

MUCOVISCIDOSE ET RECHERCHE CLINIQUE : COMMENT MIEUX TRAITER LES ATTEINTES PULMONAIRES ?

par

G. BELLON, P. REIX

Au fil des ans l'ajustement de la prise en charge respiratoire, nutritionnelle et digestive, bien qu'uniquement symptomatique, a largement amélioré le pronostic de la mucoviscidose ; mais les contraintes sont souvent lourdes et la morbidité et la surmortalité restent importantes.

Les traitements à visée bronchopulmonaire ciblent les différents points d'amplification du cercle vicieux qui aboutit à la destruction progressive du tractus respiratoire. En l'absence de protéine CFTR fonctionnelle les sécrétions bronchiques desséchées sont épaisses et visqueuses, difficilement évacuées. Leur stagnation favorise l'infection bactérienne et l'inflammation qui amplifie la sécrétion d'un mucus déshydraté d'autant plus visqueux que particulièrement riche en acide désoxyribonucléique issu des polynucléaires neutrophiles et en filaments d'actine... (Toutefois la spécificité de l'infection avec l'implantation précoce de *Staphylococcus aureus* puis de *Pseudomonas aeruginosa* ou d'autres germes opportunistes et la démesure de la réaction inflammatoire ne peuvent s'expliquer par les seules perturbations de la clairance mucociliaire).

La stase relève du drainage, par kinésithérapie ou toute autre méthode, et des « fluidifiants » (sans oublier l'importance majeure d'un apport hydrique et sodé suffisant). L'infection microbienne nécessite une antibiothérapie adaptée aux germes, au patient et à la maladie. La réaction inflammatoire requiert des médicaments spécifiques. Le traitement de l'insuffisance respiratoire repose sur l'oxygénothérapie, la ventilation non invasive, la transplantation [19].

Dans l'attente des traitements étiologiques, qui remplaceront le gène déficient (thérapie génique) ou pallieront ses effets délétères directs (approche pharmacologique), des progrès sont encore possible en affinant les traitements symptomatiques débutés au plus tôt après le dépistage néonatal, mieux organisés depuis l'identification des centres de ressources et de compétence en 2001... Parallèlement l'identification des gènes modificateurs pourrait leur donner des orientations nouvelles [3].

AMÉLIORATION DES TRAITEMENTS SYMPTOMATIQUES

Kinésithérapie et drainage bronchique

Bien qu'il n'y ait pas de preuve définitive, tout le monde reconnaît la place déterminante du drainage des sécrétions bronchiques dans la prise en charge des patients [4]. (Ici comme ailleurs il est difficile d'envisager des essais randomisés en double aveugle quand la pratique a précédé la démonstration scientifique, quand l'évolution historique des cohortes et l'expérience de la grande majorité lui concèdent une importance majeure.)

Parmi les moyens, la kinésithérapie est, dans l'absolu au moins, l'option la plus efficace mais aussi la plus contraignante. Elle est efficace quand elle est régulière, plus préventive que curative, ce qui implique la volonté soutenue du(des) kinésithérapeute(s) pour appliquer sans relâche à un rythme optimal la technique la mieux adaptée au patient et à son état. (On préfère actuellement le drainage autogène aux percussions, aux vibrations et au drainage postural). La précocité de l'atteinte pulmonaire incite à introduire le drainage bronchique très tôt, dès le diagnostic, chez le petit nourrisson. Force est de reconnaître que l'idéal se heurte régulièrement aux circonstances et parfois à l'investissement des professionnels. La question se pose alors d'une alternative plutôt que de se retrancher derrière ce qui n'est qu'un alibi. Le spécialiste n'est forcément pas toujours disponible aussi souvent que peut le nécessiter l'état clinique. S'il l'était, l'omniprésence envahissante ne pourrait qu'aboutir à la lassitude, au conflit, au refus de la coopération nécessaire à l'efficacité. L'intervention alternée de plusieurs kinésithérapeutes ne règle pas tous les problèmes.

La formation des parents puis du patient a pour objectif l'autonomie, la flexibilité qui au moins en théorie permet la meilleure adaptation aux besoins. Mais la technique peut être en défaut. Ou bien le conflit entre l'enfant et ses parents – soignants, s'il explose volontiers à l'adolescence, peut débiter très tôt, chez le nourrisson. Ses conséquences, tant sur le plan affectif que somatique dépassent alors celles rencontrées avec le professionnel. Lorsque l'autonomie est complète la lassitude est d'un autre ordre. C'est là que les alternatives, techniques instrumentales (pression positive expiratoire oscillante ou non, compressions thoraciques à haute fréquence), et surtout la pratique régulière d'une activité sportive trouvent toute leur place. De nombreux pays ne disposent pas de kinésithérapeutes libéraux ; l'évolution de leurs cohortes de patients suggère fortement qu'une bonne organisation familiale et personnelle est préférable au retranchement derrière l'intervention d'un professionnel lorsque celle-là est aléatoire.

Il n'y a certainement pas de stratégie universellement et définitivement optimale tant au niveau des techniques que des rythmes et des durées d'application. L'amélioration du drainage bronchique passe *in fine* par la recherche constante du meilleur compromis entre l'idéal absolu incompatible avec une vie acceptable et des alternatives à adapter au cours du temps.

Médicaments

L'efficacité d'un médicament dépend de l'activité biologique de la molécule, de son accès au site pathologique et du respect de la prescription par le patient. Dans les pathologies chroniques, en particulier, la réalité ne reproduit pas toujours les essais thérapeutiques et la médecine basée sur les preuves (qui déclare telle molécule efficace dans le cadre singulier d'un essai) se trouve rapidement en échec lorsque le médicament est mal toléré du fait de son goût, de ses effets secondaires, locaux ou généraux et des difficultés de sa prise qu'elles soient liées au temps de préparation, à la voie, aux horaires ou à la durée de l'administration.

Le bénéfice des nouvelles molécules des traitements symptomatiques (antibiotiques, anti-inflammatoires, « fluidifiants »...) ne sera décisif que si la tolérance est bonne et les

modalités d'utilisation acceptables. Ces points sont certainement au moins aussi importants que l'éducation thérapeutique formalisée, largement promue avant que l'expérience ou les évaluations ne l'aient véritablement validée.

Antibiotiques

Des antibiotiques actifs *per os* sur *P. aeruginosa*, bien plus maniables que ceux qui, nécessitant une perfusion, permettraient de mieux adapter l'antibiothérapie aux besoins en termes de délais ou de fréquence, d'acceptation et de qualité de vie. (L'antibiothérapie ajustée, lors de chaque exacerbation aussi minime soit-elle, est largement consensuelle). Dans ce domaine, de nouvelles molécules seraient indiscutablement source de progrès. En leur temps les quinolones en ont été un exemple. Elles atteignent malheureusement rapidement leurs limites.

Les antibiotiques inhalés sont probablement actifs dans la pratique (qui a entériné la colimycine). Ils le sont assurément dans les essais thérapeutiques (cela a été démontré pour la tobramycine). Mais au quotidien les résultats sont habituellement inférieurs aux prévisions, tant les contraintes pratiques (répétition dans la journée, temps de préparation et durée de l'administration) empêchent l'exécution idéale par de nombreux patients. Des appareils plus performants, plus commodes à désinfecter, des dispositifs à usage unique supprimant le nettoyage sont autant de pistes pour faciliter la réalisation et par là l'observance et l'efficacité (Couple Nebcinal® – nébuliseur à tamis Aeroneb®, laboratoire EremPharma, essai de non infériorité en cours). La galénique ouvre d'autres possibilités. L'inclusion de l'amikacine dans une préparation de liposomes à nébuliser pourrait d'une part améliorer les performances de l'antibiotique en augmentant sa concentration locale et sa pénétration à travers le biofilm, et d'autre part favoriser l'observance, l'allongement de la demi-vie in situ permettant de réduire la fréquence des aérosols (un par jour ou moins ; Arikace®, laboratoires Transave, essai de phase II en cours). L'inhalation d'un antibiotique en poudre, de par sa facilité relative, peut être répétée plus volontiers que la nébulisation (colimycine poudre – Colobreathe®, laboratoires Forest, essai de phase III en cours ; tobramycine poudre pour inhalation [5] – TIP®, laboratoires Novartis, essai de phase III en cours).

Les « fluidifiants » des sécrétions bronchiques

La problématique est voisine pour les « fluidifiants ». Après la Dnase recombinante qui agit sur les sécrétions très inflammatoires ou déjà infectées, les recherches se situent en amont, au plus près des mécanismes physiopathologiques. L'augmentation de l'osmolarité des sécrétions bronchiques provoque le transfert d'eau que ne peut assurer la protéine CFTR déficiente. Efficaces, les aérosols de sérum salé hypertonique posent des problèmes de tolérance (souvent irritants) et d'observance (problématique générale des aérosols). Néanmoins on peut espérer par une utilisation précoce, chez le nourrisson, ralentir la progression de la maladie [6,7]. Plus tard, l'utilisation de poudres pour inhalation pourrait faciliter l'utilisation et l'observance. C'est le cas de poudre sèche de mannitol (Bronchitol®). Dans un essai préliminaire (étude croisée contrôlée en double aveugle *versus* placebo 2 fois 15 jours séparées par 2 semaines sans traitement chez 39 patients présentant une atteinte respiratoire modérée) l'action immédiate sur le drainage des sécrétions est affirmée par l'amélioration du VEMS (plus 7 % *versus* plus 0,3 %, $p < 0,001$) et du DEM 25-75 (plus 15,5 % *versus* plus 0,2 %, $p < 0,02$) [8]. Un essai de phase III est en cours (laboratoires Pharmaxis).

Anti-inflammatoires

Dans le domaine des anti-inflammatoires, les effets positifs des corticoïdes et des anti-inflammatoires non stéroïdiens sont confrontés à des effets secondaires qui limitent leurs indications de long cours. L'azithromycine à doses subinhibitrices est globalement efficace

et bien tolérée, mais ses bénéfices restent modérés. Par contre, les corticoïdes inhalés, le méthotrexate, le montelukast, la pentoxifylline... n'ont pas démontré d'effet significatif sur l'évolution de la maladie [9]. D'autres molécules font l'objet de recherches précliniques ou d'essais très préliminaires, par exemple la pioglitazone (antidiabétique qui diminue la résistance à l'insuline dont l'activité anti-inflammatoire par ses interactions avec TGF β 1 ; University of Southern California), la simvastatine (Akron Children's Hospital, Ohio), acide docosahexaénoïque ou DHA (plusieurs études pilotes, aux Etats-Unis et en France).

Vaccins

Les vaccins obligatoires s'imposent naturellement à tous. La vaccination antigrippale annuelle est largement conseillée [10]. Les tentatives d'immunisation contre *P. aeruginosa* ont jusqu'ici échoué. La production d'anticorps monoclonaux humains dirigés contre *P. aeruginosa*, plutôt qu'utilisés directement dans un but prophylactique ou curatif pourrait permettre l'identification de cibles antigéniques spécifiques pour de futurs vaccins plus efficaces (collaboration personnelle en cours).

LES TRAITEMENTS À VISÉE ÉTIOLOGIQUE

Ce sont eux qui à terme devraient modifier profondément le cours évolutif de la maladie.

Approche pharmacologique

Elle recherche des molécules capables d'augmenter le nombre de protéines CFTR mutées au niveau des membranes cellulaires – correcteurs – et d'en améliorer le fonctionnement – potentialisateurs – (ces molécules ciblent une ou plusieurs mutations spécifiques) ou bien de pallier l'absence de protéine CFTR fonctionnelle (indépendamment des mutations) [11].

Intervention pré-traductionnelle

Elle intéresse les mutations stop, de type G542X, qui représentent 5 % des mutations en France, mais plus de 20 % dans les populations juives ou maghrébines. Certains aminosides comme la gentamycine, et surtout la molécule PTC 124 (qui est active *per os*) permettent en court-circuitant les mutations stop la lecture complète de l'ARN messenger. Dans un essai de phase II PTC 124 a amélioré de façon significative les différences de potentiel nasal et le VEMS des patients traités [12]. D'autres essais sont en cours. Ce sujet est développé par Isabelle Sermet-Gaudelus [13].

Intervention post-traductionnelle (après la synthèse de la protéine)

Les « correcteurs »

Plusieurs molécules (phénylbutyrate, curcumin, VX809, miglustat) sont capables *in vitro* d'empêcher la dégradation de la protéine mutée au niveau du protéasome (F508del). Celle-là se trouve alors capable de gagner la membrane cellulaire et d'y exercer une action que l'on peut espérer suffisante pour normaliser ou au moins améliorer le phénotype des patients.

Le miglustat, médicament utilisé dans la maladie de Gaucher, commercialisé sous le nom de Zaveska® par le laboratoire Actelion, est un inhibiteur de l'alpha 1-2 glucosidase. En prévenant l'interaction CFTR-F508del – calnexine il évite la destruction de la protéine F508del et permet son adressage à la membrane. La démonstration en a été apportée par l'équipe de Frédéric Becq, aussi bien *in vitro* sur des cellules en culture qu'*in vivo* chez des souris transgéniques [14]. Les

résultats d'un essai de phase II conduit chez 25 patients en Belgique devraient être bientôt disponibles.

Dans le même ordre d'idée, VX-809 (Vertex Pharmaceuticals), médicament oral, est conçu pour augmenter la quantité de protéine CFTR F508del au pôle apical des cellules épithéliales des voies aériennes. Un essai de phase II a débuté en mars 2009.

Les « potentialisateurs »

Les potentialisateurs ont pour objectif l'amélioration de l'activité de la protéine anormale résiduelle normalement présente au niveau de la membrane apicale (mutations de classe III, type G551D) ou parvenue à la membrane sous l'effet d'un médicament correcteur (mutations de classe II, type F508del).

VX770, médicament que l'on peut administrer *per os*, en modifiant la configuration de la protéine CFTR G551D – présente à la membrane, mais non fonctionnelle – rend accessible à l'AMP cyclique les sites de phosphorylation des domaines régulateurs. Ainsi il augmente l'activité du canal chlorure AMP cyclique dépendant des cellules G551D aussi bien *in vitro* que chez des patients au cours d'études précliniques (amélioration des différences de potentiel nasal et du test sudoral jusqu'à les « normaliser » chez certains). Les premiers résultats suggèrent une augmentation du VEMS. Un essai de phase II est en cours.

Des investigations sont en cours pour tester l'association correcteur (VX-809) –potentialisateur (VX-770) sur l'activité de CFTR delF508. Les premiers résultats sur cultures cellulaires montrent que le correcteur induit une activité CFTR d'un peu moins de 20 % de celle de la protéine sauvage et que l'ajout du potentialisateur porte cette activité à plus de 35 %.

Pallier l'absence de CFTR fonctionnelle

Le denofosol est un analogue stable de l'ATP et de l'UTP capable de stimuler le récepteur P2Y2 qui lui-même active un canal chlorure calcium dépendant (non CFTR) et inhibe le canal sodium eNac. Les essais de phase II (inhalation) montrent une amélioration du drainage des sécrétions et de la fonction respiratoire ; une phase III est en cours.

Moli 1901 (Lancovutide) est un polypeptide polycyclique de 19 acides aminés produit de fermentation par *Streptomyces cinnamoneus* (duramycine) développé par AOP Orphan Pharmaceuticals AG. Il interagit avec les phospholipides de la membrane cytoplasmique et des organelles intracytoplasmiques pour activer un canal chlorure non CFTR en augmentant la concentration intracellulaire du calcium. La démonstration de l'augmentation de la perméabilité aux chlorures des cellules de l'épithélium respiratoire *in vitro*, de l'augmentation du volume du liquide de surface épithéliale chez le chien, de l'augmentation de la sécrétion des chlorures par l'épithélium nasal de sujets sains et de patients atteints de mucoviscidose sont déjà anciennes. Les données cliniques préliminaires (étude de phase II monocentrique randomisée en double aveugle *versus* placebo ; nébulisations 5 jours consécutifs de doses croissantes chez 24 patients) montrent une bonne tolérance et une amélioration significative du VEMS [15]. Un essai de phase II se termine, une phase III devrait rapidement débiter.

Thérapie génique

Sa médiatisation (excessive) a soulevé des espoirs démesurés dans les années qui ont suivi la découverte du gène CFTR. Une quinzaine d'essais cliniques utilisant des vecteurs viraux (adénovirus, ou virus associé à l'adénovirus) ou des vecteurs inertes (liposomes) en ont démontré la bonne tolérance tant pour le patient que pour l'environnement.

Les résultats décriés par les mêmes médias ont conduit à une désaffection aussi exagérée que l'avaient été les attentes initiales. Les leçons tirées sont globalement positives. Il est pos-

sible d'introduire dans le noyau des cellules épithéliales d'un patient une copie de la partie codante du gène CFTR sauvage. Ce gène est capable de s'exprimer (production d'un ARN messager et d'une protéine CFTR sauvage) qui gagne la membrane du pôle apical des cellules. Cette protéine est fonctionnelle, restaurant une certaine activité canal chlorure AMP cyclique dépendante (mesure des différences de potentiel).

Il est vrai par contre que les résultats sont insuffisants (nombre de cellules transfectées, niveau et durée de l'expression) pour espérer un résultat clinique. Un travail sur les vecteurs et sur les plasmides n'exclut pas un avenir thérapeutique à cette approche. D'ailleurs, après des essais *in vitro* et *in vivo* chez l'animal montrant une amélioration significative par rapport aux préparations de première génération, le UK Cystic Fibrosis Gene Therapy Consortium a entamé un large essai contrôlé en double aveugle *versus* placebo utilisant un vecteur inerte (lipide cationique) et un nouveau plasmide (suppression de CG dinucléotides responsables d'une réaction inflammatoire chez les patients dans une étude clinique antérieure) [16].

CONCLUSION

Encore très insuffisants, les traitements symptomatiques ont largement amélioré le pronostic de la maladie au cours des 30 dernières années. La perspective de thérapeutiques nouvelles touchant les mécanismes mêmes de la maladie (approche pharmacologique, thérapie génique...) justifie leur application rigoureuse, voire intensifiée, pour que le plus grand nombre de patients puisse bénéficier des mesures nouvelles le moment venu.

G. Bellon, P. Reix

Hospices Civils de Lyon. Université Claude Bernard – Lyon 1 (Faculté Lyon Sud). Centre de Référence de la Mucoviscidose. Hôpital Femme – Mère – Enfant, 52, boulevard Pinel. 69500 Bron. gabriel.bellon@univ-lyon1.fr

RÉFÉRENCES

1. Ratjen F. Update in cystic fibrosis 2008. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;179:445-8.
2. Ratjen F. Recent advances in cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev* 2008;9:144-8.
3. Accurso FJ, Sontag MK. Gene modifiers in cystic fibrosis. *J Clin Invest* 2008;118:839-41.
4. Flume PA, Robinson KA, O'Sullivan BP, Finder JD, Vender RL, Willey-Courand DB, et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: airway clearance therapies. *Respir Care* 2009;54:522-37.
5. Geller DE, Konstan MW, Smith J, Noonberg SB, Conrad C. Novel tobramycin inhalation powder in cystic fibrosis subjects: pharmacokinetics and safety. *Pediatr Pulmonol* 2007;42:307-13.
6. Taylor LM, Kuhn RJ. Hypertonic saline treatment of cystic fibrosis. *Ann Pharmacother* 2007;41:481-4.
7. Dellon EP, Donaldson SH, Johnson R, Davis SD. Safety and tolerability of inhaled hypertonic saline in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2008;43:1100-6.
8. Jaques A, Daviskas E, Turton JA, McKay K, Cooper P, Stirling RG, et al. Inhaled mannitol improves lung function in cystic fibrosis. *Chest* 2008;133:1388-96.
9. Prescott WA, Jr., Johnson CE. Antiinflammatory therapies for cystic fibrosis: past, present, and future. *Pharmacotherapy* 2005;25:555-73.
10. Wat D, Gelder C, Hibbits S, Bowler I, Pierpoint M, Evans R, et al. Is there a role for influenza vaccination in cystic fibrosis? *J Cyst Fibros* 2008;7:85-8.
11. Rowe SM, Clancy JP. Advances in cystic fibrosis therapies. *Curr Opin Pediatr* 2006;18:604-13.
12. Kerem E, Hirawat S, Armoni S, Yaakov Y, Shoseyov D, Cohen M, et al. Effectiveness of PTC124 treatment of cystic fibrosis caused by nonsense mutations: a prospective phase II trial. *Lancet* 2008;372:719-27.
13. Sermet-Gaudelus I, Renouil M, Fajac A, Bidou L, Parbaille B, Pierrot S, et al. In vitro prediction of stop-codon suppression by intravenous gentamicin in patients with cystic fibrosis: a pilot study. *BMC Med* 2007;5:5.
14. Norez C, Noel S, Wilke M, Bijvelds M, Jorna H, Melin P, et al. Rescue of functional delF508-CFTR channels in cystic fibrosis epithelial cells by the alpha-glucosidase inhibitor miglustat. *FEBS Lett* 2006;580:2081-6.
15. Grasemann H, Stehling F, Brunar H, Widmann R, Laliberte TW, Molina L, et al. Inhalation of Moli1901 in patients with cystic fibrosis. *Chest* 2007;131:1461-6.
16. Davies JC, Alton EW, Bush A. Cystic fibrosis. *Bmj* 2007;335:1255-9.