE DU SYNDROME POEMS

La pathogénie du syndrome POEMS reste encore non élucidée. Son association aux lymphoproliférations et son éventuelle disparition après traitement radical d'un plasmocytome font évoquer l'hypothèse d'un phénomène paranéoplasique médié par un agent produit par des plasmocytes anormaux. De façon schématique, la physiopathologie du POEMS est associée à une production excessive de Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), facteur de croissance de l'endothélium vasculaire, par les plasmocytes dans un contexte de gammopathie monoclonale. Le VEGF est connu pour cibler les cellules endothéliales, induire une augmentation rapide et réversible de la perméabilité vasculaire, et jouer un rôle dans l'angiogenèse (Dispenzieri 2017, Dispenzieri 2019).

A ce jour, le VEGF est la cytokine la plus corrélée à l'activité de la maladie. Cependant, d'après les résultats mitigés du traitement par anti-VEGF, cette cytokine ne semble pas être le seul facteur impliqué dans cette maladie (Kanai, Kuwabara et al. 2007, Sekiguchi, Misawa et al. 2013). Le VEGF est exprimé dans pratiquement tous les tissus chez l'adulte. En effet, le VEGF est fortement exprimé au stade embryologique et est essentiel au bon développement des vaisseaux sanguins. Son expression est également importante chez l'adulte pour la médiation de l'angiogenèse physiologique au cours du cycle de reproduction de la femme dans l'utérus, les ovaires et le sein, pour la cicatrisation des plaies, la réparation muscle squelettique en réponse à l'exercice. Le VEGF est impliqué régulé et positivement dans des processus physiopathologiques tels que la polyarthrite rhumatoïde, le psoriasis, l'athérosclérose, la sclérose latérale amyloïde (SLA), la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), la rétinopathie diabétique, la rétinopathie de la prématurité, les septicémies et les processus tumoraux. Il est intéressant de constater que certains organes tels que la rétine, le cerveau et les

testicules ont un système vasculaire, caractérisé par une fonction de barrière (barrière hémato-rétinienne, barrière hémato-encéphalique, barrière hémato-testiculaire), qui exprime relativement peu le VEGF. Il est donc possible que l'expression faible du VEGF contribue à l'imperméabilité de ces vaisseaux. De plus, les organes où le VEGF est le plus exprimé sont des tissus ayant une microcirculation fenestrée, avec des fonctions de sécrétion et/ou de filtration, comme par exemple le glomérule (filtrat de l'urine), les plexus choroïdes (production de liquide céphalo-rachidien), le pancréas (sécrétions exocrines et endocriniennes) et le foie (filtration et sécrétion). Le VEGF aurait donc un rôle dans la survie et le maintien de l'état fenestré des cellules endothéliales. Bien que les cellules endothéliales soient la cible principale du VEGF, elles n'expriment généralement pas le VEGF (Maharaj and D'Amore 2007). Le VEGF se lie à VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, Nrp-1 et Nrp-2, mais son principal récepteur de signalisation dans l'endothélium est VEGFR2, qui appartient à la famille des récepteurs tyrosine kinases.

Ainsi, outre son rôle dans la « stabilité vasculaire », le VEGF peut agir sur d'autres types de cellules en fonction de la présence de ses récepteurs sur ces cellules. De ce fait, il a été démontré l'action du VEGF sur les monocytes et les macrophages, les mastocytes, les polynucléaires éosinophiles, les cellules dendritiques, les mégacaryocytes, les lymphocytes, les cellules souches hématopoïétiques et les cellules circulantes dérivées de la moelle osseuse, les cellules épithéliales alvéolaires pulmonaires de type II et l'épithélium cristallinien. Le VEGF aurait un rôle dans la survie des cellules souches hématopoïétiques, des cellules neuronales, des cellules souches neuronales et des lymphocytes ; dans la différenciation des mégacaryocytes et des cellules dendritiques ; et dans la mobilisation de cellules précurseurs de la moelle osseuse. En plus de ses effets directs sur les cellules endothéliales au cours de l'angiogenèse, le VEGF influence également l'angiogenèse via le recrutement de précurseurs des cellules endothéliales de la moelle osseuse et de cellules inflammatoires (Maharaj and D'Amore 2007).

I.3.6.4. MANIFESTATIONS CLINIQUES ET BIOLOGIQUES

Le syndrome POEMS se caractérise par une atteinte systémique. Les manifestations cliniques et biologiques rencontrées sont (Bouche, Léger et al. 2004, Brown and Ginsberg 2019) :

- *Polyneuropathie* (cf. paragraphe suivant).

- *Dyscrasie plasmocytaire* (prolifération, lymphoplasmocytaire monoclonale) : il s'agit presque toujours d'une IgA ou d'une IgG avec chaîne légère lambda (bien que des cas de chaîne légère kappa aient été rapportés). La paraprotéine peut être identifiée par électrophorèse et / ou immunofixation de protéines sériques chez la plupart des patients, bien que certains patients ne possèdent pas de paraprotéine détectable (ces patients nécessitent des recherches plus approfondies pour mettre en évidence un clone plasmocytaire).

- *Une élévation du taux sérique de VEGF* : il est classiquement décrit que le seuil de significativité est de 500 pg/mL, d'autres études suggèrent un taux plasmatique de 200 pg/ml (spécificité 95% ; sensibilité 68%) (D'Souza, Hayman et al. 2011) et sérique de 1920 pg/ml (spécificité 98% ; sensibilité 73%) (Wang, Zhou et al. 2014). Une étude considère le seuil de 771 pg/mL comme «élevé» et un seuil supérieur à 1000 pg/mL comme «très élevé» (Pihan, Keddie et al. 2018), et une autre étude récente estime le seuil de positivité à 1000 pg/mL (Suichi, Misawa et al. 2019). Les taux sériques de VEGF reflètent l'activité de la maladie, diminuant avec le traitement et augmentant avec l'évolution de la maladie ou la rechute (Misawa, Sato et al. 2015). L'élévation du taux sérique du propeptide N-terminal du collagène de type I a été démontré comme étant un facteur diagnostique et pronostique intéressant car corrélé à la clinique et au taux de VEGF (Wang, Zhou et al. 2014)

- *Lésions osseuses* : fréquentes, elles sont ostéosclérotiques et/ou ostéolytiques, et sont le siège de la prolifération plasmocytaire. Les lésions se trouvent couramment dans le bassin, les vertèbres thoraciques et lombaires, les côtes, ainsi que dans l'omoplate, la clavicule, le sternum, le crâne et les os longs.

- *Endocrinopathie* : unique ou multiple, elle survient dans 84% des cas. Les signes endocriniens les plus fréquents sont en rapport avec un hypogonadisme (79% des hommes). Les autres atteintes qui peuvent survenir sont une dysthyroïdie, trouble du métabolisme calcique, intolérance au glucose, diabète, hyperprolactinémie, et moins fréquemment une insuffisance surrénalienne. Compte tenu de leurs incidences respectives élevées dans la population adulte générale, le diabète et les dysthyroïdies ne constituent pas une preuve suffisante d'endocrinopathie.

- *Syndrome œdémateux* : il intéresse le plus souvent les membres inférieurs mais peut être plus diffus réalisant un tableau d'anasarque avec ascite, épanchement pleural et parfois péricardique.

- *Maladie de Castleman* : Il s'agit d'une pathologie lymphoproliférative rare, pouvant survenir à tout âge, et se manifestant sous différentes formes, de la simple adénopathie asymptomatique à l'atteinte systémique comportant une multitude de symptômes. La maladie de Castleman et le syndrome POEMS sont fréquemment associés, et approximativement 15 à 25% des patients souffrant de syndrome POEMS présentent une maladie de Castleman. Néanmoins, cette proportion semble sous-estimée car de nombreux patients ne bénéficient pas d'une biopsie ganglionnaire. La maladie de Castleman "systémique" avec et sans neuropathie périphérique sont deux entités différentes, puisque les patients présentant une neuropathie périphérique sont plus susceptibles d'avoir un syndrome œdémateux, mais aussi une protéine monoclonale d'isotype lambda sanguine et / ou urinaire. Ces patients arborent le plus souvent une neuropathie périphérique sensitive, ont des taux sanguins de VEGF et d'IL-6 élevés, et un risque plus élevé de thrombocytose.

- *Organomégalie* : présente dans la moitié des cas, elle inclut une hépatomégalie, une splénomégalie, une lymphadénopathie et parfois une cardiomégalie

- *Signes cutanés* : rapportés chez 90 à 100% des patients, ils comprennent : une hyperpigmentation, des hémangiomes, un épaissement sclérodermiforme de la peau, une hypertrichose, une lipoatrophie faciale acquise avec fonte de la boule de Bichat, et un *livedo reticularis* avec nécrose. De plus, on observe également des atteintes cutanées de type vasculaires telles qu'une acrocyanose, des bouffées de chaleur, un rubor, une hyperémie et un phénomène de Raynaud. Des modifications des ongles sont aussi rapportées comme la leuconychie ainsi qu'un hippocratisme digital.

- *Œdème papillaire*

- *Thrombocytose*

- *Amaigrissement*

- *Atteinte rénale*

- *Hypertension pulmonaire* : secondaire à des lésions de microangiopathie thrombotique inflammatoire

- *Accidents thrombotiques artériels et veineux*

- *Atteinte du système nerveux central* : plus rarement, il a été rapporté un épaississement pachyméningé avec prolifération des cellules méningothéliales et modifications vasculaires (néovascularisation et un rétrécissement ou une occlusion des artérioles par épaississement de la média et hyperplasie endothéliale).

I.3.6.5. NEUROPATHIE PERIPHERIQUE DANS LE SYNDROME POEMS

I.3.6.5.1. Clinique

Il s'agit d'une neuropathie sévère sensitivomotrice à prédominance distale. Elle débute par des troubles sensitifs des extrémités (paresthésies et douleurs des pieds et des mains) avec perte de sensibilité à tous les modes en chaussettes et en gants. Le déficit moteur survient dans un second temps, débutant au niveau des pieds et des mains et s'étendant ensuite vers les muscles proximaux de manière subaiguë ou progressive. La moitié des patients deviennent non ambulatoires. Les paires crâniennes, quant à elles, sont rarement touchées (Brown and Ginsberg 2019). La polyneuropathie serait moins grave lorsqu'il existe une maladie de Castleman associée (Naddaf, Dispenzieri et al. 2016).

I.3.6.5.2. Examens complémentaires

La ponction lombaire met en évidence une dissociation albumino-cytologique et peut trouver une IgG monoclonale. Enfin, une hyperprotéinorachie est souvent retrouvée, de façon modérée (1-2g/L) (Sekiguchi, Misawa et al. 2013).

L'ENMG démontre une neuropathie sensorimotrice longueur-dépendante typiquement démyélinisante, mais avec dégénérescence axonale. Les blocs de conduction ne sont généralement pas présents. La réduction de la vitesse de conduction motrice est un signe précoce, mais les patients présentent souvent déjà une perte axonale significative au moment de l'examen. Enfin, une réduction voire une absence, des potentiels d'action sensitifs est classiquement observée.

1.3.6.5.3. Neuropathologie

La biopsie de nerf met en évidence une importante atteinte axonale associée à une démyélinisation primitive, ainsi qu'une augmentation du nombre de vaisseaux sanguins dans l'endonèvre (Piccione, Engelstad et al. 2016).

En microscopie électronique, certaines altérations sont fréquemment retrouvées, dont certaines sont plus ou moins spécifiques. En effet, bien que non pathognomonique, la présence de lamelles de myéline non compactées régulières dans plus de 1% des fibres nerveuses myélinisées est considérée comme hautement spécifique du syndrome de POEMS (Brown and Ginsberg 2019). En fait, les différentes couches de myéline ne sont plus agencées normalement et sont séparées les unes des autres. Il s'agit de fragments du mésaxone qui ne sont ni aplatis, ni compactés. Des fragments de cytoplasme sont fréquemment visibles entre certaines de ces lamelles. En revanche, il n'est jamais observé de lésions de démyélinisation secondaires à l'invasion de la fibre nerveuse par un macrophage. Par ailleurs, d'autres anomalies sont observées, communes avec d'autres types de gammopathies monoclonales, tels que des dépôts d'immunoglobulines dans l'endonèvre (peu fréquents mais possibles, ils ont été rapportés dans certains cas) ou encore des dépôts amyloïdes dans l'endonèvre (habituellement absents dans le syndrome POEMS, ils sont rapportés dans les gammopathies monoclonales de signification indéterminée (MGUS), le myélome multiple et dans la maladie de Waldenström) (Bouche, Léger et al. 2004).

Plus récemment, l'atteinte des fibres nerveuses intra-épidermique a été étudiée, mettant en évidence une réduction de ces fibres dans la biopsie cutanée. Le nombre de fibres amyéliniques étant bien préservé au niveau de la biopsie du nerf sural, cette réduction sévère indique une atteinte périphérique de ces petites fibres (Ohyama, Koike et al. 2016).

1.3.6.5.4. Physiopathologie

Le mécanisme physiopathologique de la perte en petites fibres reste encore non élucidé, et pourrait être expliqué par un dysfonctionnement des canaux sodiques et potassiques présents au niveau des nœuds de Ranvier, ainsi que par l'élévation du VEGF et de certaines cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF- α ...) (Koike, Iijima et al. 2008).

L'atteinte neurologique serait secondaire à l'élévation du VEGF, via une altération de la barrière sang-nerf et un trouble de perméabilité microvasculaire. Il a été démontré un lien entre le taux sérique de VEGF et son expression sur le nerf au niveau de l'endothélium vasculaire, mais également des cellules de Schwann non myélinisantes. L'élévation du VEGF était également corrélée à l'importance de la prolifération et de l'hypertrophie des cellules endothéliales des vaisseaux de l'endonevre, conduisant à leur occlusion et ainsi à l'aggravation neurologique (Scarlato, Previtali et al. 2005). Il est plausible que, au-delà d'un certain seuil d'occlusion vasculaire, l'hypoxie induite provoque un "emballement" de la production de VEGF et contribue localement à l'exacerbation de l'œdème endoneural et à l'aggravation rapide des lésions neurologiques. Enfin, d'autres mécanismes entrent en jeu dans cette atteinte neuropathique : le VEGF favorise en effet la libération de certaines métalloprotéinases MMP-1, -2, -3, -9 (Michizono, Umehara et al. 2001), dont l'implication directe a été démontrée dans la démyélinisation survenant sur des modèles expérimentaux de polyradiculonévrite aiguë et évoquée au cours de polyneuropathies démyélinisantes chroniques (Leppert, Hughes et al. 1999).

I.3.6.6. CRITERES DIAGNOSTIQUES

Le diagnostic du syndrome POEMS reste complexe. Trois points importants sont à noter : (1) toutes les caractéristiques inhérentes à l'acronyme ne sont pas obligatoirement nécessaires au diagnostic; (2) d'autres manifestations importantes ne sont pas incluses dans l'acronyme (telles que l'œdème papillaire, le syndrome œdémateux, les lésions ostéosclérotiques, la thrombocytose / polycythémie, l'augmentation du taux de VEGF sanguin, les EFR anormales); (3) le variant Castleman du syndrome POEMS peut être associé à une prolifération médullaire clonale. Actuellement, le diagnostic repose sur la présence de trois critères majeurs, parmi lesquels doivent obligatoirement figurer la polyneuropathie et la gammopathie monoclonale, et au moins un des critères mineurs (**Figure 22**) (Dispenzieri 2017).

Table 1 Diagnostic criteria
Mandatory criteria
Polyneuropathy
Monoclonal plasmaproliferative disorder
Other major criteria
Sclerotic bone lesions
Castleman's disease
Elevated VEGF
Minor criteria
Organomegaly
Oedema
Endocrinopathy
Skin changes
Papilloedema
Thrombocytosis/Polycythaemia
Other symptoms and signs
Clubbing
Weight loss
Hyperhidrosis
Pulmonary hypertension
Restrictive lung disease
Thrombotic diathesis
Low vitamin B12 level
Diarrhoea

Figure 22. Critères diagnostiques du syndrome POEMS (Brown and Ginsberg 2019)

I.4. LA NEUROPATHIE DES PETITES FIBRES

I.4.1. DEFINITION ET EPIDEMIOLOGIE

Bien que de nombreuses neuropathies présentent une atteinte mixte affectant les petites et grandes fibres, le terme neuropathie des petites fibres (NPF) désigne un groupe de neuropathies caractérisé par une déficience sélective ou prédominante de fibres A δ afférentes, périphériques, légèrement myélinisées et de fibres C non myélinisées (Themistocleous, Ramirez et al. 2014). Une maladie ou une lésion du système nerveux périphérique affectant les petites fibres est classiquement appelée NPF. Cependant, il n'y a pas de norme de référence pour le diagnostic de la NPF. D'un point de vue neuropathologique, la NPF se caractérise le plus souvent par une dégénérescence des extrémités des petites fibres nerveuses, mais peut également être liée à un problème d'excitabilité sans dégénérescence (Terkelsen, Karlsson et al. 2017).

Si l'incidence de la NPF était considérée comme faible, une étude épidémiologique menée aux Pays-Bas a révélé une incidence de 12 cas par 100 000 habitants par an et une prévalence de 53 cas par 100 000 (Peters, Bakkers et al. 2013). Une étude française retrouvait quant à elle une prévalence de 7% dans la population générale (Bouhassira, Lanteri-Minet et al. 2008).

Concernant les étiologies, on peut définir actuellement quatre grandes catégories : NPF acquises, NPF héréditaires, NPF syndromiques et NPF idiopathiques (Cazzato and Lauria 2017).

I.4.2. ETIOLOGIES

I.4.2.1. ACQUISES

Parmi les NPF acquises, le diabète et l'intolérance au glucose sont de loin les principales causes représentant de 20% à 30% des NPF concernant le diabète (Devigili, Tugnoli et al. 2008, Petropoulos, Alam et al. 2013). D'autres désordres métaboliques tels que l'hypertriglycéridémie, l'hypothyroïdie, l'urémie chronique, et les carences en folates et vitamine B12 peuvent également entraîner une NPF (Cazzato and Lauria 2017, Terkelsen, Karlsson et al. 2017). Certaines infections sont également pourvoyeuses d'une NPF telles que

le VIH, l'hépatite C, la lèpre, la grippe ou la maladie de Chagas, tout comme certaines substances neurotoxiques comme par exemple l'alcool, le Metronidazole, les statines, les nitrofuranes, le linezolide, les anti-TNF, les antirétroviraux, la pyridoxine ou encore certaines chimiothérapies anti-cancéreuses (Timmins, Li et al. 2019). Certains hydrocarbures ont même été mis en cause dans des NPF acquises réversibles tels que le N-hexane (Guimaraes-Costa, Schoindre et al. 2018). Enfin, il existe des maladies dysimmunes qui sont associées à la NPF telles que le syndrome de Gougerot-Sjögren, la maladie cœliaque, la sarcoïdose, la sclérodermie, le lupus érythémateux systémique, les maladies inflammatoires chroniques intestinales, certains syndromes paranéoplasiques, certaines vascularites, l'amylose AL ou encore certaines gammopathies monoclonales (Cazzato and Lauria 2017, Terkelsen, Karlsson et al. 2017).

I.4.2.2. HEREDITAIRES

- *Mutations des gènes des canaux sodiques voltage-dépendants (SCN9A, SCN10A et SCN11A) :* la première mutation identifiée fut un gain de fonction dans le gène *SCN9A* (gène qui code pour la sous-unité Nav1.7 α) (Faber, Hoeijmakers et al. 2012), puis d'autres cas présentant des mutations gain de fonction dans les gènes *SCN10A* et *SCN11A* (codant pour les sous-unités Nav1.8 α et Nav1.9 α respectivement) ont été rapportés (Faber, Lauria et al. 2012, Huang, Han et al. 2014). Cliniquement, le tableau le plus typique de la NPF par mutation des canaux sodiques se caractérise par des pieds « brûlants » pouvant débuter de l'enfance à l'âge adulte. Cependant, différents phénotypes ont été décrits, pouvant être en rapport avec une même mutation (Cazzato and Lauria 2017). Par exemple, des mutations de type gain de fonction du gène *SCN9A* ont été décrits dans trois tableaux douloureux chez l'homme : l'érythromélgie héréditaire, le syndrome de douleur extrême paroxystique et la NPF, alors qu'une insensibilité congénitale à la douleur est plutôt associée à la perte de fonction autosomique récessive du gène *SCN9A* (Dib-Hajj and Waxman 2019).

Plus récemment, des recommandations et une identification des associations phénotype-génotype ont été publiées afin de mieux déceler et identifier ces pathologies. En effet, il est important de discriminer les mutations provoquant la maladie des mutations contribuant à la maladie et des mutations de signification incertaine (Waxman, Merkies et al. 2014). D'une manière générale, ces mutations entraîneraient une modification de l'excitabilité membranaire

et des propriétés biophysiques des canaux sodiques transmembranaires situés sur les fibres impliquées dans le message douloureux (Dib-Hajj, Cummins et al. 2010). Cette altération du fonctionnement de l'échangeur sodium-calcium, aboutit par différentes voies à une augmentation des concentrations de calcium intracellulaire, et serait de cette manière l'un des mécanismes sous-jacents de la dégénérescence liée aux canaux sodiques de petites fibres nerveuses (Estacion, Vohra et al. 2015, Rolyan, Liu et al. 2016). Certaines mutations altèrent la fonction des canaux sodiques dans les neurones autonomes sympathiques, expliquant la dysautonomie associée aux douleurs neuropathiques chez les patients atteints de NPF (Terkelsen, Karlsson et al. 2017).

- *La polyneuropathie amyloïde familiale par mutation de la TTR* (Cf. chapitre I.3.4.1)

- *Les neuropathies sensitives et dysautonomiques héréditaires (HSAN pour Hereditary Sensitive and Autonomic Neuropathies)* (Cf. chapitre I.3.4.1)

- *La maladie de Fabry* : il s'agit d'une maladie progressive multisystémique de surcharge lysosomale héréditaire liée à l'X touchant une naissance sur 40000 (Ishii, Kase et al. 1993), caractérisée par des symptômes neurologiques, dermatologiques, rénaux, cardiovasculaires, cochléo-vestibulaires et cérébro-vasculaires. Les douleurs neuropathiques sont l'une des caractéristiques principales du phénotype classique de la maladie, commençant en moyenne à l'âge de 9 ans chez les hommes et à 16 ans chez les femmes (Mehta, Ricci et al. 2004). Deux types de douleur coexistent : des douleurs chroniques aux mains et aux pieds et des crises douloureuses épisodiques, également appelées « crises de Fabry ». La physiopathologie de la douleur est encore mal comprise, mais plusieurs hypothèses sont émises dont voici les deux principales : la NPF résulterait de l'accumulation de glycolipides dans les ganglions de la racine dorsale ou dans les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins alimentant les fibres nerveuses ; la lysoGb3 (globotriaosylsphingosine), une molécule désacylée de Gb3, exercerait un effet pathologique direct sur les ganglions ou les axones des fibres A δ (Schuller, Linthorst et al. 2016). Il est d'ailleurs décrit une réduction de la densité des fibres nerveuses intra-épidermiques (Liguori, Incensi et al. 2017).

- *Mutation de COL6A5* : des mutations du gène *COL6A5* ont été décrites chez des patients dans des contextes familiaux et sporadiques présentant un prurit neurogène avec réduction de la densité des fibres nerveuses intra-épidermiques (Martinelli-Boneschi, Colombi et al. 2017).

I.4.2.3. SYNDROMIQUES

Il s'agit de syndromes connus pour lesquels une atteinte des petites fibres a été mise en évidence par différents moyens diagnostiques, alors que la présentation clinique n'était pas classique. Les NPF dites syndromiques se rencontrent dans les pathologies suivantes : la fibromyalgie, le syndrome de Ehlers-Danlos, la maladie de Parkinson, la sclérose latérale amyotrophique et la maladie de Pompe (Cazzato and Lauria 2017).

I.4.2.4. IDIOPATHIQUES

Le diagnostic de NPF idiopathique est posé lorsqu'aucune cause évidente n'est apparue après le bilan diagnostique exhaustif. Cela correspond à environ 31% des cas de NPF pures (Devigili, Tugnoli et al. 2008, Cazzato and Lauria 2017).

I.4.3. SYMPTOMATOLOGIE DE L'ATTEINTE DES PETITES FIBRES

I.4.3.1. DOULEURS NEUROPATHIQUES

I.4.3.1.1. Définition et symptômes

Selon l'IASP (International Association for the Study of Pain), la douleur est « une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable associée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle, ou décrite dans ces termes ». La perception de la douleur, ou nociception, repose sur des récepteurs (appelés nocicepteurs), des voies neurologiques spécifiques et une interprétation de cette douleur (de la réalité objective d'un stimulus à la répercussion subjective).

La douleur neuropathique est une « douleur survenant comme une conséquence directe d'une lésion ou d'une maladie affectant le système somato-sensitif » (Treede, Jensen et al. 2008) et peut être d'origine périphérique ou centrale (accident vasculaire cérébral, sclérose en plaques, lésions de la moelle spinale par exemple). Ce sont des douleurs chroniques qui, contrairement aux douleurs nociceptives, n'entraînent aucun bénéfice, et ont plutôt tendance à nuire au patient (invalidité, symptômes dépressifs secondaires). La prévalence serait de 6,9% à 10% dans la population générale (van Hecke, Austin et al. 2014).

Toute atteinte d'un des intermédiaires de la transmission du message nociceptif peut entraîner des douleurs neuropathiques : l'atteinte des « petites fibres » serait donc à l'origine des neuropathies périphériques dites « douloureuses ».

La plupart du temps, il s'agit d'une atteinte longueur-dépendante en chaussettes ou en gants (Tesfaye, Boulton et al. 2010), mais des atteintes non-longueur-dépendantes multifocales asymétriques sont également rapportées (Khoshnoodi, Truelove et al. 2016). Ce sont des douleurs chroniques, décrites par le patient comme une sensation de « brûlure », de « piqûre », ou encore comme une « décharge électrique ». Elles se caractérisent par : des douleurs spontanées (continues ou paroxystiques), des douleurs provoquées (allodynie et hyperalgésie), mais aussi par des signes positifs tels que la dysesthésie et les paresthésies, ou encore par des signes négatifs (déficits sensoriels) témoignant de l'atteinte neurologique (**Tableau 1**). L'examen clinique à lui seul ne permet pas de déterminer l'étiologie d'une douleur neuropathique (Attal, Fermanian et al. 2008).

Tableau 1. Symptômes rencontrés au cours des douleurs neuropathiques

Symptômes positifs	
<i>Douleur spontanée</i>	Sensation douloureuse ressentie en l'absence de stimulus évident
<i>Allodynie</i>	Douleur due à un stimulus qui n'est pas normalement douloureux (toucher, mouvement, froid, chaleur...)
<i>Hyperalgésie</i>	Réponse accrue à un stimulus normalement douloureux (froid, chaleur, piqûre d'épingle...)
<i>Dysesthésie</i>	Sensation anormale désagréable, qu'elle soit spontanée ou évoquée (sensation lancinante...)
<i>Paresthésie</i>	Sensation anormale qui n'est pas désagréable, qu'elle soit spontanée ou évoquée (fourmillements, bourdonnement ou vibration)
Symptômes négatifs	
<i>Hypoesthésie</i>	Sensibilité moindre à la stimulation, à l'exception des sens spéciaux (toucher, douleur)
<i>Anesthésie</i>	Perte totale de sensation (sensibilité tactile)
<i>Hypoalgésie</i>	Douleur moindre en réponse à un stimulus normalement douloureux
<i>Analgesie</i>	Absence de douleur en réponse à une stimulation normalement douloureuse

D'après la Classification of Chronic Pain: Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definitions of Pain Terms, 2nd edition, Seattle : IASP Press, 1994, Merskey H. & Bogduk N (Pain 1994).

Le dépistage de ces douleurs neuropathiques se fait à l'aide de questionnaires, le plus utilisé en France étant le DN4 : le test est positif si le score est supérieur ou égal à 4 (**Figure 23**). Les autres questionnaires sont le Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs (LANSS), le Neuropathic Pain questionnaire (NPQ), le painDETECT, et le ID Pain (Bennett, Attal et al. 2007), ou encore le SFN-SIQ (Small fiber neuropathy - symptom inventory questionnaire) (Bakkers, Faber et al. 2014).

QUESTION 1 : la douleur présente-t-elle une ou plusieurs des caractéristiques suivantes ?		
	Oui	Non
1. Brûlure	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Sensation	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Décharges électriques	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

QUESTION 2 : la douleur est-elle associée dans la même région à un ou plusieurs des symptômes suivants ?		
	Oui	Non
4. Fourmillements	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Picotements	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Engourdissements	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Démangeaisons	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

QUESTION 3 : la douleur est-elle localisée dans un territoire où l'examen met en évidence :		
	Oui	Non
8. Hypoesthésie au tact	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Hypoesthésie à la piqure	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

QUESTION 4 : la douleur est-elle provoquée ou augmentée par :		
	Oui	Non
10. Le frottement	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

OUI = 1 point NON = 0 point Score du Patient : /10

Figure 23. Dépistage des douleurs neuropathiques : questionnaire DN4

D'après Bouhassira D, et al. Pain. 2005

1.4.3.1.2. Terminaisons nerveuses libres et douleur

Nous avons abordé dans le chapitre I.1.4.3.1 l'existence des nocicepteurs présents sur les fibres A δ et C tels que TRPV1. Il est décrit qu'une surexpression de TRPV1 peut donner lieu à des douleurs anormales par sensibilisation des neurones afférents (Lauria, Morbin et al. 2006, Facer, Casula et al. 2007). A l'inverse, il est également décrit qu'une sous-expression de ce même récepteur TRPV1 au niveau cutané peut entraîner des douleurs chroniques, ce qui est observé chez les patients diabétiques (Facer, Casula et al. 2007). D'une façon générale, la modulation de l'expression de ces nocicepteurs joue un rôle dans les douleurs neuropathiques, et il existe différentes façons de réguler cette expression en fonction du mécanisme lésionnel (Facer, Casula et al. 2007, Basso, Aboushousha et al. 2019). L'émergence d'agonistes et antagonistes de TRPV1 souligne le rôle, entre autres, de ce type de récepteur dans la genèse et le maintien des douleurs neuropathiques (Danigo, Magy et al. 2013, Leo, Schulte et al. 2017).

1.4.3.1.3. La complexité de la douleur

La douleur dans les neuropathies périphériques fait intervenir des mécanismes périphériques mais également des remaniements centraux secondaires, ce qui rend d'autant plus complexe la prise en charge de ces douleurs (North, Lazaro et al. 2018). Les mécanismes principaux reposent sur la genèse d'activités anormales ectopiques au sein des fibres nerveuses lésées, probablement secondaires à une redistribution de ces fibres ou encore à une hyperactivation des canaux sodiques membranaires (Xie, Strong et al. 2005). Il peut s'agir de lésions de l'axone, du soma ou de la gaine neurale pouvant résulter d'une grande variété de pathologies : traumatisme, compression, inflammation (stérile, infectieuse ou auto-immune), troubles métaboliques, carences nutritionnelles, irradiations, exposition à des neurotoxines, troubles vasculaires ou encore des anomalies génétiques (North, Lazaro et al. 2018).

D'autres mécanismes s'associent à ces phénomènes (Bouche, Léger et al. 2003) : la sensibilisation des nocicepteurs (activité spontanée, élévation du seuil d'activation, augmentation de leurs réponses aux stimuli) secondaire à l'inflammation (Dubner and Gold 1999, Dubner 2004, Sommer, Leinders et al. 2018) ; des modifications métaboliques au niveau des corps cellulaires dans les ganglions rachidiens (modification de la synthèse de substance P, CGRP, VIP, somatostatine, etc...) ; des changements phénotypiques comme un comportement de nocicepteurs par les fibres de gros diamètre ne véhiculant habituellement pas de message douloureux ; la présence d'éphapses (connexions artificielles réalisant des courts-circuits entre fibres de petit et gros diamètre) ; le rôle du système nerveux sympathique (rôle des catécholamines dans certains syndromes douloureux) (Sato and Perl 1991, Bossut and Perl 1995, Attal and Bouhassira 1999) ; ou encore l'activation des récepteurs des structures propres du nerf (*nervi-nervorum*) par des processus inflammatoires (Asbury and Fields 1984).

Enfin, des remaniements centraux peuvent se surajouter et entraîner une altération du traitement central des informations non nociceptives. On distingue la sensibilisation centrale de la douleur (qui correspond à un état d'hyperexcitabilité des neurones nociceptifs médullaires), le dysfonctionnement des mécanismes de modulation centrale de la douleur, la neuroplasticité médullaire observée à l'échelle histologique (modification de l'organisation topographique des terminaisons nerveuses), ou encore la neuroplasticité cérébrale observée en imagerie notamment dans le phénomène de douleurs fantômes (Bouche, Léger et al. 2003).

Enfin, nous avons remarqué au paragraphe I.4.3.1.1.1 que la dépression, l'anxiété et les troubles du sommeil accompagnent souvent les douleurs neuropathiques. Or la présence de ces troubles aggrave la perception de la douleur (Lerman, Rudich et al. 2015), à la manière d'un cercle vicieux : plus on a mal plus on souffre de dépression, plus on souffre de dépression plus on a mal.

I.4.3.1.4. Prise en charge

La prise en charge repose avant tout sur quatre éléments : (1) reconnaître la douleur neuropathique, (2) localiser la lésion responsable (périphérique ou centrale ; cerveau, tronc cérébral, moelle épinière, racines nerveuses, plexus, nerf périphérique), (3) faire le diagnostic étiologique (maladie ou événement déclenchant), (4) évaluer l'impact fonctionnel. Étant donné que la dépression, les troubles du sommeil et les troubles fonctionnels sont fréquents chez les patients souffrant de douleur chronique, ces problèmes doivent également être évalués en plus du soulagement « symptomatique » de la douleur. En outre, l'évaluation des aspects psychosociaux est nécessaire pour une stratégie de gestion personnalisée des patients (Haanpää 2010).

Actuellement, la prise en charge est malheureusement principalement symptomatique. Trois principales catégories de médicaments sont le plus souvent utilisées pour traiter la douleur neuropathique : les antidépresseurs, les antiépileptiques et les opioïdes (Finnerup, Attal et al. 2015). Les traitements recommandés en première intention par la GRADE (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation) sont les antidépresseurs tricycliques, les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine-noradrénaline, la prégabaline et la gabapentine. Cependant, le traitement des douleurs neuropathiques est souvent décevant, entraînant un soulagement de la douleur d'environ 50% et seulement chez la moitié des patients, le médicament devant le plus souvent être arrêté en raison d'effets secondaires (Sopacua, Hoeijmakers et al. 2019). D'autres alternatives émergent, telles que la stimulation magnétique transcrânienne répétitive (Moisset and Lefaucheur 2019) ou la stimulation transcrânienne à courant continu, moins efficace que la technique précédente (Attal, Ayache et al. 2016). La meilleure compréhension de la physiopathologie des NPF et la découverte de nouvelles altérations génétiques permettra certainement l'émergence de traitements plus spécifiques et plus efficaces.

I.4.3.2. DYSAUTONOMIE

La dysautonomie (ou dystonie neurovégétative) résulte d'une atteinte du SNA. Elle peut être primitive (héréditaire ou acquise) ou secondaire, aiguë ou chronique. Dans le cas de la NPF, les manifestations autonomes résultent de l'atteinte des fibres de type C innervant les glandes exocrines (glandes salivaires, lacrymales et sudoripares) ou les muscles lisses (dans les vaisseaux sanguins, le tube digestif, la vessie et l'iris).

Les manifestations cliniques peuvent donc être très variées, mais surtout très invalidantes, notamment si elles s'associent à des douleurs neuropathiques. Les symptômes rencontrés dépendent des fibres atteintes (**Tableau 2**) (Sene 2018).

Tableau 2. Symptômes dysautonomiques dans la neuropathie des petites fibres

Atteinte des glandes exocrines	
<i>Glandes sudorales</i>	Anhidrose, dyshidrose, hyperhidrose
<i>Glandes salivaires</i>	Diminution, augmentation ou absence de sécrétion de salive
<i>Glandes lacrymales</i>	Diminution, augmentation ou absence de production de larmes
Atteinte des muscles lisses	
<i>Tractus gastro-intestinal</i>	Constipation et/ou diarrhée chronique, pseudo-obstruction, inertie colique, incontinence fécale, dyschésie, gastroparésie
<i>Vessie</i>	Dysurie, incontinence urinaire, troubles mictionnels
<i>Cardiovasculaire</i>	Hypotension orthostatique, palpitations, bradycardie
<i>Autres</i>	Bouffées vasomotrices (flush), acrocyanose, phénomène de Raynaud
<i>Organes génitaux</i>	Dysfonction érectile, éjaculation rétrograde
<i>Œil</i>	Troubles de l'accommodation, pupille tonique d'Adie

I.4.3.3. AUTRES SYMPTOMES

En outre, depuis quelques années, d'autres symptômes sont rapportés comme pouvant être associés à une atteinte des petites fibres. Ainsi, le prurit chronique est aujourd'hui considéré comme un symptôme potentiel de la NPF (Misery, Brenaut et al. 2014, Brenaut, Marcorelles et al. 2015, Andersen, Arendt-Nielsen et al. 2017, Martinelli-Boneschi, Colombi et al. 2017, Steinhoff, Oaklander et al. 2019). Cela s'explique par le fait que le prurit est médié par des fibres C, différentes des fibres C intervenant dans la nociception, de même que par certaines

fibres A δ (Ikoma, Steinhoff et al. 2006). Une étude a comparé le prurit d'origine neuropathique au prurit non neuropathique afin de trouver des arguments pouvant les différencier sans recours à un examen clinique (Huguen, Brenaut et al. 2019). La présence d'au moins deux des critères suivants serait en faveur d'un prurit neuropathique (avec une sensibilité de 76% et une spécificité de 77%) : présence de contractions, absence de brûlures, aggravation lors de l'activité, absence d'aggravation au stress, soulagement au froid.

De même, les crampes musculaires sont également considérées comme un symptôme pouvant être en rapport avec une NPF, qui s'expliquerait par une atteinte de petites fibres nerveuses (qui seraient des thermorécepteurs et/ou des nocicepteurs) situées en intra-musculaire (Lopate, Streif et al. 2013, Abraham, Barnett et al. 2018, Sopacua, Hoeijmakers et al. 2018).

I.5. EXPLORATION DES PETITES FIBRES NERVEUSES

I.5.1. EXPLORATIONS NON INVASIVES

I.5.1.1. EXPLORATIONS NEUROPHYSIOLOGIQUES

I.5.1.1.1. L'électroneuromyogramme

Les explorations neurophysiologiques ont l'avantage de ne pas être invasives et d'analyser la fonction des fibres. En pratique courante, l'ENMG est l'examen de référence dans l'exploration des neuropathies périphériques. Cependant, s'il permet l'étude des grosses fibres myélinisées (motrices et sensitives), il n'explore pas les fibres ayant un diamètre inférieur à 7-10 μm . Ainsi, les petites fibres ($A\delta$ et C) ne peuvent être étudiées par cet examen. Néanmoins, des tests tels que le réflexe nociceptif RIII (obtenu sur un muscle au repos) (Campbell, France et al. 2008, Lee and Yoon 2017) ou la période de silence électromyographique (obtenue sur un muscle en contraction tonique) (Svilpauskaitė, Truffert et al. 2006) existent, mais sont plus difficiles à standardiser et donc à utiliser en pratique courante (Lefaucheur 2014).

L'ENMG a cependant toute son importance dans la démarche diagnostique et notamment étiologique puisqu'il permet de différencier une NPF pure d'une NPF dans le cadre d'une neuropathie plus généralisée.

I.5.1.1.2. Les potentiels évoqués laser

La méthode électrophysiologique de choix pour l'étude des petites fibres est l'enregistrement des potentiels évoqués laser (PEL). Cet examen consiste en une stimulation des troncs nerveux ou des territoires cutanés destinée à recueillir les réponses évoquées au niveau central (cortex). Un des avantages de cette technique est l'absence de participation des patients qui peut entraîner un biais de subjectivité. Cela permet l'exploration des petites fibres ($A\delta$ et C) en périphérie et des voies spino-thalamiques au niveau central. Cependant seules les fibres $A\delta$, qui « masquent » les fibres C, sont finalement explorées en routine avec les PEL (Lefaucheur 2014). Cependant, les PEL ne peuvent préciser le site d'atteinte et ne peuvent donc différencier une atteinte périphérique d'une atteinte centrale (Cruccu, Aminoff et al. 2008).

1.5.1.1.3. Le testing sensitif quantifié

Le testing sensitif quantifié, ou quantitative sensory testing (QST), est un examen psychophysique, c'est-à-dire qu'il étudie des rapports entre des faits physiques (stimuli) et les sensations qui en résultent (perception). Il permet, par l'intermédiaire de stimulations thermiques à l'aide d'un thermode appliqué sur la peau, d'étudier des seuils perceptifs ou douloureux. Cependant, cette technique nécessite la coopération du patient. Il existe deux méthodes : la méthode des limites (fait intervenir le temps de réaction) et la méthode des niveaux (pas de temps de réaction, possible en cas de troubles cognitifs) (Bakkers, Faber et al. 2013, Sopacua, Hoeijmakers et al. 2019). Si les neuropathies indolores et les neuropathies douloureuses ne semblent pas pouvoir être distinguées sur des seuils sensoriels, les neuropathies douloureuses se distinguent par une incidence plus élevée d'allodynie thermique ou mécanique dynamique. Néanmoins, l'intensité de la douleur est corrélée à l'altération des seuils de détection thermique et de la douleur mécanique (Ng Wing Tin, Ciampi de Andrade et al. 2014). Des recommandations ont été publiées concernant une utilisation standardisée de ce test dans les neuropathies douloureuses (Backonja, Attal et al. 2013). Par ailleurs, cette technique ne permet pas de différencier une atteinte périphérique d'une atteinte centrale.

1.5.1.1.4. La microneurographie

La microneurographie permet d'enregistrer l'activité des nocicepteurs C et des fibres sympathiques. Cette analyse d'excitabilité des fibres nerveuses est un bon reflet de l'activité des axones nociceptifs en réponse à une douleur provoquée, mais sans détecter ni quantifier la présence d'une douleur spontanée (Lefaucheur 2019). Cette technique consiste à insérer manuellement dans un nerf superficiel, par voie transcutanée, une microélectrode de tungstène (Carter 2019). Malgré des recommandations existantes sur sa bonne utilisation (Hart, Head et al. 2017), son application en pratique clinique reste limitée du fait des difficultés techniques, du temps nécessaire pour réaliser l'examen, et du faible nombre de fibres nerveuses pouvant être étudiées chez un patient donné (Mainka, Maier et al. 2015).

Il est cependant important de garder à l'esprit que la plupart des analyses neurophysiologiques effectuées en pratique clinique évaluent des lésions de petites fibres ou du tractus spinothalamique plutôt que les mécanismes neuronaux directement à l'origine de la douleur et ne fournissent pas une quantification objective de la douleur (Lefaucheur 2019).

I.5.1.2. TESTS DU SYSTEME NERVEUX AUTONOME

Dans le cadre de l'exploration des petites fibres, trois fonctions sont plus particulièrement étudiées car accessibles : la fonction sudorale, la fonction cardio-vasculaire et la fonction pupillaire.

- *Fonction sudorale*

Le test de référence est le **quantitative sudomotor axon reflex test (QSART)** : un sudoromètre mesure le volume de sueur émis après injection cutanée locale de pilocarpine ou d'acétylcholine par ionophorèse. C'est une technique sensible et reproductible, qui a montré son efficacité dans le diagnostic des NPF (Thaisetthawatkul, Fernandes Filho et al. 2013). Néanmoins, cet examen est très chronophage, fastidieux et nécessite un appareillage spécifique qui le rend peu accessible en pratique courante. D'autre part il manque encore aujourd'hui des données normatives pour déterminer son utilité pour la pratique clinique (Cazzato and Lauria 2017). Une des variantes de ce test sont les empreintes de silicone (Illigens and Gibbons 2009), qui bien que plus simples dans leur réalisation sont sujettes à des phénomènes d'artéfacts.

Le **quantitative direct and indirect axon reflex testing (QDIRT)** est un test plus récent, qui permet une évaluation spatiotemporelle de la sudation. En effet cette technique permet une évaluation topographique semi-quantitative et dynamique de la fonction sudomotrice pré- et post-ganglionnaire sur tout le corps, contrairement au QSART et à la méthode des empreintes de silicone qui mesurent la fonction sudomotrice post-ganglionnaire sur une zone restreinte. Les glandes sudorales sont stimulées par ionophorèse via l'acétylcholine, puis la quantité de sueur est affichée via un activateur (Gibbons, Illigens et al. 2008).

Le **thermoregularity sweat testing (TST)** est un test sensible dont le principe repose sur l'utilisation d'un colorant (rouge d'alizarine) pour visualiser la sueur d'un patient placé dans une enceinte chaude. Cependant, c'est un test long, salissant et coûteux, réalisé uniquement dans des centres hautement spécialisés, limitant son applicabilité en pratique courante clinique (Illigens and Gibbons 2009).

Le **Neuropad** est un test peu coûteux et simple de réalisation qui mesure la production de sueur sur la base du changement de couleur du bleu au rose d'un composé du cobalt II (Papanas, Papatheodorou et al. 2005). C'est une technique qui a principalement été évaluée dans la

neuropathie diabétique (Spallone, Morganti et al. 2009, Kamenov, Petrova et al. 2010, Papanas, Paschos et al. 2011). Sa sensibilité dans l'évaluation de l'atteinte des grosses fibres est élevée mais sa spécificité modérée (Papanas, Papatheodorou et al. 2005). Concernant, l'étude des petites fibres, la spécificité du Neuropad est élevée : un résultat anormal peut être utilisé pour confirmer la NPF. En revanche, la sensibilité est très faible (Datema, Gert van Dijk et al. 2012). Une autre étude comparant plusieurs tests dans la lèpre n'a pas mis en évidence d'intérêt à réaliser cet examen (Wagenaar, Post et al. 2017). La réelle contribution de ce test pour le diagnostic de NPF n'est pas encore établie.

Le '**stimulated skin wrinkling**' (SSW) est un test simple et non onéreux de la fonction sympathique. Il repose sur le phénomène de rides cutanées stimulées correspondant à des ondulations réversibles de la peau des paumes et de la plante des pieds qui se produisent 5 à 30 minutes après une immersion dans l'eau ou une exposition à des substances vasoconstrictrices telles que l'EMLA (Wilder-Smith 2004, Hsieh, Huang et al. 2007). Cette réaction est basée sur des modifications de la vasoconstriction des tissus artérioveineux du derme. Dans la pratique clinique, la SSW est généralement réalisée à la main et notée sur une échelle publiée de 5 points. (Wilder-Smith, Guo et al. 2009, Wilder-Smith 2015). Malgré une réduction du score rapportée chez les patients atteints de neuropathie diabétique (Ping Ng, Ong et al. 2013) et de NPF idiopathiques (Wilder-Smith, Guo et al. 2009, Wilder-Smith 2015), la valeur de cet examen en tant qu'outil de diagnostic est actuellement limitée.

Enfin, il existe des tests basés sur l'enregistrement de modifications de potentiel ou de conductance électrique en rapport avec la sudation : le plus connu est l'étude des **réponses cutanées sympathiques (RCS)**, réalisé à l'aide d'un ENMG. Elle étudie l'innervation sympathique cholinergique des glandes sudorales. Néanmoins, c'est une technique opératoire dépendant donc peu reproductible (Illigens and Gibbons 2009, Lefaucheur, Wahab et al. 2015).

- Fonction cardio-vasculaire

Plusieurs tests anciens opératoires dépendants et peu onéreux, regroupés sous le nom de « **tests d'Ewing** » existent, évaluant l'innervation autonome du cœur tels que la **recherche d'hypotension orthostatique**, la **manœuvre de Valsalva** ou encore la **stimulation du sinus carotidien** (Stranieri, Abawajy et al. 2013). Un autre examen ancien, accessible car réalisable avec un appareil d'électroneuromyographie standard, est la **mesure de la variabilité de la**

fréquence cardiaque (R-R interval variation) (Vrana, Fejfar et al. 1993) via un appareil d'électroneuromyographie standard. Une autre technique consiste en la mesure de façon concomitante de l'adaptation de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque au cours de manœuvres dynamiques (épreuve de Valsalva, mise en orthostatisme, contraction isométrique, test au froid). Enfin, l'étude des territoires vasculaires distaux à l'aide du laser Doppler permet de mesurer les réactions vasomotrices à différents stimuli en détectant les hématies des capillaires (Frerichs and Feuerstein 1990, Kubasch, Kubasch et al. 2017). C'est également une technique consommatrice de temps et difficile à standardiser.

- Fonction pupillaire et innervation cornéenne

Les explorations pupillaires reposent soit sur des **tests pharmacologiques** via l'instillation de collyres agissant sur les fibres sympathiques ou parasympathiques, soit sur la pupillométrie grâce à des capteurs infrarouges (Serratrice, Verschueren et al. 2013). D'autre part, il est également possible d'explorer les petites fibres innervant la cornée de façon non-invasive, grâce à la **microscopie confocale in vivo** (Tavakoli and Malik 2011, Sturm, Schmidt-Wilcke et al. 2016). Cette technique peut être utilisée dans l'évaluation de la neuropathie diabétique, mais aussi d'autres neuropathies périphériques acquises ou héritées, mettant en évidence une perte en fibres intra-cornéennes (Cruzat, Qazi et al. 2017, Puttgen, Bonhof et al. 2019).

- Autres

D'autres techniques comme les **dosages biochimiques** (catécholamines et métabolites) ou **hormonaux** (système rénine-angiotensine-aldostérone), les **tests pharmacologiques** ou la **scintigraphie au I-123 méta-odobenzylguanidine (MIBG)** existent mais sont peu utilisés en pratique courante (Serratrice, Verschueren et al. 2013).

I.5.1.3. CONDUCTANCES ELECTROCHIMIQUES CUTANÉES – SUDOSCAN®

Parmi les fonctions du SNA, la fonction sudorimotrice a été particulièrement étudiée de par son apparente accessibilité, afin d'objectiver et de quantifier une atteinte du SNA.

Le SUDOSCAN® est un appareil simple et rapide d'utilisation qui permet d'évaluer le fonctionnement des glandes sudorales de manière indolore en mesurant leur capacité à libérer des ions chlorure en réponse à une stimulation électrique sur les zones où elles sont les plus concentrées (ionophorèse inverse et chronoampérométrie) : la paume des mains et la plante des pieds. Plus précisément, le SUDOSCAN® mesure des conductances cutanées électrochimiques (CCE). Il se base sur le fait qu'une anomalie des CCE, témoin du mauvais fonctionnement de la glande, reflète une anomalie de l'innervation glandulaire, donc une atteinte du système nerveux autonome innervé par les fibres amyéliniques de type C. Le SUDOSCAN® est donc, en partie, un reflet de l'intégrité des fibres C autonomiques cutanées (**Figure 24**).

Le principe est le suivant : une faible tension est appliquée à des électrodes en inox sur lesquelles les mains et les pieds sont en contact simultanément. Elle permet d'extraire les ions chlorures qui arrivent sur les électrodes en passant uniquement par les canaux sudorifères. Les CCE, en relation avec le pH et la concentration d'ions chlorures extraits des glandes vers les électrodes (mains, pieds), sont enregistrées.

Le SUDOSCAN® permet donc une exploration rapide et indolore de la fonction sudorimotrice, en calculant des CCE. C'est un examen reproductible (Mayaudon, Miloche et al. 2010), dont les premières études ont été largement menées chez les patients diabétiques : dans l'évaluation de l'atteinte dysautonomique (Yajnik, Kantikar et al. 2012, Casellini, Parson et al. 2013, Eranki, Santosh et al. 2013, Lefaucheur 2017), de la néphropathie diabétique (Freedman, Smith et al. 2015, Luk, Fu et al. 2015), de la neuropathie périphérique diabétique (Selvarajah, Cash et al. 2015). Il a été démontré que les CCE sont corrélées au QSART, à l'ENMG, au NIS-LL, au QST, aux scores de douleurs (Delmotte, Tutakhail et al. 2018), et à la manœuvre de Valsalva (Casellini, Parson et al. 2013, Vinik, Nevoret et al. 2015). De plus, le SUDOSCAN® serait également performant dans l'évaluation du risque cardio-vasculaire (Raisanen, Eklund et al. 2014). Par ailleurs, d'autres manières d'utiliser le SUDOSCAN® ont également été étudiées, comme par exemple en tant qu'outil pour diagnostiquer une origine neurogène des troubles érectiles (Lefaucheur 2017).

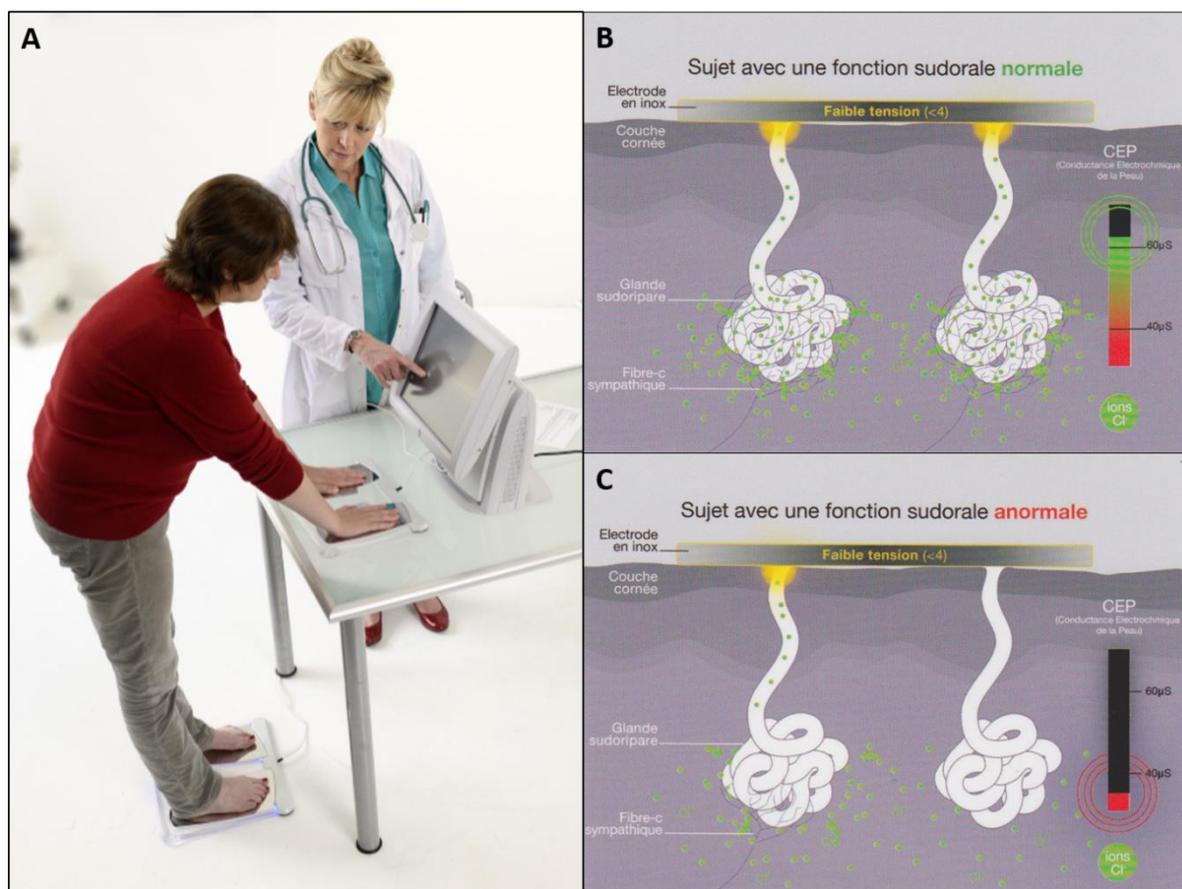


Figure 24. SUDOSCAN® : principes généraux

A : patiente réalisant l'examen, les pieds et les mains placés sur les électrodes durant 2-3 minutes. B : schéma représentant l'innervation des glandes normales avec des résultats normaux. C : schéma représentant l'innervation des glandes anormales avec des résultats anormaux.

Photos de Impeto Medical.

Cependant, plusieurs faiblesses ternissent l'utilité de cet outil. D'une part, le SUDOSCAN® a très majoritairement été étudié dans la pathologie diabétique et dans une moindre mesure dans la neuropathie amyloïde (Castro, Miranda et al. 2016, Castro, Costa et al. 2018, Luigetti, Bisogni et al. 2018), la maladie de Fabry (Sahuc, Chiche et al. 2016) ou encore la drépanocytose (Affes, Lionnet et al. 2019), mais très peu dans d'autres atteintes du système nerveux périphérique, comme par exemple les neuropathies toxiques secondaires à l'Oxaliplatine (Delmotte, Tutakhail et al. 2018). D'autre part, si la plupart des études soulignent l'intérêt de cet examen, il est souvent spécifié qu'il doit faire partie d'un faisceau d'arguments, n'étant pas à lui seul suffisant, d'autant plus que deux revues récentes ont souligné l'absence d'explications logiques et pragmatiques concernant notamment la physiopathologie dans l'interprétation de

cet examen (Rajan, Campagnolo et al. 2019, Vinik, Casellini et al. 2019). De plus, certains auteurs nuancent ouvertement l'intérêt du SUDOSCAN® dans le dépistage du diabète (Kim, Cho et al. 2019), mettant en exergue la variabilité des résultats de cet examen et donc sa faiblesse. Enfin, on peut reprocher à la majorité des études d'avoir été soutenues financièrement et donc d'avoir des résultats discutables. Néanmoins, cet examen reste simple, rapide et accessible, et doit continuer de faire l'objet de travaux d'études afin de mieux définir son intérêt dans la pratique courante et de mieux délimiter ses faiblesses.

I.5.2. ANALYSE HISTOLOGIQUE

I.5.2.1. BIOPSIE NERVEUSE

I.5.2.1.1. Technique

La biopsie d'un nerf sensitif (le plus souvent le nerf sural) est un outil diagnostique parfois très utile (Vallat, Funalot et al. 2011) ; l'indication doit en être discutée au cas par cas par le(s) clinicien(s) en charge du malade, et après discussion des résultats des examens complémentaires. Elle permet l'examen du tissu interstitiel, l'analyse des petites et grosses fibres myélinisées, et celle des fibres amyéliniques. Cependant, ces dernières ne peuvent être observées précisément qu'en microscopie électronique (**Figure 25**), ce qui est fastidieux, chronophage, mais néanmoins indispensable dans certains cas d'atteintes spécifiques de ces fibres. Enfin, c'est un acte chirurgical réalisé par un opérateur expérimenté, et qui ne peut être répété, un nerf ne pouvant être biopsié qu'une seule fois.

I.5.2.1.2. Place de la biopsie nerveuse dans l'analyse des petites fibres

Dans certains cas, il est nécessaire de recourir à une biopsie de nerf (notamment lorsqu'une atteinte de type « vascularite » est suspectée, ou lorsqu'aucun des examens préalables n'a permis de poser un diagnostic précis). En effet, la biopsie de nerf peut permettre de poser un diagnostic pathologique et parfois étiologique, et renseigne surtout sur les mécanismes lésionnels (Kanda 2009, Weis, Brandner et al. 2012). Cependant, c'est un examen qui ne peut être répété, et n'est en aucun cas un outil de suivi des neuropathies périphériques. Enfin,

l'analyse des fibres amyéliniques nécessite la microscopie électronique qui est chronophage et non accessible en routine.

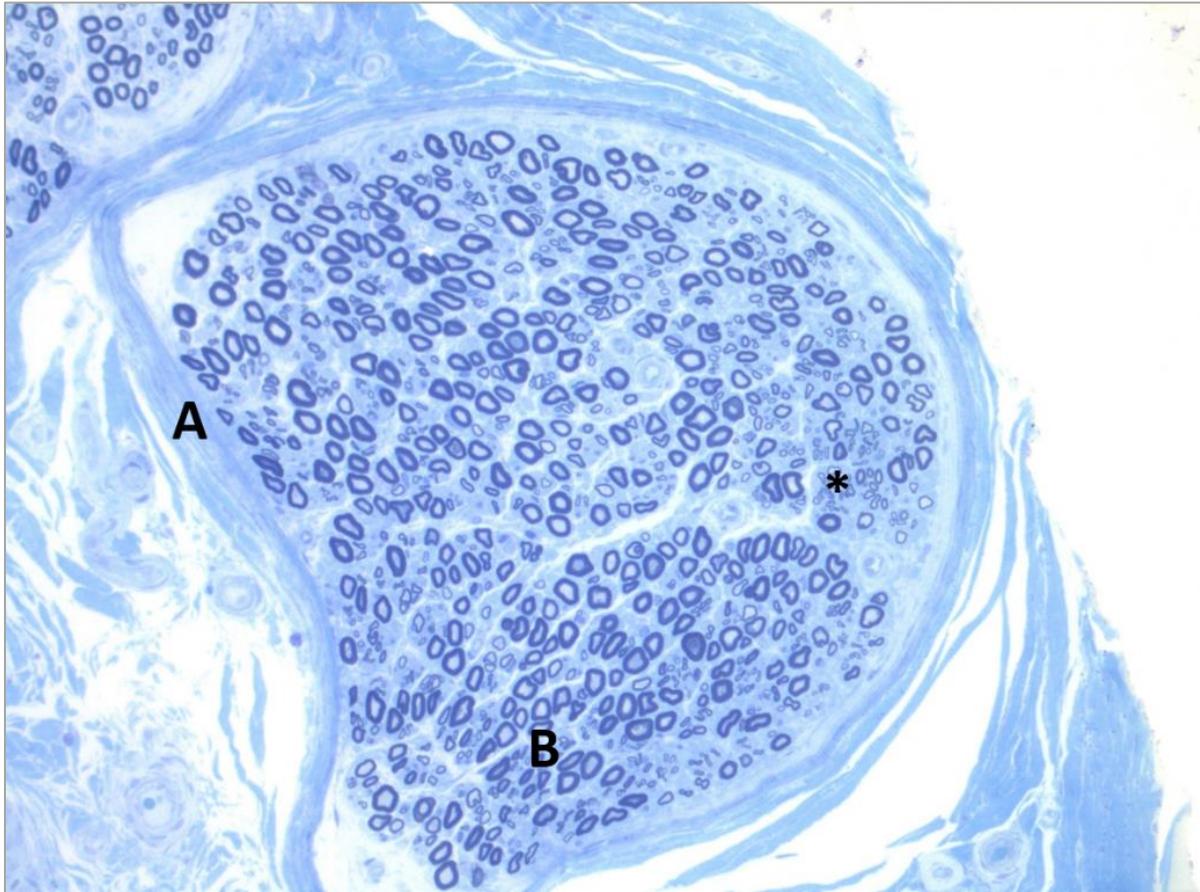


Figure 25. Coupe semi-fine d'un fascicule nerveux en microscopie optique

Microscopie optique, grossissement x200. Coloration au Bleu de Toluidine.

Fibre nerveuse en coupe transversale. A : périnèvre. B : grosse fibre myélinisée. * petites fibres myélinisées. L'analyse des fibres amyéliniques en microscopie optique est impossible car on ne les voit pas.

Photo M. Duchesne.

I.5.2.2. BIOPSIE CUTANÉE

I.5.2.2.1. Technique

La biopsie cutanée est devenue l'outil diagnostique de référence des NPF (Lauria and Lombardi 2007), par quantification des FNIE. La biopsie cutanée comporte de nombreux avantages. Elle

est très peu invasive et est réalisée avec un « punch biopsy » (carotte biopsique de 3mm), ne nécessitant pas de point de suture et donc pas de soin particulier. Elle n'entraîne pas de séquelle sensitive et peut être répétée dans le but d'un suivi évolutif (avec ou sans traitement) (Lauria, Dacci et al. 2015). Classiquement, il est recommandé de réaliser une biopsie au niveau de la cuisse (20 cm en dessous de la crête iliaque), et une au niveau de la cheville (10 cm au-dessus de la malléole externe) afin d'évaluer le caractère longueur-dépendant de l'atteinte et de pouvoir différencier une NPF longueur-dépendante d'une ganglionopathie (Provitera, Gibbons et al. 2018).

Les fibres sont mises en évidences par un anticorps pan-neuronal (Protein Gene Product 9.5), deux techniques sont classiquement utilisées : la révélation par peroxydase ou l'immunofluorescence (Nolano, Biasiotta et al. 2015). L'analyse de la biopsie cutanée dans l'évaluation des petites fibres est presque exclusivement quantitative (calcul de la densité des FNIE, **Figure 26**), ne permettant pas de contribuer au diagnostic étiologique des neuropathies. Cette quantification se fait selon des recommandations bien précises, de manière à homogénéiser sa pratique à travers le monde (Lauria, Hsieh et al. 2010). Les résultats sont exprimés en « nombres de fibres par mm² d'épiderme », et son ensuite rapportés à des valeurs normatives publiées (Lauria, Bakkers et al. 2010, Collongues, Samama et al. 2018), d'autant plus que l'âge et le sexe ont une influence sur la densité en FNIE (Provitera, Gibbons et al. 2016). Une étude a également rapporté que l'origine ethnique avait une importance, soulignant la mauvaise sensibilité de la biopsie cutanée en utilisant les valeurs normales publiées dans la population sino-américaine (Jin, Cheng et al. 2018).

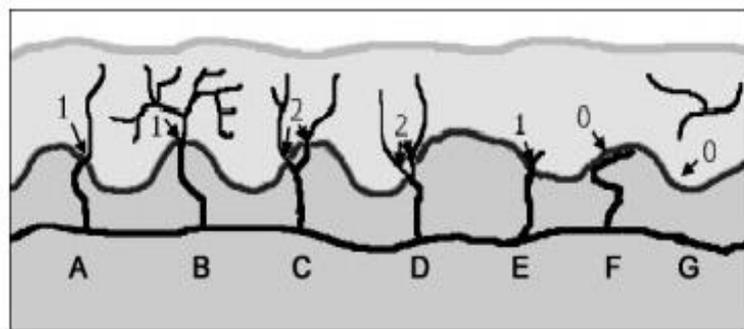


Figure 26. Méthode de comptage des FNIE d'après l'EFNS (Lauria, Hsieh et al. 2010).

Dans cet exemple, les fibres nerveuses sont représentées en noir, l'épiderme en gris clair et le derme en gris foncé. Les fibres A, B et E sont comptées comme une seule fibre nerveuse ; C et D sont comptées comme deux fibres nerveuses. Les fibres F et G ne sont pas comptées. Seules les fibres qui coupent la jonction derme/épiderme sont comptées.

Enfin, quelques fibres myélinisées sont présentes dans le derme, mais leur trop faible quantité et leur profondeur ne permet pas de les exploiter en routine, même si certains auteurs soulignent l'intérêt de la biopsie de peau dans l'étude des fibres myélinisées (Nolano, Provitera et al. 2003) ou des nœuds de Ranvier dans les PIDC (Doppler, Werner et al. 2013).

1.5.2.2.2. Place de la biopsie cutanée dans l'analyse des petites fibres

1.5.2.2.2.1. Dans l'analyse des fibres nerveuses intra-épidermiques

La biopsie cutanée est aujourd'hui le Gold Standard dans l'évaluation des petites fibres somatiques, notamment dans le cadre du diagnostic de NPF par quantification de la densité des FNIE (Gibbons, Griffin et al. 2006, Løseth, Lindal et al. 2006, Walk, Wendelschafer-Crabb et al. 2007, England, Gronseth et al. 2009). En effet, la quantification de la densité des FNIE intervient dans la démarche diagnostique, et permet de classer la NPF comme « certaine » si une perte en fibres est objectivée (voir chapitre suivant **I.6**).

Il a été démontré que la densité des FNIE est faiblement corrélée aux symptômes dysautonomiques (Chiang, Lin et al. 2002), au questionnaire SFN-SIQ (SFN and symptom inventory questionnaire) (Sun, Li et al. 2018), au QST (Selim, Wendelschafer-Crabb et al. 2010) et au RCS (Pan, Tseng et al. 2003). Cette corrélation est plus forte avec le QSART et le TST (Novak, Freimer et al. 2001), le QSART étant le Gold Standard de l'évaluation de la fonction sudorimotrice. Néanmoins, ces corrélations sont discutées car elles ne sont pas toujours retrouvées (Gibbons, Illigens et al. 2009, Thaisetthawatkul, Fernandes Filho et al. 2014, Novak 2016). De la même manière, certains auteurs ont retrouvé des corrélations positives entre la microscopie confocale cornéenne et la biopsie cutanée (Quattrini, Tavakoli et al. 2007, Chen, Graham et al. 2015), alors que d'autres non (Oudejans, Niesters et al. 2017)

Malgré la standardisation et la reproductibilité de la technique et malgré l'existence de valeurs normales de densité des FNIE publiées, chaque laboratoire a ses propres normes du fait des habitudes et de la façon de compter qui peut légèrement varier d'une personne à l'autre. En France par exemple, nous utilisons majoritairement l'immunofluorescence et non l'immunohistochimie révélée par la peroxydase (Nolano, Biasiotta et al. 2015). Une alternative pourrait également être l'utilisation de la microscopie tridimensionnelle, qui repose sur la même technique immunohistochimique mais requiert l'utilisation d'un microscope 3D. Cette

technique s'est en effet révélée plus rapide et plus simple à utiliser notamment pour des novices dans la quantification des fibres (Kim, Na et al. 2019).

I.5.2.2.2. Dans l'analyse de l'innervation des glandes sudoripares

La méthode de quantification des fibres innervant les glandes sudorales a été précédemment décrite (Gibbons, Illigens et al. 2009), et apparaît reproductible. Différentes techniques ont été comparées entre elles, et il a été montré que la quantification manuelle est finalement plus performante que la quantification automatisée (Gibbons, Illigens et al. 2010). Cette dernière s'est révélée être significativement corrélée au score clinique NIS-LL (Neuropathy Impairment Score in the Lower Limb) (Gibbons, Illigens et al. 2009), à la densité des FNIE (Gibbons, Illigens et al. 2010, Novak 2016), au RCS et aux symptômes dysautonomiques (Chao, Huang et al. 2015), et au TST (Loavenbruck, Wendelschaefler-Crabbe et al. 2014). L'utilisation de la reconstruction en trois dimensions à l'aide de la microscopie confocale existe également et serait encore plus reproductible et fiable (Minota, Schmeichel et al. 2019). Cependant cette technique nécessite d'avoir un microscope confocal et une évaluation du temps réalisé pour analyser un patient en routine. Plus récemment, une étude a montré l'intérêt de l'analyse des glandes sudoripares dans l'amylose à TTR et notamment chez les porteurs asymptomatiques de la mutation, mettant en évidence une diminution significative de la densité en fibres innervant les glandes et en fonction du stade d'évolution de la maladie, mais également une diminution de l'expression du peptide VIP précédant la perte en fibres, et cela dans les stades précoces ou chez les patients pré-symptomatiques (Chao, Hsueh et al. 2019).

Néanmoins, le Gold Standard pour l'évaluation de la fonction sudoromotrice est actuellement le QSART, et il manque des études comparatives entre la densité des fibres innervant les glandes sudorales et le QSART (Novak 2016).

I.6. DEMARCHE DIAGNOSTIQUE FACE A UNE NEUROPATHIE DES PETITES FIBRES

Les critères diagnostiques restent encore débattus dans la communauté scientifique, et une des questions qui se pose encore est : faut-il ne considérer comme NPF que les patients qui présentent une atteinte isolée des petites fibres (NPF pures) ou ceux qui ont une atteinte des petites et grandes fibres avec une symptomatologie prédominante en rapport avec les petites fibres ?

En ne considérant que les NPF pures et longueur-dépendantes, on peut distinguer trois groupes (Hoeijmakers, Faber et al. 2012, Cazzato and Lauria 2017):

- NPF possible : symptômes longueur-dépendants et / ou de signes cliniques évocateurs d'une atteinte des petites fibres
- NPF probable : symptômes longueur-dépendants, signes cliniques évocateurs d'une atteinte des petites fibres et ENMG du nerf sural normal
- NPF certaine : symptômes longueur-dépendants, signes cliniques évocateurs d'une atteinte des petites fibres, ENMG du nerf sural normal et diminution de la densité de fibres nerveuses intra-épidermiques au niveau de la cheville et / ou anomalies des seuils thermiques et nociceptifs au QST.

La première étape est avant tout de différencier une NPF « pure » d'une NPF s'intégrant dans une atteinte des fibres de gros diamètre, non pas simplement à titre sémantique, mais pour orienter le bilan à réaliser afin d'étayer le diagnostic étiologique. Cela repose d'une part sur l'examen clinique, mais surtout sur l'ENMG, qui apparait l'examen de référence pour préjuger de l'atteinte des grosses fibres dans ce cas de figure. Il faut cependant considérer que 10% des patients initialement considérés comme « NPF pure » évoluent vers une neuropathie mixte dans les deux ans (Devigili, Tugnoli et al. 2008, Khoshnoodi, Truelove et al. 2016).

Le deuxième point important est de ne pas considérer seulement les NPF longueur-dépendantes, puisque des tableaux cliniques d'atteintes multifocales asymétriques ou focales ont été décrites et associées à une perte en fibres nerveuses intra-épidermiques.

Enfin, il ne faut pas écarter ou méconnaître un diagnostic de NPF dans le cadre d'une maladie dégénérative comme par exemple la sclérose latérale amyotrophique ou encore la maladie de Parkinson.

CHAPITRE II. OBJECTIFS GENERAUX DE LA THESE

Ce travail de thèse comprend trois grands axes qui s'articulent autour de la biopsie cutanée. L'intérêt majeur est de mieux comprendre et de cerner les forces et les faiblesses de cet examen, afin de pouvoir envisager d'autres techniques et d'autres études pour augmenter sa puissance diagnostique et son apport dans la compréhension de la physiopathologie de la perte en fibres.

La première partie consiste à évaluer quel est le lien entre l'analyse quantitative des petites fibres dans la biopsie cutanée et une étude fonctionnelle de ces fibres. Pour cela, nous avons comparé la quantification des FNGS et des FNIE à un appareil électrophysiologique récent qui est le SUDOSCAN® et qui évalue la fonction des petites fibres autonomes innervant les glandes sudoripares.

La deuxième partie s'intéresse d'une part à la maladie de CMT1A, neuropathie périphérique démyélinisante héréditaire la plus fréquente qui semble pourtant présenter une atteinte des petites fibres amyéliniques du fait d'une symptomatologie douloureuse fréquemment rapportée, mais également à la cellule de Langerhans qui semble être un biomarqueur potentiellement intéressant dans l'avenir du fait d'une potentielle implication dans la perte en fibres mise en évidence chez les patients diabétiques ou encore chez des rats ayant subi une section de nerf ou une chimiothérapie neurotoxique. Cette partie a donc deux objectifs principaux : le premier étant l'étude des FNIE et FNGS dans la maladie de CMT1A en comparant les résultats à des échelles d'évaluation clinique et aux données électrophysiologiques ; le deuxième étant la quantification des cellules de Langerhans en comparant à des patients témoins indemnes de neuropathie périphérique.

La troisième partie est centrée sur le syndrome POEMS, maladie systémique rare affectant, entre autres, le système nerveux périphérique. La physiopathologie de ce syndrome est fortement liée à une surexpression de VEGF. Il nous a paru intéressant d'étudier la vascularisation cutanée dans ce syndrome en comparant les résultats à la vascularisation nerveuse et à la perte en FNIE. Le but est de mettre en évidence (ou non) une augmentation de la vascularisation dermique ce qui permettrait d'utiliser la biopsie cutanée comme outil diagnostique supplémentaire, et de mieux comprendre s'il existe un lien avec la perte en FNIE.

CHAPITRE III. ETUDES EXPERIMENTALES

III.1. OBJECTIF 1 – COMPARAISON DE LA BIOPSIE CUTANEE AUX DONNEES ELECTROPHYSIOLOGIQUES DANS L’ETUDE DE LA PERTE EN PETITES FIBRES

III.1.1. AVANT-PROPOS

III.1.1.1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS

La biopsie cutanée telle qu’elle est réalisée actuellement repose sur une analyse quantitative du nombre de FNIE et est le Gold Standard dans le diagnostic de la NPF. La corrélation entre la densité des FNIE et les symptômes cliniques ou les autres outils évaluant la fonctionnalité des petites fibres reste floue car il existe des contradictions entre les différentes études publiées. En effet, comme cité dans le chapitre I.5.2.2.2.1, les FNIE seraient corrélées aux symptômes dysautonomiques (Chiang, Lin et al. 2002), au questionnaire SFN-SIQ (SFN and symptom inventory questionnaire) (Sun, Li et al. 2018), au QST (Selim, Wendelschafer-Crabb et al. 2010) et au RCS (Pan, Tseng et al. 2003), au QSART et au TST (Novak, Freimer et al. 2001). Cependant ces corrélations ne sont pas toujours retrouvées (Gibbons, Illigens et al. 2009, Thaisetthawatkul, Fernandes Filho et al. 2014, Novak 2016).

Le SUDOSCAN®, examen rapide, indolore, accessible et donc prometteur est apparu dans les services de neurologie dans le but d’évaluer la fonctionnalité des fibres autonomes innervant les glandes sudoripares. Cet examen semblerait efficace dans l’évaluation de l’atteinte dysautonomique (Yajnik, Kantikar et al. 2012, Casellini, Parson et al. 2013, Eranki, Santosh et al. 2013, Lefaucheur 2017). Mais comme pour la biopsie cutanée et de façon plus prononcée, certains auteurs ont des avis mitigés quant à l’intérêt et surtout l’interprétation de cet examen (Kim, Cho et al. 2019, Rajan, Campagnolo et al. 2019, Vinik, Casellini et al. 2019).

Enfin, en dehors d’une étude (Novak 2016), la corrélation entre la biopsie cutanée et le SUDOSCAN® n’a pas été explorée, or ces deux examens explorent les mêmes fibres et sont tous les deux rapides, accessibles et reproductibles.

Afin de mieux comprendre la relation qu'il existe entre une quantification des petites fibres cutanées (FNGS et FNIE) et la fonction de ces fibres, nous avons comparé ces deux examens afin de vérifier si la biopsie cutanée telle qu'elle est réalisée actuellement est un bon reflet de l'activité fonctionnelle des petites fibres.

L'objectif principal est :

Chez un même malade, existe-il une corrélation entre la densité des fibres innervant les glandes sudorales et les conductances cutanées électrochimiques (CCE) du SUDOSCAN® ?

Les objectifs secondaires sont :

1-Existe-il une corrélation entre la densité des FNIE et la densité des FNGS ?

2-Existe-il une corrélation entre la densité des fibres amyéliniques intra-épidermiques et les CCE du SUDOSCAN® ?

III.1.1.2. PRINCIPAUX RESULTATS

63 patients ont été inclus dans l'étude, la majorité étant des hommes (61,5%). 82,5% d'entre eux présentaient des douleurs neuropathiques, et seulement 11,1% souffraient de dysautonomie. Certains prélèvements cutanés étaient dépourvus de glandes sudorales (dans 34,9% en proximal et 26,9% en distal).

Corrélation entre les CCE et les FNGS et entre les CCE et les FNIE :

Les CCE mesurée par le SUDOSCAN® étaient faiblement mais significativement corrélées à la densité des FNGS et de façon moindre aux FNIE, mais uniquement après ajustement des valeurs (CCE, FNGS et FNIE) aux poids. Sans ajustement, aucune corrélation n'était significative.

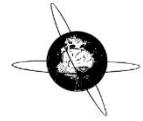
Corrélation entre les FNGS et les FNIE :

Par ailleurs, une corrélation significative entre les FNIE et FNGS distales était également retrouvée ($r = 0,4$; $p=0.006$), mais pas concernant les prélèvement proximaux ($r = 0,25$; $p = 0.12$).

Corrélation avec le poids et la taille :

De façon surprenante, les CCE, FNGS et FNIE n'étaient pas corrélés à la taille ou au poids, sauf pour les FNGS en proximal, qui était faiblement et inversement corrélé au poids ($r = -0,34$; $p = 0,031$).

III.1.2. ARTICLE 1 – ASSESSING SUDOMOTOR IMPAIRMENT IN PATIENTS WITH PERIPHERAL NEUROPATHY: COMPARISON BETWEEN ELECTROCHEMICAL SKIN CONDUCTANCE AND SKIN BIOPSY



Assessing sudomotor impairment in patients with peripheral neuropathy: Comparison between electrochemical skin conductance and skin biopsy



Mathilde Duchesne^{a,b,*}, Laurence Richard^b, Jean-Michel Vallat^b, Laurent Magy^b

^a Department of Pathology, CHU de Limoges, 2 Avenue Martin Luther King, 87000 Limoges, France

^b Department of Neurology and Laboratory of Neurology, Centre de Référence "Neuropathies Périphériques Rares" CHU de Limoges, 2 Avenue Martin Luther King, 87000 Limoges, France

ARTICLE INFO

Article history:

Accepted 19 April 2018

Available online 27 April 2018

Keywords:

Sudomotor function
ESC
Skin biopsy
Neuropathic pain
Dysautonomia

HIGHLIGHTS

- Electrochemical skin conductance measurement is an easy and quick way to assess sudomotor function in humans.
- Sudomotor function is weakly correlated with sweat gland innervation.
- Sudomotor impairment is not necessarily correlated with somatic small fibre involvement.

ABSTRACT

Objective: Sudoscan provides a rapid assessment of sudomotor function based on the measurement of electrochemical skin conductance (ESC), which is thought to be proportional to small nerve fibres innervating the sweat glands. However, the relationship between ESC and small nerve fibre density on skin biopsy remains unclear.

Methods: In a retrospective single-centre study, we compared ESC measurements with autonomic sweat gland nerve fibre density (SGNFD) and somatic intraepidermal nerve fibre density (IENFD) in patients with polyneuropathy.

Results: 63 patients were included (mean age: 60.6 ± 13.3 years). ESC was more strongly correlated with SGNFD ($r = 0.49$; $p = 0.0005$) than with IENFD ($r = 0.42$; $p = 0.0005$). Foot ESC was lower in patients with abnormal SGNFD ($1.0 \pm 0.3 \mu\text{S/kg}$ versus $0.7 \pm 0.4 \mu\text{S/kg}$; $p = 0.0419$) or abnormal IENFD ($1.1 \pm 0.3 \mu\text{S/kg}$ versus $0.8 \pm 0.3 \mu\text{S/kg}$; $p = 0.0425$).

Conclusion: ESC measurement is a novel method of potential value for assessing sudomotor function. More studies are required to define its place beside ancient well-established techniques.

Significance: The weak correlation of ESC with skin biopsy results suggests that mechanisms other than the loss of innervating fibres may be responsible for sweat gland dysfunction in polyneuropathies.

© 2018 International Federation of Clinical Neurophysiology. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

Abbreviations: ANS, autonomic nervous system; CGRP, calcitonin gene-related peptide; Cy3, cyanine 3.18; ESC, electrochemical skin conductance; IENF, intraepidermal nerve fibre; IENFD, intraepidermal nerve fibre density; NIS-LL, Neuropathy Impairment Score in the Lower Limb; PGP 9.5, protein gene product 9.5; QSART, quantitative sudomotor axon reflex test; QST, quantitative sensory testing; SFN, small-fibre neuropathy; SGNF, sweat gland nerve fibre; SGNFD, sweat gland nerve fibre density; TST, thermoregulatory sweat test; TTR, transthyretin; VACHT, vesicular acetylcholine transporter; VIP, vasoactive intestinal peptide.

* Corresponding author at: Service d'anatomo-pathologie CHU Limoges, Bâtiment CBRS, 2 Avenue Martin-Luther-King, 87042 Limoges, France.

E-mail address: mathilde.duchesne@unilim.fr (M. Duchesne).

<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2018.04.608>

1388-2457/© 2018 International Federation of Clinical Neurophysiology. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Autonomic involvement is present in many peripheral neuropathies although it is only prominent in patients with neuropathies predominantly affecting small fibres, such as distal diabetic neuropathy or amyloidosis (Dineen and Freeman, 2015). Besides clinical examination, assessing autonomic impairment may require sophisticated equipment, which is not always readily available in many Neurology or Neurophysiology departments (Gibbons et al., 2008; Illigens and Gibbons, 2009; Thaisetthawatkul et al., 2013). As sudomotor function is frequently affected in patients with autonomic neuropathy, its evaluation is of

importance to check for autonomic involvement in patients with polyneuropathy (Mayaudon et al., 2010; Freeman and Chapleau, 2013). Several techniques can be used to evaluate sudomotor function: sympathetic skin response, quantitative sudomotor axon reflex test (QSART), thermoregulatory sweat test (TST) and the recently developed Sudoscan (Impeto Medical, Paris, France), a simple, rapid, non-invasive, easy-to-perform, and highly reproducible sudomotor test. Sudoscan can be used to evaluate sweating, thereby providing indirect information about the autonomic unmyelinated nerve fibres innervating sweat glands. It explores the electrochemical reaction of the chloride component of sweat with stainless steel across a spectrum of transcutaneous currents (Smith et al., 2014; Selvarajah et al., 2015; Sahuc et al., 2016) and measures electrochemical skin conductance (ESC), which is thought to reflect the innervation of cutaneous sweat glands containing functional chloride channels.

ESC has been shown to be correlated with QSART, nerve conduction (sural and peroneal amplitude and conduction velocity), Neuropathy Impairment Score in the Lower Limb (NIS-LL), quantitative sensory testing (QST) results, pain scores and the heart rate response to Valsalva's manoeuvre (Casellini et al., 2013; Vinik et al., 2015). However, most of these studies were conducted in diabetic patients (Yajnik et al., 2012; Casellini et al., 2013; Eranki et al., 2013; Freedman et al., 2015; Luk et al., 2015; Selvarajah et al., 2015) and, to a lesser extent, in patients with amyloid neuropathy (Castro et al., 2016) and Fabry disease (Sahuc et al., 2016). Very few studies have been conducted in non-diabetic patients.

Another way to explore sudomotor impairment is to quantify sweat gland innervation, which provides a morphological counterpart to abnormal sweat gland functioning (Gibbons et al., 2009, 2010). To date, only one study has compared sweat gland nerve fibre (SGNF) quantification and ESC, showing decreased ESC to be proportional to decreases in INF density and SGNF density in patients evaluated for small fibre neuropathy (Novak, 2016). As ESC is used to assess sweat gland function, we compared this technique with SGNF quantification, to determine whether the results of these two methods are correlated in patients with polyneuropathy of various origins evaluated for sudomotor function. In addition, we checked for a correlation between ESC results and somatic IENF density.

2. Methods

2.1. Patients

This retrospective single-centre study was carried out at the Limoges University Hospital, from May 2014 to June 2015. All patients with a suspected involvement of small nerve fibres (suspicion of neuropathic pain or autonomic involvement) routinely underwent skin biopsy and ESC measurement and were included in the study. Indeed, as a tertiary referral centre, we routinely look for autonomic involvement in patients who show peripheral neuropathy. However, our centre is also a community centre, receiving patients locally.

Study approval and subject consent: written consent was obtained from each patient (after clear information had been provided about the reason for the biopsies). This study was performed with retrospective data recorded during usual patient care. According to French legislation (the Jardé law concerning biomedical research on human subjects – November 2016), the study was approved by ethics committee (number 233-2017-19).

2.2. Sudomotor function

ESC was assessed with the Sudoscan device (Impeto Medical, Paris, France) in all participants, as previously described

(Casellini et al., 2013). A direct current (DC) with an incremental voltage (<4 V) was applied to the anode. The device automatically calculates ESC, expressed in microSiemens (μS), as the ratio between the current generated and the constant direct current stimulus applied to the electrodes, (Yajnik et al., 2012). Age, sex, weight and height data were systematically stored for the calculation of neuropathy scores (not used in this study), but these variables were not included in the ESC calculation. The results were split into two groups: abnormal ESC results (below the 5th percentile) (Vinik et al., 2016), and normal ESC results (Freedman et al., 2014; Vinik et al., 2016).

2.3. Skin biopsy

Skin biopsies were systematically performed for diagnostic purposes, after written consent was obtained. Proximal and distal leg skin samples were processed and stained with PGP 9.5 according to standard methods (Lauria et al., 2010b). Briefly, punch biopsies (3 mm diameter) were performed in sterile conditions, under local anaesthesia with lidocaine, as described elsewhere. Two samples were obtained from the same leg: a proximal sample from the outer surface of the thigh (20 cm below the iliac crest), and a distal sample from the outer surface of the lower leg (10 cm above the lateral malleolus). These samples were fixed for three hours in 4% paraformaldehyde, cryoprotected in 10% sucrose solution overnight, and then frozen in isopentane cooled with liquid nitrogen. Serial sections were cut with a cryostat. For each biopsy, three non-consecutive vertical 50 μm -thick sections were obtained, corresponding to a biopsy analysis on a maximum thickness of 300 μm . Optical immunofluorescence was performed by the PGP 9.5 (Protein Gene Product 9.5) axonal cytoplasmic staining method. Samples were incubated overnight, at room temperature, with polyclonal rabbit anti-human antibodies (1/600, UltraClone, Isle of Wight, UK). The tissues were then rinsed in phosphate-buffered saline and incubated for two hours at room temperature with a cyanine 3.18-conjugated, fluorescent (Cy 3) secondary antibody (1/50 Jackson, Interchim, France).

2.4. Quantification of intraepidermal nerve fibres

IENF density was quantified manually (by two operators blindly, at high magnification, with a NIKON Dxm1200 light microscope). Mean density was calculated from at least three non-consecutive sections, as the number of IENFs per length of section (fibres/mm), determined with NIS-Elements BR3.0 software. Single fibres crossing the dermal-epidermal junction were counted following established guidelines (Lauria et al., 2010b). Limoges University Hospital age-matched standards (normal quantification of IENF) for 108 healthy controls (Duchesne et al., 2015) were used. For the distal leg, the lower limit of normal values from our laboratory (5th percentile) for IENF density was 6.17 fibres/mm for subjects under the age of 50 years and 4.7 fibres/mm for subjects aged 50 years and over. For the proximal leg, the lower limit of the normal range was 6.29 fibres/mm for subjects less than 50 years and 6.57 for subjects aged 50 years and over. IENF density is the ratio of the number of fibres crossing the dermal epidermal junction to that in the epidermis (fibres/mm) (Lauria et al., 2010a). We did not use already published normative data for IENF density because the only one study reporting normative data used simple direct immunofluorescence (Nolano et al., 2015) on free floating sections whereas we used slide incubation.

2.5. Quantification of sudomotor innervation on skin biopsy specimens

The innervation of sweat glands was assessed on at least three non-consecutive sections, by fluorescence microscopy, with NIS-

Elements BR3.0 software. We systematically analysed all sweat glands on each of the three sections with a modified version of a published method (Gibbons et al., 2009). For each gland, we took two photographs: a blurry image and a sharp image. We estimated the total area of the gland manually by contouring. We then subtracted the signal of the blurry image from that of the sharp image, to eliminate background noise and retain only the fibres. We calculated the area of the fibres from this subtracted image. The innervation of each sweat gland can be assessed as the ratio of fibre area to total sweat gland area, expressed as a percentage. Although we did not directly compare our results with those obtained by the method described by Gibbons et al., we had an excellent intra- and interrater reproducibility. There are no established normative values for sweat gland innervation. Therefore, normative values were calculated from quantification of SGFN densities of the healthy controls used to establish normal IENF densities (sweat glands were present in biopsy specimens from 56 of the 108 healthy controls in total). Normative values from our laboratory (above the 5th percentile) for SGNF exceeded 2.41% for the distal leg, and 1.77% for the proximal thigh.

2.6. Statistical analysis

Analyses were carried out with SPSS 21.0 (IBM Corp.) and SAS 9.4 software. The threshold of significance for all statistical analyses was $p = 0.05$. As Novak (2016) revealed a hypothetical influence of weight on the interpretation of the results, we performed the correlation studies with and without adjustment for weight, to confirm or refute an effect of weight on unmyelinated fibre density. We used nonparametric tests because most of the variables were not normally distributed. Correlations between quantitative variables were assessed using Spearman's rank correlation tests (ρ). Mann-Whitney U tests were used to compare distributions between groups of subjects. Wilcoxon and χ^2 tests were used to compare mean ESC values according to skin biopsy results.

3. Results

3.1. Patients

Sixty-three patients were included in the study (Table 1). More than half were men (61.5%). All patients had disease that was stable for at least one year at the time of evaluation. 82.5% had neuropathic pain and only 11.1% showed clinical evidence of dysautonomia, mostly in the form of orthostatic hypotension. Although excessive sweating was not formally assessed, none of our patients reported clinically significant sweating problems. However, seven of them demonstrated autonomic involvement as reported in Table 1. Clinical, electrophysiological and laboratory assessment revealed that 71.4% of patients had of large fibre involvement, and 28.6% had a pure small fibre neuropathy. Moreover, 41.3% of cases had a condition known to cause neuropathy: amyloidosis, chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP), diabetes mellitus, hereditary sensory neuropathy (HSN), Charcot-Marie-Tooth neuropathy (CMT), chronic alcoholism, metabolic syndrome or vasculitis. The other patients were considered to have idiopathic sensory neuropathy after routine investigations, including a fasting glucose test, checks for high levels of alcohol consumption, vitamin deficiency, thyroid and liver disease, and renal failure. The mean time between skin biopsy and ESC measurement was 143.44 [0–1680] days. No sweat glands could be identified in some skin samples (34.9% of proximal biopsies and

Table 1
Characteristics of the patients.

	Mean \pm SD	n (%)
Age (n = 63)	60.6 \pm 13.3	
Male		41 (61.5)
Female		22 (34.9)
Mean time between skin biopsy and ESC (days)		143.44 [0–1680]
<i>Symptoms</i>		
Neuropathic pain		52 (82.50)
Autonomic involvement*		7 (11.10)
<i>Cause of neuropathy</i>		
Amyloid neuropathy		3 (4.8)
CIDP		8 (12.7)
Diabetes mellitus		9 (14.3)
Vasculitis		1 (1.6)
CMT		2 (3.2)
HSAN		1 (1.6)
Chronic alcoholism		1 (1.6)
Metabolic syndrome		1 (1.6)
No cause found		37 (58.7)
<i>Sudomotor function (n = 63)</i>		
HESC Right (μ S)	69.0 \pm 2.4	
HESC Left (μ S)	69.8 \pm 2.4	
HESC Mean (μ S)	69.3 \pm 2.4	
FESC Right (μ S)	67.9 \pm 2.6	
FESC Left (μ S)	66.8 \pm 2.8	
FESC Mean (μ S)	67.0 \pm 2.6	
<i>Skin biopsy</i>		
Proximal IENFD (fibres/mm) (n = 60)	9.6 \pm 0.5	
Distal IENFD (fibres/mm) (n = 63)	4.4 \pm 0.3	
Proximal SGNF (%) (n = 41)	4.8 \pm 0.6	
Distal SGNF (%) (n = 46)	4.1 \pm 0.5	

CMT: Charcot Marie Tooth neuropathy. ESC: electrochemical skin conduction. FESC: foot electrochemical skin conductance. HESC: hand electrochemical skin conductance. HSN: hereditary sensitive and autonomic neuropathy. IENFD: intraepidermal nerve fibre density. SGNF: sweat gland nerve fibre density. CIDP: chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy.

* Including orthostatic hypotension and/or diarrhoea and/or urinary incontinence and/or vasomotor symptoms and/or sudomotor trouble and/or cardiac dysrhythmia.

26.9% of distal biopsies) even after cutting of serial sections. Fig. 1 shows examples of SGNF and IENF from our cohort.

3.2. Correlation between ESC and SGNF density and between ESC and IENF density

No significant correlation or even a trend towards correlation was observed between SGNF and ESC without adjustment for weight. However, following adjustment of both SGNF and ESC for weight, a significant correlation was found (Table 2). The strongest correlation was that between foot ESC (FESC) and distal SGNF (without adjustment: $r = 0.23$; $p = 0.131$ /with adjustment $r = 0.49$; $p = 0.0005$; Fig. 2). Similarly, significant correlations between IENFD and ESC were observed only after adjustment for weight, with a stronger correlation between FESC and distal IENFD (without adjustment: $r = 0.17$; $p = 0.178$ /with adjustment: $r = 0.42$; $p = 0.0005$; Fig. 2).

After adjustment for weight, mean foot ESC was significantly higher in the normal proximal SGNF group than in the abnormal proximal SGNF group ($0.9 \pm 0.4 \mu$ S/kg versus $0.6 \pm 0.2 \mu$ S/kg; $p = 0.0444$) and for distal SGNF as well ($1.0 \pm 0.3 \mu$ S/kg versus $0.7 \pm 0.4 \mu$ S/kg; $p = 0.0419$) (Fig. 3). The same pattern was observed for IENFD: after adjustment for weight, mean foot ESC was significantly higher in the normal proximal IENFD group than in the

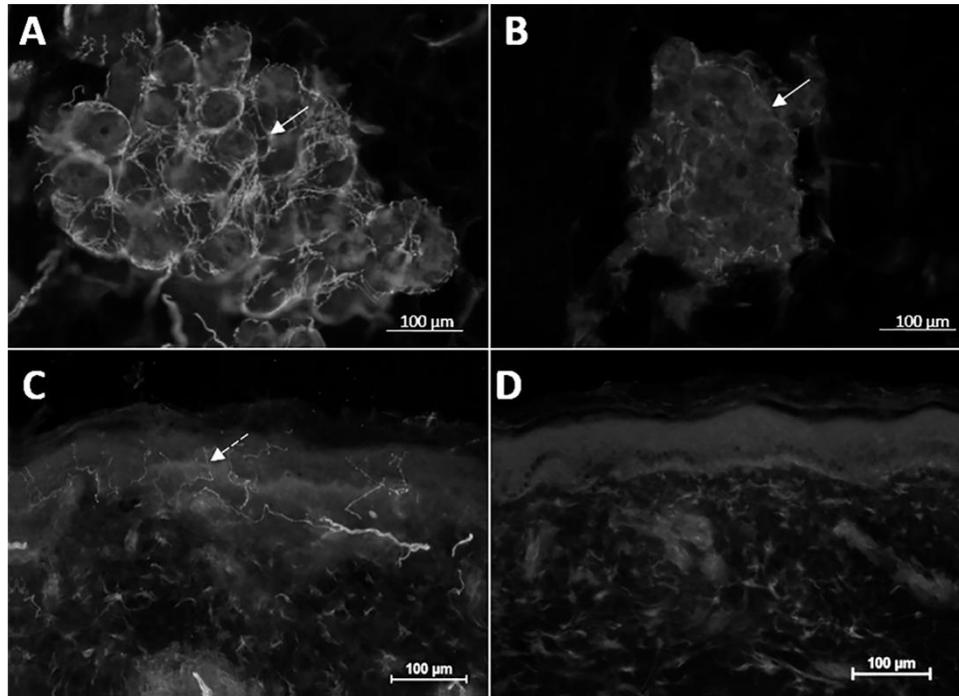


Fig. 1. Representative examples of unmyelinated fibres in skin biopsy specimens: SGNF (A and B) and IENF (C and D). Original colour photograph converted to grey scale. Optical fluorescence microscopy of sweat gland, x400, pan-neuronal PGP 9.5 staining. Full arrow: autonomic unmyelinated nerve fibre. Dotted arrow: somatic unmyelinated nerve fibre. (A) Sweat gland with normal innervation (normal SGNF density). (B) Sweat gland with fibre loss of (abnormal SGNF density). (C) Epidermis with normal innervation (normal IENF density). (D) Epidermis with fibre loss (abnormal IENF density). IENF: Intraepidermal nerve fibre. SGNF: Sweat gland nerve fibre.

Table 2
Correlation between ESC and SGNF density and between ESC and IENF density.

		Without adjustment for weight		With adjustment for weight	
		Coefficient	<i>p</i>	Coefficient	<i>p</i>
HESC and	Proximal SGNFD	0.15	0.345	0.42	0.0067*
	Distal SGNFD	0.04	0.804	0.32	0.0276*
	Proximal IENFD	0.04	0.771	0.37	0.0032*
	Distal IENFD	0.15	0.231	0.36	0.0038*
FESC and	Proximal SGNFD	0.16	0.309	0.37	0.0159*
	Distal SGNFD	0.23	0.131	0.49	0.0005*
	Proximal IENFD	0.05	0.698	0.42	0.0009*
	Distal IENFD	0.17	0.178	0.42	0.0005*

FESC: foot electrochemical skin conductance. HESC: hand electrochemical skin conductance. IENFD: intraepidermal nerve fibre density. FESC: foot electrochemical skin conductance. SGNFD: sweat gland nerve fibre density.

* *p* value < 0.05.

abnormal proximal IENFD group ($0.9 \pm 0.3 \mu\text{S}/\text{kg}$ versus $0.7 \pm 0.4 \mu\text{S}/\text{kg}$; $p = 0.0193$). The same was true for distal IENFD ($1.1 \pm 0.3 \mu\text{S}/\text{kg}$ versus $0.8 \pm 0.3 \mu\text{S}/\text{kg}$; $p = 0.0425$) (Fig. 3).

3.3. Relationship between SGNF density and IENF density

A significant correlation was found between distal IENFD and distal SGNFD ($r = 0.4$; $p = 0.006$), but not between proximal IENFD and proximal SGNFD ($r = 0.25$; $p = 0.12$).

3.4. Correlation with age, sex, weight and height (Table 3)

ESC, SGNFD and IENFD were not correlated with height or weight, except for proximal SGNFD, which was weakly inversely correlated with weight ($r = -0.34$; $p = 0.0316$). IENF and SGNF densities were higher in women than in men: Mann and Whitney tests revealed a significant difference between men and women for proximal IENFD (men: 8.73 ± 0.91 , women: 13.28 ± 1.11 ; $p = 0.036$), proximal SGNFD (men: 3.43 ± 0.57 , women: 6.77 ± 0.90 ; $p = 0.001$) and distal SGNFD (men: 3.49 ± 0.46 , female: 5.45 ± 0.4

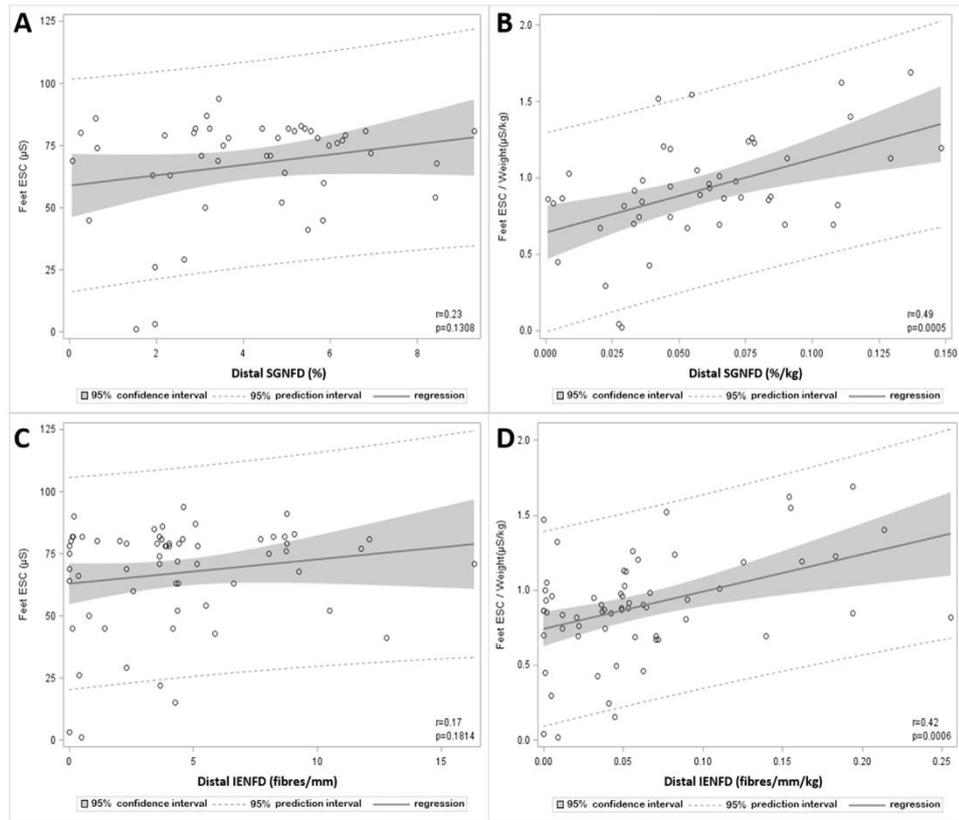


Fig. 2. Correlation between FESC and distal SGNFD, and distal IENFD without (A and C) and with (B and D) adjustment for weight. ESC: Electrochemical skin conductance. IENFD: Intraepidermal nerve fibre density. SGNFD: Sweat gland nerve fibre density. *r*: Correlation coefficient.

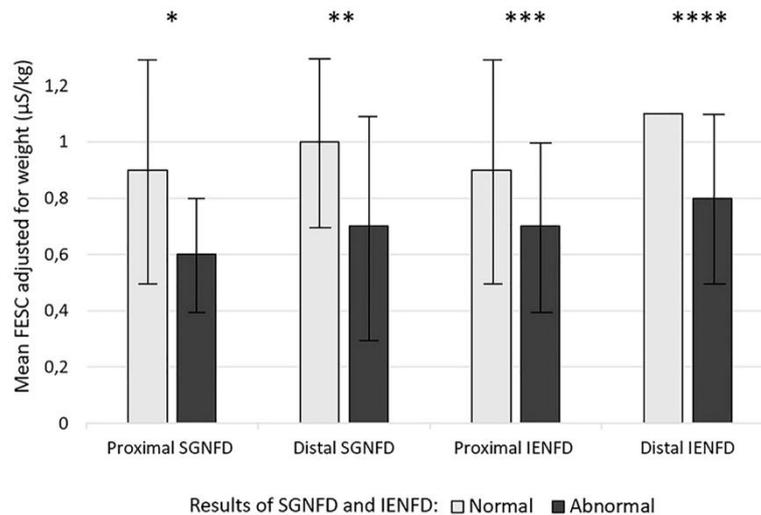


Fig. 3. Comparison of foot ESC/weight means according to IENFD and SGNFD. ESC: Electrochemical skin conductance. IENFD: Intraepidermal nerve fibre density. SGNFD: Sweat gland nerve fibre density. *p* = 0.041. *p* = 0.044. *p* = 0.012. *p* = 0.042.

Table 3
Correlation of Sudoscan and skin biopsy with height, weight, age and gender.

	Height	Weight	Age	Gender
<i>Proximal IENFD</i>				
Coefficient	−0.19	−0.19	−0.39	0.27
p value	0.14	0.15	0.002 [*]	0.03 [*]
n	60	60	59	60
<i>Distal IENFD</i>				
Coefficient	−0.07	−0.11	−0.46	0.19
p value	0.59	0.34	0.0002 [*]	0.14
n	63	63	62	63
<i>Proximal SGNFD</i>				
Coefficient	−0.19	−0.34	−0.15	0.51
p value	0.24	0.03 [*]	0.35	0.0007 [*]
n	41	41	40	41
<i>Distal SGNFD</i>				
Coefficient	−0.15	−0.22	−0.03	0.36
p value	0.32	0.14	0.86	0.0153 [*]
n	46	46	45	46
<i>Mean HESC</i>				
Coefficient	−0.06	0.08	−0.28	0.03
p value	0.61	0.53	0.03	0.80
n	63	63	62	63
<i>Mean FESC</i>				
Coefficient	0.07	0.15	−0.09	−0.04
p value	0.56	0.24	0.50	0.75
n	63	63	62	63

FESC: Foot electrochemical skin conductance. HESC: Hand electrochemical skin conductance. IENFD: intraepidermal nerve fibre density. SGNFD: sweat gland nerve fibre density.

^{*} p value < 0.05.

8, $p = 0.017$). Finally, there was a significant inverse correlation between age and proximal IENFD ($r = -0.39$; $p = 0.002$) and between age and distal IENFD ($r = -0.46$; $p = 0.0002$), and a small but significant inverse correlation between age and hand ESC ($r = -0.28$; $p = 0.0285$).

4. Discussion

We found significant correlations between ESC and SGNFD and a weaker correlation between ESC and IENFD. Thus, ESC may be useful for assessing the function of autonomic unmyelinated fibres innervating sweat glands, and our results confirm that ESC and SGNFD explore the same (autonomic) fibres. However, the correlations between ESC and SGNFD remained weak, and the fact that several patients with an abnormal ESC had a normal SGNFD, suggests that some unmyelinated fibres are present but not functional.

Our results are not entirely new, since Novak (2016) already explored ESC and skin biopsy findings in a highly selected population of patients with small fibre neuropathy. We partially confirm these previous results and extend these findings to a population with a broader range of neuropathic syndromes including SFN and mixed fibre neuropathy. Moreover, we report a more complete pathological evaluation including IENF and SGNF quantification at the proximal as well as distal level. In addition to the poor correlation between ESC and IENFD density, we found a weak ($r < 0.6$) but significant correlation between distal SGNFD and IENFD ($r = 0.40$, $p = 0.006$). Gibbons et al. ($r = 0.66$, $p < 0.05$) and Novak ($r = 0.52$, $p < 0.0001$) also highlighted this correlation, with a slightly higher coefficient (Gibbons et al., 2009; Novak, 2016). These results underline the difference between the somatic unmyelinated fibres terminating in the epidermis and the autonomic unmyelinated fibres terminating in the dermis. Moreover, they confirm that, despite their histological similarities, these two types of fibres have very different functions and their involvement may not be concomitant in most patients with peripheral neuropathy (by contrast with neuropathy associated with diabetes mellitus or familial amyloid polyneuropathy where autonomic and somatic involvement

occurs simultaneously). Indeed, patients with sensory neuropathy involving small fibres do not necessarily have associated autonomic involvement, and vice versa: this is particularly true for small-fibre neuropathy, which may be “autonomic”, “sensory” or “mixed” (Novak et al., 2001; Devigili et al., 2008).

The better correlation observed after the adjustment of ESC and fibre densities for weight is difficult to interpret, despite the lack of a clear correlation between IENFD, SGNFD, ESC and weight. One possible explanation may be that the number of sweat glands per person remains constant regardless of weight, which is not a stable variable. The weight-adjusted results would therefore be more accurate (the number of sweat glands and IENFs may be artificially lower in an overweight person than in someone of “normal weight”). However, adjustment for body surface area did not give similar or better correlations. Nevertheless, our results are consistent with those of Novak (2016), who also observed significant correlations only after adjustment for weight ($r = 0.64$, $p = 0.0001$ for SGNF and $r = 0.73$, $p = 0.0001$ for IENF). Novak et al. justified their methodology based on weight adjustment resulting in a Gaussian distribution of normal ESC, an exponential distribution of IENFD and a Weibull distribution of SGNFD. They discussed a role for the pressure exerted on the apparatus electrodes, which would be proportional to weight, but this hypothesis does not explain the improvement of the correlations observed following the adjustment of IENFD and SGNFD for weight. Finally, they suggested that larger foot sizes would result in a larger surface area in contact with the electrodes, but we found that adjustment for body surface area resulted in weaker correlations. Nevertheless, these findings confirm that weight is important in the analysis of small fibres, with an apparent but poorly understood effect on density measurements. More data should be collected in the future, for all skin samples, and it may be necessary to incorporate weight into normative values to increase precision.

We found no correlation between age and SGNFD, confirming previous reports (Gibbons et al., 2009). Similarly, the inverse correlation between age and IENFD is consistent with results from Lauria's study (Lauria et al., 2010a), and with published reports of agerelated fibre loss (Jacobs and Love, 1985). No correlation with

weight and height was found, consistent with previous studies (Gibbons et al., 2009; Lauria et al., 2010b). The correlations between proximal and distal IENFD ($r = 0.69$, $p < 0.0001$) and $r = 0.511$, $p < 0.0001$) and between proximal and distal SGNFD ($r = 0.41$, $p = 0.017$) confirm published data (McArthur et al., 1998) and demonstrate the reliability of our technique.

The exploration of sudomotor function is widely used to evaluate an important component of the autonomic nervous system. At the morphological level, skin biopsy analyses with pan-neuronal markers provide a quantitative analysis of somatic intraepidermal small nerve fibres and autonomic fibres innervating sweat glands. However, despite the existence of a precise and published methodology for SGNFD quantification (Gibbons et al., 2009), no normative values for routine use are available, and few comparisons with neurophysiological techniques (notably with the QSART) have been performed for validation. Moreover, no sweat glands were found in 34.9% of proximal and 26.9% of distal skin samples, severely limiting interpretation. The use of a larger number of biopsy sites or of larger punch biopsies would probably overcome this difficulty. The autonomic nervous system, remains difficult to evaluate. Sweat function tests, such as ESC or QSART, and morphologic evaluation of sweat gland innervation may explore only the cholinergic post-ganglionic neurons, potentially accounting for the discordant normal results in people who have true autonomic disturbances. Skin biopsy is also subject to other limitations: PGP 9.5 is a pan-neuronal marker which is not specific for any type of nerve fibre. For autonomic fibres, PGP 9.5 is not specific for SGNFs because it also labels the autonomic fibres supplying vessels and pilomotor muscles, resulting in a quantification bias. Similarly, PGP 9.5 provides information about the presence or absence of fibres, but not about their functionality. Other markers, such as vasoactive intestinal peptide (VIP) or vesicular acetylcholine transporter (VACHT), have been shown to be more accurate for analyses of SGNF innervation, although they do not provide a true reflection of fibre function (Donadio and Liguori, 2011). Similarly, for pain pathways, the neuropeptides present in the spinal ganglion, such as substance P or calcitonin gene-related peptide (CGRP), which are released antidromically along the nociceptive fibres, would provide a better reflection of functional fibre integrity. Comparisons of anti-PGP 9.5 and anti-VIP skin immunolabelling have shown that abnormalities are detected earlier with VIP, suggesting that VIP labelling could be used to detect early functional abnormalities occurring before fibre loss (Properzi et al., 1993; Chao et al., 2015).

In conclusion, ESC measurement is a novel method of potential value for assessing sudomotor function, which is one of the more accessible parts of the autonomic nervous system. Nevertheless, the weak correlation between ESC and unmyelinated nerve fibre density in skin biopsy specimens suggests that mechanisms other than the loss of their innervating fibres may account for sweat gland dysfunction. Functional skin markers should be developed to elucidate the relationship between symptoms and impairment of small nerve fibres. Finally, the role of weight in the interpretation of skin biopsy results must be considered.

Acknowledgements

We thank Jean-Henri Calvet and Alice Vilier (Impeto Medical, Paris) for their assistance in interpreting results.

Conflict of interest

None of the authors has potential conflicts of interest to be disclosed.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

References

- Casellini CM, Parson HK, Richardson MS, Nevoret ML, Vinik AI. Sudoscan, a noninvasive tool for detecting diabetic small fiber neuropathy and autonomic dysfunction. *Diabetes Technol Ther* 2013;15:948–53.
- Castro J, Miranda B, Castro I, de Carvalho M, Conceição I. The diagnostic accuracy of Sudoscan in transthyretin familial amyloid polyneuropathy. *Clin Neurophysiol* 2016;127:2222–7.
- Chao CC, Huang CM, Chiang HH, Luo KR, Kan HW, Yang NC, et al. Sudomotor innervation in transthyretin amyloid neuropathy: pathology and functional correlates. *Ann Neurol* 2015;78:272–83.
- Devigili G, Tugnoli V, Penza P, Camozzi F, Lombardi R, Melli G, et al. The diagnostic criteria for small fibre neuropathy: from symptoms to neuropathology. *Brain J Neurol* 2008;131:1912–25.
- Dineen J, Freeman R. Autonomic neuropathy. *Semin Neurol* 2015;35:458–68.
- Donadio V, Liguori R. Methods of sudomotor innervation quantification. *Muscle Nerve* 2011;43:920–1.
- Duchesne M, Mathis S, Corcia P, Richard L, Ghorab K, Jaccard A, et al. Value of nerve biopsy in patients with latent malignant hereditary and peripheral neuropathy: a case series. *Medicine (Baltimore)* 2015;94:e394.
- Eranki VG, Santosh R, Rajitha K, Pillai A, Sowmya P, Dupin J, et al. Sudomotor function assessment as a screening tool for microvascular complications in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2013;101:e11–3.
- Freedman BI, Bowden DW, Smith SC, Xu J, Divers J. Relationships between electrochemical skin conductance and kidney disease in Type 2 diabetes. *J Diabetes Compl* 2014;28:56–60.
- Freedman BI, Smith SC, Bagwell BM, Xu J, Bowden DW, Divers J. Electrochemical skin conductance in diabetic kidney disease. *Am J Nephrol* 2015;41:438–47.
- Freeman R, Chapleau MW. Testing the autonomic nervous system. *Handb Clin Neurol* 2013;115:115–36.
- Gibbons CH, Illigens BMW, Centi J, Freeman R. QDIRT: quantitative direct and indirect test of sudomotor function. *Neurology* 2008;70:2299–304.
- Gibbons CH, Illigens BMW, Wang N, Freeman R. Quantification of sweat gland innervation: a clinical-pathologic correlation. *Neurology* 2009;72:1479–86.
- Gibbons CH, Illigens BMW, Wang N, Freeman R. Quantification of sudomotor innervation: a comparison of three methods. *Muscle Nerve* 2010;42:112–9.
- Illigens BMW, Gibbons CH. Sweat testing to evaluate autonomic function. *Clin Auton Res* 2009;19:79–87.
- Jacobs JM, Love S. Qualitative and quantitative morphology of human sural nerve at different ages. *Brain J Neurol* 1985;108:897–924.
- Lauria G, Bakkers M, Schmitz C, Lombardi R, Penza P, Devigili G, et al. Intraepidermal nerve fiber density at the distal leg: a worldwide normative reference study. *J Peripher Nerv Syst* 2010a;15:202–7.
- Lauria G, Hsieh ST, Johansson O, Kennedy WR, Leger JM, Mellgren SI, et al. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on the use of skin biopsy in the diagnosis of small fiber neuropathy. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society. *Eur J Neurol* 2010b;17(903–12):e44–9.
- Luk AOY, Fu W-C, Li X, Ozaki R, Chung HHY, Wong RYM, et al. The clinical utility of SUDOSCAN in chronic kidney disease in Chinese patients with type 2 diabetes. Balasubramanyam M, editor. *PLoS One*. 2015;10:e0134981.
- Mayaudon H, Miloche P-O, Bauduceau B. A new simple method for assessing sudomotor function: relevance in type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 2010;36:450–4.
- McArthur JC, Stocks EA, Hauer P, Cornblath DR, Griffin JW. Epidermal nerve fiber density: normative reference range and diagnostic efficiency. *Arch Neurol* 1998;55:1513–20.
- Nolano M, Biasiotta A, Lombardi R, Provitera V, Stancanelli A, Caporaso G, et al. Epidermal innervation morphometry by immunofluorescence and bright-field microscopy. *J Peripher Nerv Syst* 2015;20:387–91.
- Novak P. Electrochemical skin conductance correlates with skin nerve fiber density. *Front Aging Neurosci* 2016;8:199.
- Novak V, Freimer ML, Kissel JT, Sahenk Z, Periquet IM, Nash SM, et al. Autonomic impairment in painful neuropathy. *Neurology* 2001;56:861–8.
- Properzi G, Francavilla S, Poccia G, Aloisi P, Gu XH, Terenghi G, et al. Early increase precedes a depletion of VIP and PGP-9.5 in the skin of insulin-dependent diabetics—correlation between quantitative immunohistochemistry and clinical assessment of peripheral neuropathy. *J Pathol* 1993;169:269–77.
- Sahuc P, Chiche L, Dussol B, Pouget J, Franques J. Sudoscan as a noninvasive tool to assess sudomotor dysfunction in patients with Fabry disease: results from a case-control study. *Ther Clin Risk Manag* 2016;12:135–8.
- Selvarajah D, Cash T, Davies J, Sankar A, Rao G, Grieg M, et al. SUDOSCAN: a simple, rapid, and objective method with potential for screening for diabetic peripheral neuropathy. *PLoS One* 2015;10:e0138224.
- Smith AG, Lessard M, Reyna S, Doudova M, Singleton JR. The diagnostic utility of Sudoscan for distal symmetric peripheral neuropathy. *J Diabetes Compl* 2014;28:511–6.
- Thaisethawatkul P, Fernandes Filho JAM, Herrmann DN. Contribution of QSART to the diagnosis of small fiber neuropathy. *Muscle Nerve* 2013;48:883–8.

Vinik AI, Nevoret M-L, Casellini C. The new age of sudomotor function testing: a sensitive and specific biomarker for diagnosis, estimation of severity, monitoring progression, and regression in response to intervention. *Front Endocrinol* 2015;6:94.

Vinik AI, Smith AG, Singleton JR, Callaghan B, Freedman BI, Tuomilehto J, et al. Normative values for electrochemical skin conductances and impact of

ethnicity on quantitative assessment of sudomotor function. *Diabetes Technol Ther* 2016;18:391–8.

Yajnik CS, Kantikar VV, Pande AJ, Deslypere JP. Quick and simple evaluation of sudomotor function for screening of diabetic neuropathy. *ISRN Endocrinol* 2012;2012:103714.

III.1.3. RESULTATS COMPLEMENTAIRES

III.1.3.1. CONCORDANCE ENTRE LES EXAMENS

L'interprétation en milieu médical des examens étant soumise à des valeurs normales, nous avons recherché une concordance entre les deux examens (via le test exact de Fisher), afin de savoir si un SUDOSCAN® « normal » est concordant avec une densité des FNGS « normale » et une densité des FNIE « normale ». La difficulté de cette comparaison était la présence d'un groupe « SUDOSCAN® intermédiaire ». Le SUDOSCAN® et la biopsie cutanée étaient concordants dans 77,40%, lorsqu'on incluait les « SUDOSCAN® intermédiaires » au groupe « SUDOSCAN normal », et dans 63,6% lorsque les « SUDOSCAN® intermédiaires » étaient inclus dans le groupe « SUDOSCAN® anormal ». Les « SUDOSCAN® intermédiaires » ont donc été regroupés avec les « SUDOSCAN® normaux » pour la suite de l'analyse.

Concernant la comparaison du SUDOSCAN® à la densité des FNGS :

- Les CCE des pieds et la densité des FNGS distales (cheville) étaient significativement concordants ($p = 0,049$) (test exact de Fisher) : lorsque les CCE des pieds sont normales, les FNGS seront le plus souvent normales et inversement.
- Les médianes des CCE des mains étaient significativement différentes entre les densités de FNGS proximales normales (80,0 [64,0-83,0] fibres/mm²) et anormales (69,5 [60,0-80,5] fibres/mm²) ($p = 0,0162$).
- Après ajustement des CCE au poids : les moyennes des CCE des pieds étaient significativement différentes entre les densités de FNGS proximales normales et anormales, et entre les densités de FNGS distales normales et anormales.

Concernant la comparaison du SUDOSCAN® à la densité des FNIE :

Il n'y avait aucune concordance significative entre les deux examens (test exact de Fisher). Cependant, les médianes des CCE des mains étaient significativement différentes entre les densités de FNIE distales normales (82.0 [79.0-84.0] fibres/mm²) et anormales (70.5 [59.0-81.0] fibres/mm²) ($p = 0,009$). Après ajustement des CCE au poids : les moyennes des CCE des

pieds étaient significativement différentes entre les densités de FNIE proximales normales et anormales, et entre les densités de FNIE distales normales et anormales.

III.1.3.2. INFLUENCE DU POIDS SUR LES FNIE

Le poids semblant jouer un rôle sur l'interprétation des résultats de l'étude présentée ci-dessus, il paraissait important de poursuivre les analyses en se focalisant sur cette mesure afin d'étayer l'influence du poids sur la densité des FNIE.

III.1.3.2.1. Méthodologie

Tous les patients faisant partie du groupe « témoins sains » concernant les biopsies de peau du CHU de Limoges et ayant leur poids et taille dans leur dossier clinique ont été inclus dans cette analyse complémentaire. Les densités proximale et distale des FNIE et des FNGS ont été ajustées au poids, à la taille et à l'indice de masse corporelle (BMI = body mass index, qui correspond à la taille au carré divisée par le poids) en divisant chaque densité par la valeur de ces trois mesures. Du fait de la distribution normale des valeurs uniquement pour l'âge et la taille des patients, des tests non paramétriques ont été utilisés pour la suite des analyses. Une recherche de corrélation (test de Spearman) entre les densités des FNIE proximale et distale a été réalisée : sans ajustement, avec ajustement au poids, à la taille puis au BMI.

III.1.3.2.2. Résultats

Le **Tableau 3** présente les caractéristiques générales des patients sans ajustement au poids, à la taille et au BMI. Les patients ayant un poids supérieur à 80 kg ont une densité distale de FNIE inférieure aux patients ayant un poids inférieur à 80 kg (moyenne \pm écart type : $8,3 \pm 0,5$ versus $10,10 \pm 0,6$; médiane [Q1 ; Q3] : $7,8 [6,5 ; 9,9]$ versus $9,3 [7,2 ; 12,3]$), de même qu'en proximal à l'exception de la médiane (moyenne \pm écart type : $11,9 \pm 0,8$ versus $12,7 \pm 0,7$; médiane [Q1 ; Q3] : $12,31 [8,9 ; 14,6]$ versus $12,13 [9,8 ; 13,8]$). Ces différences sont présentes mais moins marquées lorsqu'on compare les patients mesurant moins de 175 cm à ceux mesurant plus de 175 cm (en distal, moyenne \pm écart type : $9,7 \pm 0,6$ versus $8,4 \pm 0,6$;

médiane [Q1 ; Q3] : 9,1 [6,8 ; 12,2] versus 8,1 [6,4 ; 9,3]) ; en proximal, moyenne \pm écart type : $12,8 \pm 0,8$ versus $11,5 \pm 0,8$; médiane [Q1 ; Q3] : 12,1 [10,3 ; 14,2] versus 12,0 [8,3 ; 14,4]). Enfin, on observait également une différence entre les patients avec un BMI supérieur à 30 de ceux ayant un BMI inférieur à 30 (en distal, moyenne \pm écart type : $9,0 \pm 0,6$ versus $9,5 \pm 0,6$; médiane [Q1 ; Q3] : 8,5 [6,6 ; 11,1] versus 9,0 [6,9 ; 12,1]) ; en proximal, moyenne \pm écart type : $11,6 \pm 0,6$ versus $13,23 \pm 0,9$; médiane [Q1 ; Q3] : 11,9 [8,9 ; 14,1] versus 12,1 [10,1 ; 15,5]).

Le **Tableau 4** reprend les moyennes et médianes des densités proximale et distale de FNIE ajustées au poids, à la taille et au BMI. L'ensemble est représenté sur la **Figure 27**. Une corrélation significative positive mais faible est présente entre les densités proximale et distale sans ajustement ($\rho = 0,29$; $p = 0,021$). L'ajustement au poids, à la taille et au BMI augmente la corrélation entre les deux variables. Le coefficient de corrélation est le plus fort lors de l'ajustement au poids ($\rho = 0,52$; $p = 0,000016$) (**Figure 28**), comparativement à l'ajustement à la taille et au BMI qui ont le même coefficient de corrélation ($\rho = 0,46$; $p = 0,0006$).

Tableau 3. Caractéristiques générales des patients témoins

		All	Female	Male
Samples	n	69	35	34
Age (years)	Mean \pm SEM	45.6 \pm 1.8	51 \pm 2.6	40.1 \pm 2.0
	Median [Min ; Max]	46 [13 ; 74]	49 [16 ; 74]	41.5 [13 ; 65]
Weight (kg)	Mean \pm SEM	76.7 \pm 2.4	67.6 \pm 2.5	85.2 \pm 3.4
	Median [Min ; Max]	72.5 [44 ; 145]	67 [44 ; 104]	79 [58 ; 145]
Body Size (m)	Mean \pm SEM	1.70 \pm 0.01	1.63 \pm 0.01	1.78 \pm 0.01
	Median [Min ; Max]	1.71 [1.54 ; 1.93]	1.61 [1.54 ; 1.8]	1.77 [1.62 ; 1.93]
Body Mass Index (BMI)	Mean \pm SEM	30.1 \pm 0.7	30.0 \pm 1.2	30.2 \pm 1.1
	Median [Min ; Max]	29.3 [18.3 ; 44.3]	28.6 [20.4 ; 42.2]	29.9 [18.3 ; 44.3]
Distal DFNIE	Mean \pm SEM	9.5 \pm 0.4	9.9 \pm 0.7	9.1 \pm 0.5
	Median [Min ; Max]	9.0 [3.5 ; 19]	9.7 [3.5 ; 19]	8.5 [4.7 ; 18.1]
Proximal DFNIE	Mean \pm SEM	12.3 \pm 0.5	13.0 \pm 0.9	11.6 \pm 0.6
	Median [Min ; Max]	12.2 [4.6 ; 34.0]	12.4 [4.6 ; 34.0]	11.9 [5.8 ; 17.9]

SEM : standard error of mean. DFNIE : densité des fibres nerveuses intra-épidermiques. Body size : taille. Weight : poids.

Tableau 4. Densité des FNIE après ajustement au poids, à la taille et au BMI

		All	Female	Male
Samples	n	69	35	34
Distal DFNIE normalized by weight	Mean \pm SEM	0.134 \pm 0.008	0.156 \pm 0.013	0.114 \pm 0.009
	Median [Min ; Max]	0.118 [0.04 ; 0.39]	0.145 [0.055 ; 0.39]	0.106 [0.04 ; 0.26]
Proximal DFNIE normalized by weight	Mean \pm SEM	0.175 \pm 0.012	0.21 \pm 0.02	0.142 \pm 0.008
	Median [Min ; Max]	0.161 [0.045 ; 0.68]	0.181 [0.105 ; 0.68]	0.138 [0.045 ; 0.253]
Distal DFNIE normalized by body size	Mean \pm SEM	5.46 \pm 0.28	5.98 \pm 0.46	5.01 \pm 0.31
	Median [Min ; Max]	5.15 [2.12 ; 11.69]	5.80 [2.12 ; 11.69]	4.55 [2.53 ; 9.07]
Proximal DFNIE normalized by body size	Mean \pm SEM	7.32 \pm 0.38	8.17 \pm 0.66	6.54 \pm 0.34
	Median [Min ; Max]	7.02 [2.89 ; 21.96]	7.49 [2.89 ; 21.96]	6.70 [3.13 ; 10.14]
Distal DFNIE normalized by BMI	Mean \pm SEM	0.322 \pm 0.018	0.346 \pm 0.032	0.302 \pm 0.021
	Median [Min ; Max]	0.306 [0.124 ; 0.826]	0.292 [0.125 ; 0.826]	0.308 [0.124 ; 0.664]
Proximal DFNIE normalized by BMI	Mean \pm SEM	0.432 \pm 0.026	0.476 \pm 0.05	0.395 \pm 0.024
	Median [Min ; Max]	0.422 [0.148 ; 1.343]	0.432 [0.238 ; 1.343]	0.409 [0.148 ; 0.675]

SEM : standard error of mean. DFNIE : densité des fibres nerveuses intra-épidermiques. Body size : taille. Weight : poids.

Tableau 5. Corrélation entre les densités des FNIE proximale et distale

		Coefficient de Spearman	p value
<i>Sans ajustement</i>	\leq 45 ans	0,29	0,114
	$>$ 45 ans	0,26	0,139
<i>Ajustement au poids</i>	\leq 45 ans	0,51	0,0047*
	$>$ 45 ans	0,50	0,0031*
<i>Ajustement à la taille</i>	\leq 45 ans	0,47	0,015*
	$>$ 45 ans	0,47	0,013*
<i>Ajustement au BMI</i>	\leq 45 ans	0,30	0,131
	$>$ 45 ans	0,51	0,0066*

*p value significative

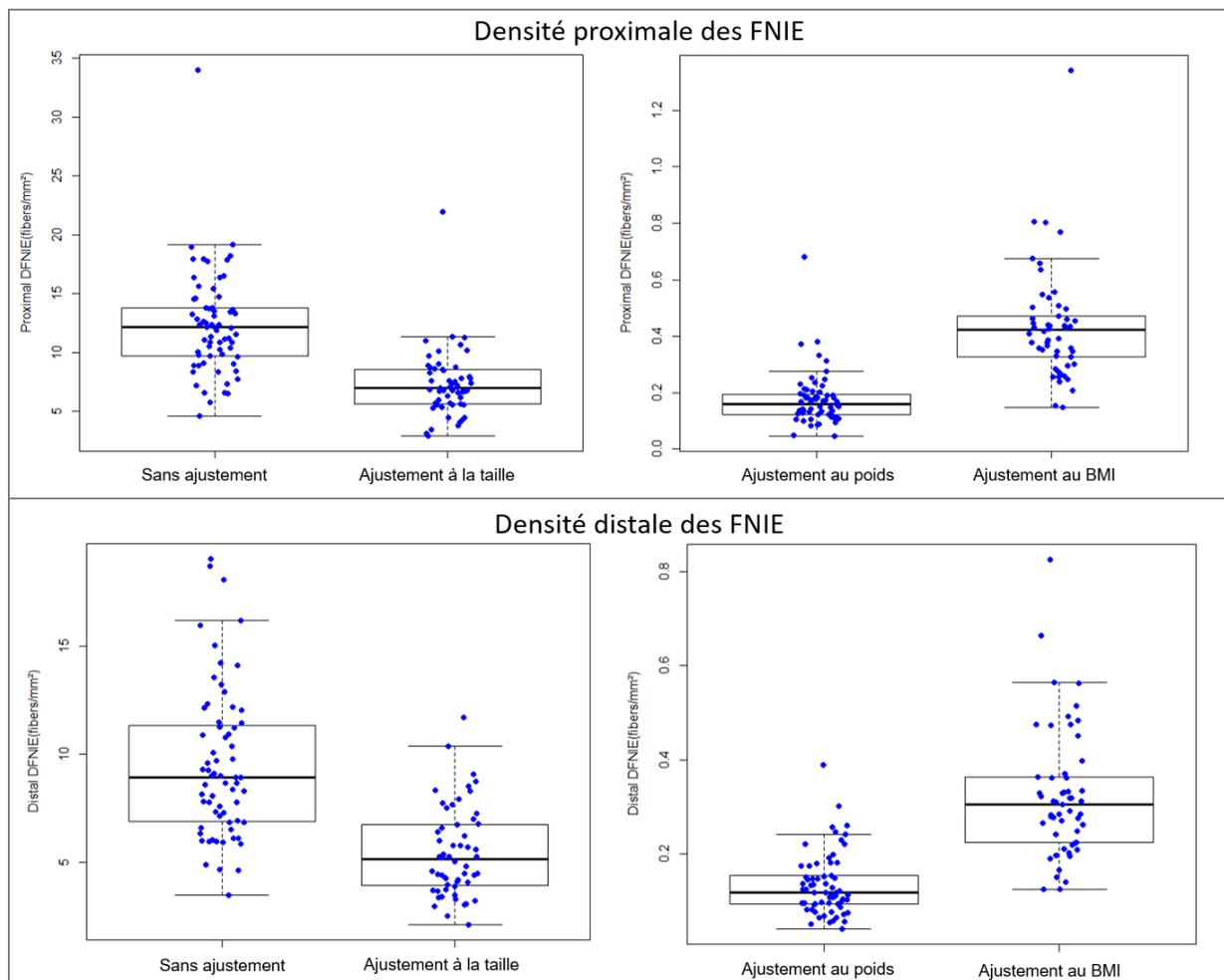


Figure 27. Répartition des densités de FNIE en proximal et en distal sans et avec ajustement au poids, à la taille et au BMI

DFNIE : densité des fibres nerveuses intra-épidermiques. Fibers : fibres.

L'analyse stratifiée par rapport à l'âge (> 45ans et < 45ans) donnait des résultats similaires : une augmentation du coefficient de corrélation lors de l'ajustement au poids, à la taille et au BMI avec le coefficient le plus fort lors de l'ajustement au poids (**Tableau 5**). La **Figure 29** illustre la corrélation entre les deux variables en fonction de l'ajustement : sans, au poids, à la taille, au BMI.

Aucune corrélation n'a été mise en évidence entre la densité proximale et la densité distale des FNGS, et cela avant et après ajustement.

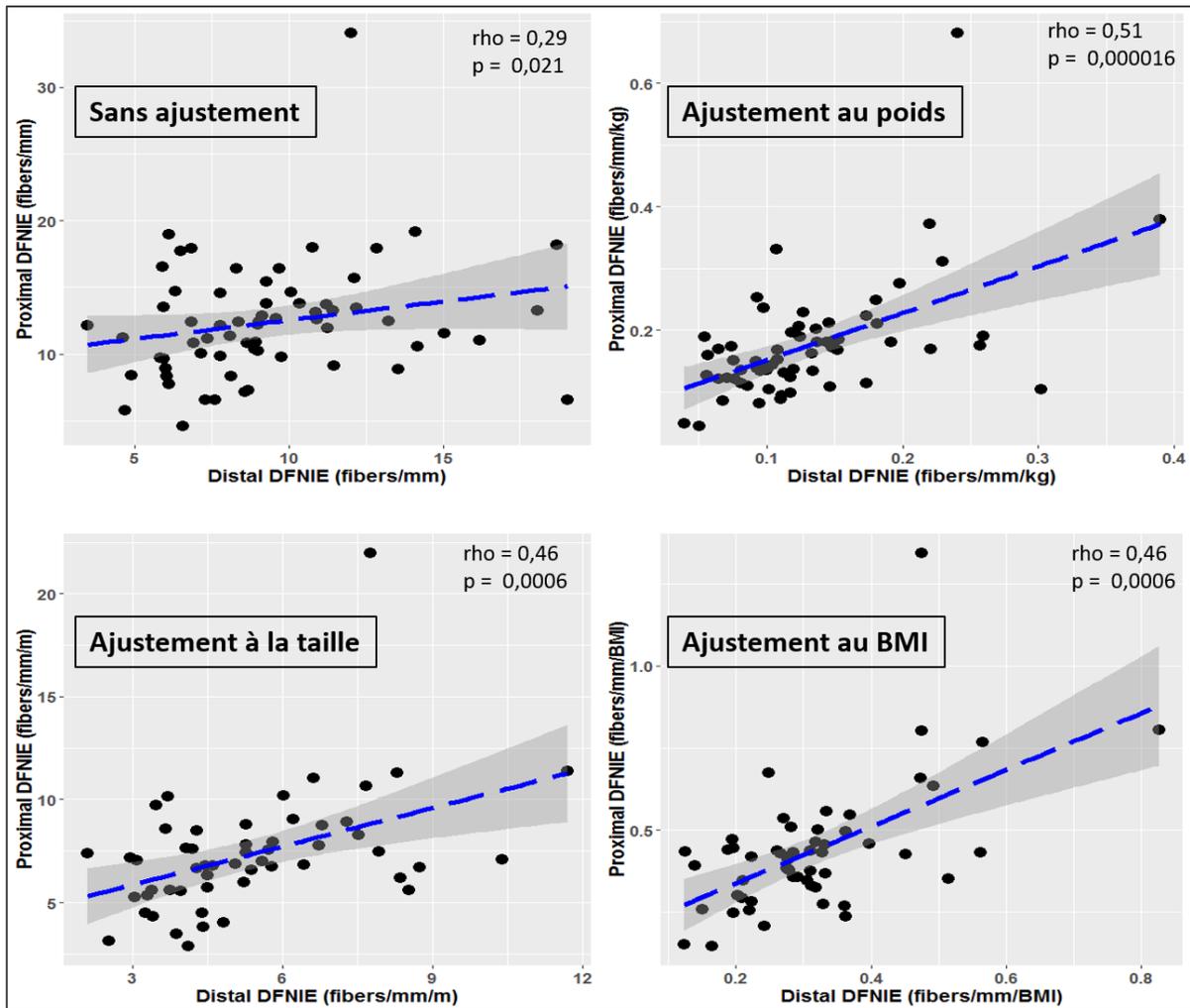


Figure 28. Corrélation entre les densités de FNIE distale et proximale avant et après ajustement au poids, à la taille et au BMI

BMI : body mass index. DFNIE : densité des fibres nerveuses intra-épidermiques. Fibers : fibres.

III.1.3.3. INTERPRETATION ET DISCUSSION DES RESULTATS COMPLEMENTAIRES

Le SUDOSCAN® s'est donc avéré plus concordant avec la densité de FNGS qu'avec la densité de FNIE, ce qui est en accord avec les coefficients de corrélations discrètement plus fort entre les CCE et les FNGS qu'entre les CCE et les FNIE. Cela confirme d'une part que le SUDOSCAN® explore préférentiellement les FNGS, ce qui apparaît logique. D'autre part, cela confirme que l'atteinte des FNIE n'est pas forcément concomitante d'une atteinte des FNGS. Néanmoins, ces corrélations restent faibles et sous-entendent qu'il faut rester prudent quant à l'interprétation de la perte en petites fibres dans la peau, qui n'est pas nécessairement synonyme de perte de fonction.

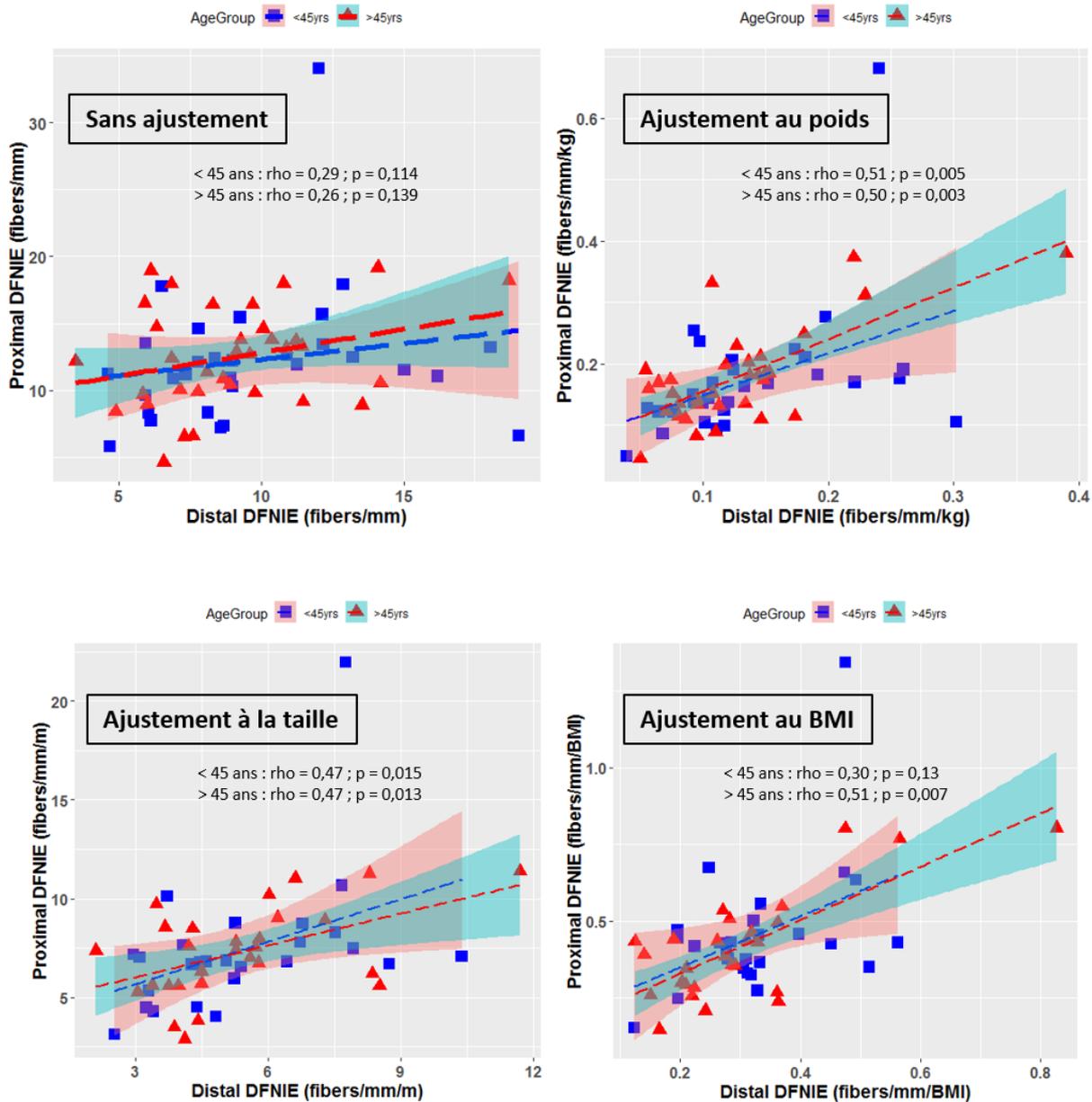


Figure 29. Corrélation en fonction de l'âge entre les densités de FNIE distale et proximale avant et après ajustement au poids, à la taille et au BMI

BMI : body mass index. DFNIE : densité des fibres nerveuses intra-épidermiques. Fibers : fibres.

Les analyses complémentaires sur le poids mettent en évidence que l'augmentation du poids a une influence sur la densité des FNIE, et que le surpoids semble entraîner une diminution de cette densité. De plus, ils soulignent qu'un ajustement des densités des FNIE (c'est-à-dire ici une division des densités par le poids) renforce la corrélation entre les densités distale et proximale, et cela de manière significative. Par ailleurs, ces corrélations sont plus fortes lorsque les densités sont ajustées par rapport à la taille et au BMI, mais restent légèrement inférieures

aux corrélations lors de l'ajustement au poids seul. L'hypothèse principale avancée dans l'article serait que le nombre de glandes sudoripares par personne reste constant quel que soit le poids, or le poids n'est pas une variable stable. Les résultats ajustés en fonction du poids seraient donc plus précis (le nombre de FNIE et de glandes sudoripares peut être artificiellement inférieur chez une personne en surpoids par rapport à une personne de normopondérée). Cependant, un fait troublant est que l'influence de la taille semble moins importante. D'une part l'ajustement par rapport à la taille et au BMI a donné des corrélations moins fortes entre les densités de FNIE distale et proximale que l'ajustement par rapport au poids seul dans ces résultats complémentaires. D'autre part, l'ajustement à la surface corporelle n'a pas donné de meilleure corrélation entre les densités de FNIE et FNGS et les CEE dans l'article (résultats non publiés).

Une autre hypothèse est que le surpoids est probablement associé à des modifications métaboliques telles qu'une intolérance au glucose non connue, des anomalies mitochondriales ou encore une inflammation locale, ayant un impact au niveau local (ici, la peau).

Enfin, on peut également supposer un rôle du métabolisme calcique qui peut être modifié dans des conditions de surpoids, et entraîner diverses altérations locales comme une perturbation de la transmission de l'influx nerveux ou encore, une augmentation du stress oxydant (Arruda and Hotamisligil 2015) pouvant mener à une atteinte des FNIE.

Malgré le manque de compréhension actuel de ces résultats, ils confirment que le poids est important dans l'analyse des petites fibres, avec un effet apparent mais mal compris sur les mesures de densité. Il paraît intéressant de collecter de manière systématique le poids et la taille des patients bénéficiant d'une biopsie cutanée afin de réaliser des études à plus grande échelle pour vérifier et mieux comprendre le rôle du poids dans l'interprétation des densités de FNIE et FNGS, et cela en appariant par rapport à l'âge et au genre. L'intégration de cette variable dans le résultat pourrait affiner l'apport de la biopsie de peau et la rendre plus performante.

III.2. OBJECTIF 2 – ÉTUDE DE LA PERTE EN PETITES FIBRES ET DE L'IMPLICATION DES CELLULES DE LANGERHANS CHEZ LES PATIENTS CMT1A

III.2.1. AVANT-PROPOS

III.2.1.1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS

La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) est la neuropathie héréditaire la plus fréquente, avec une prévalence d'environ 1 pour 2 500 naissances. Le type CMT1A, causée par une duplication de 1,5 Mo en 17p11.2 englobant le gène codant pour la protéine de myéline périphérique 22 (PMP22), est le plus fréquent. Elle est de transmission autosomique dominante, et entraîne une neuropathie sensitivo-motrice démyélinisante, atteignant donc principalement les fibres de gros diamètre. Néanmoins, la symptomatologie douloureuse de type douleurs neuropathiques est rapportée chez 56% à 96% des patients (Ribiere, Bernardin et al. 2012). Or, seule une étude a montré une implication des petites fibres chez des patients atteints de CMT1A, au moyen de la microscopie confocale cornéenne in vivo (Tavakoli, Marshall et al. 2012).

Par ailleurs, plusieurs études ont souligné une implication probable de la cellule de Langerhans dans l'atteinte des petites fibres (notamment chez les patients diabétiques) (Lindenlaub and Sommer 2002, Siau, Xiao et al. 2006, Casanova-Molla, Morales et al. 2012). Cette cellule pourrait donc jouer un rôle dans le processus de dégénérescence axonale des petites fibres du fait de ses propriétés pro-inflammatoires et de ses étroites relations avec les FNIE, et ainsi être un potentiel biomarqueur cutané de la perte en FNIE, apportant des éléments sur la physiopathologie de la perte en fibres.

- Du fait de la fréquence de la maladie de CMT1A, il nous paraissait important d'évaluer l'atteinte des petites fibres en utilisant la technique de référence qui est la quantification des FNIE via la biopsie cutanée mais également la quantification des FNGS, et en comparant ces résultats à des échelles d'évaluation clinique (CMTNS : CMT Neuropathy Score, ONLS : Overall Neuropathy Limitation Scale, NHPT : Nine Hole Peg Test et VAS : Visual Analog Score) ainsi qu'aux données électrophysiologiques (ENMG).

- D'autre part, nous avons voulu quantifier la densité cutanée de CL chez des patients CMT1A, en comparant les résultats à un groupe témoins de sujets sains. La densité des CL a ensuite été comparée à la densité en FNIE afin de rechercher l'existence d'une corrélation entre ces deux variables, qui soulignerait l'implication des CL dans la NPF.

III.2.1.2. PRINCIPAUX RESULTATS

Les patients inclus correspondent à la cohorte de la phase II de Pharnext sur l'évaluation du PXT3003-01 et comprennent 75 patients CMT1A (31 hommes, 48 femmes), ainsi que 94 patients contrôles (44 hommes, 50 femmes).

Densité des FNIE et symptomatologie :

Il n'y avait pas de corrélation significative entre la densité des FNIE et les différents scores d'évaluation de la symptomatologie neurologique et douloureuse (CMTNS, ONLS, NHPT et VAS). Il n'existait aucune corrélation entre les FNIE et les symptômes moteurs ($n = 75$; $R = 0,1746$, $p = 0,134$), ni la force des bras ($n = 75$; $R = 0,07$, $p = 0,549$), et ni la force des jambes ($n = 75$; $R = 0,019$, $p = 0,872$). Il y avait une légère corrélation avec la sensibilité aux vibrations ($n = 75$; $R = -0,22$, $p = 0,0542$) et une faible, mais significative, corrélation avec la sensibilité aux piqûres d'épingle ($n = 75$; $R = -0,252$, $p = 0,0304$).

Densité des FNIE et électrophysiologie :

Aucune corrélation entre la densité des FNIE et les données électrophysiologiques (sensitives et motrices) n'a été mise en évidence.

Densité des FNIE : CMT1 versus témoins :

La densité des FNIE était significativement plus faible chez les patients atteints de CMT1A que chez les sujets témoins (5,8 [0-22.24] versus 9,57 [4,04-19.29] IENF / mm, $p < 0,0001$).

Densité des CL :

La densité des CL était plus faible chez les patients CMT1A que chez les témoins, et avaient une taille plus petite avec moins d'extensions. En revanche, aucune corrélation entre la densité des FNIE et celle des CL n'a été mise en évidence.

III.2.2. ARTICLE 2 – SKIN BIOPSY FINDINGS IN PATIENTS WITH CMT1A: BASELINE DATA FROM THE CLN-PXT3-01 STUDY PROVIDE SOME NEW INSIGHTS INTO THE PATHO-PHYSIOLOGY OF THE DISORDER

Skin Biopsy Findings in Patients With CMT1A: Baseline Data From the CLN-PXT3003-01 Study Provide New Insights Into the Pathophysiology of the Disorder

Mathilde Duchesne, MD, Aurore Danigo, PhD, Laurence Richard, PhD, Jean-Michel Vallat, MD, Shahram Attarian, MD, PhD, Pierre-Marie Gonnaud, MD, Arnaud Lacour, MD, Yann Péréon, MD, PhD, Tania Stojkovic, MD, Klaus-Armin Nave, PhD, Viviane Bertrand, PhD, Serguei Nabirotkin, PhD, Daniel Cohen, MD, PhD, Claire Demiot, PharmD, PhD, and Laurent Magy, MD, PhD

Abstract

Charcot-Marie-Tooth disease type 1A (CMT1A), the most common form of Charcot-Marie-Tooth diseases, is a demyelinating neuropathy caused by a deletion encompassing the gene coding for PMP22, a myelin protein of the peripheral nervous system. Although myelinated fibers are mostly involved in CMT1A, some patients experience neuropathic pain. We thus investigated whether unmyelinated fibers are lost in CMT1A. Skin biopsies were taken from the distal portion of the leg of 80 patients with CMT1A as part of the PXT3003-01 study and processed for quantification of intraepidermal nerve fiber density (IENFD). Mean IENFD was significantly lower in CMT1A patients than in healthy controls. Although the data were highly dispersed, IENFD tended to decrease with age and was higher overall in female patients and controls than male patients and controls. This study shows that small nerve fibers are affected in CMT1A and that this correlates with pin sensitivity. The density of epidermal Langerhans cells (LCs) was also significantly reduced in CMT1A patients, suggesting the involvement of LCs in neuropathic

pain processes. These findings raise several questions concerning the interactions of Schwann cells and LCs with unmyelinated fibers in CMT1A. Moreover, they suggest that factors other than PMP22 gene dosage are involved in small fiber pathology in CMT1A.

Key Words: Charcot-Marie-Tooth 1A, Langerhans cell, Neuropathic pain, Skin biopsy, Small nerve fiber.

INTRODUCTION

Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease is the most frequent inherited neuropathy with a prevalence of ~1 per 2500 births. Seventy-five percent of patients with CMT have CMT1A, which is transmitted in an autosomal dominant manner. CMT1A is caused by a 1.5-Mb duplication in 17p11.2, encompassing the gene coding for peripheral myelin protein 22 (PMP22). It causes demyelinating sensory and motor neuropathy with variable degrees of axon loss. CMT1A is considered to involve mainly myelinated fibers. Thus, few studies have focused on the impact of its mutation on small sensory C and A δ fibers. However, 56%–96% of patients report positive sensory symptoms, including neuropathic pain (1). Two studies using electrophysiological techniques and questionnaires on pain evaluation have reported that pain in patients with CMT1A may be due to small fiber neuropathy (SFN) linked to the involvement of A δ fibers (2, 3). Moreover, 1 study showed SFN in patients with CMT1A, using *in vivo* corneal confocal microscopy. In this study, loss of corneal C fibers was correlated with the severity of painful symptoms (4). The involvement of small fibers in CMT1A merits investigation because it may have a large impact on quality of life in these patients.

Several experimental studies have also suggested involvement of skin Langerhans cells (LCs) in neuropathic pain. For example, LCs become intensely immunoreactive to the protein PGP9.5 after sectioning the sciatic nerve (5) or in a chronic constriction model (6). Moreover, an increase in PGP9.5-immunoreactive LCs has been observed in an animal model of chemotherapy-induced neuropathy (7). In humans,

From the Department of Neurology, Reference Center for Rare Peripheral Neuropathies, University Hospital of Limoges (MD, LR, J-MV, LM); EA 6309 – Myelin Maintenance & Peripheral Neuropathy, Faculties of Medicine and Pharmacy, University of Limoges (AD, LR, J-MV, CD, LM), Limoges, France; Department of Neurology and Neuromuscular disorders, Hôtel de la Timone, Marseille, France (SA); Department of neurophysiology, GH Pitié-Sapétrière, Paris (TS); Department of Clinical and functional neurology, CHU Lyon Sud, Lyon, France (P-MG); Center for Biology Genetic Pathology, Hôtel Roger Salengro, Lille (AL); Laboratory of functional exploration physiology, Hôtel Dieu, Nantes (YP); Max Planck Institute, Göttingen, Germany (K-AN); and Pharmext SA, Issy les Moulineaux, France (VB, SN, DC).

Send correspondence to: Aurore Danigo, PhD, Department of Neurology, Reference Center for Rare Peripheral Neuropathies, University Hospital of Limoges, 2 rue du Docteur Raymond Marcland, 87025 Limoges, France; E-mail: aurore.danigo@unilim.fr

Mathilde Duchesne and Aurore Danigo contributed equally to this work.

Disclosure: V.B., S.N., and D.C. are employees of Pharmext. Pharmext company did not participate to the study, neither financially nor technically. M.D., A.D., L.R., J.-M.V., S.A., P.-M.G., A.L., Y.P., T.S., C.D., and L.M. declare no conflicts of interest.

Casanova-Molla et al reported an increase in the number of LCs in skin biopsies from patients with diabetes and pain due to SFN (8). Indeed, LCs may play a role during the process of axonal degeneration in SFN because of their pro-inflammatory properties and tight interactions with intraepidermal nerve fibers (IENFs) (9).

The main objectives of the present study were to investigate the potential involvement of unmyelinated fibers in CMT1A and assess whether there are alterations in the number and/or morphology of LCs, and finally, to link these results to clinical findings. The study is a phase 2 trial investigating the safety and efficacy of a new drug in CMT1A patients (10). As part of this study, a skin biopsy was taken from the distal region of the leg (10 cm above the lateral malleolus) of all enrolled patients. Two specimens were taken, one for biomarker analysis and the other for investigating IENF density (IENFD) and the evaluation of LCs.

MATERIALS AND METHODS

The entire protocol was approved by our local ethics committee and the Agence Nationale de la Sécurité du Médicament et des Produits de Santé (ANSM). The study was conducted in accordance with the declaration of Helsinki and according to Good Clinical Practice. Informed consent was obtained from all participating individuals.

Patients

Patients with CMT1A were recruited for the PXT3003-01 study (10). The diagnosis had to be genetically confirmed and patients had to have at least some weakness in foot dorsiflexion and a CMT neuropathy score (CMTNS) ≤ 20 . Patients were excluded if they had any other neurological conditions or a concomitant systemic disease that could interfere with the neurological evaluation. Additionally, patients with abnormal liver or kidney function were also excluded. Age, sex, body mass index (BMI), and duration of illness were recorded for each patient.

Controls

Controls included in the study were patients that were initially referred for muscle biopsy or skin biopsy to the "Reference Center of Rare Peripheral Neuropathies" Limoges University Hospital and who were found to have either a normal muscle biopsy or a diagnosis of nonneuropathic pain. The exclusion criteria were all potential causes of SFN (e.g. metabolic syndrome, diabetes, neurotoxic treatment, human immunodeficiency virus, chronic alcoholism), as well as neuropathic pain of unknown origin.

Clinical Scales

The following scales were assessed at the screening phase for all patients: Charcot Marie Tooth neuropathy score (CMTNS); Overall Neuropathy Limitation Scale (ONLS); Visual Analogic Scale (VAS) for pain, fatigue, and global impression of health; Nine-Hole Peg Test (9HPT) for assessing manual dexterity; Quantitative Motor Testing (QMT) for tibialis anterior bilaterally, and bilateral Grip Test (Vigormeter)

for hand prehension. Superficial sensitivity was assessed at the legs by using a piece of cotton wool and vibration sense was assessed using a graduated 128 Hz tuning fork.

Nerve Conduction Studies

Nerve conduction parameters were assessed using standard techniques at a skin temperature of 32°C, as previously described (10). They included motor and sensory responses of median and ulnar nerves of the nondominant upper-limb.

Skin Biopsies

Skin specimens were obtained through a 3-mm punch skin biopsy 10 cm above the lateral malleolus in the region of the sural nerve. Samples were processed using established methodology (11) and 3 nonconsecutive vertical sections of 50 μ m (for IENFD quantification) and 10 μ m (for LCs analysis) thickness were prepared for each biopsy. Optical immunofluorescence was performed using the cytoplasmic axonal PGP 9.5 staining method (Protein Gene Product 9.5), with a polyclonal rabbit antihuman antibody (1/600, UltraClone, Isle of Wight, UK) for IENF and the monoclonal rat antihuman antibody anti-Langerine/CD207 (1/200, Dendritics, Lyon, France).

IENFD was manually quantified (blindly, by 2 operators, at high magnification) with a NIKON Dxm1200 light microscope. The density was calculated in at least 3 nonconsecutive sections as the number of IENF per length of section (fibers/mm) measured using NIS elements BR2.30 software (Nikon) at $\times 400$ magnification. Single fibers crossing the dermal-epidermal junction were counted according to established guidelines (11). Similarly, the number of positive LCs, for which the cell body was clearly visible, were counted at $\times 400$ magnification. The number of LCs was determined with respect to the length of the epidermis and their density expressed as the number of LCs/mm.

Statistics

Descriptive Analysis

Quantitative variables are reported for each population (controls and CMT1A) using the median, minimum, and maximum values. Correlations between clinical data and cutaneous biopsy results were determined using the Pearson correlation test.

Comparison Between Groups

We used normative values from our control population because of variation of the selection criteria between studies and heterogeneity of the methodology used for IENF staining. Thus, an IENFD below the threshold determined by the 5th percentile from the control population was considered to be abnormal. Data of CMT1A patients were compared with those of control subjects using Student parametric *t*-test if the values followed a normal distribution and a nonparametric Mann-Whitney test if they did not. All analyses were performed using Prism software version 6.04 (GraphPad Software, Inc.,

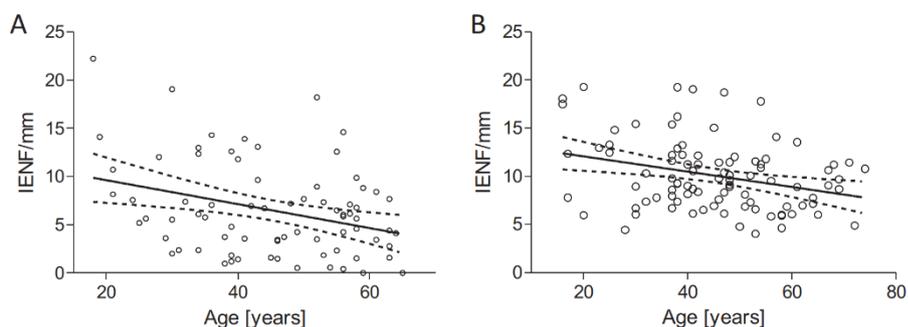


FIGURE 1. Correlations of IENFD with age in CMT1A (**A**) and control (**B**) populations. There was a significant inverse correlation between IENFD and age in CMT1A ($n = 75$; $R = -0.33$, $p = 0.0041$) and control ($n = 94$; $R = -0.301$, $p = 0.0032$) patients.

LaJolla, CA). The differences were considered to be statistically significant for $p < 0.05$.

RESULTS

Patients

Demographic Data

The CMT1A population was composed of 75 patients (31 men and 48 women). The mean age of the men was 45.78 ± 12.06 years (mean \pm standard deviation) and that of the women 44.56 ± 13.29 years. The overall mean age was 45.05 ± 12.75 years. The distribution frequency of the IENFD was 5.8 [0–22.24] IENF/mm (median [minimum–maximum]). The IENFD was significantly higher in women than men (6.73 [0.54–22.24] vs 3.72 [0–12.62] IENF/mm, $p = 0.0055$). The IENFD significantly inversely correlated with age (Fig. 1A) and BMI (Fig. 2).

We assessed correlations between IENFD and age by gender. IENFD significantly inversely correlated with age in men and women (Fig. 3A, B).

IENFD and Clinical Parameters

There was no significant correlation between IENFD and the CMTNS, ONLS, NHPT, or VAS (Table 1). The CMTNS is a composite score of several items, including clinical and electrophysiological data on motor and sensory nerves. In order to determine whether there was a correlation between DFNIE and the various CMTNS clinical components, correlations were made with each item. There was no correlation with motor symptoms nor arm strength or leg strength. There was a slight correlation with sensitivity to vibrations and a weak, but significant, correlation with sensitivity to pinpricks (Table 2). There was a significant decrease of IENFD in CMT1A patients suffering from superficial sensitivity disorders (Fig. 4).

IENFD and Nerve Conduction Studies

We compared electrophysiological data, including motor and sensory nerve conduction parameters of the median

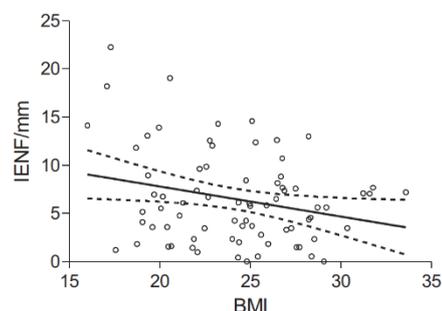


FIGURE 2. Correlation between IENFD and body mass index (BMI) in CMT1A population. There was a significant inverse correlation between IENFD and BMI in CMT1A patients ($n = 75$; $R = -0.25$, $p = 0.0283$).

and ulnar nerves on the nondominant side, with IENFD of CMT1A patients. There was no correlation with the motor (Table 3) or sensory parameters (Fig. 5).

Controls

Ninety-four control patients were included in the study (44 men and 50 women). The mean age of the men was 39.70 ± 10.62 years (mean \pm standard deviation) and that of the women 50.06 ± 14.55 years. The overall mean age was 45.21 ± 13.8 years. The distribution frequency of the IENFD was 9.57 [4.04–19.29] IENF/mm (median [minimum–maximum]). There was no significant difference between men (8.82 [4.04–19.29] IENF/mm) and women (10.25 [4.64–19.04] IENF/mm). The IENFD significantly inversely correlated with age for women but not men (Fig. 3C, D).

CMT1A Versus Controls

IENFD Analysis

The normative values of the distal IENFD obtained from our control population allowed us to define a lower limit of the norm. We used the 5th percentile as the lower limit,

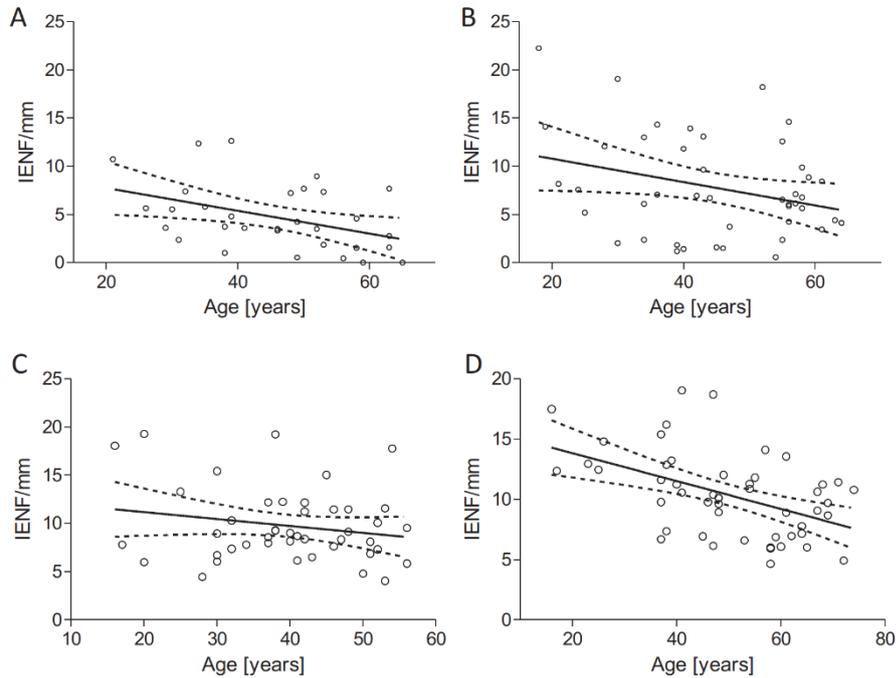


FIGURE 3. Correlation between IENFD and age by gender in CMT1A (**A, B**) and control (**C, D**) populations. In the CMT1A population, there was a significant inverse correlation between age and IENFD for men (**A**) (n = 31; R = -0.41, p = 0.0187) and women (**B**) (n = 44; R = -0.303, p = 0.046). In the control population, there was a significant and inverse correlation between IENFD and age for women (**C**) (n = 50; R = -0.484, p = 0.0004) but not men (**D**) (n = 44; R = -0.199, p = 0.1942).

TABLE 1. Correlation between IENFD and Clinical Parameters in the CMT1A Population

Clinical Parameters Versus IENFD	Pearson's Chi-Squared Test
CMTNS	n = 75; R = -0.002, p = 0.988
CMTES	n = 75; R = -0.059, p = 0.612
ONLS	n = 75; R = 0.167, p = 0.076
VAS	
Pain	n = 75; R = -0.007, p = 0.476
Tiredness	n = 75; R = 0.09, p = 0.073
Overall	n = 75; R = 0.009, p = 0.468
NHPT	
Dominant hand	n = 75; R = -0.09, p = 0.449
Non-dominant hand	n = 75; R = 0.002, p = 0.987

TABLE 2. Correlations Between IENFD and Clinical Items of CMTNS in the CMT1A Population

Clinical Parameters of CMTNS Versus IENFD	Pearson's Chi-Squared Test
Motor symptoms	n = 75; R = 0.1746, p = 0.134
Arm strength	n = 75; R = 0.07, p = 0.549
Leg strength	n = 69; R = -0.171, p = 0.159
Vibration sensitivity	n = 75; R = -0.22, p = 0.0542
Pin sensitivity	n = 75; R = -0.252, p = 0.0304

corresponding to 4.8 IENFD/mm (16). The IENFD was significantly lower in CMT1A patients than control subjects (5.8 [0–22.24] vs 9.57 [4.04–19.29] IENFD/mm, p < 0.0001). Moreover, 48% of CMT1A patients had a large reduction of IENFD below the normal lower limit.

As the IENFD varies by age and sex, comparisons were made between populations over 50 and under 50 years of age, as well as between men and women (Fig. 6). It appears that the significant decrease in IENFD in CMT1A patients is not influenced by age or sex, since the difference in IENFD between the CMT1A and control populations is still significant in the age- and matched-analysis.

Analysis of LCs

We quantified the number of LCs in 23 CMT1A patients and 23 control subjects randomly selected from the CMT1A and control populations. We observed a morphological difference between the LCs of the CMT1A and control population: LCs in CMT1A patients were smaller and had fewer extensions (Fig. 7A). This observation was common to all patients.

Quantitative analysis showed significantly fewer LCs in skin biopsies of CMT1A patients than those of the control group (CMT1A: 10.62 ± 3.87 vs control: 16.37 ± 4.72, p < 0.0001; Fig. 7B). There was no correlation between the number of LCs and IENFD of CMT1A patients (n = 23;

277

Downloaded from <https://academic.oup.com/jnen/article-abstract/77/4/274/4835591> by university of winnipeg user on 25 May 2018

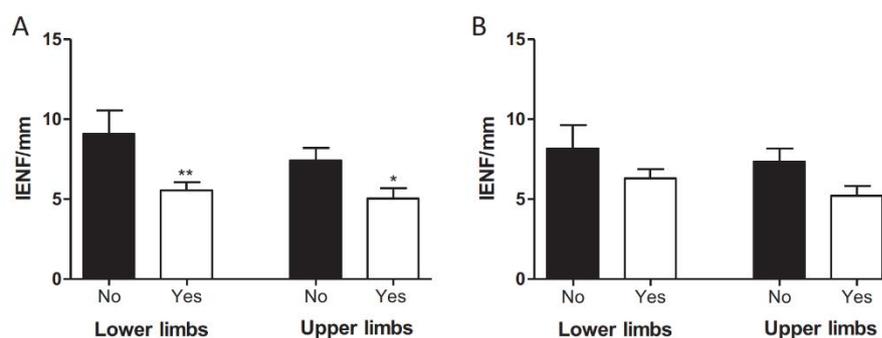


FIGURE 4. Relationship between IENFD and disorders of superficial (**A**) and deep (**B**) sensitivity of the upper and lower limbs. There was a significant difference of IENFD between patients with superficial sensitivity disorders and those without. However, there was no influence of deep sensitivity on IENFD. Bars represent the mean \pm standard deviation of IENFD of patients who express sensory impairment (Yes, white bar) or not (No, black bar). Comparisons were made using the Student *t*-test (* $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$).

TABLE 3. Correlations Between IENFD and Motor Nerve Conduction Parameters in the CMT1A Population

Motor Nerve Conduction Parameters Versus IENFD		Pearson's Chi-Squared Test
Median nerve	Latency	$n = 60; R = 0.118, p = 0.370$
	Amplitude	$n = 71; R = -0.122, p = 0.307$
	Conduction velocity	$n = 69; R = -0.171, p = 0.159$
Ulnar nerve	Latency	$n = 61; R = -0.097, p = 0.453$
	Amplitude	$n = 75; R = -0.186, p = 0.11$
	Conduction velocity	$n = 70; R = -0.116, p = 0.337$

$R = 0.3317, p = 0.1220$) or the control population ($n = 23; R = 0.0006, p = 0.998$).

DISCUSSION

The objectives of this study were to determine the involvement of IENFs and intraepidermal LCs in CMT1A disease in a large cohort of patients who were recruited in the PXT3003-01 study.

We showed that IENFD is affected by age and weight in both CMT1A patients and controls, as previously reported (12, 13), and that women have an overall higher IENFD than men, also as previously described (14).

The median IENFD at the distal region of the leg in our control population was 9.57, similar to the results obtained by Shun et al (15), but slightly below those of most published studies (14–16). Several factors may explain this discrepancy. Our control population does not precisely correspond to normal controls as all skin biopsies were taken from patients who were initially referred for pain. However, people that had a known disorder that could be associated with polyneuropathy were excluded, although no systematic screening for classical causes of polyneuropathy was carried out. Moreover, retrospective examination of medical files of our controls (when available) showed that they did not have neuropathic pain. Another explanation of our relatively low IENFD is that we

stained skin samples on slides (and not by immersion in the antibody solution) and did not use confocal microscopy. However, we used the same exact technique for controls and CMT1A patients.

We show here that small nerve fibers are affected in patients with CMT1A. These results are in accordance with those of a recent study in a far smaller cohort of patients (17). The involvement of small fibers in CMT1A has only recently been suggested. Several studies showed elevated heat response thresholds in CMT1A patients, suggesting that functionality of sensory small nerve fibers, unmyelinated C, and poor myelinated A δ fibers, was affected in CMT1A (18). More recently, a detailed analysis of sural nerve samples from patients with CMT1A by electron microscopic examination showed alterations of nonmyelinating Schwann cells with unaffected unmyelinated axons (19). Unmyelinated C-fibers represent 90% of IENFs, thus we suggest that reduction of IENFD in CMT1A patients express the degeneration of this nociceptor population. These findings and our results suggested that axon-Schwann cells interactions are dysregulated in CMT1A, in myelinated nerve fiber and in Remack bundles too. Moreover, PMP22 is expressed by nonmyelinating Schwann cells (20). Thus, we hypothesize that overexpression of PMP22 observed in myelinated Schwann cells of CMT1A patients could equally affect nonmyelinating Schwann cells. Distal degeneration of small nerve fiber observed in skin biopsies could result from pronounced injury of nonmyelinating Schwann cells proximally. Skin biopsies can probably show abnormalities that may be missed by examination of nerve biopsy samples due to the length-dependency of axonal degeneration in CMT1A because they investigate the most distal endings of unmyelinated fibers.

The comparison of IENFD and clinical findings of CMT1A patients provides new information concerning the relationship between the severity of the disease and small fiber involvement. Among all clinical variables, only superficial sensory involvement and pinprick sensitivity correlated (as expected) with the IENFD. This suggests that the degeneration of IENFs is totally or partially independent from the course of this demyelinating neuropathy. A recent study highlight that

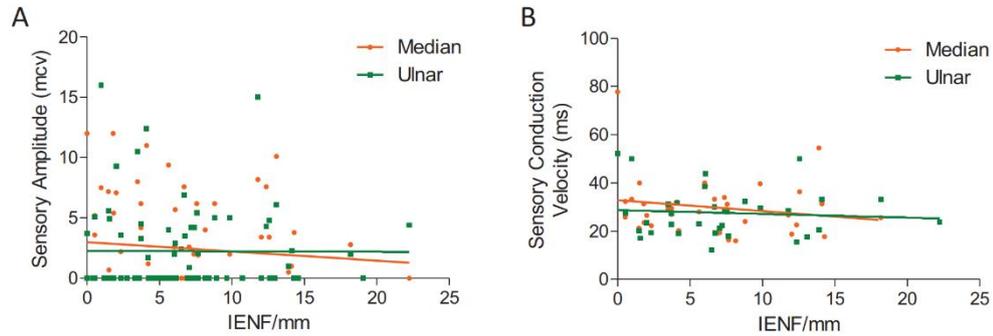


FIGURE 5. Correlation between IENFD and sensory nerve conduction parameters of the upper limbs in CMT1A population. There was no correlation between IENFD and the sensory nerve action potential amplitude **(A)** (Median nerve: n = 74; $R = -0.106$, $p = 0.367$, ulnar nerve: n = 75; $R = -0.0052$, $p = 0.964$) or nerve conduction velocity **(B)** (Median nerve: n = 35; $R = -0.189$, $p = 0.276$, ulnar nerve: n = 75; $R = -0.081$, $p = 0.654$).

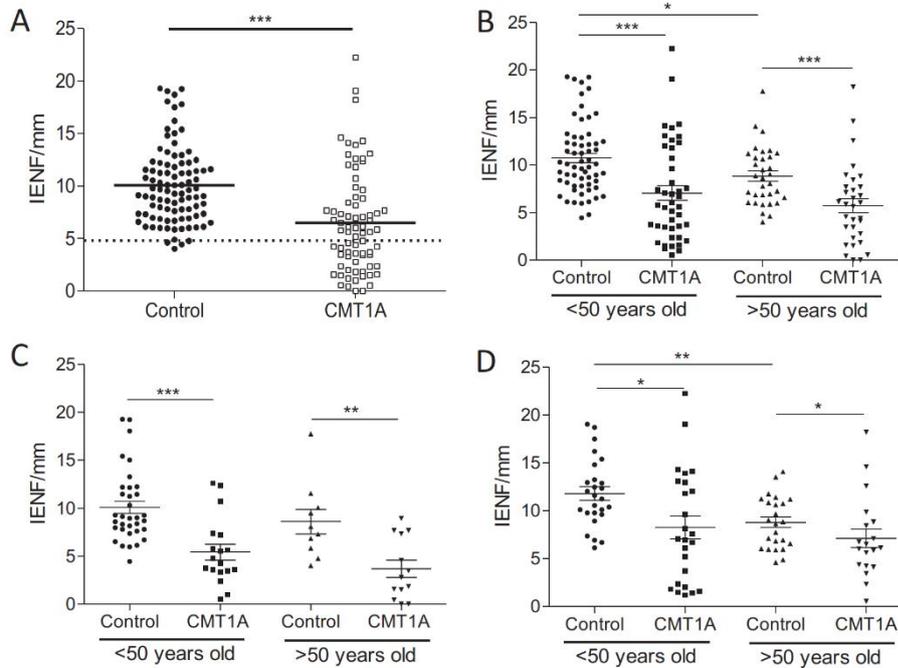


FIGURE 6. Age- and sex-matched comparison of the IENFD between CMT1A patients and the control population. **(A)** Comparison of IENFD between overall of CMT1A patients and the control population. The horizontal bar represents the average for each group. The dotted line represents the pathological lower threshold corresponding to the fifth percentile of the control population (4.8 IENF/mm). **(B)** Age-matched overall population: Men **(C)**, women **(D)**. Student *t*-test was used (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

demyelination of A-fibers lead to increased sensitivity of C-nociceptors originally from spontaneous discharges (21). Authors suggest that normal activity of A-fibers produce an inhibitory effect on C-nociceptors. In CMT1A disease, early stage of demyelination of sensory A-fibers (i.e. A β and A δ

fibers) could sensitize C-fibers and lead to neuropathic pain. Hyperexcitability of C-fiber could favor its degeneration, explaining reduction of IENFD in CMT1A patients.

In this study, pain, as evaluated by VAS, did not correlate with IENFD. However, the questionnaires that were used

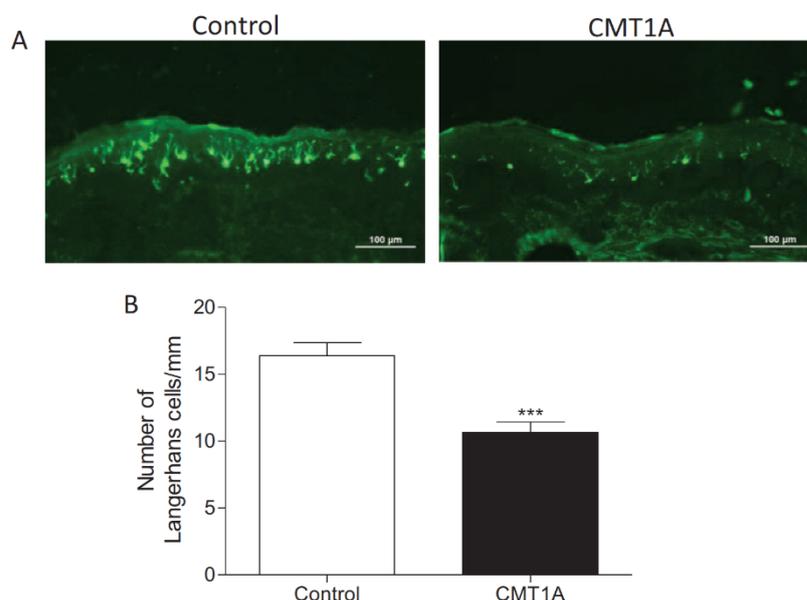


FIGURE 7. Langerhans cells (LCs) in skin biopsy stained with anti-langerine antibody. **(A)** Morphometric analysis of Langerhans cells in CMT1A and control patients. **(B)** Quantification of intraepidermal LCs in CMT1A and control population. The density of LCs was expressed as number of LCs/mm. Student *t*-test was used ($n = 23$ in each group, $***p < 0.001$).

were not able to distinguish between neuropathic and nonneuropathic pain. A study on a cohort of 49 patients with CMT1A showed that most patients with this disorder had pain of musculoskeletal origin, with only 18% of them reporting neuropathic pain as assessed by the DN4 scale (3). Thus, the absence of a correlation between overall pain and IENFD was not completely surprising.

The quantification of LCs in this study also provides new information. Decreased epidermal LC density was associated with morphological abnormalities in CMT1A patients relative to controls. This is in contrast to most studies of SFN, which show an increase in LC density or their activation in diabetic patients (8), experimental sciatic nerve sectioning in rodents (5), and a mouse model of chemotherapy-induced neuropathy (7). However, an experimental study in rats showed that depletion of LCs could induce a decrease in the number of PGP9.5- and CGRP-positive skin axons associated with a reduction of neurotrophin levels (nerve growth factor and glial derived neurotrophic factor) in the epidermis (22). Moreover, a decrease in LC density in patients newly diagnosed with diabetes mellitus has been reported (23). Epidermal Langerhans' cells have been shown to be closely associated anatomically and functionally with IENFs (9). LC alterations observed in skin biopsies of CMT1A patients could be related to a dysfunction of small nerve fibers, prior to IENF degeneration. Indeed, we observed morphological abnormalities of the LCs in all 23 analyzed samples, whereas several CMT1A patients analyzed for LC density did not show a loss of IENFs. An alternative explanation could be a primary involvement of LCs in

CMT1A, which remains to be investigated. Prospective studies would be useful for determining whether a reduction in LC density could be an early marker of small fiber involvement in CMT1A and the link between overexpression of PMP22, Schwann cell alterations, and small fiber loss in CMT1A.

REFERENCES

- Ribiere C, Bernardin M, Sacconi S, et al. Pain assessment in Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease. *Ann Phys Rehabil Med* 2012;55:160-73
- Pazzaglia C, Vollono C, Ferraro D, et al. Mechanisms of neuropathic pain in patients with Charcot-Marie-Tooth 1A: A laser-evoked potential study. *Pain* 2010;149:379-85
- Laurà M, Hutton EJ, Blake J, et al. Pain and small fiber function in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Muscle Nerve* 2014;50:366-71
- Tavakoli M, Marshall A, Banka S, et al. Corneal confocal microscopy detects small-fiber neuropathy in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A patients. *Muscle Nerve* 2012;46:698-704
- Hsieh ST, Choi S, Lin WM, et al. Epidermal denervation and its effects on keratinocytes and Langerhans cells. *J Neurocytol* 1996;25:513-24
- Lindenlaub T, Sommer C. Epidermal innervation density after partial sciatic nerve lesion and pain-related behavior in the rat. *Acta Neuropathol* 2002;104:137-43
- Siau C, Xiao W, Bennett GJ. Paclitaxel- and vincristine-evoked painful peripheral neuropathies: Loss of epidermal innervation and activation of Langerhans cells. *Exp Neurol* 2006;201:507-14
- Casanova-Molla J, Morales M, Planas-Rigol E, et al. Epidermal Langerhans cells in small fiber neuropathies. *Pain* 2012;153:982-9
- Gaudillere A, Misery L, Souchier C, et al. Intimate associations between PGP9.5-positive nerve fibres and Langerhans cells. *Br J Dermatol* 1996;135:343-4
- Attarian S, Vallat J-M, Magy L, et al. An exploratory randomised double-blind and placebo-controlled phase 2 study of a combination of baclofen, naltrexone and sorbitol (PXT3003) in patients with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Orphanet J Rare Dis* 2014;9:199

11. Lauria G, Cornblath DR, Johansson O, et al. EFNS guidelines on the use of skin biopsy in the diagnosis of peripheral neuropathy. *Eur J Neurol* 2005;12:747–58
12. Herman RM, Brower JB, Stoddard DG, et al. Prevalence of somatic small fiber neuropathy in obesity. *Int J Obes (Lond)* 2007;31:226–35
13. Verdú E, Ceballos D, Vilches JJ, et al. Influence of aging on peripheral nerve function and regeneration. *J Peripher Nerv Syst* 2000;5:191–208
14. Göransson LG, Mellgren SI, Lindal S, et al. The effect of age and gender on epidermal nerve fiber density. *Neurology* 2004;62:774–7
15. Shun C-T, Chang Y-C, Wu H-P, et al. Skin denervation in type 2 diabetes: Correlations with diabetic duration and functional impairments. *Brain* 2004;127:1593–605
16. McArthur JC, Stocks EA, Hauer P, et al. Epidermal nerve fiber density: Normative reference range and diagnostic efficiency. *Arch Neurol* 1998; 55:1513–20
17. Nolano M, Manganelli F, Provitera V, et al. Small nerve fiber involvement in CMT1A. *Neurology* 2015;84:407–14
18. Zambelis T. Small fiber neuropathy in Charcot–Marie–Tooth disease. *Acta Neurol Belg* 2009;109:294–7
19. Koike H, Iijima M, Mori K, et al. Nonmyelinating Schwann cell involvement with well-preserved unmyelinated axons in Charcot–Marie–Tooth disease type 1A. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007;66: 1027–36
20. Haney C, Snipes GJ, Shooter EM, et al. Ultrastructural distribution of PMP22 in Charcot–Marie–Tooth disease type 1A. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996;55:290–9
21. Duan W-R, Xie Y-K. *Modulation of C-Nociceptive Activities by Inputs from Myelinated Fibers*. Dordrecht: Springer 2016:33–40
22. Doss ALN, Smith PG. Langerhans cells regulate cutaneous innervation density and mechanical sensitivity in mouse footpad. *Neurosci Lett* 2014;578:55–60
23. Strom A, Brüggemann J, Ziegler I, et al. Pronounced reduction of cutaneous Langerhans cell density in recently diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes* 2014;63:1148–53

III.2.4. RESULTATS COMPLEMENTAIRES

III.2.4.1. QUANTIFICATION DES CELLULES DE LANGERHANS DANS DIFFERENTES NEUROPATHIES

Des études chez le patient diabétique ont montré que la densité des CL est augmentée comparativement aux FNIE dont la densité est diminuée (Casanova-Molla, Morales et al. 2012). Afin d'élargir nos analyses sur la cellule de Langerhans, nous avons voulu connaître la densité des CL dans d'autres circonstances physiologiques, que ce soit chez des patients sains ou dans le cadre de circonstances pathologiques pourvoyeuses de neuropathies périphériques.

III.2.4.1.1. Méthodologie

Sept groupes ont été étudiés : patient sains (n = 20) et cinq pathologies pourvoyeuses ou précurseurs d'une neuropathie périphérique (diabète (n = 15), vascularite atteignant le SNP (n= 17), amylose (n =10), PIDC (n = 14), gammopathie monoclonale (n = 9) et syndrome POEMS (n = 5)). La densité en CL a été calculée avec la même méthodologie que celle décrite dans l'article (anticorps anti-langerine/CD207 ; calcul de la densité en CL rapportée à la longueur de l'épiderme, et cela sur trois niveaux de coupe consécutifs).

III.2.4.1.2. Résultats

Densités des CL et des FNIE chez les patients inclus : 104 sujets ont été inclus. Le **Tableau 6** résume les moyennes et médianes des densités de CL et de FNIE en distal.

La densité en CL était plus élevée chez les patients POEMS, et cela de façon significative par rapport aux sujets sains (**Figure 30**). Concernant les patients diabétiques, leur densité en CL était plus élevée que dans les autres pathologies (en dehors du syndrome POEMS) mais sans différence significative. Les sujets sains avaient la densité en CL la plus faible.

Le genre n'avait aucune influence sur la densité des CL.

Morphologiquement, il n'a pas été observé de réelle et franche différence entre les différents groupes (**Figure 31**).

Tableau 6. Densité des cellules de Langerhans et des FNIE sur prélèvement cutané distal dans sept situations

	Sujets sains	Vascularite	Diabète	PIDC	POEMS	Amylose	Gammopathie
n	20	17	15	14	5	10	9
CL moyenne ± SEM	8,95 ± 0,88	9,95 ± 1,06	13,10 ± 1,38	11,10 ± 1,74	15,18 ± 2,5	10,95 ± 1,71	9,24 ± 1,36
CL médiane [min ; max]	7,96 [3,75 ; 16,01]	9,31 [3,32 ; 18,78]	11,67 [3,5 ; 25,94]	11,63 [2,8 ; 24,46]	13,73 [9,89 ; 23,91]	11,65 [2,19 ; 18,30]	8,76 [3,6 ; 15,96]
FNIE moyenne ± SEM	7,95 ± 0,84	3,89 ± 0,64	2,04 ± 0,5	5,57 ± 1,16	4,69 ± 1,40	2,21 ± 0,68	2,46 ± 0,65
FNIE médiane [min ; max]	6,15 [5,0 ; 12,19]	4,46 [0,32 ; 7,24]	0,97 [0,12 ; 4,72]	4,25 [0 ; 16,04]	4,95 [0,13 ; 8,78]	1,64 [0 ; 4,71]	2,85 [0 ; 4,94]

CL : cellules de Langerhans. FNIE : fibres nerveuses intra-épidermiques. SEM : standard error of mean.

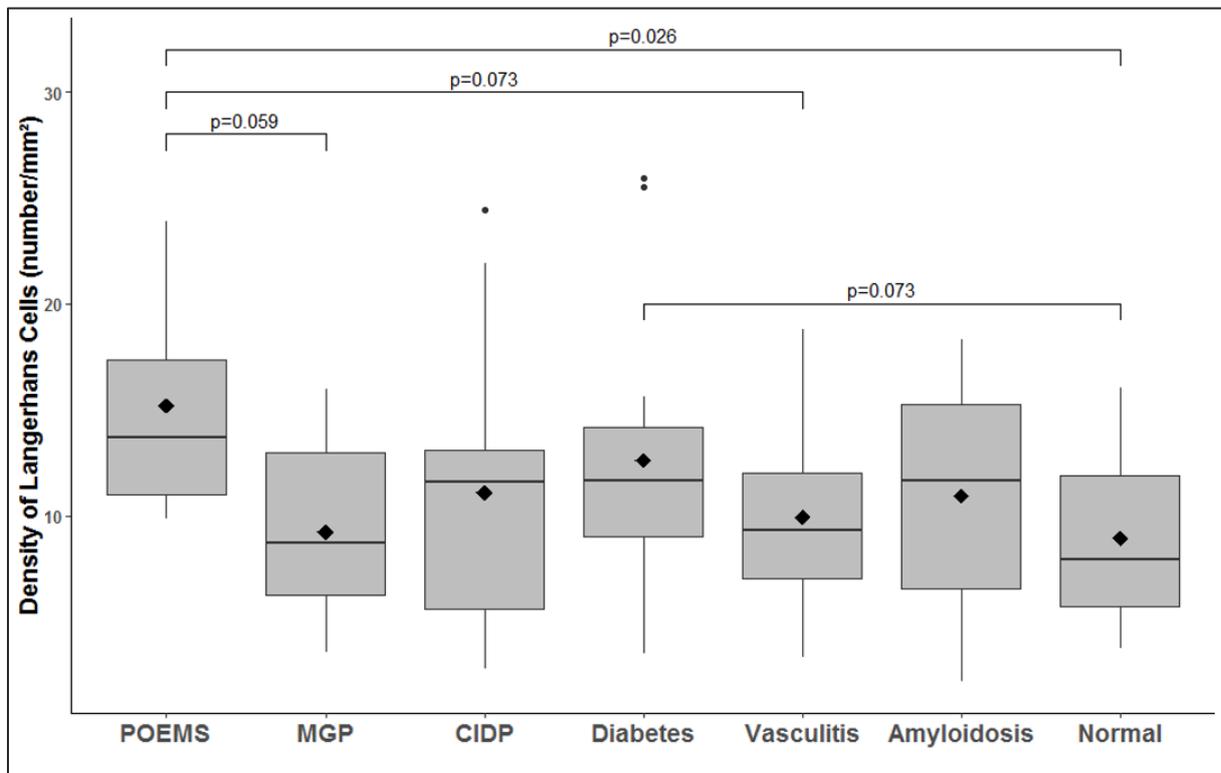


Figure 30. Comparaison de la densité des cellules de Langerhans en fonction de la pathologie

CIDP : chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. MGP : monoclonal gammopathy. POEMS : polyneuropathie, organomégalie, endocrinopathie, monoclonale gammopathie, « skin disorders ». Vasculitis : vascularite.

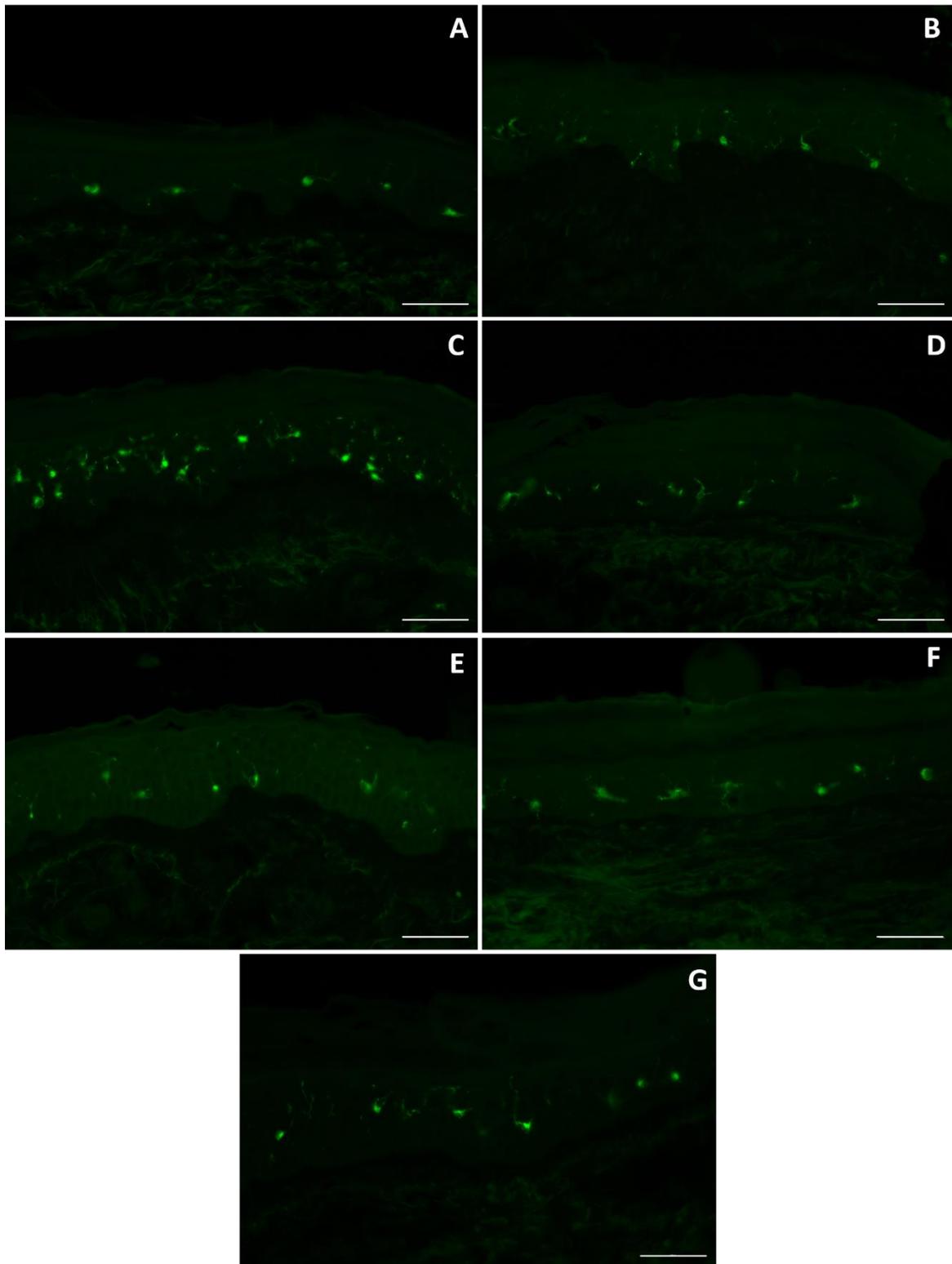


Figure 31. Aspect morphologique des cellules de Langerhans dans les sept groupes étudiés

Microscopie optique, coupes congelées, anticorps anti-langerin, révélation en immunofluorescence. Echelle : 50 μ m.

A : neuropathie amyloïde. **B** : PIDC. **C** : neuropathie diabétique. **D** : neuropathie et gammopathie monoclonale. **E** : contrôle sain. **F** : neuropathie vascularitique. **G** : neuropathie dans le cadre d'un syndrome POEMS.

Corrélation de la densité des CL avec les FNIE et l'âge : en considérant l'ensemble des 104 sujets inclus, la densité des cellules de Langerhans n'était pas corrélée à la densité des FNIE ($\rho = 0,088$; $p = 0,45$) (**Figure 32A**). En revanche, la densité des CL était significativement et négativement corrélée à l'âge en considérant l'ensemble des 104 patients inclus ($\rho = -0,22$; $p = 0,035$) (**Figure 32B**). Aucune corrélation n'a été retrouvée lors de l'analyse en sous-groupe, à l'exception d'une : la densité des CL était significativement et positivement corrélée à la densité des FNIE chez les sujets sains ($\rho = 0,66$; $p = 0,031$).

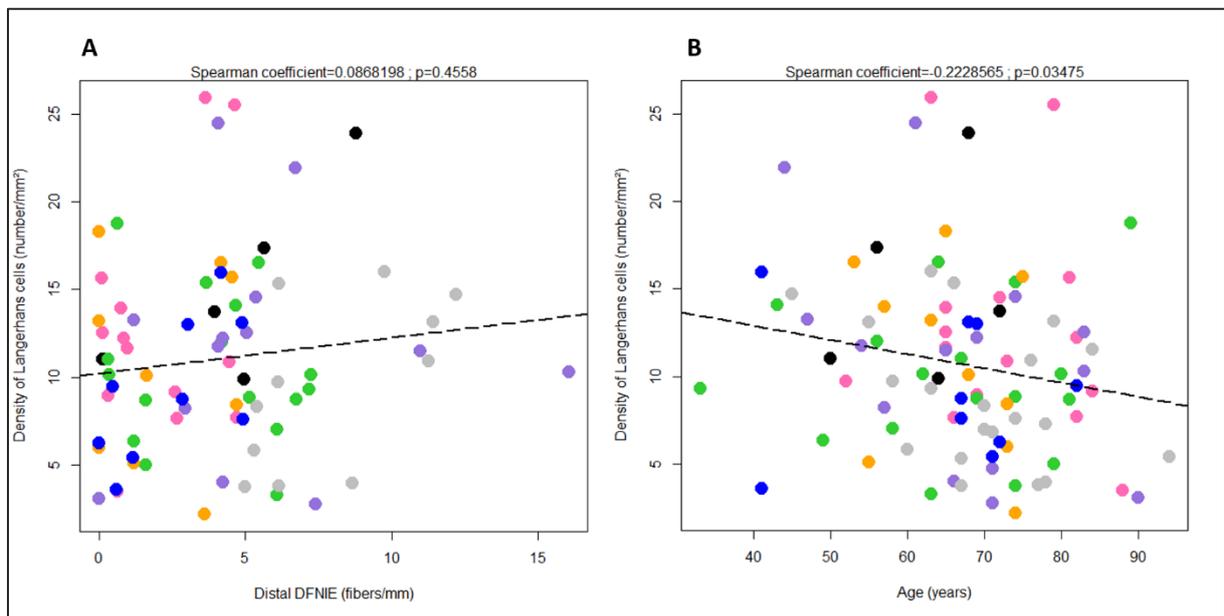


Figure 32. Corrélation de la densité des cellules de Langerhans avec les fibres nerveuses intra-épidermiques et avec l'âge

DFNIE : densité des fibres nerveuses intra-épidermiques.

Noir : POEMS. Rose : diabète. Vert : vascularites. Orange : amylose. Bleu : gammopathies monoclonales. Gris : sujets sains.

III.2.4.2. INTERPRETATION ET DISCUSSION DES RESULTATS COMPLEMENTAIRES

Cette analyse complémentaire a retrouvé une tendance à une densité en CL plus élevée chez les patients diabétiques que dans les autres groupes (à l'exception des patients POEMS) ce qui est en accord avec les données de la littérature (Casanova-Molla, Morales et al. 2012). Une explication à l'augmentation de la densité des CL chez les patients POEMS aurait pu être la présence d'un diabète secondaire au syndrome mais dans notre cohorte, aucun des 5 patients inclus dans le groupe POEMS ne présentait de diabète. Cependant, seuls cinq patients ont été inclus dans le groupe POEMS ce qui limite la possibilité sur l'émission d'hypothèse quant à ces résultats. Une deuxième hypothèse, plus plausible, est que l'élévation du taux de VEGF dans le syndrome POEMS s'accompagne d'une activation des CL, expliquant cette augmentation significative de la densité dans ce syndrome. Par ailleurs, on peut également supposer que cela s'associe à un passage dans le milieu interstitiel de molécules diverses du fait d'une augmentation de la perméabilité vasculaire en réponse à la production excessive de VEGF.

Nous n'avons pas mis en évidence de corrélation entre la perte en FNIE et l'augmentation des CL. Une étude avait rapporté que le diabète (induit chez des rats) entraînait une réduction mais surtout une diminution de la taille des CL (la taille étant un témoin de leur maturation) sans diminution des FNIE, soulignant ainsi un impact du diabète sur la prolifération et la maturation des CL indépendamment de son impact sur l'innervation cutanée (Doss and Smith 2012). La CL pourrait donc être un argument étiologique dans la NPF : une perte en FNIE associée à une élévation des CL serait un argument en faveur d'une origine diabétique de la NPF.

L'étude des sujets sains apporte une information intéressante : c'est dans ce groupe que la densité en CL est la plus faible, même si les différences ne sont pas significatives. Cela peut laisser supposer que dans des conditions physiologiques stables, les CL ne s'activent pas et leur densité reste faible. On peut donc penser que la présence en nombre augmenté des CL dans l'épiderme est un témoin de modifications physiologiques au niveau local, et que c'est une variable qui peut être quantifiée. On peut enfin supposer que l'augmentation de la densité cutanée en CL pourrait être associée à la perte en fibres dans certaines conditions pathologiques, qu'elle soit la cause ou la conséquence. Cependant, une corrélation positive forte et significative ($\rho = 0,66$; $p = 0,031$) entre la densité des CL et celle des FNIE a été mise en évidence, dont l'interprétation est difficile et troublante. Cela suggère qu'il y aurait, dans des conditions physiologiques normales, une relation positive entre la densité des FNIE et des CL, et oblige

donc à tempérer l'interprétation d'une augmentation des CL comme un témoin direct d'une perte en FNIE.

Il est impossible de définir sur ces seules données si les CL ont un lien avec l'initiation de la perte en FNIE ou si elles ne sont qu'un élément secondaire intervenant dans le processus de destruction des fibres. Cependant, une étude, qui a montré une augmentation des CL significativement corrélée à une perte en FNIE après administration de mercure (qui est neurotoxique) chez le rat (Uceyler, Braunsdorf et al. 2017), est plutôt en faveur d'un rôle secondaire des CL dans un contexte de destruction des fibres. La CL serait donc plutôt un stigmate cutané indirect d'une atteinte des fibres dans certaines conditions (métaboliques ou toxiques en l'occurrence), donc un potentiel biomarqueur. L'extravasation supposée de diverses molécules neurotoxiques en réponse à la surproduction de VEGF dans le syndrome POEMS est un argument supplémentaire de cette hypothèse. Des études supplémentaires et à plus grande échelle devraient permettre d'étayer l'intérêt de cette cellule comme biomarqueur cutané prédictif/associé de la perte en FNIE.

III.3. OBJECTIF 3 – RELATION ENTRE LA PERTE EN PETITES FIBRES ET LA PROLIFERATION VASCULAIRE CUTANEE DANS LE SYNDROME POEMS

III.3.1. AVANT-PROPOS

III.3.1.1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS

Le syndrome POEMS est une maladie rare et complexe, dont la physiopathologie semble liée à une production excessive de VEGF. Dans ce syndrome il existe, entre autres, une gammopathie monoclonale et une polyneuropathie atteignant les grosses fibres mais également les petites fibres, donnant une symptomatologie de type NPF.

Compte-tenu de cette sécrétion de VEGF, nous avons supposé qu'une néovascularisation cutanée pourrait être mise en évidence, et devenir ainsi un argument diagnostique supplémentaire dans le diagnostic de ce syndrome. De plus, nous avons comparé cette vascularisation cutanée à la vascularisation nerveuse afin de voir si les modifications cutanées pouvaient être le reflet des modifications nerveuses, ainsi qu'à la densité des FNIE afin de rechercher un lien entre la perte en petites fibres dans l'épiderme et une néovascularisation cutanée.

Nous avons comparé un groupe de patients souffrant du syndrome POEMS à six groupes contrôles : un groupe de témoins sains, et cinq groupes représentant les diagnostics différentiels principaux de cette maladie (à savoir les groupes diabète, PIDC, amylose, vascularite et gammopathie monoclonale), ayant bénéficié d'une biopsie de peau et de nerf. Nous avons donc quantifié les vaisseaux à l'aide d'une étude immunohistochimique avec l'anticorps anti-alpha-SMA (Smooth Actin Muscle) qui met en évidence la paroi musculaire lisse des vaisseaux, et cela dans le derme et dans le nerf, en différenciant pour ce dernier les compartiments épinèvre, périnèvre et endonèvre. Nous avons également quantifié les FNIE. Une recherche de corrélation avec le taux sérique de VEGF a été réalisée pour chacune de ces densités.

III.3.1.2. PRINCIPAUX RESULTATS

Quantification des vaisseaux dans la peau :

Il y avait significativement plus de vaisseaux sanguins dans le derme des patients atteints du syndrome de POEMS que dans la peau de tous les groupes de contrôle (sauf pour le groupe avec gammopathie monoclonale, $p = 0,125$).

Quantification des vaisseaux dans le nerf :

Une augmentation de la vascularisation dans le périnèvre a été observée dans le groupe POEMS comparé aux témoins sains (densité moyenne des vaisseaux : $0,4 (\pm 0,1)$ vaisseaux / mm versus $0,2 (\pm 0)$ vaisseaux / mm ($p = 0,027$) ainsi que par rapport au groupe amylose (densité moyenne des vaisseaux : $0,4 (\pm 0,1)$ vaisseaux / mm versus $0,2 (\pm 0,1)$ vaisseaux / mm ($p = 0,046$)).

Quantification des FNIE :

La densité des FNIE des patients POEMS était significativement inférieure à celle des témoins sains, avec une densité moyenne de $4,9 (\pm 1,2)$ fibres/mm contre $9,6 (\pm 1,1)$ fibres/mm, ($p = 0,021$). En revanche la densité des FNIE des patients POEMS était significativement plus élevée que dans les autres groupes contrôles (à l'exception du groupe PIDC et du groupe vascularite).

Relation entre la densité des vaisseaux du derme, du nerf et les FNIE :

Absence de corrélation entre ces variables.

Relation entre la densité des grosses fibres myélinisées dans le nerf et la vascularisation nerveuse :

Une corrélation négative forte et significative a été observée entre la densité des grosses fibres myélinisées dans le nerf et la densité des vaisseaux du périnèvre ($r = -0,089$; $p = 0,003$).

Relation avec le VEGF :

Il n'y avait pas de corrélation significative entre le taux sérique de VEGF et la vascularisation cutanée. En revanche, une corrélation positive et significative a été retrouvée entre le taux de VEGF et la vascularisation totale du nerf, celle du périnèvre et de l'épinèvre, mais pas celle de l'endonèvre. Enfin, une corrélation positive entre le VEGF et la densité de FNIE a été observée.

III.3.2. ARTICLE 3 – DERMAL AND NERVE NEOVASCULARIZATION AS A BIOMARKER OF THE POLYNEUROPATHY IN POEMS SYNDROME: A PRELIMINARY CASE-CONTROL STUDY

Article en preparation, prêt à être soumis

Title: Dermal and nerve neovascularization as a biomarker of the polyneuropathy in POEMS syndrome: a preliminary case-control study

Camille GUIBERT, MS (1), Laurence RICHARD, PhD (2, 5), Stéphanie DURAND, PhD (3, 4), Fanny MAQUIN (2), Claire DEMIOT (5), Jean-Michel VALLAT, MD (2), Arnaud JACCARD, MD, PhD (6), Laurent MAGY, MD, PhD (2, 5), Mathilde DUCHESNE, MD, PhD (1, 2, 5)

(1) Department of pathology, Dupuytren University Hospital, Limoges, France

(2) Department of Neurology, National Referral Center for ‘Rare Peripheral Neuropathies’, Dupuytren University Hospital, Limoges, France

(3) Bioinformatics Team, BISCEM Platform, University of Limoges, France

(4) EA 7500, Faculty of Sciences and Technology, University of Limoges, France

(5) EA 6309 – Schools of Medicine and Pharmacy – University of Limoges, France

(6) Department of Hematology, National Reference Center of Light-Chain Systemic Amyloidosis, Dupuytren University Hospital, Limoges, France

Corresponding author:

Mathilde Duchesne: Department of Pathology, 2 avenue Martin Luther King, 87000 Limoges, France. Mail: mathilde.duchesne@unilim.fr. Phone: +33670395438

ABSTRACT

POEMS (Polyneuropathy, Organomegaly, Endocrinopathy, Monoclonal plasma cell disorder and Skin changes) syndrome is a rare systemic disorder in which overexpression of vascular endothelial growth factor (VEGF) plays a key role but diagnosis is still challenging, and pathophysiology is still misunderstood. We determined in this preliminary study whether dermal and neural neovascularization could be a diagnostic biomarker. This was a retrospective study performed at the University Hospital of Limoges between 2009 and 2018. Patients suffering from POEMS syndrome and six control groups (healthy subjects, chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, diabetes, amyloidosis, vasculitis, and monoclonal gammopathy) who received both skin and nerve biopsies were included. Dermal and neural vascularization were quantified using vessel staining (anti-alpha SMA antibody), and intra-epidermal nerve fibers (IENF) using an anti-PGP 9.5 antibody. Six POEMS cases and 104 control cases were included. Dermal vessel and perineurial vessel density were significantly higher in patients with POEMS syndrome than in all control groups. Perineurial vascularization was correlated to loss of large myelinated fibers and to VEGF level. IENF density was lower in POEMS syndrome than in healthy subjects. To conclude, increased neural vascularization seems to play a role in the pathophysiology of large nerve neuropathy but not in the loss of IENF, and dermal neovascularization could be an interesting diagnostic biomarker for POEMS syndrome. These preliminary results need to be confirmed by larger studies.

Key words: neovascularization, skin biopsy, IENF, POEMS syndrome.

ABREVIATIONS

Alpha-SMA: alpha-smooth muscle actin

CIDP: chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy

EFNS: European Federation of Neurological Societies

IENF: intra-epidermal nerve fibers

MGUS: monoclonal gammopathy of undetermined significance

PBS: phosphate buffer saline

PGP 9.5: protein gene product 9.5

POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder and skin changes

VEGF: vascular endothelial growth factor

INTRODUCTION

POEMS (Polyneuropathy, Organomegaly, Endocrinopathy, Monoclonal plasma cell disorder, Skin changes) syndrome was first described by L. Scheinker at the end of the 1930s (1). After being studied for several decades, mostly by Japanese authors (2, 3), P.A Bardwick proposed to individualize this syndrome under its current acronym (4).

POEMS syndrome appears as a rare and diagnostic-challenging disease of still misunderstood pathophysiology, although vascular endothelial growth factor (VEGF) overexpression seems to play a key role in the development of the disorder (5-9). Indeed, mainly driven by an ubiquitous endothelial proliferation (10), the syndrome includes a devastating polyneuropathy, which is most often the first manifestation leading to the diagnosis.

The neuropathy of POEMS syndrome usually presents as a polyneuropathy with distal symmetric sensory-motor involvement predominating in the lower limbs. Nerve conduction studies suggest a demyelinating neuropathy with prominent axonal involvement in the lower limbs. Because slowing of nerve conduction is usual in the upper limbs, POEMS syndrome shares some clinical and electrical features with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, leading to frequent misdiagnosis (11). Moreover, an involvement of intraepidermal nerve fibres is also described (12).

The diagnostic criteria of POEMS syndrome have been the subject of several studies and are being regularly updated (13). Its main biomarker is an elevated serum level of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), which has a high diagnostic value (14, 15). As this small molecule potentially drives neovascularization, studies have shown an increase in nerve

vasculature in patients with POEMS syndrome as compared to those with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP) (10). Moreover, one single study showed an aberrant vasculature in the dermis of a patient with POEMS syndrome (16).

The aim of this preliminary study was to determine to what extent a neovascularization in the skin and the nerve of patients with POEMS syndrome could be of value as a biomarker of the polyneuropathy. We assessed whether these potential neovascularizations correlated with each other and with intra-epidermal nerve fibers (IENF), myelinated nerve fibers in nerve and serum levels of VEGF.

MATERIALS AND METHODS

Study design

This was a monocentric retrospective case-control study. Cases were patients suffering from POEMS syndrome who have undertaken skin and nerve biopsies at the University Hospital of Limoges between 2009 and 2018. Controls were divided into six groups: five groups representing the main neurological differential diagnoses (chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy – CIDP and neuropathy associated with the following conditions: diabetes, vasculitis, amyloidosis and monoclonal gammopathy) and one group of healthy subjects. Written consent was obtained from all subjects (after clear information had been provided about the reason for the biopsies). This study was performed with retrospective data recorded during usual patient care. According to French legislation (the Jardé law concerning biomedical research on human subjects – November 2016), the study was approved by ethics committee.

Study population

Inclusion criteria were age > 18 years and fulfillment of the POEMS syndrome diagnostic criteria (12). We included all the patients who benefited from concomitant skin and nerve biopsies.

Biopsy samples

Skin biopsy

Biopsies were performed with a 3 mm diameter punch, under sterile conditions, and after local anesthesia with an intradermal lidocaine injection into the distal leg (10 cm above the lateral malleolus). Samples were fixed in 4% paraformaldehyde with phosphate buffer (pH = 7.4) for 3 hours (4°C), rinsed twice in phosphate buffered saline (PBS), then cryoprotected in a 10% glucose solution overnight (4°C). Finally, tissue samples were frozen in isopentane that

was cooled in liquid nitrogen and held at -80°C . Sections of $50\ \mu\text{m}$ thickness were cut with a cryostat: three consecutive sections randomly selected for each biopsy were mounted on “Superfrost®” slides (ThermoFisher Scientific, Illkirch, France).

Nerve biopsy

A nerve sample was surgically removed under local anesthesia from a clinically or electrophysiologically affected sural or superficial peroneal nerve. One part of the nerve sample was frozen and cut to a $7\ \mu\text{m}$ thickness: 3 consecutive sections or randomly selected for each biopsy were put on “Superfrost®” slides (ThermoFisher Scientific, Illkirch, France). Another part of the nerve sample was fixed in 2.5% glutaraldehyde. After dehydration, processing, tissues were embedded in epon: semithin sections ($1\ \mu\text{m}$) were stained with toluidine blue.

Immunocytochemistry

Blood vessel immunolabeling was performed on the skin and nerve samples using an antibody against alpha smooth muscle actin (SMA) to label the muscular layer of the vessel wall. The incubation was conducted overnight at room temperature with the monoclonal Mouse antibody anti-alpha-SMA (1:1000; Sigma, St. Louis, MO, USA; Ref A2547). Then, the sections were rinsed twice with PBS and incubated for 2 hours at room temperature with a secondary antibody coupled with donkey anti-mouse AlexaFluor 594 (fluorescent, 1:1000; ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA; Ref 21203). The sections were rinsed in PBS again and mounted on a specific aqueous fluorescence medium (Dako, Carpinteria, CA, USA). The slides were stored at 4°C .

IENF immunolabeling was performed on skin samples using the cytoplasmic axonal staining Protein Gene Product 9.5 (PGP 9.5), with the same technique as that used for alpha-SMA, except that the primary polyclonal Rabbit axonal antibody against PGP 9.5 was used (1:50; Abcam, Cambridge, MA, USA; Ref Ab108986) and the secondary antibody, which was coupled with Rabbit anti-Cy3 (1:50; Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, USA; Ref 111-165-144).

Quantification of vessels

As there are no current recommendations, we based our method on a previous study of Piccione *et al.* (10) who counted the number of vessels in nerve samples and chose a similar process to apply to both the skin and nerve samples. First, we manually delineated the area of each sample using the $400\times$ objective of a light microscope (NIKON Dxm1200) and NIS elements BR 3.0 software. This area was expressed in mm^2 . We only delineated the dermal and

hypodermal areas in the skin. In the nerve, we differentiated the area (expressed in mm²) of the whole sample, area of the endoneurium, area of the epineurium, and length of the perineurium (expressed in mm). Each blood vessel with a smooth muscle layer immunolabeled with the anti-alpha-SMA antibody was counted at 200× magnification (**Figure 1A–1D**) by one pathologist (CG). The results are expressed as the ratio of the number of vessels related to the whole area for the entire biopsy, to the endoneurial area for the endoneurium, to the epineurial area for the epineurium, and to the perineurial length for the perineurium.

Quantification of intra-epidermal nerve fibers on skin biopsy

IENF density was quantified manually at high magnification (400X) with a fluorescent microscope (NIKON D×M1200) (**Figure 1E and 1F**), using the rules established by the European Federation of Neurological Societies (17).

Quantification of myelinated nerve fibers on nerve biopsy

Large and small myelinated fibers of the POEMS cases were quantified manually using the semithin sections. The slides were scanned with a NanoZoomer 2.ORS, NanoZoomer Digital Pathology 2.5 software was used for image acquisition and the ImageJ software (NIH, Bethesda, MD) was used for counting. For each patient, two fascicules were analysed: the number of large and small myelinated fibers was related to the area of fascicule (in μm²).

Statistical analysis

The statistical analyses were performed using the R environment (version 3.4.2) (18). Descriptive variables are expressed as percentages, and as means (\pm standard error) or medians [range] for quantitative values. Normality and homoscedasticity of the variable distribution according to disease group were estimated by the Shapiro and Bartlett tests, respectively. Non-normal distributions, heteroscedastic variances, and the sizes of some groups (≤ 10) involved subsequent analyses with non-parametric tests to identify the average difference between the pathological groups. Multiple mean comparisons were performed with the Kruskal–Wallis test and consecutive post-hoc tests for all-pairs comparisons with the Conover-Iman test, using the PMCMRplus R package (19). A correlation analysis was performed using Spearman’s rank correlation coefficient analysis. Significant results were considered at p-values ≤ 0.05 .

A multivariate analysis used to obtain an overview of the variability in high-dimensional data was performed using principal components analysis (PCA) with the FactoMineR package

(20) and visualized using the factextra package (21). The multivariate analysis was subsequently completed by a group comparison using the Kruskal–Wallis test followed by the Conover test for each parameter.

RESULTS

Patients characteristics

POEMS cases

Six patients [two men (33.3%) and four women (66.7%)] with POEMS syndrome were included, with a median age of 60 years [39;72]. All patients presented with polyneuropathy, monoclonal gammopathy (lambda light chain) and skin abnormalities. The skin abnormalities reported in POEMS syndrome did not involve the skin where the biopsy was realized. All patients had significantly increased serum levels of VEGF; 50% of the patients had osteosclerotic bone lesions (3/6), 66.7% of the patients presented with an extravascular volume overload (4/6), and 50% had an endocrinopathy (3/6). Finally, three patients had thrombocytosis or polycythemia. The characteristics are presented in **Table 1**.

Control cases

A total of 104 controls (64.4% of men) were included in six groups: 17 patients with diabetes, 18 patients with vasculitis, 18 patients with CIDP, 19 patients with amyloidosis, 9 patients with monoclonal gammopathy (included monoclonal gammopathy of undetermined significance [MGUS], myeloma, or gammopathy associated to Sjögren syndrome (22)), and 23 healthy subjects (no clinical or electrophysiological proof of neuropathy, no diabetes, no chronic alcohol abuse, no disorder likely to give a neuropathy of small fibers). The normal cases who underwent a nerve biopsy were patients which presented some complain that was suspicious of a neuropathy, and whose symptoms were finally eventually not explained by a nerve lesion.

The women were significantly older than the men in all groups ($p = 0.006$). Patients with diabetic neuropathy and amyloidosis were significantly older than those with POEMS syndrome ($p = 0.044$ and $p = 0.039$, respectively), and the other control groups tended to be older than the POEMS group (**Table 2**).

Control cases with VEGF assay

Eleven patients from the control groups were assayed for serum VEGF level (3 diabetes, 2 amyloidosis, 5 monoclonal gammopathy, 1 vasculitis) because of an initial suspicion of

POEMS syndrome. The patient suffering from vasculitis had an a slightly increased level of VEGF as described in this disease (15, 23, 24). Patients in these control groups were significantly older than the POEMS cases (**Figure 4A**).

Multivariate analysis

Considering the 110 patients characterized by 10 quantitative variables, PCA was performed to detect a potential distinction among the disease subgroups. According to the confidence ellipse related to the centroid of each disease group, we observed a clear distinction between POEMS and the other control groups (**Figure 2**).

In an unidimensional analysis way, two parameters were significantly associated with POEMS subgroup: the mean density of blood vessels in skin (POEMS: 27.6 ± 1.6 vessels/mm²; Overall: 20.3 ± 0.5 vessels/mm²; $p=0.00046$) and the mean density of perineurial blood vessels (POEMS: 0.38 ± 0.1 vessels/mm; Overall: 0.24 ± 0.02 vessels/mm; $p=0.048$).

Skin vascularization

Density of blood vessels in skin

Patients with POEMS syndrome had significantly more blood vessel than of all of the control groups (except the group with monoclonal gammopathy: $27.6 (\pm 1.6)$ vessels/mm² versus $22.3 (\pm 2)$ vessels/mm², $p = 0.125$) (**Table 3** and **Figure 3A**).

Comparing to the eleven patients of the control group with VEGF assay, dermal blood vessel density only tended to be higher in the POEMS syndrome group than in the control group ($27.6 (\pm 1.6)$ vs. $22.3 (\pm 2)$, $p = 0.093$) (**Table 3** and **Figure 4A**). Moreover, no significant correlation was detected between VEGF level and skin vessel density ($r = 0.6$, $p = 0.24$) (**Figure 5A**).

Nerve vascularization

Density of blood vessels in nerve

There was a significant increase of the perineurial vascularization in the POEMS group compared to healthy subjects (mean vessel density of $0.4 (\pm 0.1)$ vessels/mm vs. $0.2 (\pm 0)$ vessels/mm; $p = 0.027$), as well as between POEMS and amyloidosis group (mean vessel density of $0.4 (\pm 0.1)$ vessels/mm vs. $0.2 (\pm 0.1)$ vessels/mm; $p = 0.046$) (**Figure 3B**). Finally, there were no significant differences when considering epineurial, endoneurial and whole nerve vascularization (**Table 3**).

Comparing to the eleven patients of the control group with VEGF assay, vessel density in POEMS cases was significantly higher than in the control group considering vascularization of the whole nerve (38.0 (± 1.6) vessels/mm² vs. 30.7 (± 1.6) vessels/mm²; $p = 0.007$) (**Figure 4B**) and of epineurium (38.9 (± 2.7) vessels/mm² vs. 26.8 (± 1.5) vessels/mm², $p = 0.0016$). However, there was no significant difference when considering endoneurial or perineurial (**Figure 4C**) nerve vessel density (**Table 3**).

A significant correlation was observed between VEGF level and vascularization of whole nerve, epineurium and perineurium, respectively (**Figure 5B, 5C, 5D**), but not of endoneurium ($r = 0.34$; $p = 0.206$).

Dermal vascularization and that of the nerve were never correlated according to Spearman's rank-coefficient analysis.

Nerve fibers analysis

Density of intra-epidermal nerve fiber (DIENF)

Patients with POEMS syndrome had a significantly lower IENF density than healthy controls, with a mean DIENF of 4.9 (± 1.2) fibers/mm vs. 9.6 (± 1.1) fibers/mm, ($p = 0.021$). POEMS patients had a significantly higher density than the other control groups except for the CIDP and vasculitis groups (**Table 3** and **Figure**).

Comparing to the eleven patients of the control group with VEGF assay, DIENF of POEMS patients was significantly higher than the control group (**Figure 4D**). Moreover, DIENF was correlated to VEGF level when considering the all VEGF assay ($r = 0.68$; $p = 0.003$) or the POEMS group only ($r = 0.94$; $p = 0.017$) and was not correlated with skin or nerve vascularization according to Spearman's rank-coefficient analysis.

Density of myelinated nerve fiber into the nerve biopsy of POEMS cases

Considering the POEMS cases, the density of large myelinated fibers was significantly correlated to the perineurial density of blood vessels ($r = -0.089$; $p = 0.003$), but not to the VEGF or the skin vessels density. On the contrary, the density of small myelinated fibers was never correlated to skin and nerve vascularization and to VEGF level. Finally, densities of large and small myelinated fibers were not correlated, and there was no correlation between DIENF and large or small myelinated fibers density.

DISCUSSION

Diagnosing POEMS syndrome can be challenging because of its rarity and multiple subtle criteria (13). The diagnosis is often delayed, and patients present with severe clinical damage, including peripheral neuropathy. Although overexpression of VEGF seems to play a key role in the development of the disorder, the complete pathophysiology is still misunderstood, as is at of the polyneuropathy. Nerve biopsy is a very informative technique but its indication in the POEMS syndrome has been revised downwards because of the serum VEGF assay. Skin biopsy, which is the gold standard to demonstrate small fiber loss, is a quick and easy-to-access technique. Thus, we tried to determine whether dermal and nerve neovascularization increases in patients with POEMS syndrome and if there were correlated to the polyneuropathy and to each other, in order to use skin biopsy as a new biomarker in this disease. One study, to date, has assessed dermal vascularization in POEMS syndrome, but only in a single patient and in a qualitative manner (16).

In this preliminary study, and despite our small population, we found a significant increase in dermal vascularization in patients with POEMS syndrome compared to healthy controls and to diseases that can be considered in the differential diagnoses, such as CIDP, diabetes, vasculitis, and amyloidosis. As mentioned in the study of Chaudhry, combination of neuropathy and monoclonal gammopathy should suggest the existence of a POEMS syndrome (25). Although these results require confirmation by a study with a larger population, they strongly suggest that skin biopsy may be an additional diagnostic tool for POEMS syndrome. Nevertheless, the weak point of our results is the absence of significant difference between cutaneous vascularization of POEMS and monoclonal gammopathies even if there was a trend of more dermal vessels in POEMS syndrome. This lack of difference can again be explained by small number of cases studied here.

Some studies have demonstrated that aging alters dermal angiogenesis, with a reduction of the cutaneous microvasculature in skin of elderly individuals (26, 27). Amyloidosis and diabetes control groups were significantly older than POEMS cases with a median age of 60 [39;72] years-old for POEMS and respectively 73 [53;86], $p = 0.039$, and 69 [52;88] years-old, $p = 0.044$ for amyloidosis and diabetes. This point should be considered as a bias. Nevertheless, dermal vascularization in POEMS patients is also significantly higher than in controls groups that are not significantly older. In order to control this variable, larger studies could establish thresholds related to age and gender that could become a useful tool in current practice.

Surprisingly, only perineurial vascularization increased significantly in patients with POEMS syndrome compared to the normal group (and amyloidosis). Moreover, perineurial

vessel density was not correlated with endoneurial or epineurial vessel density, which appears consistent. Scarlato et al. have shown qualitative abnormalities in endoneurial vessels but there were no more abnormalities than in the controls, and a quantitative study of only three patients was conducted (7). It must be remembered that peripheral nerves have both exogenous and endogenous blood-supply systems; the latter containing epineurial, perineurial and endoneurial vessels in an anastomotic network. In our study, we only quantified vessels with a muscular layer; however, the endoneurium mainly contains longitudinally arranged blood capillaries (28). This could explain our results concerning the absence of a significant increase in endoneurial vascularization and correlation with perineurial vessels. Further studies should be done to quantify also capillary vessels without muscle walls with an endothelial cell marker. However, the absence of a correlation between epineurial and perineurial neovascularization and the absence of a significant increase in epineurial vessels remains elusive. One explanation could be that intrinsic factors in the composition of the perineurium facilitate the formation of new vessels under the influence of VEGF overproduction, as these three vascular compartments have different functions and constraints (29).

Another surprising finding was the absence of a correlation between dermal neovascularization and serum VEGF level, particularly because a correlation has been found between neural vessels and VEGF. Indeed, the role of VEGF has long been established in the pathophysiology of POEMS syndrome (7-9, 15, 30, 31). It is important to note that four out of six patients suffering from POEMS syndrome were treated before serum level of VEGF assay, sometimes by a combination of two type of medication. This aspect could partly explain a reduction of VEGF level and the absence of correlation between VEGF and skin vascularization. In addition, whether the duration of VEGF overproduction plays a role in the development of neovascularization needs to be investigated and larger studies are surely necessary to explore the relationship between vascularization and VEGF production. Nevertheless, the significant and positive correlation between nerve vascularization and VEGF level is concordant with recent studies, particularly with the study of Piccione *et al.* (10). These data confirm the role of VEGF in the pathophysiology of POEMS syndrome and in an increased nerve vascularization raising the question of the role of this neovascularization in the development of the neuropathy, which is still poorly understood.

Although a previous skin biopsy study demonstrated decreased IENF density in a patient with POEMS syndrome (16), no larger studies have been conducted on this topic (12). In the present study, IENF density was significantly higher in patients with POEMS syndrome compared to patients suffering from amyloidosis, monoclonal gammopathy, and diabetes but

lower when compared to healthy controls, underlying a small nerve involvement in POEMS syndrome. Surprisingly, IENF density was not correlated to dermal or nerve vascularization but was positively and strongly correlated to VEGF level, and the POEMS patients had a DIENF significantly higher than the control group with VEGF assay. These findings suggest that the elevation of VEGF level is associated to an increase of IENF, which is troubling. On the other side, all patients shared demyelinating involvement found in electrodiagnostic study and the loss of large myelinated fibers was significantly correlated to perineurial increased vascularization, but not with VEGF, although perineurial vascularization is correlated to VEGF. So, overexpression of VEGF implies an increase of perineurial vessels, the latter being correlated with the loss of large nerve fibers. This overexpression of VEGF, described in the POEMS syndrome, is associated but not correlated to a loss of IENF. Moreover, no correlation was observed between dermal and nerve vascularization, nor between loss of IENF and loss of myelinated nerve fibers, which was unexpected. Differences in the microenvironment and local factors between skin and nerves and the blood-nerve barrier could explain this data (29). These findings corroborates previous works indicating that the neuropathy of POEMS syndrome mainly involves large fibers (32, 33). It also underlines that involvement of IENF is not to be concomitant with large fiber involvement, suggesting different mechanisms of fiber loss, where the vascularization seems to play a role in the large nerve polyneuropathy better than in the loss of IENF.

Five of six patients had a VEGF level assay within the 37-day timeframe before or after skin and nerve biopsies. Therefore, the assays were representative of clinical lesions. However, four out of the six patients received treatment before the VEGF assay (corticosteroids, intravenous immunoglobulin, or methotrexate), which may have had a negative impact on VEGF level. The absence of a correlation between dermal neovascularization and serum level of VEGF could also be explained by the small population of POEMS patients. Nevertheless, this result emphasizes that an increased level of VEGF over a long period, even a moderate increase, could have an impact on neovascularization. The correlation between these two variables should be tested on a large population and over time. Another problem is the lack of a VEGF assay before the pathology is symptomatic, but this is impossible to solve.

The main weakness of the present study is the small size of the cohort, because patients with POEMS syndrome only rarely underwent nerve and skin biopsies. The cases in this study were patients for whom there has been a long diagnostic journey. We hope to conduct a skin biopsy study on a larger cohort of patients with POEMS syndrome to confirm our preliminary data.

In conclusion, our study confirmed the existence of a neovascularization in the skin and in the nerve in POEMS syndrome, correlated to VEGF concerning neural vessels. This neovascularization seems to play a role in the large nerve polyneuropathy, but not in the involvement of IENF, underlying two different mechanisms of loss of fiber. Nevertheless, increased dermal vascularization seems to be an easy and interesting way to help the diagnosis of POEMS syndrome. Further studies are needed to confirm our results, and to analyze more precisely the vascularization in the skin as well as its correlation with blood VEGF level and IENF density.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank all participants of this study, especially the Laboratory of Neurology of University Hospital of Limoges. Thanks, to Alice Eap for her great help.

REFERENCES

1. L S. Myelom und Nervensystem: uber eine bishernicht beschrieben mit eigentumlichen Hautveran- derungen einhergehende Polyneuritis bei einem plama-zellularen myelom des sternums. . *Dtsch Z Nervenheilkd* 1938;147:147-273
2. Crow RS. Peripheral neuritis in myelomatosis. *Br Med J* 1956;2:802-4
3. Iwashita H, Ohnishi A, Asada M, et al. Polyneuropathy, skin hyperpigmentation, edema, and hypertrichosis in localized osteosclerotic myeloma. *Neurology* 1977;27:675-81
4. Bardwick PA, Zvaifler NJ, Gill GN, et al. Plasma cell dyscrasia with polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, M protein, and skin changes: the POEMS syndrome. Report on two cases and a review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1980;59:311-22
5. Koike H, Iijima M, Mori K, et al. Neuropathic pain correlates with myelinated fibre loss and cytokine profile in POEMS syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008;79:1171-9
6. Michizono K, Umehara F, Hashiguchi T, et al. Circulating levels of MMP-1, -2, -3, -9, and TIMP-1 are increased in POEMS syndrome. *Neurology* 2001;56:807-10
7. Scarlato M, Previtali SC, Carpo M, et al. Polyneuropathy in POEMS syndrome: role of angiogenic factors in the pathogenesis. *Brain : a journal of neurology* 2005;128:1911-20
8. Soubrier M, Dubost JJ, Serre AF, et al. Growth factors in POEMS syndrome: evidence for a marked increase in circulating vascular endothelial growth factor. *Arthritis Rheum* 1997;40:786-7
9. Watanabe O, Maruyama I, Arimura K, et al. Overproduction of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is causative in Crow-Fukase (POEMS) syndrome. *Muscle Nerve* 1998;21:1390-7
10. Piccione EA, Engelstad J, Dyck PJ, et al. Nerve pathologic features differentiate POEMS syndrome from CIDP. *Acta Neuropathol Commun* 2016;4:116
11. Leppert D, Hughes P, Huber S, et al. Matrix metalloproteinase upregulation in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy and nonsystemic vasculitic neuropathy. *Neurology* 1999;53:62-70
12. Ohyama K, Koike H, Hashimoto R, et al. Intraepidermal nerve fibre density in POEMS (Crow-Fukase) syndrome and the correlation with sural nerve pathology. *J Neurol Sci* 2016;365:207-11
13. Dispenzieri A. POEMS syndrome: 2017 Update on diagnosis, risk stratification, and management. *American journal of hematology* 2017;92:814-29
14. Nobile-Orazio E, Terenghi F, Giannotta C, et al. Serum VEGF levels in POEMS syndrome and in immune-mediated neuropathies. *Neurology* 2009;72:1024-6
15. Pihan M, Keddie S, D'Sa S, et al. Raised VEGF: High sensitivity and specificity in the diagnosis of POEMS syndrome. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2018;5:e486
16. Santoro L, Manganelli F, Bruno R, et al. Sural nerve and epidermal vascular abnormalities in a case of POEMS syndrome. *Eur J Neurol* 2006;13:99-102
17. Lauria G, Cornblath DR, Johansson O, et al. EFNS guidelines on the use of skin biopsy in the diagnosis of peripheral neuropathy. *European Journal of Neurology* 2005;12:747-58
18. Team RC. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria* 2017
19. Pohlert T. PMCMRplus: Calculate Pairwise Multiple Comparisons of Mean Rank Sums Extended. R package version 1.4.1. . 2018
20. Lê S, Josse J, Husson F. **FactoMineR** : An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software* 2008;25
21. Mundt AKF. factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R package version 1.0.5. 2017
22. Brito-Zeron P, Retamozo S, Gandia M, et al. Monoclonal gammopathy related to Sjogren syndrome: a key marker of disease prognosis and outcomes. *J Autoimmun* 2012;39:43-8
23. Sakai K, Komai K, Yanase D, et al. Plasma VEGF as a marker for the diagnosis and treatment of vasculitic neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:296

24. D'Souza A, Hayman SR, Buadi F, et al. The utility of plasma vascular endothelial growth factor levels in the diagnosis and follow-up of patients with POEMS syndrome. *Blood* 2011;118:4663-5
25. Chaudhry HM, Mauermann ML, Rajkumar SV. Monoclonal Gammopathy-Associated Peripheral Neuropathy: Diagnosis and Management. *Mayo Clin Proc* 2017;92:838-50
26. Chung JH, Eun HC. Angiogenesis in skin aging and photoaging. *J Dermatol* 2007;34:593-600
27. Chung JH, Yano K, Lee MK, et al. Differential effects of photoaging vs intrinsic aging on the vascularization of human skin. *Arch Dermatol* 2002;138:1437-42
28. Gao Y, Weng C, Wang X. Changes in nerve microcirculation following peripheral nerve compression. *Neural Regen Res* 2013;8:1041-7
29. Weerasuriya A, Mizisin AP. The blood-nerve barrier: structure and functional significance. *Methods in molecular biology* 2011;686:149-73
30. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995;146:1029-39
31. Watanabe O, Arimura K, Kitajima I, et al. Greatly raised vascular endothelial growth factor (VEGF) in POEMS syndrome. *Lancet* 1996;347:702
32. Hashimoto R, Koike H, Takahashi M, et al. Uncompacted Myelin Lamellae and Nodal Ion Channel Disruption in POEMS Syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol* 2015;74:1127-36
33. Fujinuma Y, Asahina M, Fukushima T, et al. Preserved autonomic function in patients with POEMS syndrome. *J Neurol Sci* 2012;318:131-4

LEGENDS OF FIGURES

Figure 1. Immunostaining of vascularization of skin (A, B) and nerve (C, D), and of IENF (E, F)

1A and 1B: dermal blood vessels labelling (Immunofluorescence, anti-alpha-SMA, 200X magnification) of a POEMS patient (**1A**) and a healthy subject (**1B**): increased dermal blood vessels in POEMS. **1C and 1D:** neural vessels labelling (Immunofluorescence, anti-alpha-SMA, 40X magnification) of a POEMS patient (**1C**) and a patient suffering from amyloidosis (**1D**): increased vascularization in POEMS compared to amyloidosis, especially in perineurium. **1E and 1F:** IENF labelling (Immunofluorescence, anti-PGP 9.5, 200X magnification) of a POEMS patient (**1E**) and a healthy subject (**1F**): loss of IENF in POEMS.

IENF: intraepidermal nerve fibers. POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes. SMA: smooth muscle actin

Figure 2. Principal Component Analysis (PCA) of each group considering all variables

Principal component analysis (PCA) were performed on 110 patients of our study based on the value of ten quantitative variables. Confidence ellipse related to centroid of each disease group were visualized according legend color.

CIDP: chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes.

Figure 3. Quantification of dermal blood vessels (A) and perineurial blood vessels (B) in POEMS patients and control groups

CIDP: chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes.

Means of POEMS and control groups were indicated by diamond symbol.

Figure 4. Comparison of POEMS patients with the eleven patients of the control group with VEGF assay

A: Ratio of skin vessels related to skin biopsy area. **B:** Ratio of whole nerve vessels density related to whole nerve biopsy area. **C:** Ratio of perineurial nerve vessels density related to perineurial nerve biopsy length. **D:** Intraepidermal nerve fiber density.

POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes.

Control: includes the eleven patients of the control group who have had a VEGF assay

Means of POEMS and control groups were indicated by diamond symbol.

Figure 5. Correlation between VEGF rate and nerve and skin vascularization

A: Ratio of skin vessels related to skin biopsy area. **B:** Ratio of whole nerve vessels density related to whole nerve biopsy area **C:** Ratio of epineurial nerve vessels density related to epineurial nerve biopsy area. **D:** Ratio of perineurial nerve vessels density related to perineurial nerve biopsy length.

Black: POEMS. Color: Control (magenta: diabetes, green: vasculitis, orange: amyloidosis, blue: gammopathy). POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes.

Dashed lines correspond to linear regression line.

Figure 6. Intra-epidermal nerve fiber density in POEMS patients and control groups

CIDP: chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes.

Means of POEMS and control groups were indicated by diamond symbol.

Table 1. Characteristics of patients suffering from POEMS syndrome

POEMS patients' characteristics	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6
Age	39	64	68	72	56	50
Gender	F	F	M	F	F	M
Polyneuropathy						
<i>Sensory impairment</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Motor impairment</i>	+	+	0	0	+	+
<i>Pain</i>	0	+	+	+	+	+
<i>Ascendant evolution</i>	+	+	NP	+	+	+
<i>Symmetry</i>	+	+	+	+	0	+
<i>ENMG</i>						
<i>Axonal involvement</i>	+	0	0	0	0	+
<i>Demyelinating involvement</i>	+	+	+	+	+	+
Large myelinated fiber involvement on nerve biopsy	+	+	+	+	+	+
Monoclonal gammopathy						
	Lambda	Lambda	Lambda	Lambda	Lambda	Lambda
Osteosclerotic bone lesions	0	+	+	0	+	0
Castleman's disease	NP	NP	NP	NP	NP	0
Increased serum level of VEGF	+	+	+	+	+	+
Organomegaly						
<i>Splenomegaly</i>	0	0	+	0	+	0
<i>Hepatomegaly</i>	0	+	+	0	+	0
<i>Adenopathy</i>	0	0	0	0	0	+
Extravascular volume overload						
<i>Edema</i>	0	+	+	+	+	0
<i>Pleural effusion</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Ascites</i>	0	0	0	0	0	0
Endocrinopathy						
<i>Thyroid</i>	0	0	+	0	0	0
<i>Adrenal</i>	0	0	+	0	0	0
<i>Gonadal</i>	0	0	+	0	0	+
<i>Pituitary</i>	0	0	0	0	+	0
<i>Parathyroid</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Pancreatic</i>	0	0	0	0	0	0
Skin changes						
<i>Hyperpigmentation</i>	0	0	0	+	+	+
<i>Hypertrichosis</i>	+	0	0	0	0	0
<i>Glomeruloid hemangiomas</i>	0	0	0	+	+	0
<i>Acrocyanosis</i>	0	+	+	0	+	0
<i>Flushing</i>	+	0	+	+	0	0
<i>White nails</i>	+	0	0	0	0	0
Papilledema	NP	NP	0	0	NP	0
Thrombocytosis / polycythemia	+	0	+	+	0	0
Time between biopsies and VEGF assay (days)	0	1	1	0	169	37
Treatment before VEGF assay	+	+	0	0	+	+
<i>Corticosteroids</i>	+	0			+	+
<i>IV immunoglobulins</i>	+	+			+	0
<i>Immunosuppressants</i>	0	0			0	0

F: female. IV: intravenous. M: male. NP: not provided. POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes. VEGF: vascular endothelial growth factor.

Table 2. Characteristics of included patients

	POEMS (n=6)	CIDP (n=18)	Diabetes (n=17)	Vasculitis (n=18)	Amyloidosis (n=19)	Gammopathy (n=9)	Healthy (n=23)
Age (median [min; max])	60 [39; 72]	68.5 [44; 90]	69 [52; 88]	68 [33; 89]	73 [53; 86]	68 [41; 82]	67 [45; 94]
Gender, n(%)							
<i>Male</i>	2 (33.3)	13 (72.2)	12 (70.6)	7 (38.9)	15 (78.9)	7 (77.8)	13 (56.5)
<i>Female</i>	4 (66.7)	5 (27.8)	5 (29.4)	11 (61.1)	4 (21.1)	2 (22.2)	10 (43.5)

CIDP: chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes.

Table 3. Quantification of dermal and neural vessels in POEMS population and controls groups

	Neural vascularization*					
	Skin vascularization* (vessels/mm²)	Whole nerve (vessels/mm²)	Epineurium (vessels/mm²)	Perineurium (vessels/mm)	Endoneurium (vessels/mm²)	IENF density* (fibers/mm)
POEMS (n=6)	27.6 (±1.6)	38 (±1.6)	38.9 (±2.7)	0.4 (±0.1)	38.3 (±4.1)	4.9 (±1.2)
Controls (n=104)						
<i>Healthy (n=23)</i>	18.9 (±1.4)	43.9 (±2.5)	48.0 (±3.5)	0.2 (±0)	38.5 (±1.8)	9.6 (±1.1)
<i>Diabetes (n=17)</i>	19.2 (±1.5)	36.6 (±2.1)	32.7 (±2.6)	0.2 (±0.1)	40.6 (2.9)	2.1 (±0.5)
<i>CIDP (n=18)</i>	19.9 (±1)	37.8 (±3.3)	40.5 (±4.3)	0.2 (±0)	35.1 (±3.6)	5.9 (±1.1)
<i>Vasculitis (n=18)</i>	20.3 (±1.9)	34.9 (±2.4)	37.6 (±4.7)	0.3 (±0.1)	33.4 (±2)	3.9 (±0.6)
<i>Amyloidosis (n=19)</i>	19.2 (±1.9)	38.1 (±2.5)	41.2 (±3.1)	0.2 (±0.1)	34.5 (±2.3)	1.8 (±0.5)
<i>Gammopathy (n=9)</i>	21.9 (±2)	37.5 (±2.8)	34.4 (±4.4)	0.3 (±0.1)	39.3 (±3)	2.5 (±0.7)
Controls with VEGF assay (n=11)	22.3 (±2)	30.7 (±1.6)	26.8 (±1.5)	0.2 (±0.05)	33.6 (±2.7)	2 (±0.5)

*Mean (± standard error of mean). CIDP: chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. IENF: Intraepidermal nerve fibers. POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes. VEGF: vascular endothelial growth factor.

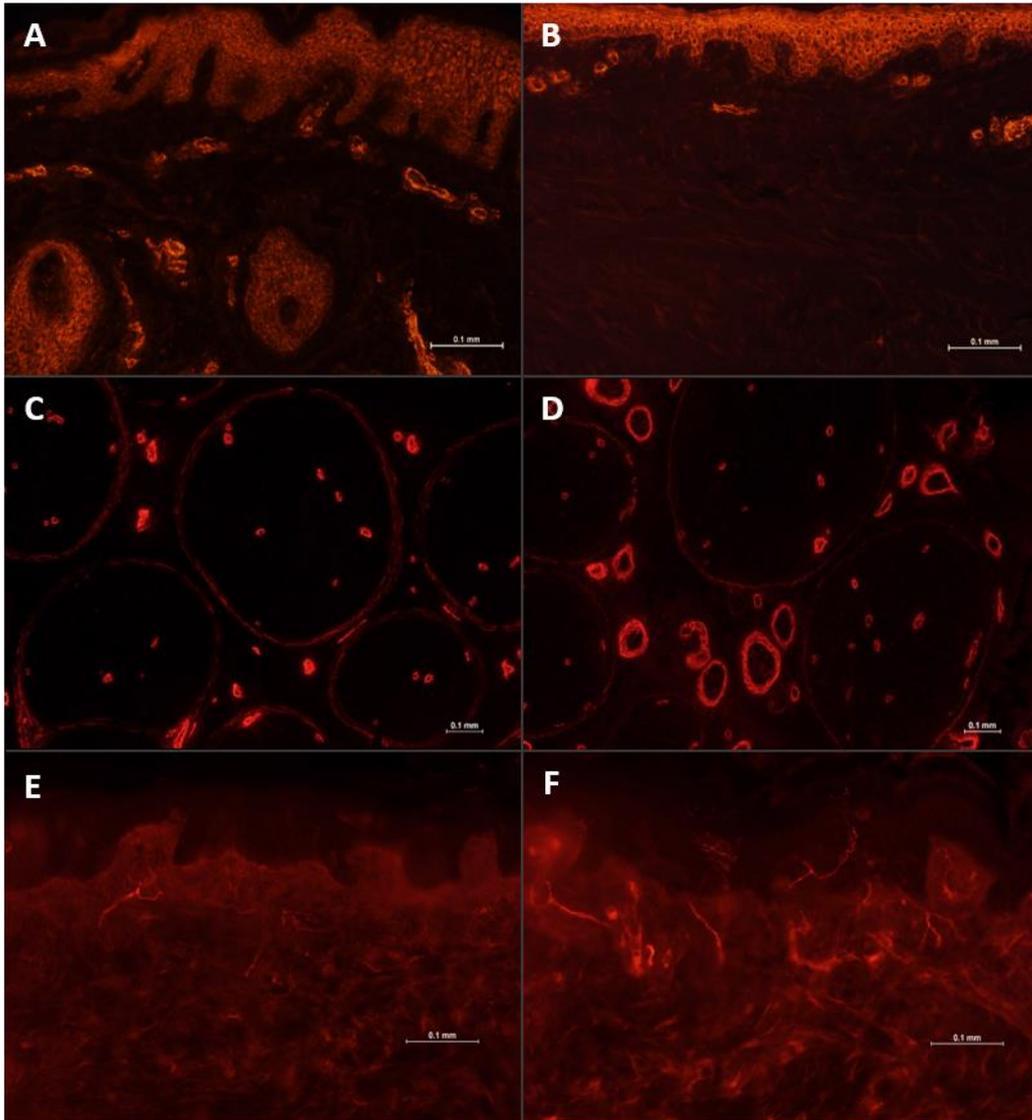


Figure 1. Immunostaining of vascularization of skin (A, B) and nerve (C, D), and of IENF (E, F)

1A and 1B: dermal blood vessels labelling (Immunofluorescence, anti-alpha-SMA, x200 magnification) of a POEMS patient (1A) and a healthy subject (1B): increased dermal blood vessels in POEMS. **1C and 1D:** neural vessels labelling (Immunofluorescence, anti-alpha-SMA, x100 magnification) of a POEMS patient (1C) and a diabetic patient (1D): no significant difference concerning the quantification. Otherwise, the vessels appear more dilated in the diabetic patient (D). **1E and 1F:** IENF labelling (Immunofluorescence, anti-PGP 9.5, x200 magnification) of a POEMS patient (1E) and a healthy subject (1F): loss of IENF in POEMS.

IENF: intraepidermal nerve fibers. POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes. SMA: smooth muscle actin

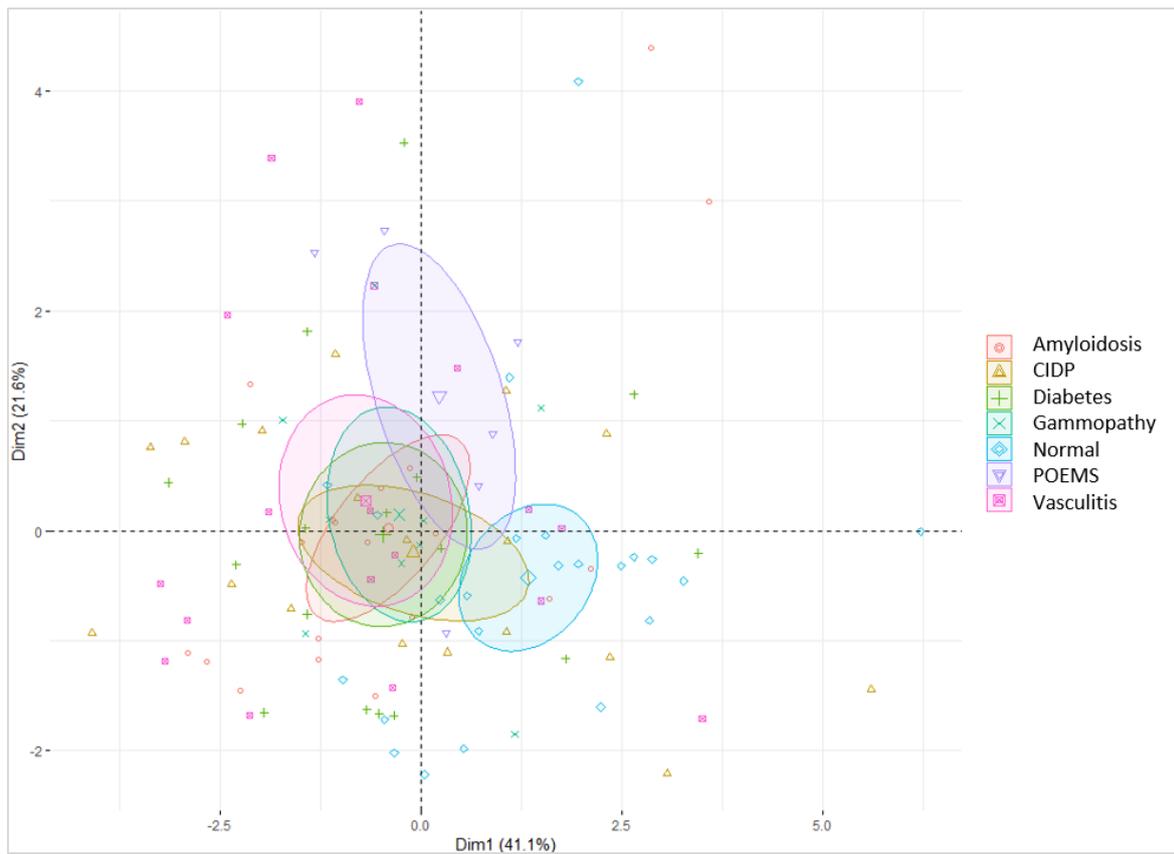


Figure 2. Principal Component Analysis (PCA) of each group considering all variables

Principal component analysis (PCA) were performed on 110 patients of our study based on the value of ten quantitative variables. Confidence ellipse related to centroid of each disease group were visualized according legend color.

CIDP: chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes.

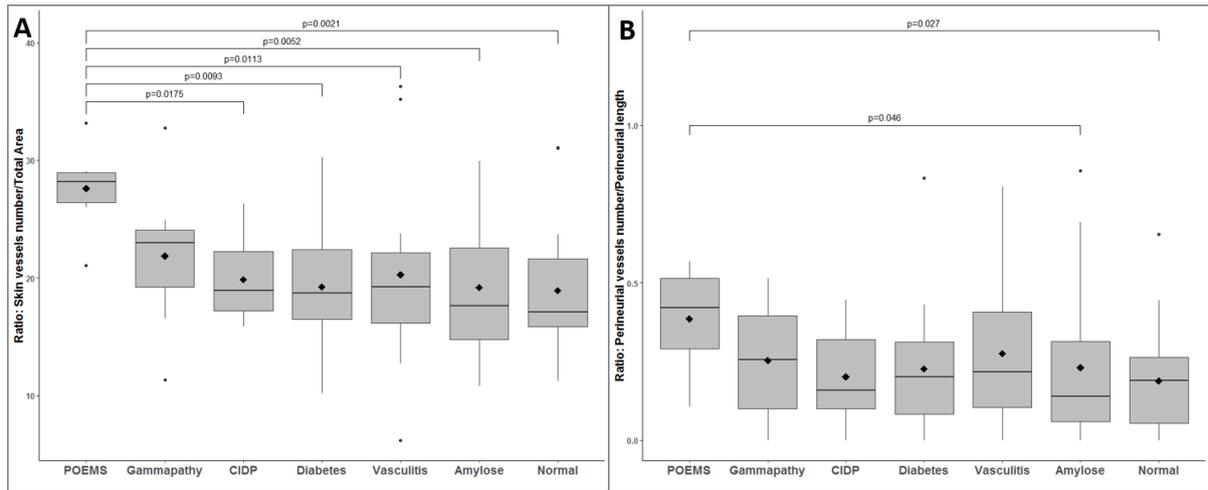


Figure 3. Quantification of dermal blood vessels (A) and perineurial blood vessels (B) in POEMS patients and control groups

CIDP: chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes.

Means of POEMS and control groups were indicated by diamond symbol.

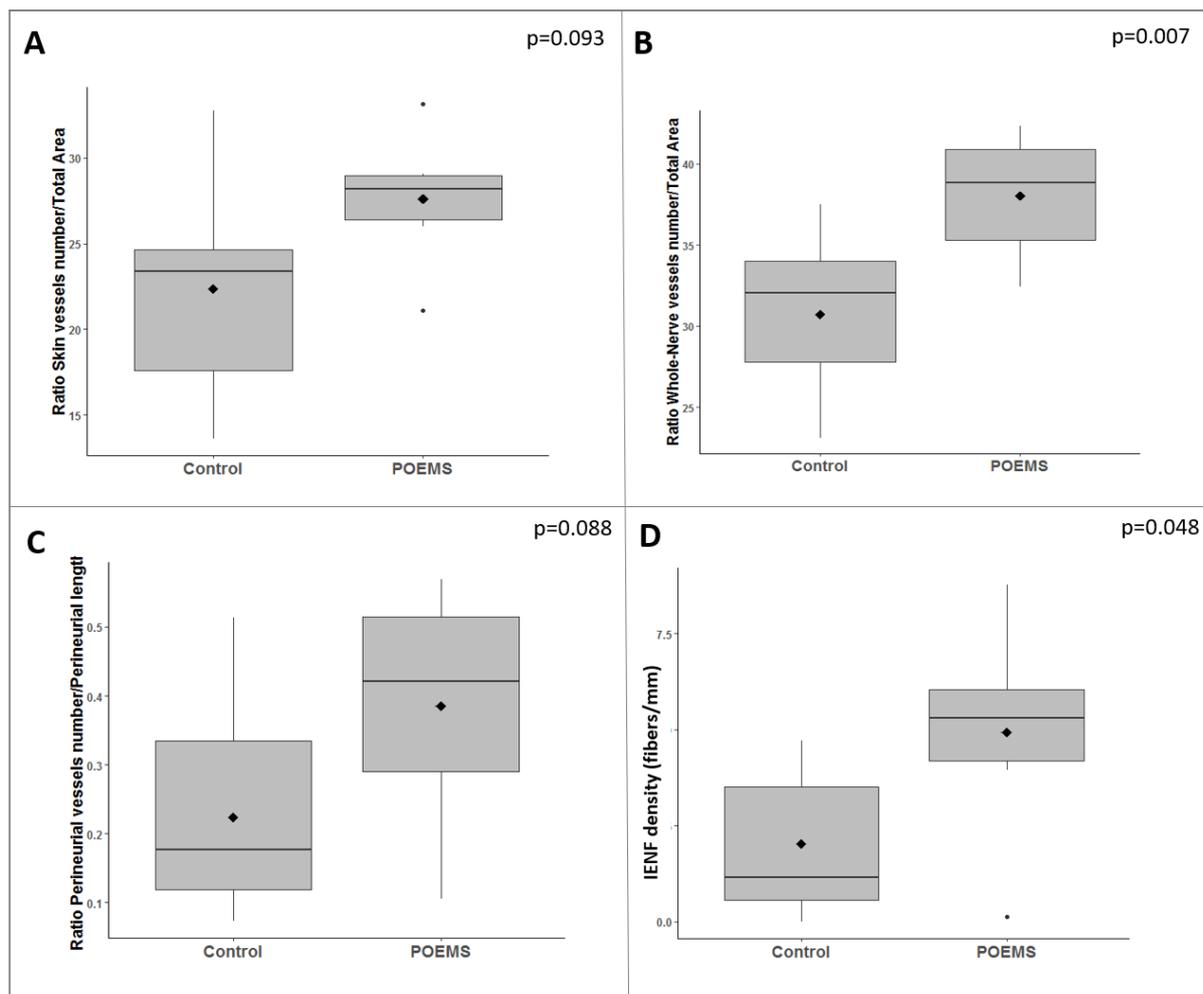


Figure 4. Comparison of POEMS patients with the eleven patients of the control group with VEGF assay
A: Ratio of skin vessels related to skin biopsy area. **B:** Ratio of whole nerve vessels density related to whole nerve biopsy area.
C: Ratio of perineurial nerve vessels density related to perineurial nerve biopsy length. **D:** Intraepidermal nerve fiber density.

POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes.

Control: includes the eleven patients of the control group who have had a VEGF assay

Means of POEMS and control groups were indicated by diamond symbol.

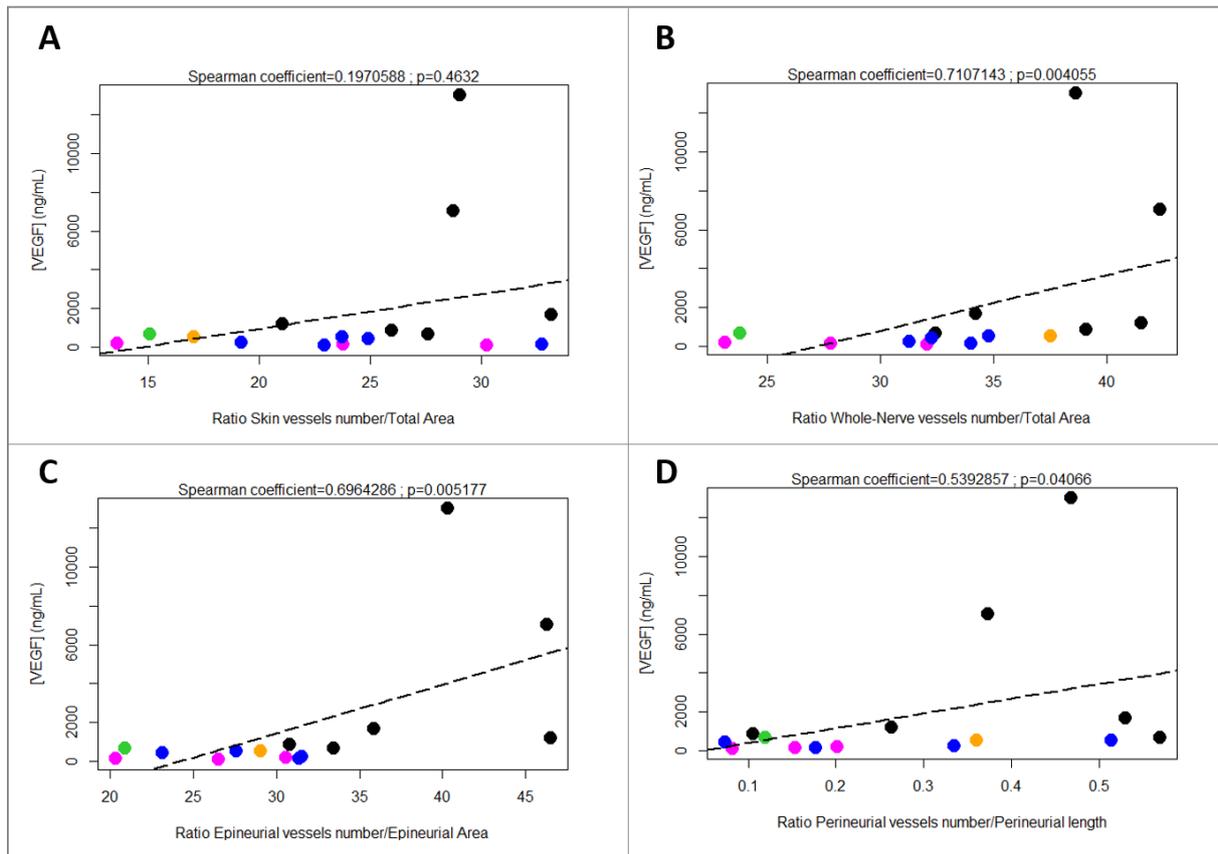


Figure 5. Correlation between VEGF rate and nerve and skin vascularization

A: Ratio of skin vessels related to skin biopsy area. **B:** Ratio of whole nerve vessels density related to whole nerve biopsy area. **C:** Ratio of epineurial nerve vessels density related to epineurial nerve biopsy area. **D:** Ratio of perineurial nerve vessels density related to perineurial nerve biopsy length.

Black: POEMS. Color: Control (magenta: diabetes, green: vasculitis, orange: amyloidosis, blue: gammopathy). POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes. Dashed lines correspond to linear regression line.

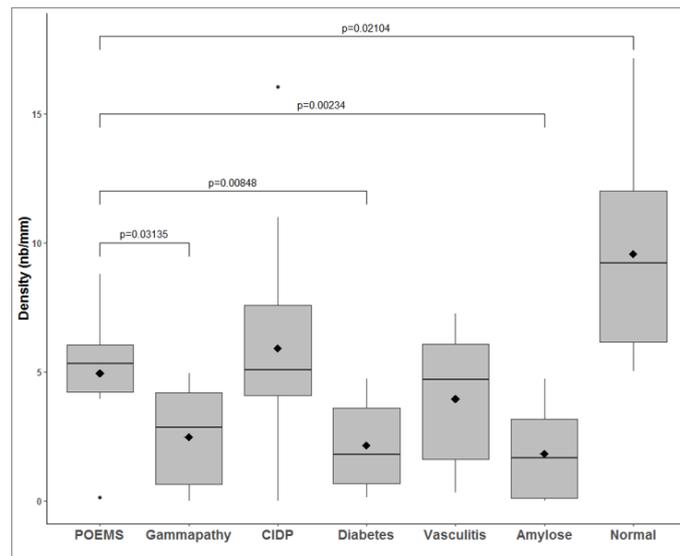


Figure 6. Intra-epidermal nerve fiber density in POEMS patients and control groups

CIDP: chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal plasma cell disorder, skin changes.

Means of POEMS and control groups were indicated by diamond symbol.

CHAPITRE IV. DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

IV.1. DISCUSSION GENERALE

Les NPF continuent de représenter un réel enjeu diagnostique pour les neurologues, du fait de la complexité de la symptomatologie, mais surtout de la difficulté à explorer ces petites fibres et donc à comprendre la physiopathologie de leur atteinte, ce qui entraîne un échec dans la prise en charge thérapeutique. La biopsie cutanée, examen rapide et surtout facile d'accès, reste aujourd'hui l'examen de référence dans le diagnostic des NPF répondant à des recommandations internationales (Lauria, Hsieh et al. 2010), mais elle présente des faiblesses auxquelles il est certainement possible de pallier.

Dans ce travail de thèse, nous avons fait le choix de travailler directement sur des échantillons de peau humaine afin de mieux cerner les faiblesses de cet outil diagnostique dans sa pratique quotidienne, et de chercher des pistes pour l'exploiter de manière plus optimale afin d'augmenter sa puissance diagnostique. Pour cela, trois étapes ont été réalisées répondant à des objectifs distincts à chaque fois.

La comparaison de la biopsie cutanée au SUDOSCAN® a d'un part souligné l'intérêt de ce nouvel examen dans l'exploration des petites fibres, en étant un complément de la biopsie de peau et non une alternative à cette dernière. En effet, le SUDOSCAN® s'avère être bon reflet de la fonction des petites fibres, mais surtout des FNGS et moins des FNIE, or la biopsie cutanée réalisée en pratique courante quantifie seulement les FNIE. D'autre part, ce premier travail a mis en avant la principale faiblesse de la biopsie cutanée : la quantification des FNIE (et FNGS) à un instant donné n'est pas nécessairement en rapport avec la fonction des fibres, les corrélations retrouvées entre la biopsie cutanée et le SUDOSCAN® étant faibles. Cela a été confirmé dans la deuxième partie de cette thèse, puisque, en dehors de la sensibilité aux vibrations et aux piqûres, la densité des FNIE et FNGS n'était pas corrélée aux différents scores d'évaluation de la symptomatologie neurologique et douloureuse (CMTNS, ONLS, NHPT et VAS), ni aux données électrophysiologiques (sensitives et motrices) chez des patients CMT1A. Cela suggère l'importance de trouver des biomarqueurs qui prédiraient d'une atteinte des petites fibres avant leur perte, cette dénervation terminale étant en fin de compte une résultante de la neuropathie des petites fibres et non le phénomène à l'origine de la symptomatologie. Cela remet en question la pertinence de se baser uniquement sur une perte en fibres pour le diagnostic

des NPF. Par ailleurs, la confirmation d'une perte en FNIE chez des patients CMT1A, considérée comme une neuropathie démyélinisante, suggère une implication directe (mais encore incomprise) de la cellule de Schwann (myélinisante et non myélinisante) dans la physiopathologie de l'atteinte des petites fibres. Une étude récente a mis en évidence l'existence d'un réseau « glio-neuronal nociceptif » impliquant des cellules de Schwann sous-épidermiques dites nociceptives (capables de transduire des stimuli nociceptifs en signaux électriques) et les FNIE, ouvrant la piste de la cellule de Schwann comme acteur potentiel dans les neuropathies douloureuses (Abdo, Calvo-Enrique et al. 2019).

Dans l'étude comparative de la première partie « biopsie de peau-SUDOSCAN® », nous avons mis en évidence une influence du poids sur nos corrélations, tout comme dans l'étude de Novak et al. (Novak 2016). Les résultats complémentaires de cette première partie ont tenté de mieux comprendre si le poids avait oui ou non une influence sur l'interprétation de la biopsie cutanée. Nous avons donc étudié la répartition des densités de FNIE proximale et distale dans notre population de patients témoins sains du CHU de Limoges en ajustant au poids, à la taille et au BMI. L'ajustement au poids s'est effectivement avéré entraîner une répartition moins dispersée des valeurs des FNIE par rapport à l'ajustement à la taille et au BMI. De plus, la corrélation entre les FNIE distales et proximales était nettement plus forte et significative lors de l'ajustement au poids par rapport à l'ajustement à la taille et au BMI. L'explication physiopathologique à ces résultats n'est pas comprise, mais cela sous-entend que l'ajustement au poids pourrait affiner l'interprétation des densités de FNIE, et ainsi augmenter la puissance diagnostique de la biopsie cutanée. Des études supplémentaires à plus grande échelle devraient permettre de mieux étayer le rôle du poids dans l'interprétation de la biopsie cutanée et surtout de mieux comprendre la raison de cette influence.

La deuxième partie de la thèse s'est intéressée à la CL, dont les rôles et les fonctions au sein de l'organisme sont multiples et complexes. Or, cette cellule peut être étudiée et quantifiée au cours d'une biopsie cutanée. Des études avaient montré que chez les patients diabétiques, leur densité était augmentée et en rapport avec la perte en fibres (Casanova-Molla, Morales et al. 2012). Nous avons tout d'abord quantifié la densité des CL chez les patients CMT1A en comparant à un groupe de témoins sains, retrouvant une perte en CL chez les patients CMT1A par rapport aux témoins, parallèlement à une perte en FNIE mais sans corrélation entre les deux variables. Dans un second temps, nous avons quantifié la densité des CL dans sept conditions, dont six à l'origine d'une neuropathie pouvant toucher les petites fibres (diabète, vascularite, PIDC, amylose, syndrome POEMS, gammopathie monoclonale). L'augmentation des CL chez

les patients diabétiques a été retrouvée (mais non significativement) conformément aux données de la littérature. En revanche, nous n'avons pas retrouvé de différence significative entre les sept groupes (sauf sujets sains versus syndrome POEMS), ni de corrélation entre la densité des CL et la densité des FNIE, à l'exception du groupe témoin de sujets sains (corrélation positive entre les deux densités), qui par ailleurs avait la densité moyenne de CL la plus faible et de FNIE la plus élevée. Si les résultats chez le patient diabétique suggèrent qu'une densité faible en CL est en faveur d'une bonne intégrité des FNIE, il apparaît difficile sur ces seules données d'exploiter la CL comme biomarqueur prédictif ou associé à la perte en fibres car les données chez le patient CMT1A et chez les sujets sains sont contradictoires. En revanche la CL pourrait s'avérer être un argument étiologique en faveur d'une neuropathie diabétique. Des études supplémentaires à plus grande échelle pourraient établir soit des valeurs seuils « normales » de densité des CL en étudiant des sujets sains, ou encore des valeurs seuils associées à une perte en fibres significative en étudiant des patients avec une NPF.

La dernière partie de ce travail de thèse s'est consacré à une maladie peu fréquente est complexe qu'est le syndrome POEMS, dont le diagnostic est parfois difficile à poser et donc retardé. Du fait d'une élévation du taux sérique de VEGF en lien avec la physiopathologie de cette maladie, et du fait de la neuropathie, nous avons cherché à exploiter la biopsie de cutanée dans ce syndrome en étudiant la néovascularisation cutanée et son lien avec la perte en FNIE, et en comparant cette néovascularisation dermique à celle du nerf. Les résultats principaux de cette étude préliminaire (seulement 6 patients POEMS inclus du fait du peu de biopsies nerveuses réalisées dans ce syndrome) confirment que la vascularisation cutanée, significativement augmentée, pourrait être exploitée comme biomarqueur diagnostique. En revanche, cette néovascularisation cutanée ne semble pas en lien avec la perte en fibres, ni avec le taux de VEGF, ni avec la vascularisation nerveuse. Une étude sur une plus grande cohorte devrait permettre d'affiner ces premiers résultats, de même que la quantification des capillaires et des vaisseaux lymphatiques, puisque dans ce travail, seuls les vaisseaux avec une paroi musculaire ont pu être quantifiés en raison de difficultés techniques à quantifier les capillaires.

L'ensemble de ces données soulève certaines faiblesses de la biopsie cutanée telle qu'elle est pratiquée actuellement dans le diagnostic des NPF. Néanmoins, c'est un examen qui présente également de nombreux avantages du fait de son accessibilité et la simplicité de sa réalisation, raison pour laquelle cet outil mérite d'être exploité au mieux. Sa limite principale est son interprétation qui apparaît trop brute, se limitant à une simple quantification à un instant donné. Cette densité des FNIE devrait être confrontée à d'autres données, telles que le poids par

exemple, ou encore associée à d'autres marqueurs plus précoces qui attesteraient d'une souffrance des petites fibres avant leur perte. Cela permettrait de diagnostiquer une NPF avant la perte significative en FNIE. Une autre grande difficulté est le manque d'information sur la physiopathologie de cette perte en fibres. Nous avons étudié dans cette thèse la CL et la vascularisation cutanée, mais sans jamais pouvoir établir un lien probant avec la perte en fibres. Il est évident qu'il existe une multitude de phénomènes possibles amenant à une NPF et une perte en fibres selon les différentes étiologies, et qu'il est illusoire de penser trouver un ou deux marqueurs uniques pouvant expliquer la physiopathologie de la perte en fibres. Néanmoins, il existe certaines pistes de biomarqueurs cutanés qu'il paraît intéressant d'étudier chez l'homme et qui pourraient répondre à certaines interrogations. En effet, mettre en évidence certaines anomalies, comme des signes d'hyperexcitabilité des fibres par exemple, permettrait à la fois de prédire l'atteinte des fibres et de comprendre leur perte *in fine*. La répétition de la biopsie cutanée étant possible sans séquelle, on peut tout à fait envisager de réaliser cet examen à des temps différents pour suivre l'évolution des marqueurs et celle de la perte en fibres.

IV.2. PERSPECTIVES

IV.2.1. BIOMARQUEURS CUTANES

L'avantage de la biopsie cutanée est sa simplicité de réalisation (biopsie de type « punch » de 3 mm ne nécessitant pas de points ni de soin particulier), et la possibilité de réitérer l'examen sur un même patient. Ainsi, il est tout à fait envisageable de réaliser cette biopsie à des temps différents afin de mettre en évidence des anomalies qui pourraient précéder la perte en fibres pouvant améliorer notre compréhension de cette perte. De plus, le SUDOSCAN® étant également un examen simple de réalisation, indolore et pouvant être répété, il paraît tout à fait envisageable de pratiquer cet examen en parallèle de la biopsie de peau à des temps différents également, afin de comparer les densités à la fonction des petites fibres.

Un essai clinique a débuté au CHU de Limoges en janvier 2019, dont le but est de vérifier chez l'homme l'effet neuroprotecteur du candésartan chez des patients présentant une hémopathie maligne traitée, entre autres, par de la vincristine dont la neurotoxicité est avérée. Cet essai clinique fait suite à une étude réalisée chez le rat (Bessaguet, Danigo et al. 2018). Les patients inclus bénéficient d'un examen neurologique, d'un ENMG, d'un SUDOSCAN® et d'une

biopsie cutanée avant et après la chimiothérapie par vincristine. Ainsi, nous allons pouvoir réaliser des marquages sur ces prélèvements humains avant et après l'effet neurotoxique, et pouvoir comparer cela à la clinique et aux données électrophysiologiques.

Plusieurs biomarqueurs cutanés candidats vont être étudiés en immunofluorescence au cours de cet essai clinique :

- **TRPV1** : comme précédemment décrit (cf. chapitre I.1.4.3.1), il s'agit d'un canal sodique à potentiel transitoire exprimé, entre autres, à la surface des petites fibres (fibres A δ et fibres C) (Fattori, Hohmann et al. 2016). C'est un récepteur de la chaleur et de la capsaïcine fortement exprimé dans les nocicepteurs polymodaux, activé par la capsaïcine, la chaleur douloureuse et un faible pH, pour atténuer l'hyperalgésie thermique inflammatoire (Bevan, Quallo et al. 2014). Des molécules agonistes, antagonistes ou modulatrices de TRPV1 ont fait leur apparition ces dernières années, démontrant un potentiel analgésique intéressant (Simpson, Brown et al. 2014, Palhares, Silva et al. 2017, Schwarz, Namer et al. 2017, Sjogren, Stahle et al. 2019). De plus, le TRPV1 possède la propriété paradoxale d'entraîner une analgésie qu'il soit stimulé ou inhibé (Danigo, Magy et al. 2013). Il a par ailleurs été démontré une augmentation de l'expression de TRPV1 dans les ganglions rachidiens postérieurs chez le rat présentant des douleurs neuropathiques après administration de vincristine (Chiba, Oka et al. 2017). Enfin, une augmentation de l'expression de TRPV1 en immunohistochimie par les FNIE a été démontré dans le cadre des pieds de tranchées (Anand, Privitera et al. 2017). Du fait de la modulation d'expression de cette molécule par les FNIE lors de douleurs neuropathiques et de l'existence d'essais cliniques à propos d'agonistes et/ou antagonistes, c'est un biomarqueur particulièrement intéressant à étudier.

- **TRPA1** : il s'agit également d'un canal sodique à potentiel transitoire (Anand, Otto et al. 2008). De la même manière que pour TRPV1, il existe des agonistes et antagonistes de ce récepteur, pour lesquels des essais cliniques existent (Preti, Saponaro et al. 2015, Wang, Zhai et al. 2016, Schwarz, Namer et al. 2017, Heber, Gold-Binder et al. 2019). Comme TRPV1, c'est un biomarqueur qu'il nous paraît utile d'explorer.

- **VIP** : c'est un neuropeptide largement exprimé dans le corps humain dont les fonctions vont bien au-delà de la dilatation des vaisseaux sanguins et de la motilité du tractus gastro-intestinal. En effet, des études antérieures ont montré qu'une lésion nerveuse périphérique déclenche une régulation à la hausse de ce VIP dans les neurones des ganglions rachidiens, conduisant à son expression accrue dans la corne dorsale superficielle de la moelle épinière (Shehab 2014, Gallo, Leerink et al. 2017). De plus, des études pharmacologiques sur le VIP et la douleur ont démontré que des antagonistes d'un des récepteurs du VIP, le VPA2 (situé sur les neurones spinaux), réduisaient efficacement l'hypersensibilité tactile et thermique dans un modèle de lésion nerveuse périphérique chez le rat (Garry, Delaney et al. 2005). Cela suggère donc qu'une lésion nerveuse entraîne une modification du système VIP, favorisant la symptomatologie de la douleur neuropathique. Malgré un rôle établi du VIP dans la douleur neuropathique, la physiopathologie est encore mal comprise. En se basant sur le principe de relargage par voie antidromique des molécules (**Figure 33**), il paraît intéressant de rechercher une expression cutanée de ce VIP qui pourrait être le témoin d'une lésion nerveuse en amont précédant la perte en fibres au niveau cutané.

- **CGRP** : il s'agit d'un neuropeptide largement distribué dans le SNC et le SNP. Une immunoréactivité (anti-CGRP-LI) est présente dans les neurones des ganglions rachidiens, mais également au niveau des petites fibres C, des fibres A δ mais aussi des fibres A α/β . Il pourrait jouer un rôle pro-inflammatoire dans le système nerveux périphérique en entraînant la libération de substances pro-nociceptives, facilitant ainsi la transmission nociceptive centrale et contribuant à la sensibilisation centrale. Cependant, les mécanismes exacts et l'implication du CGRP dans le traitement nociceptif ne sont pas complètement clarifiés (Schou, Ashina et al. 2017). Il ne semble pas y avoir d'essai clinique sur des molécules ciblant le CGRP dans le cadre des douleurs neuropathiques. Néanmoins, il nous paraît intéressant de rechercher une éventuelle expression de cette molécule au niveau cutané du fait de son implication dans la voie de la douleur. De la même manière que pour le VIP, un relargage par voie antidromique pourrait être mis en évidence au niveau cutané.

- **substance P** : il s'agit d'un neuropeptide généralement co-localisé avec CGRP dans les ganglions rachidiens, également impliqué dans les voies de la douleur. Au cours des dernières

décennies, le SP1-7, principal métabolite bioactif produit par le clivage de la substance P, a été largement étudié comme cible potentielle pour le développement de nouvelles molécules destinées à traiter les NPF (Caroleo, Brizzi et al. 2019). Comme la CGRP, il a été montré une modification de l'expression de la substance P au niveau des ganglions rachidiens dans des conditions neurotoxiques, comme dans un modèle de rat présentant des douleurs neuropathiques induites par le paclitaxel, chez lequel il a été observé une diminution de l'expression de la substance P (ainsi que de TRPV1 et de CGRP) en parallèle à un effet prophylactique sur les douleurs neuropathiques après traitement par puérarine (Wu, Chen et al. 2019). De la même manière que pour le VIP et CGRP, un relargage par voie antidromique pourrait être mis en évidence au niveau cutané.

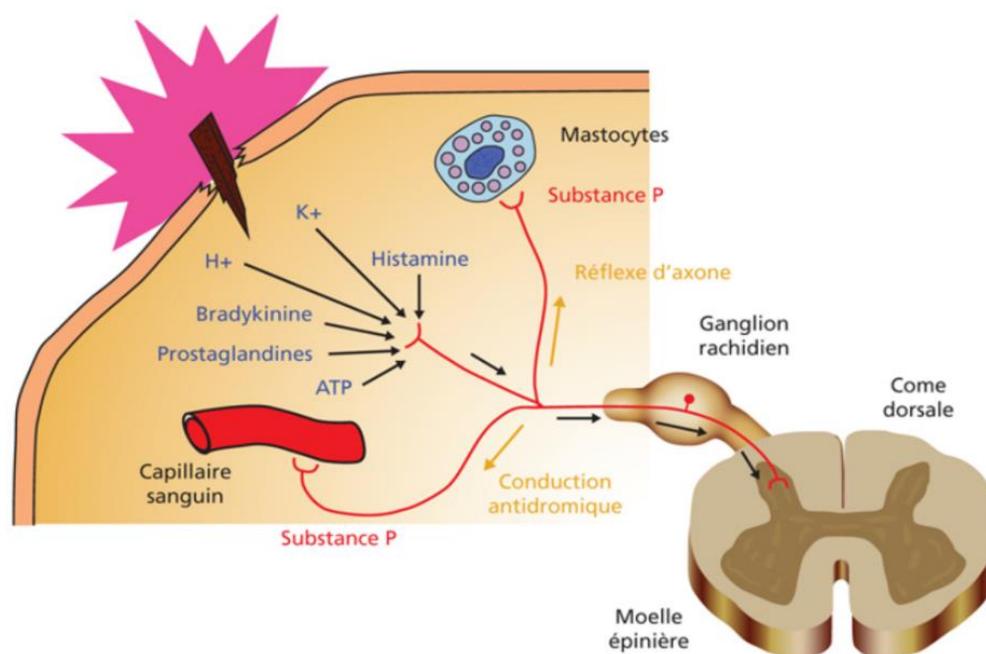


Figure 31. Relargage par voie antidromique

D'après L. Bucchini, *Pathogénie des douleurs de la pancréatite chronique*, Hépatogastro & Oncologie digestive, Volume 21, numéro 4, Avril 2014.

- **la protéine GAP43** : GAP43 est appelée protéine de « croissance » ou de « plasticité » car elle est exprimée à des niveaux élevés dans les cônes de croissance neuronaux au cours du développement et de la régénération axonale. Elle est donc régulée positivement après une lésion nerveuse. Certains auteurs ont démontré une augmentation de l'expression protéique de

GAP43 au niveau de la moelle spinale dans le cadre de lésions de cette dernière chez le rat (Lee-Kubli, Ingves et al. 2016). En revanche, une diminution des fibres intra-épidermiques positives pour GAP43 en parallèle à une perte en FNIE a été mise en évidence chez des patients souffrant d'une neuropathie périphérique (en comparaison à un groupe de témoins sains) alors que son expression génique cutanée était augmentée (surtout dans les neuropathies de courte durée), sous-entendant que les neuropathies périphériques entraîneraient une augmentation initiale de l'expression du gène GAP43 en tant que mécanisme potentiel de régénération, qui ne se maintiendrait pas dans les neuropathies de longue durée (Scheytt, Riediger et al. 2015). Ainsi, GAP43 s'avère être un biomarqueur cutané intéressant pour témoigner d'une atteinte nerveuse en phase précoce, qui pourrait passer inaperçue dans un contexte de densité « normale » de FNIE.

- **le récepteur P2X7** : il s'agit d'un canal ionique cationique déclenché par l'ATP qui, lors de l'interaction avec un agoniste, entraîne un influx cellulaire de sodium et de calcium, et un efflux de potassium. Il est exprimé par une grande variété de cellules et son activation intervient dans un grand nombre de processus biologiques comme l'inflammation, la neuromodulation, la mort cellulaire ou la prolifération cellulaire (De Marchi, Orioli et al. 2016). Via la régulation de la production d'IL-1 β mature, le récepteur P2X7 joue un rôle transductionnel en amont dans le développement de la douleur neuropathique et inflammatoire, par induction de la production de l'oxyde synthase nitrique (iNOS), de la cyclooxygénase 2 (COX-2) et du facteur de nécrose tumorale α (TNF- α) (Chessell, Hatcher et al. 2005, Burnstock 2016). Des antagonistes de ce récepteur P2X7 existent et sont étudiés, en particulier dans le cadre de douleurs liées à un état inflammatoire (De Marchi, Orioli et al. 2016, Oskolkova, Godschachner et al. 2017). Dans la peau, cette molécule est exprimée par les kératinocytes et les FNIE et son expression serait augmentée dans le cadre de douleurs neuropathiques (Anand, Privitera et al. 2017).

- **la cellule de Langerhans** : on a pu constater, en accord avec la littérature, que la CL jouait un rôle (à déterminer) dans la NPF au cours du diabète. De plus, une atteinte des FNIE associée à une augmentation de la densité en CL a été mise en évidence chez le rat après injection de mercure (Sun, Fan et al. 2018). Dans cet essai clinique, les patients vont recevoir une

chimiothérapie neurotoxique à base de vincristine, il paraît donc judicieux d'explorer la CL dont on attend une augmentation de la densité en parallèle à une perte en FNIE.

- **la cellule de Schwann** : la cellule de Schwann est une cellule névrogliale exclusivement située dans le SNP, et qui est étroitement liée aux fibres nerveuses puisque chaque fibre nerveuse est entourée soit de myéline, soit de cytoplasme schwannien. La mise en évidence d'un réseau « glio-neuronal nociceptif » impliquant des cellules de Schwann sous-épidermiques dites nociceptives (capables de transduire des stimuli nociceptifs en signaux électriques)(Abdo, Calvo-Enrique et al. 2019) et l'existence d'une NPF chez des patients CMT1A (neuropathie normalement démyélinisante) laisse supposer un rôle potentiel de la cellule de Schwann dans la NPF, notamment dans la symptomatologie douloureuse.

IV.2.2. CELLULE DE LANGERHANS

L'interprétation de la densité des CL ne peut être possible qu'en se basant sur des valeurs normales, d'autant que nous avons pu observer que leur densité était la plus faible chez les sujets sains de notre étude, et était corrélé négativement avec l'âge. Une quantification des CL sur une cohorte de témoins sains suffisamment importante pour apparier à l'âge permettrait d'exploiter ce biomarqueur cutané.

IV.2.3. POIDS ET FIBRES NERVEUSES INTRA-EPIDERMiques

Nous avons mis en évidence que le poids avait une influence sur l'interprétation de la densité des FNIE (et des conductances du SUDOSCAN®), alors que la taille et le BMI avaient une influence moindre. Dans l'hypothèse que le nombre de FNIE et FNGS serait stable quel que soit le poids et qu'une personne maigre aurait une surface corporelle moins importante, on peut imaginer que sa densité serait faussée à la hausse, et inversement pour une personne en surpoids. Ainsi, ajuster la densité des FNIE par rapport au poids rendrait plus précis le résultat, et permettrait d'affiner son interprétation en pratique courante.

Depuis l'obtention de ces résultats, nous avons rajouté sur notre questionnaire DN4 le poids et la taille afin de collecter ces informations de manière systématique. L'idéal serait de réaliser une cohorte de sujets sains suffisamment grande pour ajuster par rapport au poids, et appairer ensuite par rapport à l'âge et au sexe afin de comparer cela aux valeurs normales actuelles non ajustées au poids.

IV.2.4. NEOVASCULARISATION CUTANEE DANS LE SYNDROME POEMS

Nous avons mis en évidence, malgré la faible cohorte (6 patients POEMS), que la vascularisation cutanée était significativement augmentée dans le syndrome POEMS (mais sans lien évident avec la perte en fibres). La quantification des vaisseaux apparait donc comme un outil diagnostique supplémentaire potentiel dans le diagnostic du syndrome POEMS, souvent difficile et retardé. Pour explorer cette piste, il faudrait tout d'abord explorer, en plus des vaisseaux à paroi musculaire, les vaisseaux capillaires cutanés (que nous n'avons pas pu évaluer en raison de difficultés techniques) avec l'anticorps anti-ERG, ainsi que la vascularisation lymphatique (avec l'anticorps anti-D2-40 par exemple). Ce travail peut être réalisé sur notre cohorte dans un premier temps. Dans un deuxième temps, et dans l'objectif futur d'utiliser cette néovascularisation cutanée comme biomarqueur dans le syndrome POEMS, il faudrait obtenir des valeurs normales de cette vascularisation dermique, à partir de témoins sains, en appariant idéalement au sexe et à l'âge (et au poids).

CONCLUSION

Les NPF restent actuellement un diagnostic difficile à poser en pratique courante, du fait de la difficulté d'exploration de ces petites fibres. La biopsie cutanée est un examen rapide, simple de réalisation, sans séquelle et qui peut être répété, ce qui en fait un outil intéressant à exploiter. Nous avons pu constater que la manière dont est interprétée la biopsie actuellement (ratio du nombre de fibres sur la longueur de l'épiderme) présente des limites non négligeables, notamment par son absence d'analyse fonctionnelle ou étiologique. Or, c'est un examen sur lequel les neurologues se basent, entre autres, pour poser le diagnostic de NPF notamment lorsqu'il s'agit de NPF pures ou idiopathiques. Néanmoins, c'est un examen qui est perfectible et dont la puissance diagnostique peut être améliorée.

L'ajustement au poids semble être une première piste pour affiner l'interprétation de la biopsie de peau, d'autant que sa mise en pratique est simple et ne nécessite qu'une collecte de cette mesure au moment de l'examen. De même, le SUDOSCAN® s'est révélé être un bon outil supplémentaire dans l'exploration des petites fibres, en se présentant comme un outil complémentaire à la biopsie de peau, afin d'obtenir une analyse plus globale des petites fibres : la biopsie de peau pour l'atteinte somatique, et le SUDOSCAN® pour l'atteinte autonome.

Enfin, la mise en évidence de biomarqueurs cutanés prédictifs ou associés à la perte en fibres permettrait d'augmenter grandement la puissance de cet examen. Nous avons pu constater que la néovascularisation cutanée dans le syndrome POEMS est significativement augmentée. La vascularisation cutanée est donc un biomarqueur intéressant qui serait utile comme aide au diagnostic dans le syndrome POEMS. Des valeurs normales de la vascularisation permettraient d'exploiter cet élément à l'avenir. Nous avons enfin observé, en accord avec la littérature, une augmentation des CL dans la neuropathie diabétique, ainsi qu'une tendance à une densité en CL moins importante chez les sujets sains. La CL apparaît donc comme un biomarqueur cutané intéressant, notamment comme argument étiologique en faveur d'une NPF secondaire au diabète, voire d'une neuropathie toxique si cela se confirme chez l'homme.

La recherche de nouveaux biomarqueurs cutanés est essentielle afin d'augmenter la puissance diagnostique, de mieux comprendre la physiopathologie de la perte en fibres, d'apporter des éléments pour le diagnostic étiologique des NP, et de permettre de trouver des cibles thérapeutiques pour améliorer la prise en charge de ces patients.

IMPLICATION TECHNIQUE PERSONNELLE

Objectif 1- Comparaison de la biopsie cutanée aux données électrophysiologiques dans l'étude de la perte en petites fibres

- Recueil des informations enregistrées dans la base de données de l'appareil SUDOSCAN®
- Participation à la réalisation des coupes congelées des biopsies cutanées
- Participation à la réalisation de la technique d'immunofluorescence pour l'anticorps anti-PGP 9.5 sur les biopsies cutanées
- Calcul des densités de FNIE et FNGS des patients inclus dans l'étude et des patients témoins du CHU de Limoges utilisés pour définir les valeurs normales des FNIE et FNGS : réalisation du compte des FNIE, utilisation du logiciel NIS elements BR 3.0 pour mesurer la longueur de l'épiderme des biopsies de peau, utilisation du logiciel NIS elements BR 3.0 pour mesurer les aires des glandes sudorales et calculer la densité des FNGS
- Organisation et interprétation des données recueillies pour l'analyse statistique de la comparaison du SUDOSCAN® aux FNIE et FNGS, en collaboration avec Impeto
- Rédaction, soumission et révisions de l'article 1
- Recueil des poids et de la taille des patients témoins du CHU de Limoges pour les résultats complémentaires
- Organisation et interprétation des données recueillies pour l'analyse statistique sur l'influence du poids et de la taille sur les FNIE, en collaboration avec la statisticienne le Dr Stéphanie Durant
- Réalisation de l'analyse statistique concernant les résultats complémentaires sur la comparaison SUDOSCAN® - biopsie de peau avec le logiciel GraphPad Prism 6

Objectif 2- Etude de la perte en petites fibres et de l'implication des cellules de Langerhans chez les patients

- Le travail concernant l'étude des FNIE et des cellules de Langerhans dans la population CMT1A (population de l'étude Pharnext) a été réalisé en collaboration avec le Dr Aurore Danigo, ainsi que la rédaction, la soumission et les révisions de l'article 2
- Réalisation du calcul de la densité des cellules de Langerhans des sept groupes dans la partie des résultats complémentaires : compte des cellules de Langerhans et utilisation du logiciel NIS elements BR 3.0 pour la mesure de la longueur de l'épiderme pour le calcul du ratio cellules/longueur
- Organisation et interprétation des données recueillies pour l'analyse statistique des résultats complémentaires en collaboration avec la statisticienne le Dr Stéphanie Durand

Objectif 3 - Relation entre la perte en petites fibres et la prolifération vasculaire cutanée dans le syndrome POEMS

- Encadrement d'une étudiante en Master 1, Camille Guibert, pour la réalisation de son mémoire sur la vascularisation cutanée dans le syndrome POEMS
- Participation au recueil de données cliniques et pathologiques concernant les patients POEMS et les patients des groupes contrôles
- Mise au point de l'anticorps anti-Alpha-SMA et anti-CD31 en immunofluorescence et en DAB avec l'équipe du laboratoire de neurologie du CHU de Limoges (Dr Laurence Richard, Fanny Maquin)
- Mise en place d'une méthode de comptage des vaisseaux marqués par l'anti-Alpha-SMA, application de la méthodologie et apprentissage de la méthodologie à l'étudiante Camille Guibert
- Apprentissage de la méthode de comptage de la densité des FNIE à l'étudiante Camille Guibert
- Organisation et interprétation des données recueillies pour l'analyse statistique des résultats en collaboration avec la statisticienne le Dr Stéphanie Durand
- Encadrement de la réalisation d'un poster sur le travail de la vascularisation cutanée dans le POEMS pour une communication affichée au congrès international de la Peripheral Nerve Society ayant eu lieu à Gènes en juin 2019
- Rédaction et soumission de l'article 3 en collaboration avec Camille Guibert

BIBLIOGRAPHIE

- Abdo, H., L. Calvo-Enrique, J. M. Lopez, J. Song, M. D. Zhang, D. Usoskin, A. El Manira, I. Adameyko, J. Hjerling-Leffler and P. Ernfors (2019). "Specialized cutaneous Schwann cells initiate pain sensation." Science **365**(6454): 695-699.
- Abraham, A., C. Barnett, L. E. Lovblom, B. A. Perkins, V. Bril and H. D. Katzberg (2018). "Cramps frequency and severity are correlated with small and large nerve fiber measures in type 1 diabetes." Clin Neurophysiol **129**(1): 122-126.
- Affes, Z., F. Lionnet, M. Livrozet, A. Santin, V. Frochot, E. Letavernier, J. P. Lefaucheur and J. P. Haymann (2019). "High prevalence of altered sudomotor function in homozygous sickle cell patients: influence of age and anaemia." Br J Haematol **186**(3): e50-e52.
- Agarwal, V., R. Singh, Wiclaf, S. Chauhan, A. Tahlan, C. K. Ahuja, D. Goel and L. Pal (2008). "A clinical, electrophysiological, and pathological study of neuropathy in rheumatoid arthritis." Clin Rheumatol **27**(7): 841-844.
- Anand, P., R. Privitera, Y. Yiangou, P. Donatien, R. Birch and P. Misra (2017). "Trench Foot or Non-Freezing Cold Injury As a Painful Vaso-Neuropathy: Clinical and Skin Biopsy Assessments." Front Neurol **8**: 514.
- Anand, U., W. R. Otto, P. Facer, N. Zebda, I. Selmer, M. J. Gunthorpe, I. P. Chessell, M. Sinisi, R. Birch and P. Anand (2008). "TRPA1 receptor localisation in the human peripheral nervous system and functional studies in cultured human and rat sensory neurons." Neurosci Lett **438**(2): 221-227.
- Andersen, H. H., L. Arendt-Nielsen and J. Elberling (2017). "Topical capsaicin 8% for the treatment of neuropathic itch conditions." Clin Exp Dermatol **42**(5): 596-598.
- Antoine, J. C. and J. P. Camdessanche (2017). "Paraneoplastic neuropathies." Curr Opin Neurol **30**(5): 513-520.
- Arruda, A. P. and G. S. Hotamisligil (2015). "Calcium Homeostasis and Organelle Function in the Pathogenesis of Obesity and Diabetes." Cell Metab **22**(3): 381-397.
- Asbury, A. K. and H. L. Fields (1984). "Pain due to peripheral nerve damage: an hypothesis." Neurology **34**(12): 1587-1590.
- Attal, N., S. S. Ayache, D. Ciampi De Andrade, A. Mhalla, S. Baudic, F. Jazat, R. Ahdab, D. O. Neves, M. Sorel, J. P. Lefaucheur and D. Bouhassira (2016). "Repetitive transcranial magnetic stimulation and transcranial direct-current stimulation in neuropathic pain due to radiculopathy: a randomized sham-controlled comparative study." Pain **157**(6): 1224-1231.
- Attal, N. and D. Bouhassira (1999). "Mechanisms of pain in peripheral neuropathy." Acta Neurol Scand Suppl **173**: 12-24; discussion 48-52.
- Attal, N., C. Fermanian, J. Fermanian, M. Lanteri-Minet, H. Alchaar and D. Bouhassira (2008). "Neuropathic pain: are there distinct subtypes depending on the aetiology or anatomical lesion?" Pain **138**(2): 343-353.

- Backonja, M. M., N. Attal, R. Baron, D. Bouhassira, M. Drangholt, P. J. Dyck, R. R. Edwards, R. Freeman, R. Gracely, M. H. Haanpaa, P. Hansson, S. M. Hatem, E. K. Krumova, T. S. Jensen, C. Maier, G. Mick, A. S. Rice, R. Rolke, R. D. Treede, J. Serra, T. Toelle, V. Tugnoli, D. Walk, M. S. Walalce, M. Ware, D. Yarnitsky and D. Ziegler (2013). "Value of quantitative sensory testing in neurological and pain disorders: NeuPSIG consensus." Pain **154**(9): 1807-1819.
- Baehring, J. M. and T. T. Batchelor (2012). "Diagnosis and management of neurolymphomatosis." Cancer J **18**(5): 463-468.
- Bakkers, M., C. G. Faber, J. G. Hoeijmakers, G. Lauria and I. S. Merkies (2014). "Small fibers, large impact: quality of life in small-fiber neuropathy." Muscle Nerve **49**(3): 329-336.
- Bakkers, M., C. G. Faber, M. J. Peters, J. P. Reulen, H. Franssen, T. Z. Fischer and I. S. Merkies (2013). "Temperature threshold testing: a systematic review." J Peripher Nerv Syst **18**(1): 7-18.
- Bardwick, P. A., N. J. Zvaifler, G. N. Gill, D. Newman, G. D. Greenway and D. L. Resnick (1980). "Plasma cell dyscrasia with polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, M protein, and skin changes: the POEMS syndrome. Report on two cases and a review of the literature." Medicine (Baltimore) **59**(4): 311-322.
- Basso, L., R. Aboushousha, C. Y. Fan, M. Iftinca, H. Melo, R. Flynn, F. Agosti, M. D. Hollenberg, R. Thompson, E. Bourinet, T. Trang and C. Altier (2019). "TRPV1 promotes opioid analgesia during inflammation." Sci Signal **12**(575).
- Bennett, M. I., N. Attal, M. M. Backonja, R. Baron, D. Bouhassira, R. Freynhagen, J. Scholz, T. R. Tolle, H. U. Wittchen and T. S. Jensen (2007). "Using screening tools to identify neuropathic pain." Pain **127**(3): 199-203.
- Berghoff, M., M. Samsam, M. Muller, I. Kobsar, K. V. Toyka, R. Kiefer, M. Maurer and R. Martini (2005). "Neuroprotective effect of the immune system in a mouse model of severe dysmyelinating hereditary neuropathy: enhanced axonal degeneration following disruption of the RAG-1 gene." Mol Cell Neurosci **28**(1): 118-127.
- Bessaguet, F., A. Danigo, H. Bouchenaki, M. Duchesne, L. Magy, L. Richard, F. Sturtz, A. Desmouliere and C. Demiot (2018). "Neuroprotective effect of angiotensin II type 2 receptor stimulation in vincristine-induced mechanical allodynia." Pain **159**(12): 2538-2546.
- Bevan, S., T. Quallo and D. A. Andersson (2014). "Trpv1." Handb Exp Pharmacol **222**: 207-245.
- Bhattacharyya, S. and S. M. Helfgott (2014). "Neurologic complications of systemic lupus erythematosus, sjogren syndrome, and rheumatoid arthritis." Semin Neurol **34**(4): 425-436.
- Birbeck MS, B. A., Everall JD (1961). "An electron microscope study of basal melanocytes and high-level clear cells (Langerhans cells) in vitiligo." J Invest Dermatol **37**: 51-64.
- Birouk, N., R. Gouider, E. Le Guern, M. Gugenheim, S. Tardieu, T. Maisonobe, N. Le Forestier, Y. Agid, A. Brice and P. Bouche (1997). "Charcot-Marie-Tooth disease type 1A with

- 17p11.2 duplication. Clinical and electrophysiological phenotype study and factors influencing disease severity in 119 cases." Brain **120** (Pt 5): 813-823.
- Bossut, D. F. and E. R. Perl (1995). "Effects of nerve injury on sympathetic excitation of A delta mechanical nociceptors." J Neurophysiol **73**(4): 1721-1723.
- Bouche, P., J.-M. Léger and J.-M. Vallat (2003). Neuropathies périphériques polyneuropathies et mononeuropathies multiples Volume 1. Rueil-Malmaison, Doin.
- Bouche, P., J.-M. Léger and J.-M. Vallat (2004). Neuropathies périphériques: polyneuropathies et mononeuropathies multiples. Volume 2. Rueil-Malmaison, Doin.
- Bouhassira, D., M. Lanteri-Minet, N. Attal, B. Laurent and C. Touboul (2008). "Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population." Pain **136**(3): 380-387.
- Boukhris, S., L. Magy, M. Khalil, P. Sindou and J. M. Vallat (2007). "Pain as the presenting symptom of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP)." J Neurol Sci **254**(1-2): 33-38.
- Braillon, G. (2002). Le système nerveux central à l'usage des étudiants en médecine. Rueil-Malmaison, Pradel, Groupe Liaisons.
- Brenaut, E., P. Marcorelles, S. Genestet, D. Menard and L. Misery (2015). "Pruritus: an underrecognized symptom of small-fiber neuropathies." J Am Acad Dermatol **72**(2): 328-332.
- Brown, R. and L. Ginsberg (2019). "POEMS syndrome: clinical update." J Neurol **266**(1): 268-277.
- Burke, R. E., D. N. Levine, P. Tsairis and F. E. Zajac, 3rd (1973). "Physiological types and histochemical profiles in motor units of the cat gastrocnemius." J Physiol **234**(3): 723-748.
- Burnstock, G. (2016). "Purinergetic Mechanisms and Pain." Adv Pharmacol **75**: 91-137.
- Caillaud, M., L. Richard, J. M. Vallat, A. Desmouliere and F. Billet (2019). "Peripheral nerve regeneration and intraneural revascularization." Neural Regen Res **14**(1): 24-33.
- Calvino, B. (2003). "[Heat hyperalgesia during inflammation: involvement of TRVP1]." Med Sci (Paris) **19**(6-7): 649-651.
- Campbell, C. M., C. R. France, M. E. Robinson, H. L. Logan, G. R. Geffken and R. B. Fillingim (2008). "Ethnic differences in the nociceptive flexion reflex (NFR)." Pain **134**(1-2): 91-96.
- Caroleo, M. C., A. Brizzi, M. De Rosa, A. Pandey, L. Gallelli, M. Badolato, G. Carullo and E. Cione (2019). "Targeting Neuropathic Pain: Pathobiology, Current Treatment and Peptidomimetics as a New Therapeutic Opportunity." Curr Med Chem.
- Carter, J. R. (2019). "Microneurography and sympathetic nerve activity: a decade-by-decade journey across 50 years." J Neurophysiol **121**(4): 1183-1194.

- Casanova-Molla, J., M. Morales, E. Planas-Rigol, A. Bosch, M. Calvo, J. M. Grau-Junyent and J. Valls-Sole (2012). "Epidermal Langerhans cells in small fiber neuropathies." Pain **153**(5): 982-989.
- Casellini, C. M., H. K. Parson, M. S. Richardson, M. L. Nevoret and A. I. Vinik (2013). "Sudoscans, a Noninvasive Tool for Detecting Diabetic Small Fiber Neuropathy and Autonomic Dysfunction." Diabetes Technology & Therapeutics **15**(11): 948-953.
- Castro, J., J. Costa, I. de Castro and I. Conceicao (2018). "Electrochemical skin conductance in hereditary amyloidosis related to transthyretin V30M - a promising tool to assess treatment efficacy?" Amyloid **25**(4): 267-268.
- Castro, J., B. Miranda, I. Castro, M. de Carvalho and I. Conceição (2016). "The diagnostic accuracy of Sudoscans in transthyretin familial amyloid polyneuropathy." Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology **127**(5): 2222-2227.
- Cazzato, D. and G. Lauria (2017). "Small fibre neuropathy." Curr Opin Neurol **30**(5): 490-499.
- Chan, A. M. and J. M. Baehring (2019). "Paraneoplastic neurological syndromes: a single institution 10-year case series." J Neurooncol **141**(2): 431-439.
- Chao, C.-C., C.-M. Huang, H.-H. Chiang, K.-R. Luo, H.-W. Kan, N. C.-C. Yang, H. Chiang, W.-M. Lin, S.-M. Lai, M.-J. Lee, C.-T. Shun and S.-T. Hsieh (2015). "Sudomotor Innervation in Transthyretin Amyloid Neuropathy: Pathology and Functional Correlates." Annals of Neurology.
- Chao, C. C., H. W. Hsueh, H. W. Kan, C. H. Liao, H. H. Jiang, H. Chiang, W. M. Lin, T. Y. Yeh, Y. H. Lin, Y. Y. Cheng and S. T. Hsieh (2019). "Skin Nerve Pathology: Biomarkers of Premanifest and Manifest Amyloid Neuropathy." Ann Neurol.
- Charcot, J.-M. M., P. (1886). "Sur une forme particulière d'atrophie musculaire progressive souvent familiale débutant par les pieds et les jambes et atteignant plus tard les mains." Rev Med **6**: 97-138.
- Chassande, B., J. M. Leger, A. B. Younes-Chennoufi, D. Bengoufa, T. Maisonobe, P. Bouche and N. Baumann (1998). "Peripheral neuropathy associated with IgM monoclonal gammopathy: correlations between M-protein antibody activity and clinical/electrophysiological features in 40 cases." Muscle Nerve **21**(1): 55-62.
- Chaudhry, H. M., M. L. Mauermann and S. V. Rajkumar (2017). "Monoclonal Gammopathy-Associated Peripheral Neuropathy: Diagnosis and Management." Mayo Clin Proc **92**(5): 838-850.
- Chen, W., H. S. Ennes, J. A. McRoberts and J. C. Marvizon (2018). "Mechanisms of mu-opioid receptor inhibition of NMDA receptor-induced substance P release in the rat spinal cord." Neuropharmacology **128**: 255-268.
- Chen, X., J. Graham, M. A. Dabbah, I. N. Petropoulos, G. Ponirakis, O. Asghar, U. Alam, A. Marshall, H. Fadavi, M. Ferdousi, S. Azmi, M. Tavakoli, N. Efron, M. Jeziorska and R. A. Malik (2015). "Small nerve fiber quantification in the diagnosis of diabetic

- sensorimotor polyneuropathy: comparing corneal confocal microscopy with intraepidermal nerve fiber density." Diabetes Care **38**(6): 1138-1144.
- Chessell, I. P., J. P. Hatcher, C. Bountra, A. D. Michel, J. P. Hughes, P. Green, J. Egerton, M. Murfin, J. Richardson, W. L. Peck, C. B. Grahames, M. A. Casula, Y. Yiangou, R. Birch, P. Anand and G. N. Buell (2005). "Disruption of the P2X7 purinoceptor gene abolishes chronic inflammatory and neuropathic pain." Pain **114**(3): 386-396.
- Chiang, M.-C., Y.-H. Lin, C.-L. Pan, T.-J. Tseng, W.-M. Lin and S.-T. Hsieh (2002). "Cutaneous innervation in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy." Neurology **59**(7): 1094-1098.
- Chiba, T., Y. Oka, H. Sashida, T. Kanbe, K. Abe, I. Utsunomiya and K. Taguchi (2017). "Vincristine-induced peripheral neuropathic pain and expression of transient receptor potential vanilloid 1 in rat." J Pharmacol Sci **133**(4): 254-260.
- Collin, M. and P. Milne (2016). "Langerhans cell origin and regulation." Curr Opin Hematol **23**(1): 28-35.
- Collongues, N., B. Samama, C. Schmidt-Mutter, L. Chamard-Witkowski, M. Debouverie, J. B. Chanson, M. C. Antal, K. Benardais, J. de Seze, M. Velten and N. Boehm (2018). "Quantitative and qualitative normative dataset for intraepidermal nerve fibers using skin biopsy." PLoS One **13**(1): e0191614.
- Colomban, C., J. Micallef, M. N. Lefebvre, O. Dubourg, P. M. Gonnaud, T. Stojkovic, E. Jouve, O. Blin, J. Pouget and S. Attarian (2014). "Clinical spectrum and gender differences in a large cohort of Charcot-Marie-Tooth type 1A patients." J Neurol Sci **336**(1-2): 155-160.
- Cortright, D. N. and A. Szallasi (2004). "Biochemical pharmacology of the vanilloid receptor TRPV1. An update." Eur J Biochem **271**(10): 1814-1819.
- Coujard, R., J. Poirier and J. Racadot (1998). Precis d'Histologie Humaine. Paris, Masson.
- Creange, A. (2016). "Guillain-Barre syndrome: 100 years on." Rev Neurol (Paris) **172**(12): 770-774.
- Crow, R. S. (1956). "Peripheral neuritis in myelomatosis." Br Med J **2**(4996): 802-804.
- Cruccu, G., M. J. Aminoff, G. Curio, J. M. Guerit, R. Kakigi, F. Mauguiere, P. M. Rossini, R. D. Treede and L. Garcia-Larrea (2008). "Recommendations for the clinical use of somatosensory-evoked potentials." Clin Neurophysiol **119**(8): 1705-1719.
- Cruzat, A., Y. Qazi and P. Hamrah (2017). "In Vivo Confocal Microscopy of Corneal Nerves in Health and Disease." Ocul Surf **15**(1): 15-47.
- Cui, S., T. Xiao, Y. Wang, H. Lu, Y. Wang, X. H. Gao, H. Wei and H. D. Chen (2009). "Morphological relationship between nerve fibers and Langerhans cells in the epidermis of psoriasis vulgaris and lichen simplex chronicus." J Dermatol Sci **56**(2): 132-134.
- Czernielewski, J. M. and M. Demarchez (1987). "Further evidence for the self-reproducing capacity of Langerhans cells in human skin." J Invest Dermatol **88**(1): 17-20.

- D'Souza, A., S. R. Hayman, F. Buadi, M. Mauermann, M. Q. Lacy, M. A. Gertz, R. A. Kyle, S. Kumar, P. R. Greipp, J. A. Lust, S. J. Russell, S. Zeldenrust, D. Dingli, T. E. Witzig, S. V. Rajkumar and A. Dispenzieri (2011). "The utility of plasma vascular endothelial growth factor levels in the diagnosis and follow-up of patients with POEMS syndrome." Blood **118**(17): 4663-4665.
- Danigo, A., L. Magy and C. Demiot (2013). "[TRPV1 in neuropathic pain: from animal models to therapeutical prospects]." Med Sci (Paris) **29**(6-7): 597-606.
- Danigo, A., L. Magy and C. Demiot (2013). "[TRPV1 in neuropathic pain: from animal models to therapeutical prospects]." Medecine Sciences: M/S **29**(6-7): 597-606.
- Datema, M., J. Gert van Dijk and E. Hoitsma (2012). "The diagnostic value of water immersion skin wrinkling and Neuropads in small fiber neuropathy." Clin Neurophysiol **123**(10): 2074-2079.
- de Freitas, M. R. and G. Said (2013). "Leprous neuropathy." Handb Clin Neurol **115**: 499-514.
- De Marchi, E., E. Orioli, D. Dal Ben and E. Adinolfi (2016). "P2X7 Receptor as a Therapeutic Target." Adv Protein Chem Struct Biol **104**: 39-79.
- Deckers, J., H. Hammad and E. Hoste (2018). "Langerhans Cells: Sensing the Environment in Health and Disease." Front Immunol **9**: 93.
- Delmotte, J. B., A. Tutakhail, K. Abdallah, P. Reach, M. D'Ussel, G. Deplanque, H. Beaussier and F. Coudore (2018). "Electrochemical Skin Conductance as a Marker of Painful Oxaliplatin-Induced Peripheral Neuropathy." Neurol Res Int **2018**: 1254602.
- Devigili, G., V. Tugnoli, P. Penza, F. Camozzi, R. Lombardi, G. Melli, L. Broglio, E. Granieri and G. Lauria (2008). "The diagnostic criteria for small fibre neuropathy: from symptoms to neuropathology." Brain **131**(Pt 7): 1912-1925.
- Dib-Hajj, S. D., T. R. Cummins, J. A. Black and S. G. Waxman (2010). "Sodium channels in normal and pathological pain." Annu Rev Neurosci **33**: 325-347.
- Dib-Hajj, S. D. and S. G. Waxman (2019). "Sodium Channels in Human Pain Disorders: Genetics and Pharmacogenomics." Annu Rev Neurosci.
- Dispenzieri, A. (2017). "POEMS syndrome: 2017 Update on diagnosis, risk stratification, and management." Am J Hematol **92**(8): 814-829.
- Dispenzieri, A. (2019). "POEMS Syndrome: 2019 Update on diagnosis, risk-stratification, and management." Am J Hematol **94**(7): 812-827.
- Doebel, T., B. Voisin and K. Nagao (2017). "Langerhans Cells - The Macrophage in Dendritic Cell Clothing." Trends Immunol **38**(11): 817-828.
- Doppler, K., C. Werner and C. Sommer (2013). "Disruption of nodal architecture in skin biopsies of patients with demyelinating neuropathies." J Peripher Nerv Syst **18**(2): 168-176.

- Doss, A. L. and P. G. Smith (2012). "Nerve-Langerhans cell interactions in diabetes and aging." Histol Histopathol **27**(12): 1589-1598.
- Doss, A. L. and P. G. Smith (2014). "Langerhans cells regulate cutaneous innervation density and mechanical sensitivity in mouse footpad." Neurosci Lett **578**: 55-60.
- Dubner, R. (2004). "The neurobiology of persistent pain and its clinical implications." Suppl Clin Neurophysiol **57**: 3-7.
- Dubner, R. and M. Gold (1999). "The neurobiology of pain." Proc Natl Acad Sci U S A **96**(14): 7627-7630.
- Duchesne, M., S. Mathis, P. Corcia, L. Richard, K. Ghorab, A. Jaccard, L. Magy and J. M. Vallat (2015). "Value of nerve biopsy in patients with latent malignant hemopathy and peripheral neuropathy: a case series." Medicine (Baltimore) **94**(3): e394.
- Duchesne, M., S. Mathis, L. Richard, C. Magdelaine, P. Corcia, S. Nouioua, M. Tazir, L. Magy and J. M. Vallat (2018). "Nerve Biopsy Is Still Useful in Some Inherited Neuropathies." J Neuropathol Exp Neurol **77**(2): 88-99.
- Duchesne, M., O. Roussellet, T. Maisonobe, N. Gachard, D. Rizzo, M. Armand, K. Viala, L. Richard, M. Delage-Corre, A. Jaccard, P. Corcia, J. M. Vallat and L. Magy (2018). "Pathology of Nerve Biopsy and Diagnostic Yield of PCR-Based Clonality Testing in Neurolymphomatosis." J Neuropathol Exp Neurol **77**(9): 769-781.
- Dyck, P. J., J. W. Albers, H. Andersen, J. C. Arezzo, G. J. Biessels, V. Bril, E. L. Feldman, W. J. Litchy, P. C. O'Brien, J. W. Russell and N. Toronto Expert Panel on Diabetic (2011). "Diabetic polyneuropathies: update on research definition, diagnostic criteria and estimation of severity." Diabetes Metab Res Rev **27**(7): 620-628.
- Dyck, P. J. and E. H. Lambert (1968). "Lower motor and primary sensory neuron diseases with peroneal muscular atrophy. II. Neurologic, genetic, and electrophysiologic findings in various neuronal degenerations." Arch Neurol **18**(6): 619-625.
- Dyck, P. J. B. and J. A. Tracy (2018). "History, Diagnosis, and Management of Chronic Inflammatory Demyelinating Polyradiculoneuropathy." Mayo Clin Proc **93**(6): 777-793.
- Elliott, J. L., J. M. Kwon, P. J. Goodfellow and W. C. Yee (1997). "Hereditary motor and sensory neuropathy IIB: clinical and electrodiagnostic characteristics." Neurology **48**(1): 23-28.
- England, J. D., G. S. Gronseth, G. Franklin, G. T. Carter, L. J. Kinsella, J. A. Cohen, A. K. Asbury, K. Szigeti, J. R. Lupski, N. Latov, R. A. Lewis, P. A. Low, M. A. Fisher, D. Herrmann, J. F. Howard, G. Lauria, R. G. Miller, M. Polydefkis, A. J. Sumner, A. A. o. Neurology, A. A. o. N. a. E. Medicine and A. A. o. P. M. a. Rehabilitation (2009). "Practice parameter: the evaluation of distal symmetric polyneuropathy: the role of autonomic testing, nerve biopsy, and skin biopsy (an evidence-based review). Report of the American Academy of Neurology, the American Association of Neuromuscular and Electrodiagnostic Medicine, and the American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation." PM & R: the journal of injury, function, and rehabilitation **1**(1): 14-22.

- Eranki, V. G., R. Santosh, K. Rajitha, A. Pillai, P. Sowmya, J. Dupin and J. H. Calvet (2013). "Sudomotor function assessment as a screening tool for microvascular complications in type 2 diabetes." Diabetes Research and Clinical Practice **101**(3): e11-13.
- Estacion, M., B. P. Vohra, S. Liu, J. Hoeijmakers, C. G. Faber, I. S. Merkies, G. Lauria, J. A. Black and S. G. Waxman (2015). "Ca²⁺ toxicity due to reverse Na⁺/Ca²⁺ exchange contributes to degeneration of neurites of DRG neurons induced by a neuropathy-associated Nav1.7 mutation." J Neurophysiol **114**(3): 1554-1564.
- Faber, C. G., J. G. Hoeijmakers, H. S. Ahn, X. Cheng, C. Han, J. S. Choi, M. Estacion, G. Lauria, E. K. Vanhoutte, M. M. Gerrits, S. Dib-Hajj, J. P. Drenth, S. G. Waxman and I. S. Merkies (2012). "Gain of function Nav1.7 mutations in idiopathic small fiber neuropathy." Ann Neurol **71**(1): 26-39.
- Faber, C. G., G. Lauria, I. S. Merkies, X. Cheng, C. Han, H. S. Ahn, A. K. Persson, J. G. Hoeijmakers, M. M. Gerrits, T. Pierro, R. Lombardi, D. Kapetis, S. D. Dib-Hajj and S. G. Waxman (2012). "Gain-of-function Nav1.8 mutations in painful neuropathy." Proc Natl Acad Sci U S A **109**(47): 19444-19449.
- Facer, P., M. A. Casula, G. D. Smith, C. D. Benham, I. P. Chessell, C. Bountra, M. Sinisi, R. Birch and P. Anand (2007). "Differential expression of the capsaicin receptor TRPV1 and related novel receptors TRPV3, TRPV4 and TRPM8 in normal human tissues and changes in traumatic and diabetic neuropathy." BMC Neurol **7**: 11.
- Fattori, V., M. S. Hohmann, A. C. Rossaneis, F. A. Pinho-Ribeiro and W. A. Verri (2016). "Capsaicin: Current Understanding of Its Mechanisms and Therapy of Pain and Other Pre-Clinical and Clinical Uses." Molecules **21**(7).
- Fawcett, D. W., R. P. Jensch and W. Bloom (2002). Bloom & Fawcett: histologie, l'essentiel. Paris, Maloine.
- Fawcett, W. a. J., P. (2002). ""Bloom & Fawcett" Histologie l'essentiel."
- Felten, D. and A. Shetty (2011). Atlas de Neurosciences humaines de Netter, Elsevier Masson.
- Finnerup, N. B., N. Attal, S. Haroutounian, E. McNicol, R. Baron, R. H. Dworkin, I. Gilron, M. Haanpaa, P. Hansson, T. S. Jensen, P. R. Kamerman, K. Lund, A. Moore, S. N. Raja, A. S. Rice, M. Rowbotham, E. Sena, P. Siddall, B. H. Smith and M. Wallace (2015). "Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis." Lancet Neurol **14**(2): 162-173.
- Freedman, B. I., S. C. Smith, B. M. Bagwell, J. Xu, D. W. Bowden and J. Divers (2015). "Electrochemical Skin Conductance in Diabetic Kidney Disease." American Journal of Nephrology **41**(6): 438-447.
- Freeman, R. and M. W. Chapleau (2013). Testing the autonomic nervous system. Handbook of Clinical Neurology, Elsevier. **115**: 115-136.
- Frerichs, K. U. and G. Z. Feuerstein (1990). "Laser-Doppler flowmetry. A review of its application for measuring cerebral and spinal cord blood flow." Mol Chem Neuropathol **12**(1): 55-70.

- Gallo, A., M. Leerink, B. Michot, E. Ahmed, P. Forget, A. Mouraux, E. Hermans and R. Deumens (2017). "Bilateral tactile hypersensitivity and neuroimmune responses after spared nerve injury in mice lacking vasoactive intestinal peptide." Exp Neurol **293**: 62-73.
- Garry, E. M., A. Delaney, G. Blackburn-Munro, T. Dickinson, A. Moss, I. Nakalembe, D. C. Robertson, R. Rosie, P. Robberecht, R. Mitchell and S. M. Fleetwood-Walker (2005). "Activation of p38 and p42/44 MAP kinase in neuropathic pain: involvement of VPAC2 and NK2 receptors and mediation by spinal glia." Mol Cell Neurosci **30**(4): 523-537.
- Gaudillere, A., L. Misery, C. Souchier, A. Claudy and D. Schmitt (1996). "Intimate associations between PGP9.5-positive nerve fibres and Langerhans cells." Br J Dermatol **135**(2): 343-344.
- Gibbons, C. H., J. W. Griffin, M. Polydefkis, I. Bonyhay, A. Brown, P. E. Hauer and J. C. McArthur (2006). "The utility of skin biopsy for prediction of progression in suspected small fiber neuropathy." Neurology **66**: 256-258.
- Gibbons, C. H., B. M. W. Illigens, J. Centi and R. Freeman (2008). "QDIRT: quantitative direct and indirect test of sudomotor function." Neurology **70**(24): 2299-2304.
- Gibbons, C. H., B. M. W. Illigens, N. Wang and R. Freeman (2009). "Quantification of sweat gland innervation: A clinical-pathologic correlation." Neurology **72**(17): 1479-1486.
- Gibbons, C. H., B. M. W. Illigens, N. Wang and R. Freeman (2010). "Quantification of sudomotor innervation: A comparison of three methods." Muscle & Nerve **42**(1): 112-119.
- Ginhoux, F. and S. Jung (2014). "Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis." Nat Rev Immunol **14**(6): 392-404.
- Gouin, O., K. L'Herondelle, N. Lebonvallet, C. Le Gall-Ianotto, M. Sakka, V. Buhe, E. Plee-Gautier, J. L. Carre, L. Lefeuvre, L. Misery and R. Le Garrec (2017). "TRPV1 and TRPA1 in cutaneous neurogenic and chronic inflammation: pro-inflammatory response induced by their activation and their sensitization." Protein Cell **8**(9): 644-661.
- Graus, F., J. Y. Delattre, J. C. Antoine, J. Dalmau, B. Giometto, W. Grisold, J. Honnorat, P. S. Smitt, C. Vedeler, J. J. Verschuuren, A. Vincent and R. Voltz (2004). "Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes." J Neurol Neurosurg Psychiatry **75**(8): 1135-1140.
- Gudmundsson, B., E. Olafsson, F. Jakobsson and P. Luthvigsson (2010). "Prevalence of symptomatic Charcot-Marie-Tooth disease in Iceland: a study of a well-defined population." Neuroepidemiology **34**(1): 13-17.
- Guimaraes-Costa, R., Y. Schoindre, A. Metlaine, J. P. Lefaucheur, J. P. Camdessanche, T. Maisonobe and J. M. Leger (2018). "N-hexane exposure: a cause of small fiber neuropathy." J Peripher Nerv Syst **23**(2): 143-146.
- Gupta, N., M. Arora, R. Sharma and K. S. Arora (2016). "Peripheral and Central Nervous System Involvement in Recently Diagnosed Cases of Hypothyroidism: An Electrophysiological Study." Ann Med Health Sci Res **6**(5): 261-266.

- Guthrie, S. (2007). "Patterning and axon guidance of cranial motor neurons." Nat Rev Neurosci **8**(11): 859-871.
- Gwathmey, K. G., T. M. Burns, M. P. Collins and P. J. Dyck (2014). "Vasculitic neuropathies." Lancet Neurol **13**(1): 67-82.
- Haanpää, M. T., R. D. (2010). "Internal Association for the Study of Pain : Diagnosis and Classification of Neuropathic Pain." Pain: Clinical Updates **18**(7).
- Hamzeh, H., A. Gaudillere, O. Sabido, I. Tchou, C. Lambert, D. Schmitt, C. Genin and L. Misery (2000). "Expression of PGP9.5 on Langerhans' cells and their precursors." Acta Derm Venereol **80**(1): 14-16.
- Hart, E. C., G. A. Head, J. R. Carter, B. G. Wallin, C. N. May, S. M. Hamza, J. E. Hall, N. Charkoudian and J. W. Osborn (2017). "Recording sympathetic nerve activity in conscious humans and other mammals: guidelines and the road to standardization." Am J Physiol Heart Circ Physiol **312**(5): H1031-H1051.
- Hartlehnert, M., A. Derksen, T. Hagenacker, D. Kindermann, M. Schafers, M. Pawlak, B. C. Kieseier and G. Meyer Zu Horste (2017). "Schwann cells promote post-traumatic nerve inflammation and neuropathic pain through MHC class II." Sci Rep **7**(1): 12518.
- Heber, S., M. Gold-Binder, C. I. Ciotu, M. Witek, N. Ninidze, H. G. Kress and M. J. M. Fischer (2019). "A human TRPA1-specific pain model." J Neurosci.
- Hoeijmakers, J. G., C. G. Faber, G. Lauria, I. S. Merkies and S. G. Waxman (2012). "Small-fibre neuropathies--advances in diagnosis, pathophysiology and management." Nat Rev Neurol **8**(7): 369-379.
- Hsieh, C. H., K. F. Huang, P. C. Liliang, P. C. Huang, H. M. Shih and C. S. Rau (2007). "EMLA and water immersion cause similar vasodilatation in replanted fingers." J Surg Res **143**(2): 265-269.
- Hu, L. T. (2016). "Lyme Disease." Ann Intern Med **164**(9): ITC65-ITC80.
- Huang, J., C. Han, M. Estacion, D. Vasylyev, J. G. Hoeijmakers, M. M. Gerrits, L. Tyrrell, G. Lauria, C. G. Faber, S. D. Dib-Hajj, I. S. Merkies, S. G. Waxman and P. S. Group (2014). "Gain-of-function mutations in sodium channel Na(v)1.9 in painful neuropathy." Brain **137**(Pt 6): 1627-1642.
- Huguen, J., E. Brenaut, C. J. Clerc, F. Poizeau, P. Marcorelles, G. Quereux, A. Dupuy and L. Misery (2019). "Comparison of Characteristics of Neuropathic and Non-neuropathic Pruritus to Develop a Tool for the Diagnosis of Neuropathic Pruritus: The NP5." Front Med (Lausanne) **6**: 79.
- Ikoma, A., M. Steinhoff, S. Stander, G. Yosipovitch and M. Schmelz (2006). "The neurobiology of itch." Nat Rev Neurosci **7**(7): 535-547.
- Illigens, B. M. W. and C. H. Gibbons (2009). "Sweat testing to evaluate autonomic function." Clinical Autonomic Research **19**(2): 79-87.

- Inouye, H. and D. A. Kirschner (2016). "Evolution of myelin ultrastructure and the major structural myelin proteins." Brain Res **1641**(Pt A): 43-63.
- Ishii, S., R. Kase, H. Sakuraba and Y. Suzuki (1993). "Characterization of a mutant alpha-galactosidase gene product for the late-onset cardiac form of Fabry disease." Biochem Biophys Res Commun **197**(3): 1585-1589.
- Iwashita, H., A. Ohnishi, M. Asada, Y. Kanazawa and Y. Kuroiwa (1977). "Polyneuropathy, skin hyperpigmentation, edema, and hypertrichosis in localized osteosclerotic myeloma." Neurology **27**(7): 675-681.
- Jensen, T. S. and N. B. Finnerup (2014). "Allodynia and hyperalgesia in neuropathic pain: clinical manifestations and mechanisms." Lancet Neurol **13**(9): 924-935.
- Jin, H. W., S. J. Flatters, W. H. Xiao, H. L. Mulhern and G. J. Bennett (2008). "Prevention of paclitaxel-evoked painful peripheral neuropathy by acetyl-L-carnitine: effects on axonal mitochondria, sensory nerve fiber terminal arbors, and cutaneous Langerhans cells." Exp Neurol **210**(1): 229-237.
- Jin, P., L. Cheng, M. Chen and L. Zhou (2018). "Low Sensitivity of Skin Biopsy in Diagnosing Small Fiber Neuropathy in Chinese Americans." J Clin Neuromuscul Dis **20**(1): 1-6.
- Kamenov, Z. A., J. J. Petrova and V. G. Christov (2010). "Diagnosis of diabetic neuropathy using simple somatic and a new autonomic (neuropad) tests in the clinical practice." Exp Clin Endocrinol Diabetes **118**(4): 226-233.
- Kanai, K., S. Kuwabara, S. Misawa and T. Hattori (2007). "Failure of treatment with anti-VEGF monoclonal antibody for long-standing POEMS syndrome." Intern Med **46**(6): 311-313.
- Kanda, T. (2009). "Usefulness of sural nerve biopsy in the genomic era." Neuropathology **29**(4): 502-508.
- Kapoor, M., A. M. Rossor, Z. Jaunmuktane, M. P. T. Lunn and M. M. Reilly (2018). "Diagnosis of amyloid neuropathy." Pract Neurol.
- Karam, C. and P. J. Dyck (2015). "Toxic Neuropathies." Semin Neurol **35**(4): 448-457.
- Katona, I. and J. Weis (2017). "Diseases of the peripheral nerves." Handb Clin Neurol **145**: 453-474.
- Katz, S. I., K. Tamaki and D. H. Sachs (1979). "Epidermal Langerhans cells are derived from cells originating in bone marrow." Nature **282**(5736): 324-326.
- Kellersch, B. and T. Brocker (2013). "Langerhans cell homeostasis in mice is dependent on mTORC1 but not mTORC2 function." Blood **121**(2): 298-307.
- Khoshnoodi, M. A., S. Truelove, A. Burakgazi, A. Hoke, A. L. Mammen and M. Polydefkis (2016). "Longitudinal Assessment of Small Fiber Neuropathy: Evidence of a Non-Length-Dependent Distal Axonopathy." JAMA Neurol **73**(6): 684-690.

- Kim, D. H., J. E. Na, S. J. Lee, W. Sun, H. H. Ahn, B. J. Kim and I. J. Rhyu (2019). "Quantification of intraepidermal nerve fiber density using three-dimensional microscopy." Microsc Res Tech **82**(1): 47-52.
- Kim, S., J. Cho, B. Ku, M. Jun, G. Kim, H. Yoo, S. Park and J. U. Kim (2019). "Variability of electrochemical skin conductance for screening diabetes mellitus." Biomed Eng Lett **9**(2): 267-274.
- Kobsar, I., M. Maurer, T. Ott and R. Martini (2002). "Macrophage-related demyelination in peripheral nerves of mice deficient in the gap junction protein connexin 32." Neurosci Lett **320**(1-2): 17-20.
- Koike, H., M. Iijima, K. Mori, M. Yamamoto, N. Hattori, H. Watanabe, F. Tanaka, M. Doyu and G. Sobue (2008). "Neuropathic pain correlates with myelinated fibre loss and cytokine profile in POEMS syndrome." J Neurol Neurosurg Psychiatry **79**(10): 1171-1179.
- Kubasch, M. L., A. S. Kubasch, J. Torres Pacheco, S. J. Buchmann, B. M. Illigens, K. Barlinn and T. Siepmann (2017). "Laser Doppler Assessment of Vasomotor Axon Reflex Responsiveness to Evaluate Neurovascular Function." Front Neurol **8**: 370.
- Kurihara, S., Y. Adachi, K. Wada, E. Awaki, H. Harada and K. Nakashima (2002). "An epidemiological genetic study of Charcot-Marie-Tooth disease in Western Japan." Neuroepidemiology **21**(5): 246-250.
- Landrieu, P. and J. Baets (2013). "Early onset (childhood) monogenic neuropathies." Handb Clin Neurol **115**: 863-891.
- Langerhans, P. (1868). "Über die Nerven der menschlichen Haut." Virchows Arch Path Anat **44**: 325-337.
- Lauria, G., M. Bakkers, C. Schmitz, R. Lombardi, P. Penza, G. Devigili, A. G. Smith, S.-T. Hsieh, S. I. Mellgren, T. Umapathi, D. Ziegler, C. G. Faber and I. S. J. Merkies (2010). "Intraepidermal nerve fiber density at the distal leg: a worldwide normative reference study." Journal of the peripheral nervous system: JPNS **15**(3): 202-207.
- Lauria, G., P. Dacci, R. Lombardi, D. Cazzato, C. Porretta-Serapiglia, M. Taiana, J. Sassone, E. Dalla Bella, S. Rinaldo, C. Lettieri, R. Eleopra and G. Devigili (2015). "Side and time variability of intraepidermal nerve fiber density." Neurology **84**(23): 2368-2371.
- Lauria, G. and G. Devigili (2007). "Skin biopsy as a diagnostic tool in peripheral neuropathy." Nat Clin Pract Neurol **3**(10): 546-557.
- Lauria, G., S. T. Hsieh, O. Johansson, W. R. Kennedy, J. M. Leger, S. I. Mellgren, M. Nolano, I. S. J. Merkies, M. Polydefkis, A. G. Smith, C. Sommer, J. Valls-Solé, E. F. o. N. Societies and P. N. Society (2010). "European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on the use of skin biopsy in the diagnosis of small fiber neuropathy. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society." European Journal of Neurology: The Official Journal of the European Federation of Neurological Societies **17**: 903-912, e944-949.
- Lauria, G., S. T. Hsieh, O. Johansson, W. R. Kennedy, J. M. Leger, S. I. Mellgren, M. Nolano, I. S. J. Merkies, M. Polydefkis, A. G. Smith, C. Sommer, J. Valls-Solé, E. F. o. N. Societies

- and P. N. Society (2010). "European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on the use of skin biopsy in the diagnosis of small fiber neuropathy. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society." European Journal of Neurology: The Official Journal of the European Federation of Neurological Societies **17**(7): 903-912, e944-949.
- Lauria, G. and R. Lombardi (2007). "Skin biopsy: a new tool for diagnosing peripheral neuropathy." BMJ **334**(7604): 1159-1162.
- Lauria, G., R. Lombardi, M. Borgna, P. Penza, R. Bianchi, C. Savino, A. Canta, G. Nicolini, P. Marmiroli and G. Cavaletti (2005). "Intraepidermal nerve fiber density in rat foot pad: neuropathologic-neurophysiologic correlation." J Peripher Nerv Syst **10**(2): 202-208.
- Lauria, G., M. Morbin, R. Lombardi, R. Capobianco, F. Camozzi, D. Pareyson, M. Manconi and P. Geppetti (2006). "Expression of capsaicin receptor immunoreactivity in human peripheral nervous system and in painful neuropathies." J Peripher Nerv Syst **11**(3): 262-271.
- Lee-Kubli, C. A., M. Ingves, K. W. Henry, R. Shiao, E. Collyer, M. H. Tuszynski and W. M. Campana (2016). "Analysis of the behavioral, cellular and molecular characteristics of pain in severe rodent spinal cord injury." Exp Neurol **278**: 91-104.
- Lee, J. W. and S. W. Yoon (2017). "Effects of measurement posture and stimulation intensity on the nociceptive flexion reflex (RIII reflex)." J Phys Ther Sci **29**(6): 1066-1069.
- Lefaucheur, J.-P. (2014). "[Painful neuropathies and small fiber involvement]." Revue Neurologique **170**(12): 825-836.
- Lefaucheur, J. P. (2017). "Measurement of electrochemical conductance of penile skin using Sudoscan(R): A new tool to assess neurogenic impotence." Neurophysiol Clin **47**(3): 253-260.
- Lefaucheur, J. P. (2019). "Clinical neurophysiology of pain." Handb Clin Neurol **161**: 121-148.
- Lefaucheur, J. P., A. Wahab, V. Plante-Bordeneuve, D. Sene, I. Menard-Lefaucheur, D. Rouie, D. Tebbal, H. Salhi, A. Creange, H. Zouari and S. Ng Wing Tin (2015). "Diagnosis of small fiber neuropathy: A comparative study of five neurophysiological tests." Neurophysiol Clin **45**(6): 445-455.
- Leo, M., M. Schulte, L. I. Schmitt, M. Schafers, C. Kleinschnitz and T. Hagenacker (2017). "Intrathecal Resiniferatoxin Modulates TRPV1 in DRG Neurons and Reduces TNF-Induced Pain-Related Behavior." Mediators Inflamm **2017**: 2786427.
- Leppert, D., P. Hughes, S. Huber, B. Erne, C. Grygar, G. Said, K. M. Miller, A. J. Steck, A. Probst and P. Fuhr (1999). "Matrix metalloproteinase upregulation in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy and nonsystemic vasculitic neuropathy." Neurology **53**(1): 62-70.
- Lerman, S. F., Z. Rudich, S. Brill, H. Shalev and G. Shahar (2015). "Longitudinal associations between depression, anxiety, pain, and pain-related disability in chronic pain patients." Psychosom Med **77**(3): 333-341.

- Lewis, R. A. (2017). "Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy." Curr Opin Neurol **30**(5): 508-512.
- Leypoldt, F. and K. P. Wandinger (2014). "Paraneoplastic neurological syndromes." Clin Exp Immunol **175**(3): 336-348.
- Liguori, R., A. Incensi, S. de Pasqua, R. Mignani, E. Fileccia, M. Santostefano, E. Biagini, C. Rapezzi, S. Palmieri, I. Romani, W. Borsini, A. Burlina, R. Bombardi, M. Caprini, P. Avoni and V. Donadio (2017). "Skin globotriaosylceramide 3 deposits are specific to Fabry disease with classical mutations and associated with small fibre neuropathy." PLoS One **12**(7): e0180581.
- Lindenlaub, T. and C. Sommer (2002). "Epidermal innervation density after partial sciatic nerve lesion and pain-related behavior in the rat." Acta Neuropathol **104**(2): 137-143.
- Loavenbruck, A., G. Wendelschaefler-Crabbe, P. Sandroni and W. R. Kennedy (2014). "Quantification of sweat gland volume and innervation in neuropathy: Correlation with thermoregulatory sweat testing: Sweat Gland Nerve Fiber Length." Muscle & Nerve **50**(4): 528-534.
- Lolignier, S., N. Eijkelkamp and J. N. Wood (2015). "Mechanical allodynia." Pflugers Arch **467**(1): 133-139.
- Lopate, G., E. Streif, M. Harms, C. Wehl and A. Pestronk (2013). "Cramps and small-fiber neuropathy." Muscle Nerve **48**(2): 252-255.
- Løseth, S., S. Lindal, E. Stålberg and S. I. Mellgren (2006). "Intraepidermal nerve fibre density, quantitative sensory testing and nerve conduction studies in a patient material with symptoms and signs of sensory polyneuropathy." European Journal of Neurology: The Official Journal of the European Federation of Neurological Societies **13**: 105-111.
- Luigetti, M., G. Bisogni, A. Romano, A. Di Paolantonio, F. Barbato, G. Primicerio, P. M. Rossini, S. Servidei and M. Sabatelli (2018). "Sudoscans in the evaluation and follow-up of patients and carriers with TTR mutations: experience from an Italian Centre." Amyloid **25**(4): 242-246.
- Luk, A. O. Y., W.-C. Fu, X. Li, R. Ozaki, H. H. Y. Chung, R. Y. M. Wong, W.-Y. So, F. C. C. Chow and J. C. N. Chan (2015). "The Clinical Utility of SUDOSCAN in Chronic Kidney Disease in Chinese Patients with Type 2 Diabetes." PLOS ONE **10**(8): e0134981.
- Lupski, J. R., R. M. de Oca-Luna, S. Slaugenhaupt, L. Pentao, V. Guzzetta, B. J. Trask, O. Saucedo-Cardenas, D. F. Barker, J. M. Killian, C. A. Garcia, A. Chakravarti and P. I. Patel (1991). "DNA duplication associated with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A." Cell **66**(2): 219-232.
- Maharaj, A. S. and P. A. D'Amore (2007). "Roles for VEGF in the adult." Microvasc Res **74**(2-3): 100-113.
- Mainka, T., C. Maier and E. K. Enax-Krumova (2015). "Neuropathic pain assessment: update on laboratory diagnostic tools." Curr Opin Anaesthesiol **28**(5): 537-545.

- Marfia, G. A., C. Pachatz, C. Terracciano, G. Leone, S. Bernardini, G. Bernardi and R. Massa (2005). "Subacute demyelinating polyneuropathy in B-cell lymphoma with IgM antibodies against glycolipid GD1b." Neurol Sci **26**(5): 355-357.
- Marques, W., Jr., M. R. Freitas, O. J. Nascimento, A. B. Oliveira, L. Calia, A. Melo, R. Lucena, V. Rocha and A. A. Barreira (2005). "17p duplicated Charcot-Marie-Tooth 1A: characteristics of a new population." J Neurol **252**(8): 972-979.
- Martinelli-Boneschi, F., M. Colombi, M. Castori, G. Devigili, R. Eleopra, R. A. Malik, M. Ritelli, N. Zoppi, C. Dordoni, M. Sorosina, P. Grammatico, H. Fadavi, M. M. Gerrits, R. Almomani, C. G. Faber, I. S. Merkies, D. Toniolo, I. Network, M. Cocca, C. Doglioni, S. G. Waxman, S. D. Dib-Hajj, M. M. Taiana, J. Sassone, R. Lombardi, D. Cazzato, A. Zauli, S. Santoro, M. Marchi and G. Lauria (2017). "COL6A5 variants in familial neuropathic chronic itch." Brain **140**(3): 555-567.
- Mathew, S., M. Faheem, S. M. Ibrahim, W. Iqbal, B. Rauff, K. Fatima and I. Qadri (2016). "Hepatitis C virus and neurological damage." World J Hepatol **8**(12): 545-556.
- Mathis, S., P. Corcia, M. Tazir, W. Camu, C. Magdelaine, P. Latour, J. Biberon, A. M. Guennoc, L. Richard, L. Magy, B. Funalot and J. M. Vallat (2014). "Peripheral myelin protein 22 gene duplication with atypical presentations: a new example of the wide spectrum of Charcot-Marie-Tooth 1A disease." Neuromuscul Disord **24**(6): 524-528.
- Mathis, S., C. Goizet, M. Tazir, C. Magdelaine, A. S. Lia, L. Magy and J. M. Vallat (2015). "Charcot-Marie-Tooth diseases: an update and some new proposals for the classification." J Med Genet **52**(10): 681-690.
- Mathis, S. and J. M. Vallat (2017). "Jules Dejerine and the peripheral nervous system." Neurology **89**(6): 611-615.
- Mayaudon, H., P.-O. Miloche and B. Bauduceau (2010). "A new simple method for assessing sudomotor function: relevance in type 2 diabetes." Diabetes & Metabolism **36**(6 Pt 1): 450-454.
- Mehta, A., R. Ricci, U. Widmer, F. Dehout, A. Garcia de Lorenzo, C. Kampmann, A. Linhart, G. Sunder-Plassmann, M. Ries and M. Beck (2004). "Fabry disease defined: baseline clinical manifestations of 366 patients in the Fabry Outcome Survey." Eur J Clin Invest **34**(3): 236-242.
- Mellion, M. L., E. Silbermann, J. M. Gilchrist, J. T. Machan, L. Leggio and S. de la Monte (2014). "Small-fiber degeneration in alcohol-related peripheral neuropathy." Alcohol Clin Exp Res **38**(7): 1965-1972.
- Melzack, R. (1982). "Recent concepts of pain." J Med **13**(3): 147-160.
- Merad, M., F. Ginhoux and M. Collin (2008). "Origin, homeostasis and function of Langerhans cells and other langerin-expressing dendritic cells." Nat Rev Immunol **8**(12): 935-947.
- Michizono, K., F. Umehara, T. Hashiguchi, K. Arimura, E. Matsuura, O. Watanabe, N. Fujimoto, Y. Okada and M. Osame (2001). "Circulating levels of MMP-1, -2, -3, -9, and TIMP-1 are increased in POEMS syndrome." Neurology **56**(6): 807-810.

- Minota, K., A. M. Schmeichel, J. A. Gehrking, J. N. Mandrekar, P. A. Low and W. Singer (2019). "Refined Quantitation of Sweat Gland Innervation." J Neuropathol Exp Neurol **78**(5): 453-459.
- Misawa, S., Y. Sato, K. Katayama, H. Hanaoka, S. Sawai, M. Beppu, F. Nomura, K. Shibuya, Y. Sekiguchi, Y. Iwai, K. Watanabe, H. Amino, C. Ohwada, M. Takeuchi, E. Sakaida, C. Nakaseko and S. Kuwabara (2015). "Vascular endothelial growth factor as a predictive marker for POEMS syndrome treatment response: retrospective cohort study." BMJ Open **5**(11): e009157.
- Misery, L., E. Brenaut, R. Le Garrec, C. Abasq, S. Genestet, P. Marcorelles and F. Zagnoli (2014). "Neuropathic pruritus." Nat Rev Neurol **10**(7): 408-416.
- Mizisin, A. P. and A. Weerasuriya (2011). "Homeostatic regulation of the endoneurial microenvironment during development, aging and in response to trauma, disease and toxic insult." Acta Neuropathol **121**(3): 291-312.
- Moisset, X. and J. P. Lefaucheur (2019). "Non pharmacological treatment for neuropathic pain: Invasive and non-invasive cortical stimulation." Rev Neurol (Paris) **175**(1-2): 51-58.
- Murphy, S. M., M. Laura, K. Fawcett, A. Pandraud, Y. T. Liu, G. L. Davidson, A. M. Rossor, J. M. Polke, V. Castleman, H. Manji, M. P. Lunn, K. Bull, G. Ramdharry, M. Davis, J. C. Blake, H. Houlden and M. M. Reilly (2012). "Charcot-Marie-Tooth disease: frequency of genetic subtypes and guidelines for genetic testing." J Neurol Neurosurg Psychiatry **83**(7): 706-710.
- Naddaf, E., A. Dispenzieri, J. Mandrekar and M. L. Mauermann (2016). "Clinical spectrum of Castleman disease-associated neuropathy." Neurology **87**(23): 2457-2462.
- Nascimento, O. J. (2013). "Leprosy neuropathy: clinical presentations." Arq Neuropsiquiatr **71**(9B): 661-666.
- Nesbitt, C., D. Wong and P. Batchelor (2015). "Polyradiculopathy secondary to severe hypertriglyceridemia." BMJ Case Rep **2015**.
- Ng Wing Tin, S., D. Ciampi de Andrade, C. Goujon, V. Plante-Bordeneuve, A. Creange and J. P. Lefaucheur (2014). "Sensory correlates of pain in peripheral neuropathies." Clin Neurophysiol **125**(5): 1048-1058.
- Nolano, M., A. Biasiotta, R. Lombardi, V. Provitera, A. Stancanelli, G. Caporaso, L. Santoro, I. S. J. Merkies, A. Truini, C. Porretta-Serapiglia, D. Cazzato, P. Dacci, D. F. Vitale and G. Lauria (2015). "Epidermal innervation morphometry by immunofluorescence and bright-field microscopy." Journal of the peripheral nervous system: JPNS **20**(4): 387-391.
- Nolano, M., F. Manganelli, V. Provitera, C. Pisciotta, A. Stancanelli, G. Caporaso, R. Iodice, M. E. Shy and L. Santoro (2015). "Small nerve fiber involvement in CMT1A." Neurology **84**(4): 407-414.
- Nolano, M., V. Provitera, C. Crisci, A. Stancanelli, G. Wendelschafer-Crabb, W. R. Kennedy and L. Santoro (2003). "Quantification of myelinated endings and mechanoreceptors in human digital skin." Annals of Neurology **54**(2): 197-205.

- North, R. Y., T. T. Lazaro and P. M. Dougherty (2018). "Ectopic Spontaneous Afferent Activity and Neuropathic Pain." Neurosurgery **65**(CN_suppl_1): 49-54.
- Novak, P. (2016). "Electrochemical Skin Conductance Correlates with Skin Nerve Fiber Density." Frontiers in Aging Neuroscience **8**.
- Novak, V., M. L. Freimer, J. T. Kissel, Z. Sahenk, I. M. Periquet, S. M. Nash, M. P. Collins and J. R. Mendell (2001). "Autonomic impairment in painful neuropathy." Neurology **56**(7): 861-868.
- Oh, S. J. (1990). "Diagnostic usefulness and limitations of the sural nerve biopsy." Yonsei Med J **31**(1): 1-26.
- Ohyama, K., H. Koike, R. Hashimoto, M. Takahashi, Y. Kawagashira, M. Iijima, M. Katsuno and G. Sobue (2016). "Intraepidermal nerve fibre density in POEMS (Crow-Fukase) syndrome and the correlation with sural nerve pathology." J Neurol Sci **365**: 207-211.
- Oka, N., T. Kawasaki, T. Unuma, K. Shigematsu and H. Sugiyama (2013). "Different profiles of onion bulb in CIDP and CMT1A in relation to extracellular matrix." Clin Neuropathol **32**(5): 406-412.
- Oskolkova, O. V., V. Godschachner and V. N. Bochkov (2017). "Off-Target Anti-Inflammatory Activity of the P2X7 Receptor Antagonist AZ11645373." Inflammation **40**(2): 530-536.
- Oudejans, L. C., M. Niesters, M. Brines, A. Dahan and M. van Velzen (2017). "Quantification of small fiber pathology in patients with sarcoidosis and chronic pain using cornea confocal microscopy and skin biopsies." J Pain Res **10**: 2057-2065.
- Pain, I. A. f. t. S. o. (1994). Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Seattle, IASP Press.
- Palhares, M. R., J. F. Silva, M. J. S. Rezende, D. C. Santos, C. A. Silva-Junior, M. H. Borges, J. Ferreira, M. V. Gomez and C. J. Castro-Junior (2017). "Synergistic antinociceptive effect of a calcium channel blocker and a TRPV1 blocker in an acute pain model in mice." Life Sci **182**: 122-128.
- Pan, C.-L., T.-J. Tseng, Y.-H. Lin, M.-C. Chiang, W.-M. Lin and S.-T. Hsieh (2003). "Cutaneous innervation in Guillain-Barré syndrome: pathology and clinical correlations." Brain: A Journal of Neurology **126**(Pt 2): 386-397.
- Papanas, N., K. Papatheodorou, D. Christakidis, D. Papazoglou, G. Giassakis, H. Piperidou, C. Monastiriotis and E. Maltezos (2005). "Evaluation of a new indicator test for sudomotor function (Neuropad) in the diagnosis of peripheral neuropathy in type 2 diabetic patients." Exp Clin Endocrinol Diabetes **113**(4): 195-198.
- Papanas, N., P. Paschos, D. Papazoglou, K. Papatheodorou, K. Paletas, E. Maltezos and A. Tsapas (2011). "Accuracy of the Neuropad test for the diagnosis of distal symmetric polyneuropathy in type 2 diabetes." Diabetes Care **34**(6): 1378-1382.
- Pareyson, D., P. Saveri and C. Pisciotta (2017). "New developments in Charcot-Marie-Tooth neuropathy and related diseases." Curr Opin Neurol **30**(5): 471-480.

- Peters, M. J., M. Bakkers, I. S. Merkies, J. G. Hoeijmakers, E. P. van Raak and C. G. Faber (2013). "Incidence and prevalence of small-fiber neuropathy: a survey in the Netherlands." Neurology **81**(15): 1356-1360.
- Petropoulos, I. N., U. Alam, H. Fadavi, O. Asghar, P. Green, G. Ponirakis, A. Marshall, A. J. Boulton, M. Tavakoli and R. A. Malik (2013). "Corneal nerve loss detected with corneal confocal microscopy is symmetrical and related to the severity of diabetic polyneuropathy." Diabetes Care **36**(11): 3646-3651.
- Piccione, E. A., J. Engelstad, P. J. Dyck, M. L. Mauermann, A. Dispenzieri and P. J. Dyck (2016). "Nerve pathologic features differentiate POEMS syndrome from CIDP." Acta Neuropathol Commun **4**(1): 116.
- Pihan, M., S. Keddie, S. D'Sa, A. J. Church, K. L. Yong, M. M. Reilly and M. P. Lunn (2018). "Raised VEGF: High sensitivity and specificity in the diagnosis of POEMS syndrome." Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm **5**(5): e486.
- Ping Ng, K. W., J. J. Ong, T. D. Nyein Nyein, S. Liang, Y. C. Chan, K. O. Lee and E. P. Wilder-Smith (2013). "EMLA-Induced Skin Wrinkling for the Detection of Diabetic Neuropathy." Front Neurol **4**: 126.
- Pisciotta, C. and M. E. Shy (2018). "Neuropathy." Handb Clin Neurol **148**: 653-665.
- Preti, D., G. Saponaro and A. Szallasi (2015). "Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) antagonists." Pharm Pat Anal **4**(2): 75-94.
- Provitera, V., C. H. Gibbons, G. Wendelschafer-Crabb, V. Donadio, D. F. Vitale, A. Loavenbruck, A. Stancanelli, G. Caporaso, R. Liguori, N. Wang, L. Santoro, W. R. Kennedy and M. Nolano (2018). "The role of skin biopsy in differentiating small-fiber neuropathy from ganglionopathy." Eur J Neurol **25**(6): 848-853.
- Provitera, V., C. H. Gibbons, G. Wendelschafer-Crabb, V. Donadio, D. F. Vitale, A. Stancanelli, G. Caporaso, R. Liguori, N. Wang, L. Santoro, W. R. Kennedy and M. Nolano (2016). "A multi-center, multinational age- and gender-adjusted normative dataset for immunofluorescent intraepidermal nerve fiber density at the distal leg." European Journal of Neurology **23**(2): 333-338.
- Puttgen, S., G. J. Bonhof, A. Strom, K. Mussig, J. Szendroedi, M. Roden and D. Ziegler (2019). "Augmented corneal nerve fiber branching in painful compared to painless diabetic neuropathy." J Clin Endocrinol Metab.
- Quarles., P. M. a. R. H. (1999). Basic neurochemistry: molecular, cellular, and medical aspects - The myelin sheat. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.
- Quattrini, C., M. Tavakoli, M. Jeziorska, P. Kallinikos, S. Tesfaye, J. Finnigan, A. Marshall, A. J. Boulton, N. Efron and R. A. Malik (2007). "Surrogate markers of small fiber damage in human diabetic neuropathy." Diabetes **56**(8): 2148-2154.
- Querol, L., A. M. Siles, R. Alba-Rovira, A. Jauregui, J. Devaux, C. Faivre-Sarrailh, J. Araque, R. Rojas-Garcia, J. Diaz-Manera, E. Cortes-Vicente, G. Nogales-Gadea, M. Navas-Madronal, E. Gallardo and I. Illa (2017). "Antibodies against peripheral nerve antigens in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy." Sci Rep **7**(1): 14411.

- Raisanen, A., J. Eklund, J.-H. Calvet and J. Tuomilehto (2014). "Sudomotor function as a tool for cardiorespiratory fitness level evaluation: comparison with maximal exercise capacity." International Journal of Environmental Research and Public Health **11**(6): 5839-5848.
- Rajan, S., M. Campagnolo, B. Callaghan and C. H. Gibbons (2019). "Sudomotor function testing by electrochemical skin conductance: does it really measure sudomotor function?" Clin Auton Res **29**(1): 31-39.
- Reinhold, A. K. and H. L. Rittner (2017). "Barrier function in the peripheral and central nervous system-a review." Pflugers Arch **469**(1): 123-134.
- Ribiere, C., M. Bernardin, S. Sacconi, E. Delmont, M. Fournier-Mehouas, H. Rauscent, M. Benchortane, P. Staccini, M. Lanteri-Minet and C. Desnuelle (2012). "Pain assessment in Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease." Ann Phys Rehabil Med **55**(3): 160-173.
- Rolyan, H., S. Liu, J. G. Hoeijmakers, C. G. Faber, I. S. Merkies, G. Lauria, J. A. Black and S. G. Waxman (2016). "A painful neuropathy-associated Nav1.7 mutant leads to time-dependent degeneration of small-diameter axons associated with intracellular Ca²⁺ dysregulation and decrease in ATP levels." Mol Pain **12**.
- Romani, N., A. Lenz, H. Glassel, H. Stossel, U. Stanzl, O. Majdic, P. Fritsch and G. Schuler (1989). "Cultured human Langerhans cells resemble lymphoid dendritic cells in phenotype and function." J Invest Dermatol **93**(5): 600-609.
- Rosenfeld, M. R. and J. Dalmau (2018). "Paraneoplastic Neurologic Syndromes." Neurol Clin **36**(3): 675-685.
- Rossor, A. M., A. S. Carr, H. Devine, H. Chandrashekar, A. L. Pelayo-Negro, D. Pareyson, M. E. Shy, S. S. Scherer and M. M. Reilly (2017). "Peripheral neuropathy in complex inherited diseases: an approach to diagnosis." J Neurol Neurosurg Psychiatry **88**(10): 846-863.
- Russell, J. W. and L. A. Zilliox (2014). "Diabetic neuropathies." Continuum (Minneap Minn) **20**(5 Peripheral Nervous System Disorders): 1226-1240.
- Sahuc, P., L. Chiche, B. Dussol, J. Pouget and J. Franques (2016). "Sudoscans as a noninvasive tool to assess sudomotor dysfunction in patients with Fabry disease: results from a case-control study." Therapeutics and Clinical Risk Management **12**: 135-138.
- Said, G. (2013). "Sarcoidosis of the peripheral nervous system." Handb Clin Neurol **115**: 485-495.
- Sanghi, V. (2014). "Neurologic manifestations of diphtheria and pertussis." Handb Clin Neurol **121**: 1355-1359.
- Sato, J. and E. R. Perl (1991). "Adrenergic excitation of cutaneous pain receptors induced by peripheral nerve injury." Science **251**(5001): 1608-1610.
- Saylor, D. (2018). "Neurologic Complications of Human Immunodeficiency Virus Infection." Continuum (Minneap Minn) **24**(5, Neuroinfectious Disease): 1397-1421.

- Scarlato, M., S. C. Previtali, M. Carpo, D. Pareyson, C. Briani, R. Del Bo, E. Nobile-Orazio, A. Quattrini and G. P. Comi (2005). "Polyneuropathy in POEMS syndrome: role of angiogenic factors in the pathogenesis." Brain **128**(Pt 8): 1911-1920.
- Scheinker, L. (1938). "Myelom und Nervensystem: uber eine bishernicht beschrieben mit eigentumlichen Hautveran- derungen einhergehende Polyneuritis bei einem plama- zellularen myelom des sternums." Dtsch Z Nervenheilkd **147**: 247-273.
- Scheytt, S., N. Riediger, S. Braunsdorf, C. Sommer and N. Uceyler (2015). "Increased gene expression of growth associated protein-43 in skin of patients with early-stage peripheral neuropathies." J Neurol Sci **355**(1-2): 131-137.
- Schou, W. S., S. Ashina, F. M. Amin, P. J. Goadsby and M. Ashina (2017). "Calcitonin gene-related peptide and pain: a systematic review." J Headache Pain **18**(1): 34.
- Schuller, Y., G. E. Linthorst, C. E. Hollak, I. N. Van Schaik and M. Biegstraaten (2016). "Pain management strategies for neuropathic pain in Fabry disease--a systematic review." BMC Neurol **16**: 25.
- Schwarz, M. G., B. Namer, P. W. Reeh and M. J. M. Fischer (2017). "TRPA1 and TRPV1 Antagonists Do Not Inhibit Human Acidosis-Induced Pain." J Pain **18**(5): 526-534.
- Sejvar, J. J., K. S. Kohl, J. Gidudu, A. Amato, N. Bakshi, R. Baxter, D. R. Burwen, D. R. Cornblath, J. Cleerhout, K. M. Edwards, U. Heininger, R. Hughes, N. Khuri-Bulos, R. Korinthenberg, B. J. Law, U. Munro, H. C. Maltezou, P. Nell, J. Oleske, R. Sparks, P. Velentgas, P. Vermeer, M. Wiznitzer and G. B. S. W. G. Brighton Collaboration (2011). "Guillain-Barre syndrome and Fisher syndrome: case definitions and guidelines for collection, analysis, and presentation of immunization safety data." Vaccine **29**(3): 599-612.
- Sekiguchi, Y., S. Misawa, K. Shibuya, S. Nasu, S. Mitsuma, Y. Iwai, M. Beppu, S. Sawai, S. Ito, S. Hirano, C. Nakaseko and S. Kuwabara (2013). "Ambiguous effects of anti-VEGF monoclonal antibody (bevacizumab) for POEMS syndrome." J Neurol Neurosurg Psychiatry **84**(12): 1346-1348.
- Selim, M. M., G. Wendelschafer-Crabb, J. S. Hodges, D. A. Simone, S. X. Y.-L. Foster, G. F. Vanhove and W. R. Kennedy (2010). "Variation in quantitative sensory testing and epidermal nerve fiber density in repeated measurements." Pain **151**(3): 575-581.
- Selvarajah, D., T. Cash, J. Davies, A. Sankar, G. Rao, M. Grieg, S. Pallai, R. Gandhi, I. D. Wilkinson and S. Tesfaye (2015). "SUDOSCAN: A Simple, Rapid, and Objective Method with Potential for Screening for Diabetic Peripheral Neuropathy." PloS One **10**(10): e0138224.
- Sene, D. (2018). "Small fiber neuropathy: Diagnosis, causes, and treatment." Joint Bone Spine **85**(5): 553-559.
- Serratrice, J., A. Verschueren and G. Serratrice (2013). "Système nerveux autonome." EMC - Neurologie **10**(1): 1-18.

- Shehab, S. A. (2014). "Fifth lumbar spinal nerve injury causes neurochemical changes in corresponding as well as adjacent spinal segments: a possible mechanism underlying neuropathic pain." J Chem Neuroanat **55**: 38-50.
- Sheng, J., C. Ruedl and K. Karjalainen (2015). "Most Tissue-Resident Macrophages Except Microglia Are Derived from Fetal Hematopoietic Stem Cells." Immunity **43**(2): 382-393.
- Shiri, R. (2014). "Hypothyroidism and carpal tunnel syndrome: a meta-analysis." Muscle Nerve **50**(6): 879-883.
- Shy, M. E., J. R. Lupski, P. F. Chance, C. J. Klein and P. J. Dyck (2005). Hereditary Motor and Sensory Neuropathies: An Overview of Clinical, Genetic, Electrophysiologic, and Pathologic Features. Peripheral Neuropathy, Elsevier: 1623-1658.
- Siau, C., W. Xiao and G. J. Bennett (2006). "Paclitaxel- and vincristine-evoked painful peripheral neuropathies: loss of epidermal innervation and activation of Langerhans cells." Exp Neurol **201**(2): 507-514.
- Simpson, D. M., S. Brown, J. K. Tobias, G. F. Vanhove and N.-C. S. Group (2014). "NGX-4010, a capsaicin 8% dermal patch, for the treatment of painful HIV-associated distal sensory polyneuropathy: results of a 52-week open-label study." Clin J Pain **30**(2): 134-142.
- Sjogren, E., L. Stahle, H. Quiding, B. Jonzon, M. M. Halldin and A. K. Sundgren (2019). "The effect of intradermal microdosing of a transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 antagonist on heat evoked pain and thermal thresholds in normal and ultraviolet-C exposed skin in healthy volunteers." Eur J Pain.
- Sommer, C., M. Leinders and N. Uceyler (2018). "Inflammation in the pathophysiology of neuropathic pain." Pain **159**(3): 595-602.
- Sopacua, M., J. G. J. Hoeijmakers, I. S. J. Merkies, G. Lauria, S. G. Waxman and C. G. Faber (2018). "Small-fiber neuropathy: Expanding the clinical pain universe." J Peripher Nerv Syst.
- Sopacua, M., J. G. J. Hoeijmakers, I. S. J. Merkies, G. Lauria, S. G. Waxman and C. G. Faber (2019). "Small-fiber neuropathy: Expanding the clinical pain universe." J Peripher Nerv Syst **24**(1): 19-33.
- Spallone, V., R. Morganti, M. Siampli, T. Fedele, C. D'Amato, L. Cacciotti and M. R. Maiello (2009). "Neuropad as a diagnostic tool for diabetic autonomic and sensorimotor neuropathy." Diabet Med **26**(7): 686-692.
- Sparber, F., J. M. Scheffler, N. Amberg, C. H. Tripp, V. Heib, M. Hermann, S. P. Zahner, B. E. Clausen, B. Reizis, L. A. Huber, P. Stoitzner and N. Romani (2014). "The late endosomal adaptor molecule p14 (LAMTOR2) represents a novel regulator of Langerhans cell homeostasis." Blood **123**(2): 217-227.
- Sparber, F., C. H. Tripp, K. Komenda, J. M. Scheffler, B. E. Clausen, L. A. Huber, N. Romani and P. Stoitzner (2015). "The late endosomal adaptor molecule p14 (LAMTOR2) regulates TGFbeta1-mediated homeostasis of Langerhans cells." J Invest Dermatol **135**(1): 119-129.

- Steinhoff, M., A. L. Oaklander, I. L. Szabo, S. Stander and M. Schmelz (2019). "Neuropathic itch." *Pain* **160 Suppl 1**: S11-S16.
- Stranieri, A., J. Abawajy, A. Kelarev, S. Huda, M. Chowdhury and H. F. Jelinek (2013). "An approach for Ewing test selection to support the clinical assessment of cardiac autonomic neuropathy." *Artif Intell Med* **58**(3): 185-193.
- Stubgen, J. P. (2015). "Autoantibody-Mediated Sensory Polyneuropathy Associated with Indolent B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma: A Report of Two Cases." *J Clin Neurol* **11**(3): 283-286.
- Sturm, D., T. Schmidt-Wilcke, T. Greiner, C. Maier, M. Schargus, M. Tegenthoff and M. Vorgerd (2016). "Confocal Cornea Microscopy Detects Involvement of Corneal Nerve Fibers in a Patient with Light-Chain Amyloid Neuropathy Caused by Multiple Myeloma: A Case Report." *Case Reports in Neurology* **8**(2): 134-139.
- Suichi, T., S. Misawa, Y. Sato, M. Beppu, E. Sakaida, Y. Sekiguchi, K. Shibuya, K. Watanabe, H. Amino and S. Kuwabara (2019). "Proposal of new clinical diagnostic criteria for POEMS syndrome." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **90**(2): 133-137.
- Sun, B., S. Fan, K. Yao, Y. Li and X. Huang (2018). "Changes in intraepidermal nerve fiber and Langerhans cell densities in the plantar skin of rats after mercuric chloride exposure." *J Peripher Nerv Syst* **23**(1): 17-22.
- Sun, B., Y. Li, L. Liu, Z. Chen, L. Ling, F. Yang, J. Liu, H. Liu and X. Huang (2018). "SFN-SIQ, SFNSL and skin biopsy of 55 cases with small fibre involvement." *Int J Neurosci* **128**(5): 442-448.
- Svilpauškaite, J., A. Truffert, N. Vaiciene and M. R. Magistris (2006). "Electrophysiology of small peripheral nerve fibers in man. A study using the cutaneous silent period." *Medicina (Kaunas)* **42**(4): 300-313.
- Tavakoli, M. and R. A. Malik (2011). "Corneal confocal microscopy: a novel non-invasive technique to quantify small fibre pathology in peripheral neuropathies." *Journal of Visualized Experiments: JoVE*(47).
- Tavakoli, M., A. Marshall, S. Banka, I. N. Petropoulos, H. Fadavi, H. Kingston and R. A. Malik (2012). "Corneal confocal microscopy detects small-fiber neuropathy in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A patients." *Muscle Nerve* **46**(5): 698-704.
- Terkelsen, A. J., P. Karlsson, G. Lauria, R. Freeman, N. B. Finnerup and T. S. Jensen (2017). "The diagnostic challenge of small fibre neuropathy: clinical presentations, evaluations, and causes." *Lancet Neurol* **16**(11): 934-944.
- Tesfaye, S., A. J. Boulton, P. J. Dyck, R. Freeman, M. Horowitz, P. Kempler, G. Lauria, R. A. Malik, V. Spallone, A. Vinik, L. Bernardi, P. Valensi and G. Toronto Diabetic Neuropathy Expert (2010). "Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments." *Diabetes Care* **33**(10): 2285-2293.
- Thaisetthawatkul, P., J. A. Fernandes Filho and D. N. Herrmann (2014). "Autonomic evaluation is independent of somatic evaluation for small fiber neuropathy." *Journal of the Neurological Sciences* **344**(1-2): 51-54.

- Thaisetthawatkul, P., J. A. M. Fernandes Filho and D. N. Herrmann (2013). "Contribution of QSART to the diagnosis of small fiber neuropathy." Muscle & Nerve **48**(6): 883-888.
- Themistocleous, A. C., J. D. Ramirez, J. Serra and D. L. Bennett (2014). "The clinical approach to small fibre neuropathy and painful channelopathy." Pract Neurol **14**(6): 368-379.
- Timmins, H. C., T. Li, M. C. Kiernan, L. G. Horvath, D. Goldstein and S. B. Park (2019). "Quantification of Small Fiber Neuropathy in Chemotherapy-Treated Patients." J Pain.
- Tooth, H.-H. (1886). "The peroneal type of progressive muscular atrophy." Thesis Cambridge.
- Torii, H., Z. Yan, J. Hosoi and R. D. Granstein (1997). "Expression of neurotrophic factors and neuropeptide receptors by Langerhans cells and the Langerhans cell-like cell line XS52: further support for a functional relationship between Langerhans cells and epidermal nerves." J Invest Dermatol **109**(4): 586-591.
- Tortora, G. J., S. R. Grabowski, F. Boudreault, M. Boyer and M.-C. Desorcy (2002). Principes d'anatomie et de physiologie. Bruxelles; [Paris]; [Saint-Laurent (Québec), De Boeck université ; Éd. du Renouveau pédagogique.
- Treede, R.-D., T. S. Jensen, J. N. Campbell, G. Cruccu, J. O. Dostrovsky, J. W. Griffin, P. Hansson, R. Hughes, T. Nurmikko and J. Serra (2008). "Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes." Neurology **70**(18): 1630-1635.
- Uceyler, N., S. Braunsdorf, E. Kunze, N. Riediger, S. Scheytt, S. Divisova, C. E. Bekircan-Kurt, K. V. Toyka and C. Sommer (2017). "Cellular infiltrates in skin and sural nerve of patients with polyneuropathies." Muscle Nerve **55**(6): 884-893.
- Ugrenovic, S. Z., I. D. Jovanovic, L. P. Vasovic and B. D. Stefanovic (2007). "Extraneural arterial blood vessels of human fetal sciatic nerve." Cells Tissues Organs **186**(2): 147-153.
- Valladeau, J. (2006). "[Langerhans cells]." Med Sci (Paris) **22**(2): 144-148.
- Valladeau, J., O. Ravel, C. Dezutter-Dambuyant, K. Moore, M. Kleijmeer, Y. Liu, V. Duvert-Frances, C. Vincent, D. Schmitt, J. Davoust, C. Caux, S. Lebecque and S. Saeland (2000). "Langerin, a novel C-type lectin specific to Langerhans cells, is an endocytic receptor that induces the formation of Birbeck granules." Immunity **12**(1): 71-81.
- Vallat, J.-M., B. Funalot and L. Magy (2011). "Nerve biopsy: requirements for diagnosis and clinical value." Acta Neuropathologica **121**: 313-326.
- Vallat, J. M. (2003). "Dominantly inherited peripheral neuropathies." J Neuropathol Exp Neurol **62**(7): 699-714.
- van Hecke, O., S. K. Austin, R. A. Khan, B. H. Smith and N. Torrance (2014). "Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies." Pain **155**(4): 654-662.
- van Paassen, B. W., A. J. van der Kooi, K. Y. van Spaendonck-Zwarts, C. Verhamme, F. Baas and M. de Visser (2014). "PMP22 related neuropathies: Charcot-Marie-Tooth disease type 1A and Hereditary Neuropathy with liability to Pressure Palsies." Orphanet J Rare Dis **9**: 38.

- Vibert, J.-F. (2005). Neurophysiologie: de la physiologie à l'exploration fonctionnelle. Paris, Elsevier.
- Vinik, A. I., C. M. Casellini and H. K. Parson (2019). "Electrochemical skin conductance to measure sudomotor function: the importance of not misinterpreting the evidence." Clin Auton Res **29**(1): 13-15.
- Vinik, A. I., M.-L. Nevoret and C. Casellini (2015). "The New Age of Sudomotor Function Testing: A Sensitive and Specific Biomarker for Diagnosis, Estimation of Severity, Monitoring Progression, and Regression in Response to Intervention." Frontiers in Endocrinology **6**: 94.
- Vinik, A. I., M. L. Nevoret, C. Casellini and H. Parson (2013). "Diabetic neuropathy." Endocrinol Metab Clin North Am **42**(4): 747-787.
- Vrana, M., Z. Fejfar, O. Horak, Z. Hyza, J. Stupka and V. Lanska (1993). "[Variation in the R-R intervals on the electrocardiogram. A new diagnostic method in cardiology]." Cor Vasa **35**(1): 32-40.
- Wagenaar, I., E. Post, W. Brandsma, D. Ziegler, M. Rahman, K. Alam and J. H. Richardus (2017). "Early detection of neuropathy in leprosy: a comparison of five tests for field settings." Infect Dis Poverty **6**(1): 115.
- Walk, D., G. Wendelschafer-Crabb, C. Davey and W. R. Kennedy (2007). "Concordance between epidermal nerve fiber density and sensory examination in patients with symptoms of idiopathic small fiber neuropathy." Journal of the Neurological Sciences **255**: 23-26.
- Wang, C., Y. L. Zhou, H. Cai, X. Q. Cheng, W. Zhang, W. Y. Kang, X. Z. Qin, M. H. Duan, H. J. Han, X. X. Cao, D. B. Zhou and J. Li (2014). "Markedly elevated serum total N-terminal propeptide of type I collagen is a novel marker for the diagnosis and follow up of patients with POEMS syndrome." Haematologica **99**(6): e78-80.
- Wang, S., C. Zhai, Y. Zhang, Y. Yu, Y. Zhang, L. Ma, S. Li and Y. Qiao (2016). "Cardamonin, a Novel Antagonist of hTRPA1 Cation Channel, Reveals Therapeutic Mechanism of Pathological Pain." Molecules **21**(9).
- Watanabe, M., T. Ueda, Y. Shibata, N. Kumamoto and S. Ugawa (2015). "The role of TRPV1 channels in carrageenan-induced mechanical hyperalgesia in mice." Neuroreport **26**(3): 173-178.
- Waxman, S. G., I. S. J. Merkies, M. M. Gerrits, S. D. Dib-Hajj, G. Lauria, J. J. Cox, J. N. Wood, C. G. Woods, J. P. H. Drenth and C. G. Faber (2014). "Sodium channel genes in pain-related disorders: phenotype-genotype associations and recommendations for clinical use." Lancet Neurol **13**(11): 1152-1160.
- Weis, J., S. Brandner, M. Lammens, C. Sommer and J.-M. Vallat (2012). "Processing of nerve biopsies: a practical guide for neuropathologists." Clinical Neuropathology **31**: 7-23.
- Wendelschafer-Crabb, G., W. R. Kennedy and D. Walk (2006). "Morphological features of nerves in skin biopsies." J Neurol Sci **242**(1-2): 15-21.

- Wijdicks, E. F. and C. J. Klein (2017). "Guillain-Barre Syndrome." Mayo Clin Proc **92**(3): 467-479.
- Wilder-Smith, E. P. (2004). "Water immersion wrinkling--physiology and use as an indicator of sympathetic function." Clin Auton Res **14**(2): 125-131.
- Wilder-Smith, E. P. (2015). "Stimulated skin wrinkling as an indicator of limb sympathetic function." Clin Neurophysiol **126**(1): 10-16.
- Wilder-Smith, E. P., Y. Guo and A. Chow (2009). "Stimulated skin wrinkling for predicting intraepidermal nerve fibre density." Clin Neurophysiol **120**(5): 953-958.
- Wu, Y., J. Chen and R. Wang (2019). "Puerarin suppresses TRPV1, calcitonin gene-related peptide and substance P to prevent paclitaxel-induced peripheral neuropathic pain in rats." Neuroreport **30**(4): 288-294.
- Xie, W., J. A. Strong, J. T. Meij, J. M. Zhang and L. Yu (2005). "Neuropathic pain: early spontaneous afferent activity is the trigger." Pain **116**(3): 243-256.
- Yajnik, C. S., V. V. Kantikar, A. J. Pande and J. P. Deslypere (2012). "Quick and simple evaluation of sudomotor function for screening of diabetic neuropathy." ISRN endocrinology **2012**: 103714.
- Zaba, L. C., J. G. Krueger and M. A. Lowes (2009). "Resident and "inflammatory" dendritic cells in human skin." J Invest Dermatol **129**(2): 302-308.

La peau comme fenêtre du système nerveux : physiopathologie et biomarqueurs

Les neuropathies des petites fibres (NPF), ou neuropathies douloureuses, se caractérisent par des douleurs neuropathiques et une dysautonomie, symptômes particulièrement invalidants et dont la prise en charge thérapeutique actuelle n'est pas satisfaisante. La biopsie cutanée, actuel examen « gold standard » dans le diagnostic des NPF, est un outil intéressant du fait de sa simplicité de réalisation sans séquelle, et de son accessibilité. Cependant, son interprétation actuelle est limitée, n'apportant qu'une information quantitative sur l'existence ou non d'une perte en fibres intra-épidermiques, résultante des NPF plus qu'une explication de la symptomatologie. Dans une première étude nous avons comparé la quantification des fibres de la biopsie cutanée à leur analyse fonctionnelle explorée par le SUDOSCAN®, ne retrouvant qu'une faible corrélation entre les deux outils et confirmant le mauvais reflet de la fonctionnalité des fibres dans la biopsie cutanée. Néanmoins, dans une deuxième étude sur les patients Charcot-Marie-Tooth 1A, nous avons mis en évidence une corrélation entre la biopsie cutanée et la sensibilité à la piqûre, sensibilité transmise par les petites fibres. Concernant les biomarqueurs cutanés, l'analyse des cellules de Langherans dans différentes neuropathies a retrouvé une augmentation de celles-ci chez les patients diabétiques et une densité plus faible chez les sujets sains, mais également une diminution chez le patient CMT1A, sans jamais aucune corrélation avec la densité des petites fibres. Enfin, dans une troisième partie étudiant le syndrome POEMS, nous avons mis en évidence que la vascularisation cutanée, significativement plus élevée dans le POEMS, serait un biomarqueur candidat intéressant à visée diagnostique étiologique. La recherche de biomarqueurs cutanés, afin d'augmenter la puissance diagnostique, de mieux comprendre la physiopathologie de la perte en fibres pour de trouver des cibles thérapeutiques et améliorer la prise en charge de ces patients, paraît essentielle. Des études supplémentaires sont nécessaires, et certaines sont en cours dans la continuité de ce travail.

Mots-clés : Biopsie cutanée, Petites fibres, Biomarqueurs, Douleurs neuropathiques, Dysautonomie

The skin as a window of the nervous system: physiopathology and biomarkers

Small-fiber neuropathies (SFN), or painful neuropathies, are characterized by neuropathic pain and autonomic dysfunction, which are particularly disabling symptoms and whose current therapeutic management is not satisfactory. The skin biopsy, which is the "gold standard" in the SFN diagnosis, is an interesting easy to do and accessible. However, its current interpretation is limited, bringing only a quantitative information: there is a loss of intraepidermic nerve fibers, resulting from SFN more than an explanation of the symptomatology. In a first study, we compared the quantification of skin biopsy fibers with their functional analysis explored by SUDOSCAN®. We found a weak correlation between the two tools, confirming that skin biopsy is not a good reflect of fibers function. Nevertheless, in a second study on Charcot-Marie-Tooth 1A patients, we found a correlation between cutaneous biopsy and sensitivity to sting, sensitivity transmitted by small fibers. Regarding cutaneous biomarkers, analysis of Langherans cells in different neuropathies found an increase in these in diabetic patients and a lower density in healthy subjects, but also a decrease in patients affected with CMT1A, without ever having any correlation with small nerve fibers density. Finally, in a third part studying the POEMS syndrome, we found that the dermal vascularization, which is significantly higher in POEMS, would be an interesting candidate biomarker for etiological diagnostic purposes. The search for skin biomarkers to improve the diagnosis and to better understand the pathophysiology of fiber loss in order to find therapeutic targets to improve the management of these patients seems essential. Additional studies are needed, and some are ongoing as a continuation of this work.

Keywords: Skin biopsy, Small nerve fiber, Biomarkers, Neuropathic pain, Dysautonomia

