

La mucoviscidose

I- Épidémiologie

La mucoviscidose (ou CF, pour *cystic fibrosis*) est la maladie génétique rare et mortelle la plus fréquente au sein de la population caucasienne ⁸⁴. En France, près de deux millions de personnes sont porteuses d'un variant génétique responsable de la maladie tandis que l'on estime qu'un bébé atteint de la mucoviscidose naît tous les 3 jours. En effet, 109 naissances de patients atteints de mucoviscidose ont été recensées en 2019 d'après le bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose 2021. Le nombre de patients est estimé à près de 70 000 dans le monde, d'après le registre américain *Cystic Fibrosis Foundation*, avec une prévalence variable selon les régions du monde (**Figure 6**).

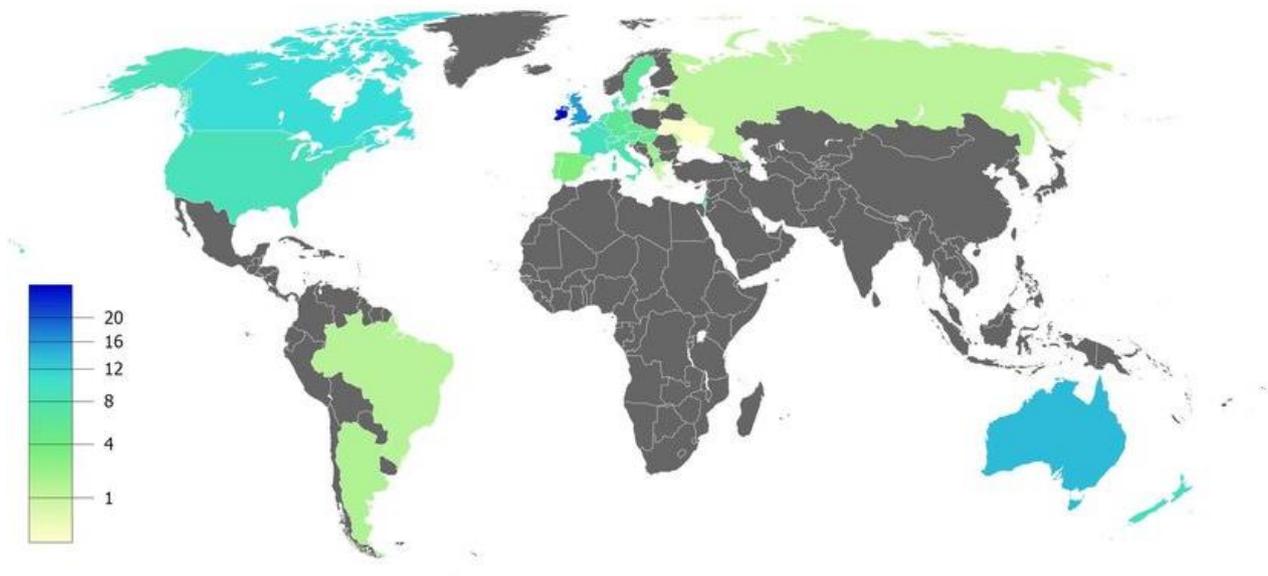


Figure 6. Prévalence de la mucoviscidose dans le monde. D'après la compilation de Lopes-Pacheco, 2016⁸⁵ faite à partir de données provenant de *Cystic Fibrosis Foundation (CFF)*, *European Cystic Fibrosis Society (ECFS)*, *Cystic Fibrosis Canada (CFC)*, *Cystic Fibrosis Federation Australia (CFFA)* et de *Brazilian Cystic Fibrosis Study Group (GBEFC)*, graduation chiffrée pour 100 000 habitants. Les zones grisées représentent les zones géographiques pour lesquelles des données fiables ne sont pas disponibles.

En 2019, le taux brut de mortalité en France s'élevait à 5,7 pour 1000 patients, avec un âge médian au décès de 34 ans. Une analyse de survie a été réalisée sur cinq cohortes de patients nés à des périodes différentes (1992-1996 ; 1997-2001 ; 2002-2006 ; 2007-2011 ; 2012-2016) et a pu mettre en évidence une amélioration de l'espérance de vie des patients appartenant aux plus jeunes cohortes comparées aux cohortes plus âgées (bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose 2021). Cette étude a ainsi permis de montrer une différence significative de survie dès l'âge de 9 ans entre la cohorte née durant la période 1992-1996 et celle née durant la période 1997-2001. Cette amélioration des taux de survie observés ces dernières années est en grande partie due au développement de la prise en charge des patients

et des thérapies. Néanmoins, il n'existe à ce jour aucun traitement curatif universel et les patients décèdent toujours des suites d'une insuffisance respiratoire.

La mucoviscidose est caractérisée par une transmission autosomique et récessive de variants pathogènes du gène *CFTR*, identifié simultanément par plusieurs laboratoires en 1989⁸⁶⁻⁸⁸. Le gène *CFTR* est localisé sur le bras long du chromosome 7 en position 7q31 et code pour une protéine responsable des échanges hydriques et ioniques à la surface des épithéliums sécréteurs. Plus précisément, cette protéine membranaire de 1480 acides aminés permet de réaliser des efflux d'ions chlorure au niveau des muqueuses de nombreux organes tels que les poumons, les intestins, le foie, le pancréas, les glandes sudoripares ou les organes génitaux⁸⁹. L'atteinte respiratoire étant la principale cause de mortalité et de morbidité des patients, nous nous intéresserons plus particulièrement au niveau pulmonaire.

Un dysfonctionnement - ou une absence - du canal CFTR induit des déséquilibres iono-hydriques responsables d'une déshydratation du liquide de surface et du mucus sécrété à la surface de l'épithélium. Ces déséquilibres, dus aux variants pathogènes du gène *CFTR*, provoquent un épaissement et une augmentation de la viscosité du mucus. Une obstruction est alors observée dans différents organes.

II- Le gène *Cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR)* et ses variants

A ce jour, plus de 2000 variants pathogènes du gène *CFTR* ont été répertoriés. La conséquence au niveau protéique la plus fréquemment observée est la délétion de la phénylalanine en position 508 (F508del) dont au moins une copie est présente chez plus de 80 % des patients atteints de mucoviscidose. Les multiples autres variants du gène *CFTR* – et donc de la protéine CFTR - ne représentent ainsi chacun qu'une minorité de patients (bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose 2021) (**Table 1**), pour qui de possibles traitements sont très peu développés.

<i>Variant génétique</i>	<i>Variant protéique</i>	<i>Nom usuel du variant génétique et/ou protéique</i>	<i>Type de mutation</i>	<i>Nombre de patients*</i>	<i>Proportion (en %)</i>
c.1521_1523delCTT	p.Phe508del	F508del	Délétion d'un codon	5957	83,2
c.1624G>T	p.Gly542X	G542X	Non-sens	398	5,6
c.3909C>G	p.Asn1303Lys	N1303K	Faux-sens	296	4,1
c.2657+5G>A (AJ574995.1:g.216G>A)	/	2789+5G>A	Epissage (intron)	187	2,6
c.1585-1G>A (AJ574980.1:g.116G>A)	/	1717-1G>A	Epissage (intron)	151	2,1
c.350G>A	p.Arg117His	R117H	Faux-sens	146	2,0
c.1657C>T	p.Arg553X	R553X	Non-sens	132	1,8
c.1652G>A	p.Gly551Asp	G551D	Faux-sens	127	1,8
c.3846G>A	p.Trp1282X	W1282X	Non-sens	108	1,5
c.3718-2477C>T (AY848832.1:g.40725C>T)	/	3849+10kbC>T	Autre	103	1,4

* Avec au moins une copie du gène considéré

Table 1. Les 10 variants du gène *CFTR* les plus fréquents chez les patients atteints de mucoviscidose français en 2019. (Données extraites du bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose 2021 et de Ogino *et al.*, 2007⁹⁰)

/!\ Par la suite, les noms usuels seront utilisés pour faire référence aux variants génétiques de *CFTR*, provoquant ou non la formation d'un variant protéique.

La multitude de variants pathogènes de *CFTR* sont aujourd'hui classifiés en 6 classes (**Figure 7**), en fonction de la conséquence fonctionnelle du variant concerné⁹¹⁻⁹⁴. Les variants de classes I à III sont considérés comme provoquant un phénotype plus sévère que les variants de classes IV à VI.

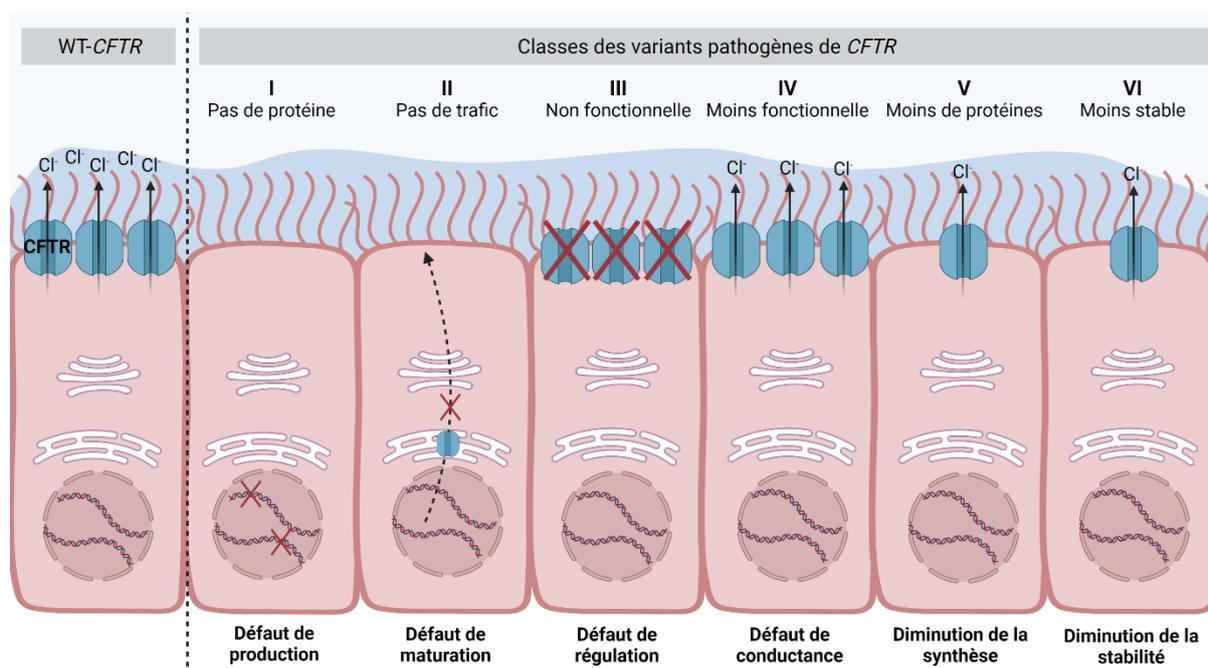


Figure 7. Représentation des différentes classes de variants du gène *CFTR* et de leur impact sur l'expression et/ou la localisation de la protéine. Adapté de Boyle and De Boeck, 2013⁹⁵

a. Les variants de classe I

La classe I est composée de variants de *CFTR*, tels que G542X, induisant la présence d'un codon stop prématuré dans la séquence codante de *CFTR*. Il s'agit d'une mutation « non-sens ». La protéine traduite est alors tronquée et très vite dégradée. Ce type de variant est présent chez 15,7 % des patients mucoviscidosiques français d'après le bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose 2021.

b. Les variants de classe II

Les variants de classe II sont caractérisés par un défaut de maturation de la protéine CFTR qui s'accumule alors au niveau du réticulum endoplasmique (RE) au lieu d'être transférée à l'appareil de Golgi puis adressée à la membrane plasmique. La protéine non maturée est redirigée et dégradée par le protéasome. Cette classe est la plus représentée chez les patients atteints de mucoviscidose, avec par exemple le variant F508del, qui est retrouvé en au moins une copie chez plus de 80 % des patients en France. Plus précisément, 41 % des patients mucoviscidosiques français sont homozygotes pour le variant F508del et près de 42 % sont hétérozygotes (bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose 2021).

c. Les variants de classe III

Dans le cas des variants de classe III, la protéine CFTR est bien fabriquée et adressée à la membrane plasmique mais les domaines NBD1 et NBD2 (*nucleotide-binding domain 1* ou

2), qui permettent la régulation de l'ouverture du canal CFTR *via* la fixation de molécules d'ATP, sont affectés. Le canal est alors présent mais incapable de s'ouvrir et donc non fonctionnel. C'est notamment le cas pour le variant G551D, présente chez près de 2 % des patients atteints de mucoviscidose français.

d. Les variants de classe IV

Les variants de classe IV sont caractérisés par un défaut de conductance du canal CFTR. Ainsi, la protéine est bien fabriquée, adressée à la membrane avec une bonne stabilité, mais son efficacité concernant les efflux chlorures est diminuée, comme par exemple pour le variant R117H, présent en au moins une copie chez 2 % des patients français.

e. Les variants de classe V

La classe V est composée de variants, tels que A455E, responsables d'une instabilité de l'ARNm de *CFTR*. Les quantités de protéines CFTR traduites sont donc réduites, bien que bien formées et adressées à la membrane. Le variant A455E est présent chez 0,7 % des patients français.

f. Les variants de classe VI

Dans le cas de la classe VI, la protéine CFTR est formée et est bien adressée à la membrane mais est très peu stable et est internalisée rapidement puis dégradée par le protéasome. Des variants tels que Q1412X ou 4326delTC, responsables de la production d'une protéine tronquée, font partie de cette classe.

III- Dépistage et diagnostic

Différents éléments peuvent fréquemment amener à un dépistage de la mucoviscidose : des antécédents familiaux, une diarrhée chronique, un iléus méconial (IM) - ou obstruction intestinale à la naissance - un retard de croissance ou des symptômes respiratoires (<https://www.vaincrelamuco.org/vivre-avec/la-mucoviscidose/symptomes-depistage-et-diagnostic> ; <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/mucoviscidose/diagnostic-evolution>).

Depuis 2002 en France, un dépistage néonatal systématique est réalisé sur les nouveau-nés trois jours après leur naissance. Ce dépistage consiste en la récupération d'une goutte de sang prélevée au niveau du talon à l'aide d'un papier buvard : c'est le test de Guthrie ⁹⁶. Dans ce prélèvement est dosée la trypsine immuno-réactive (ou TIR). Une trop grande quantité de cette enzyme reflète une anomalie pancréatique, ayant lieu durant la vie fœtale ou dans les

premiers mois de vie et pouvant être due à la mucoviscidose. Cette technique permet d'identifier près de 95 % des patients atteints de la maladie. Néanmoins, certains patients portent des variants génétiques de *CFTR* qui ne provoquent pas d'insuffisance pancréatique et ne seront pas identifiés par ce dosage. De même, une TIR trop élevée peut être signe d'une pathologie autre que celle de la mucoviscidose.

Pour confirmer - ou infirmer - le diagnostic de mucoviscidose, une analyse génétique est réalisée avec l'accord parental grâce à une prise de sang permettant de rechercher les 29 variants génétiques les plus fréquents de *CFTR* (dix d'entre eux sont répertoriés dans la **Table 1**). Après cette analyse, plusieurs cas peuvent se présenter :

- *Deux variants pathogènes sont identifiés :*

Les parents et leur nouveau-né sont convoqués au sein du Centre de ressources et de compétences de la mucoviscidose (CRCM) le plus proche. Il en existe une trentaine en France. Sont alors établis une évaluation clinique et un test de la sueur. L'évaluation clinique permet de vérifier si l'enfant présente différents symptômes caractéristiques de la mucoviscidose, ces derniers seront détaillés dans les paragraphes suivants. Le test de la sueur est le dernier et le plus ancien élément permettant de confirmer le diagnostic. En effet, cette méthode a été établie par di Sant'Angnese en 1953 ⁹⁷ et standardisé par Gibson et Cooke en 1959 ⁹⁸. Le principe consiste à récolter la sueur de l'enfant et à mesurer ses concentrations en ions chlorures, qui est anormalement élevée chez les patients atteints de mucoviscidose. Si la concentration en ions chlorures est supérieure à 60 mmol/L, le diagnostic est confirmé. Si elle est inférieure à 40 mmol/L le diagnostic est au contraire infirmé. Dans le cas où la concentration en chlore sudoral est comprise entre 40 et 60 mmol/L, le diagnostic repose sur l'analyse clinique. Le traitement et un suivi sont mis en place par le CRCM si le diagnostic est bien confirmé.

- *Un seul variant pathogène est identifié :*

Le test de la sueur est réalisé et, comme pour le cas précédent, si les concentrations de chlore sudorales dépassent le seuil de 60 mmol/L, le patient est diagnostiqué et pris en charge par le CRCM. La conclusion vis-à-vis des concentrations « intermédiaires » dépend encore dans ce cas des données cliniques. Si le test de la sueur est négatif, le patient n'est pas considéré comme étant atteint de la mucoviscidose mais comme étant porteur d'un allèle pouvant transmettre la maladie à sa descendance. Cette information est donnée aux parents lors d'une consultation de conseil génétique.

- *Aucun variant pathogène n'est retrouvé :*

Le dosage de la TIR est répété sur le patient à l'âge de 21 jours. Si elle est toujours élevée, le test de la sueur est réalisé et permet de conclure sur l'atteinte ou non de la mucoviscidose. Si les résultats du test de la sueur ne sont pas formels – concentrations « intermédiaires » - le test devra être répété.

IV- Symptômes et soins

Comme nous l'avons précisé précédemment, la mucoviscidose est caractérisée par des signes cliniques pouvant affecter différents organes et ce, dès la naissance ou bien tout au long de la vie du patient (**Table 2**).

a. Manifestations extra-pulmonaires

1. Atteintes digestives

a) Atteintes gastro-intestinales

Avant que le dépistage néonatal systématique soit mis en place, les atteintes digestives des patients atteints de mucoviscidose faisaient partie des signes cliniques pouvant annoncer la maladie. En effet, la plupart des patients présentent des atteintes digestives pouvant se manifester par des diarrhées graisseuses ou des constipations fréquentes, des troubles de la motilité gastro-intestinale pouvant entraîner un prolapsus rectal ou encore des reflux gastro-œsophagiens⁹⁹.

Chez 15 % des patients atteints de mucoviscidose, une occlusion intestinale apparaît dans les jours suivant la naissance due à l'accumulation de méconium desséché au niveau de la valvule iléo-caecale. Cette occlusion intestinale néonatale est appelée iléus méconial (IM) (**Figure 8**). Dans la moitié des cas, elle nécessite une intervention chirurgicale pouvant engager le pronostic vital du nouveau-né¹⁰⁰.

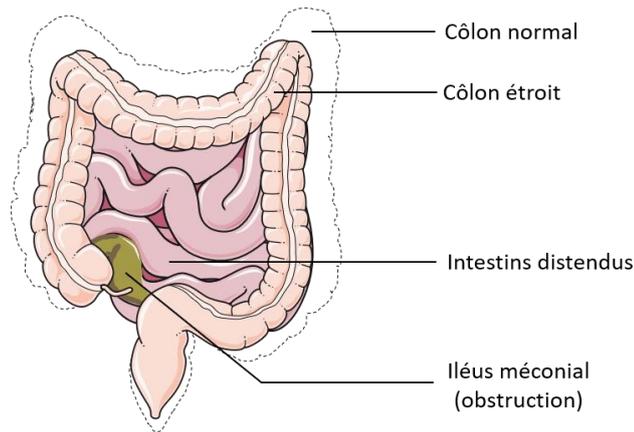


Figure 8. Représentation de l'iléus méconial présent chez une partie des patients atteints de mucoviscidose.

Les patients mucoviscidosiques sont également sujets à une malabsorption des nutriments par les entérocytes ainsi qu'à une augmentation de la perméabilité intestinale due à une stimulation du système immunitaire. Ce phénomène peut être associé à une intolérance aux protéines de lait de vache, une maladie cœliaque ou la maladie de Crohn¹⁰¹.

b) Atteinte pancréatique exocrine

Les patients porteurs de variants de *CFTR* « sévères », c'est-à-dire de classes I à III, sont caractérisés par une insuffisance pancréatique exocrine. Cela correspond à près de 80 % des nourrissons atteints de mucoviscidose. Environ 65 % des patients insuffisants pancréatiques sont identifiés au moment du diagnostic tandis que 15 % des nouveau-nés initialement suffisants deviennent insuffisants pancréatiques durant leur première année de vie¹⁰².

Concrètement, l'accumulation de mucus dans les canaux pancréatiques empêche la sécrétion d'enzymes essentielles à la digestion des graisses et des protéines, telles que la lipase, la trypsine et la chymotrypsine¹⁰³. Cela induit des carences nutritionnelles importantes chez les patients atteints de mucoviscidose, notamment en acides gras essentiels, vitamines, fer et oligo-éléments, un retard de croissance staturo-pondérale ainsi que des selles fréquentes, abondantes et grasses^{104,105}.

D'autre part, les enzymes non déversées sont retenues au sein du pancréas et provoquent une dégradation progressive des cellules des îlots de Langerhans. Cela induit une insuffisance pancréatique endocrine caractérisée par une insuffisance de sécrétion d'insuline ainsi qu'une résistance périphérique à cette hormone¹⁰⁶. On observe ainsi l'apparition d'un diabète appelé *cystic fibrosis-related diabetes mellitus* (CFRD), présentant à la fois des caractéristiques du diabète de type I et du diabète de type II.

c) Atteinte hépatobiliaire

L'atteinte hépato-biliaire (ou *cystic fibrosis liver disease* : CFLD) est la première cause de mortalité d'origine extra-pulmonaire des patients atteints de mucoviscidose. De même que pour le mucus au niveau pulmonaire, la bile est asséchée, épaissie et plus visqueuse chez les patients, provoquant une obstruction des canaux hépato-biliaires. Cette obstruction peut induire une cholestase, définie comme une diminution ou un arrêt de la sécrétion biliaire, accompagnée le plus souvent d'une lithiase vésiculaire (formation de calculs biliaires), pouvant aboutir à une cirrhose. En effet, 5 à 10 % des patients mucoviscidosiques développent une cirrhose multilobulaire durant leurs 10 premières années de vie (**Figure 9**). La décennie suivante, la cirrhose s'accompagne d'une hypertension portale augmentant le risque d'hémorragie digestive¹⁰⁷. La fréquence et la gravité de l'atteinte hépatique diffère et augmente avec l'âge¹⁰⁸.

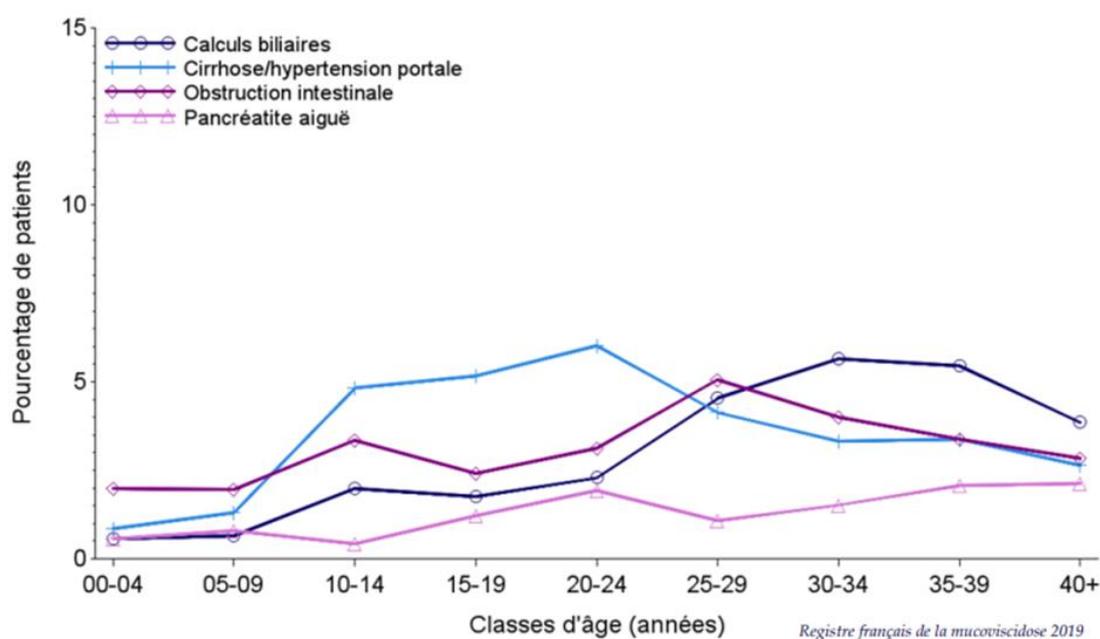


Figure 9. Evolution de la fréquence des différentes pathologies hépatiques et digestives au cours de la vie des patients atteints de mucoviscidose (bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose 2021).

d) Soins et traitements des atteintes digestives

Les symptômes dus à l'atteinte digestive sont contrôlés tout d'abord en accompagnant le patient et en l'informant sur la nutrition. Les patients sont en effet généralement suivis par une diététicienne en charge d'adapter les apports nutritionnels des patients qui ont des besoins énergétiques très importants, des problèmes de mal digestion, de malabsorption, de croissance et parfois de perte d'appétit. L'apport calorique d'un enfant mucoviscidosique représente 120 à 130 % des apports nécessaires à un enfant sain du même âge selon l'association Vaincre la

Mucoviscidose (<https://www.vaincrelamuco.org/vivre-avec/la-mucoviscidose/symptomes-digestifs/nutrition>).

L'alimentation est complétée par un apport en vitamines A, D, E et K, en minéraux tels que le zinc, le sélénium ou le fer et parfois le sodium. L'administration médicamenteuse d'extraits pancréatiques permet de compenser la sécrétion défailante des enzymes pancréatiques nécessaires à la digestion (<https://www.vaincrelamuco.org/vivre-avec/la-mucoviscidose/symptomes-digestifs/nutrition>).

En ce qui concerne les complications dues à l'atteinte hépato-biliaire, un dépistage annuel dès le diagnostic est recommandé par le protocole national de diagnostic et de soins (PNDS) Mucoviscidose de 2017. La prise en charge des patients consiste, entre autres, en la vaccination contre l'hépatite A et B et un traitement par l'acide ursodésoxycholique. L'hypertension portale est surveillée et, le cas échéant, l'indication de transplantation hépatique est envisagée.

2. *Autres atteintes extra-pulmonaires*

L'espérance de vie des patients ayant considérablement augmenté ces dernières années, l'émergence de nouvelles atteintes est observée au cours de la vie des patients, notamment à l'âge adulte¹⁰⁹.

a) Atteinte génitale

La protéine CFTR est également localisée à la surface de l'épithélium du tractus génital. Les variants génétiques pathogènes de *CFTR* induisent un épaissement de la glaire cervicale chez la femme conduisant à une hypofertilité¹¹⁰. Néanmoins, les grossesses chez les femmes atteintes de mucoviscidose ne sont aujourd'hui plus des cas isolés. En effet, la moyenne des débuts de grossesses survenus en France chaque année entre 2006 et 2019 s'élève à 48,8 pour 1000 patientes (bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose 2021).

Les hommes mucoviscidosiques sont, quant à eux, touchés par une infertilité due à une atrésie bilatérale des canaux déférents accompagnée d'une absence des vésicules séminales, ce qui entraîne une azoospermie dans 95 % des cas¹¹¹. En 2019, 28 hommes français atteints de mucoviscidose sont devenus pères, dont 3 paternités seulement étaient d'origine naturelle, les autres ayant été permises par l'aide médicale à la procréation (bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose 2021).

b) Atteinte osseuse

La protéine CFTR semble également être exprimée au niveau osseux, dans les ostéoblastes et ostéoclastes^{112,113}.

Il y a une dizaine d'années, une déminéralisation osseuse avec ostéopénie et une ostéoporose étaient observées chez 85 % et 13 à 50 % des adultes atteints de mucoviscidose, respectivement¹¹⁴. En 2019, les chiffres concernant l'ostéopénie et l'ostéoporose confondues ne s'élèvent plus qu'à environ 15 % des adultes atteints de mucoviscidose (bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose 2021).

Ces manifestations osseuses, dont la prévalence augmente avec l'âge des patients¹¹⁵, sont appelées *cystic fibrosis-related bone disease* (CFBD). Les mécanismes physiopathologiques sous-jacents semblent être multiples. D'une part la dysfonction de CFTR dans les cellules osseuses peut être directement responsable d'une dérégulation des mécanismes de synthèse et de dégradation osseuses¹¹⁶. D'autre part, les atteintes digestives responsables d'une malabsorption, entre autres, de vitamines D et K ainsi que la présence d'une inflammation chronique peuvent être à l'origine de fragilisations osseuses^{117,118}.

c) Atteinte rénale

L'atteinte rénale des patients atteints de mucoviscidose se traduit entre autres par une protéinurie, une hyponatrémie et une hypokaliémie¹¹⁹. Une insuffisance rénale apparaît chez 0,4 % des patients français en 2019. Les atteintes rénales sont un phénomène rare mais dont la fréquence augmente avec l'âge du patient : sur 32 patients souffrant d'insuffisance rénale terminale en 2019, 2 sont âgés de 20 à 24 ans, tandis que 13 sont âgés de plus de 40 ans (bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose).

d) Atteinte des glandes sudoripares

L'atteinte des glandes sudoripares est historiquement celle qui permettait de pouvoir diagnostiquer la mucoviscidose, de par la perte de sel et la modification ionique de la sueur du patient. On parlait alors de « baiser salé » sur le front d'un enfant atteint de mucoviscidose. Les patients ont également de ce fait une sensibilité à la déshydratation accrue¹²⁰⁻¹²².

e) Atteinte ORL

La présence d'une inflammation chronique au niveau nasal favorise le développement de polypes, qui participent à la mise en place de sinusites chroniques chez les patients atteints de mucoviscidose^{123,124}.

f) Douleurs

Les patients mucoviscidosiques souffrent de douleurs multiples et variées, transitoires ou chroniques. Elles peuvent être dues aux symptômes de la maladie, aux soins ou bien d'ordre psychologique. Il est important de les prendre en considération afin d'améliorer les conditions de vie des patients. Parmi les douleurs physiques associées aux symptômes de la mucoviscidose, il y a les douleurs abdominales ou dorsolombaires, les douleurs thoraciques, articulaires ou encore des maux de tête. Les soins tels que les prises de sang, les fibroscopies, les aspirations nasales ou la kinésithérapie thoracique peuvent également s'avérer douloureuses. L'explication du soignant sur le déroulement de la procédure et les moyens antalgiques utilisés jouent un rôle essentiel dans le rapport au soin du patient et donc dans la gestion de la douleur (<https://www.vaincrelamuco.org/vivre-avec/la-mucoviscidose/autres-symptomes/douleur>).

Les études portant sur les troubles psycho-sociaux rencontrés par les patients atteints de mucoviscidose se multiplient. Elles mettent en lumière des niveaux accrus d'anxiété ou de dépression chez les patients et les membres de leur famille comparés à la population générale ¹²⁵⁻¹²⁷.

g) Cancers

Avec l'augmentation de l'espérance de vie des patients atteints de mucoviscidose, d'autres pathologies apparaissent avec l'âge : c'est notamment le cas des cancers. En effet, *Neglia et al.* ont observé une augmentation de l'incidence des cancers du tractus digestif chez les patients constituant une cohorte suivie de manière rétrospective entre 1985 et 1992 ¹²⁸. Ces résultats ont été confirmés dans une cohorte étatsunienne suivie entre 1990 et 2009, dans laquelle *Maisonneuve et al.*, indiquent que les patients atteints de mucoviscidose sont également plus sujets à développer une leucémie lymphoïde ou un cancer du testicule ¹²⁹. Les risques de développer un cancer du pancréas, bien que très faibles, sont également augmentés dans la population mucoviscidosique comparée à la population générale ¹³⁰.

	0 – 10 ans	10 – 20 ans	20 – 35 ans	> 35 ans
Voies aériennes	Obstructions précoces et bronchectasie	Bronchectasie	Bronchectasie et hémoptysie	Insuffisance respiratoire et transplantation
Infection prédominante	<i>H. influenza</i> <i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> <i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	
Foie	Surélévation des enzymes hépatiques et hépatomégalie	CFLD	Hypertension portale	Transplantation
Intestin	Iléus méconial		Obstruction distale	
Pancréas	Insuffisance pancréatique exocrine		CFRD	
Système reproducteur	Absence de canaux déférents			
Os			CFBD	

Table 2. Les différentes atteintes organiques des patients mucoviscidosiques en fonction de leur âge.
Adapté de Elborn, 2016 ¹³¹.

b. Manifestations pulmonaires

1. Physiopathologie pulmonaire et caractéristiques cliniques de la mucoviscidose

L'atteinte respiratoire est la principale cause de mortalité et de morbidité des patients atteints de mucoviscidose ¹³². L'altération de la clairance mucociliaire et l'épaississement du mucus présent dans les voies respiratoires du patient induisent, d'une part, une obstruction bronchique réduisant le passage de l'air et, d'autre part, le développement de foyers infectieux par de multiples virus et autres micro-organismes pathogènes, tels que les champignons *Aspergillus fumigatus* ^{133,134} ou les bactéries *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenza* et *Pseudomonas aeruginosa* ¹³⁵. S'en suivent alors des cycles d'infection et d'inflammation responsables à terme de l'altération de l'intégrité des tissus pulmonaires et donc d'un déclin de la fonction respiratoire (**Figure 10**).

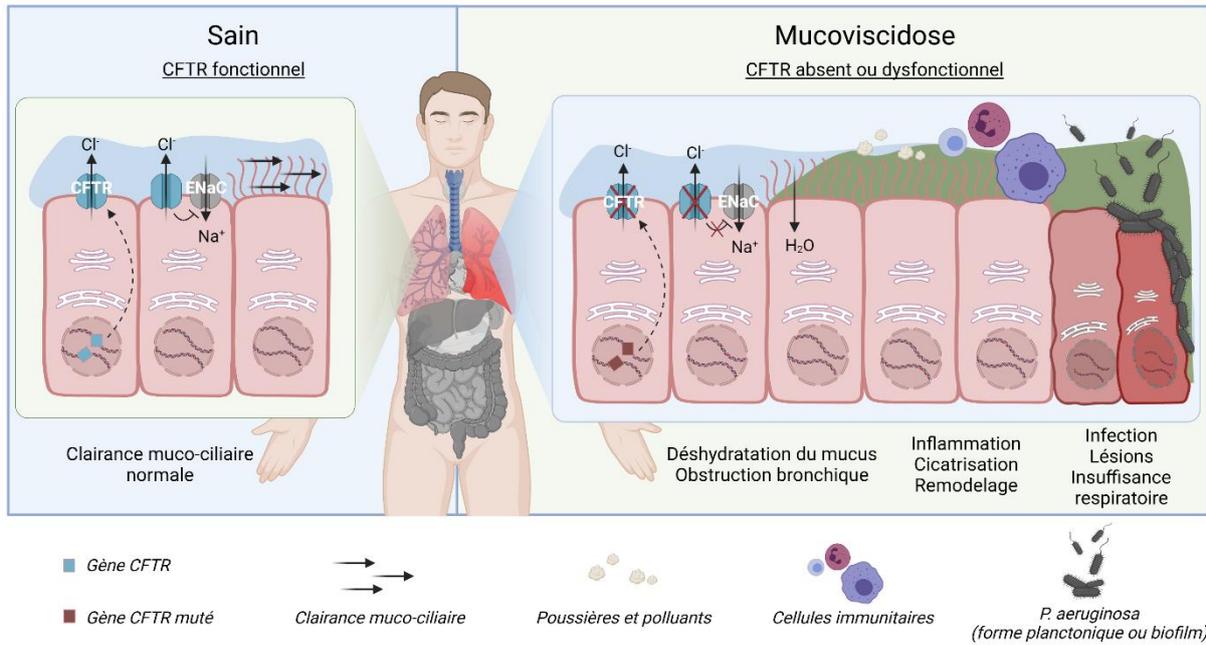


Figure 10. Physiopathologie pulmonaire de la mucoviscidose. Adapté de Amaral, 2015¹³⁶.

Les signes cliniques observables de la mucoviscidose sont une toux fréquente et chronique, avec expectoration de mucus, des infections respiratoires régulières et une respiration difficile. La bactérie *Staphylococcus aureus* est majoritairement retrouvée dans les voies respiratoires des patients au cours de la première moitié de leur vie, puis la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* devient majoritaire (bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose 2021) (**Figure 11**).

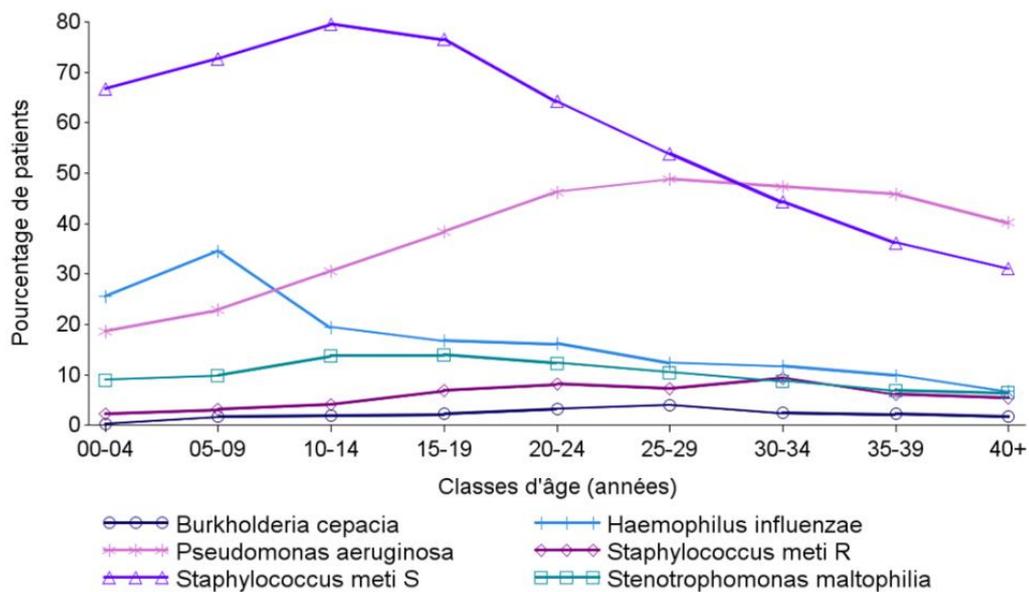


Figure 11. Evolution de la fréquence des différentes espèces bactériennes identifiées dans les poumons de patients atteints de mucoviscidose au cours de leur vie. Extrait du bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose 2021.

La fonction respiratoire est estimée cliniquement en mesurant par spirométrie le volume d'expiration maximal en une seconde (VEMS). De manière concrète, cette mesure est réalisée sur un patient au repos, nez bouché, qui réalise plusieurs cycles de respiration dans un embout relié à un spiromètre. Le patient inspire ensuite profondément avant de réaliser une expiration « forcée ». Le volume d'air expiré durant la première seconde de cette expiration est ensuite exprimé en pourcentage du volume d'air expiré attendu chez un individu sain du même âge et de même sexe. Cette mesure clinique est essentielle pour le suivi de la fonction pulmonaire des patients atteints de mucoviscidose mais est également utilisée dans le cadre d'autres pathologies respiratoires telles que l'asthme ou la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO). Le déclin du VEMS est estimé comme étant légèrement inférieur à 2 % par an chez les patients atteints de mucoviscidose¹³⁷.

2. Les cycles d'infection-inflammation : « l'œuf ou la poule ? »

Une infection bactérienne très précoce chez les patients atteints de mucoviscidose entraîne une inflammation de leurs voies respiratoires et ce, dès le plus jeune âge¹³⁸⁻¹⁴⁰. Cette inflammation devient chronique, d'autant plus que différentes espèces bactériennes se succèdent ou co-existent, et colonisent les voies aériennes au cours de la vie des patients (bilan des données 2019 du registre français de la mucoviscidose 2021) (**Figure 11**). A l'âge adulte, la bactérie *P. aeruginosa* devient l'espèce dominante et majoritaire présente dans les voies respiratoires des patients. Son installation, d'abord intermittente puis chronique, est favorisée par son adaptation évolutive et le large éventail de facteurs de virulence dont elle dispose^{141,142}.

Ces multiples infections induisent donc des épisodes inflammatoires caractérisés par la présence au long cours de facteurs inflammatoires dans les voies respiratoires, produits et sécrétés par les cellules épithéliales des voies aériennes mais également par les cellules immunitaires des patients¹⁴³. De nombreuses cytokines pro-inflammatoires sont ainsi retrouvées de façon accrue, précoce et persistante dans les lavages broncho-alvéolaires (LBA) des patients atteints de mucoviscidose^{138,139}. En effet, des concentrations élevées en interleukine-8 (IL-8)¹⁴⁴⁻¹⁴⁷, en interleukine-6 (IL-6)^{144,148,149}, en interleukine-1 β (IL-1 β)¹⁴⁸ et en *tumor necrosis factor α* (TNF α)¹⁴⁸ ont été retrouvées chez les patients^{140,150}. De récentes études ont montré que les proportions de certaines cytokines ainsi que les sous-types de cellules immunitaires impliqués semblent varier en fonction de l'âge des patients et/ou de l'avancée de la maladie^{140,151}. Ainsi, tandis que de fortes concentrations d'IL-6 sont retrouvées dans les LBA de très jeunes patients, elles sont au contraire plutôt faibles dans les LBA de patients présentant des stades avancés de mucoviscidose¹⁵¹. D'autres facteurs inflammatoires pouvant être impliqués dans la réponse à

l'infection par *P. aeruginosa* ont été mis en évidence, tels que les interleukines 4 (IL-4), 9 (IL-9), 10 (IL-10), 18 (IL-18), l'interféron γ (IFN γ), ainsi que des prostaglandines ou encore l'espèce réactive de l'oxygène monoxyde d'azote (NO)^{143,150,152,153}.

La mucoviscidose est caractérisée par une inflammation pulmonaire à dominance neutrophilique et dont les biomarqueurs sont l'IL-8, le nombre de neutrophiles ainsi que l'élastase qu'ils produisent (NE, pour *neutrophil elastase*), qui ont été montrés comme étant en corrélation directe avec la gravité de la maladie¹⁵⁴. L'IL-8 est une chimiokine chimiotactique permettant le recrutement des neutrophiles et est considérée comme ayant un rôle important dans la pathogenèse de la mucoviscidose¹⁵¹. Des concentrations accrues de NE sont alors retrouvées dans le liquide de surface, qui dépassent la capacité anti-élastasique des tissus de l'hôte : de fait, un déséquilibre protéases-antiprotéases est observé chez les patients atteints de mucoviscidose^{138,139,155-158}. D'autre part, d'autres protéases sont exprimées par *P. aeruginosa* ou par les neutrophiles, qui expriment par exemple la cathépsine G^{159,160}, accentuant encore plus le déséquilibre protéases-antiprotéases, et favorisant l'altération des tissus environnants. Les cellules lésées relarguent alors leur ADN, participant de ce fait à l'augmentation de la viscosité du mucus. Ce phénomène peut également être amplifié par le relargage de l'ADN neutrophilique lors de la NETose réalisée par les neutrophiles¹⁶¹ qui, après avoir joué leur rôle, ne rentrent pas en apoptose et ne sont pas phagocytés par les macrophages¹⁶². Ainsi, en plus de ne pas observer de résolution normale de l'inflammation, les neutrophiles entrent en nécrose et relarguent leur contenu au sein des voies respiratoires, provoquant davantage de lésions : ADN, actine fibrillaire, protéases et oxydants¹⁶³. Le traitement par la rhDNase, permettant de dégrader les molécules d'ADN présentes dans le mucus, fait notamment partie des pistes thérapeutiques permettant de réduire la viscosité de ce dernier^{161,164,165}. Par ailleurs, la production de médiateurs des neutrophiles et d'exoproduits bactériens, connus pour induire la production de mucines - principales composantes macromoléculaires du mucus - seraient en partie responsables de l'hypersécrétion de mucus observée dans les voies respiratoires des patients atteints de mucoviscidose¹⁶⁶. De plus, l'hyperviscosité du mucus présent dans les voies aériennes des patients semble favoriser le développement de biofilms bactériens¹⁶⁷ et empêcher la phagocytose des bactéries¹⁶⁸.

Ce contexte inflammatoire est ainsi favorisé et aggravé par la présence de *P. aeruginosa*, bactérie qui dispose de nombreux facteurs de virulence et qui sera décrite plus en détails dans la partie suivante.

Cependant, un concept ayant provoqué de vifs débats au sein de la communauté scientifique au début des années 2000 est apparu, selon lequel l'inflammation présente chez les patients atteints de mucoviscidose précéderait toute infection¹⁶⁹. En effet, de manière intéressante, la présence notable de marqueurs inflammatoires dans des LBA de très jeunes patients mucoviscidosiques a été observée^{138,139} et ce même en l'absence, *a priori*, d'infection préalable^{145,169-171}.

Néanmoins, ces résultats font toujours débat au sein de la communauté scientifique¹⁷². Entre autres hypothèses, la possibilité d'infections bactériennes, ou même virales, non détectables avec les moyens de l'époque, n'est pas excluable et ne permettrait donc pas d'affirmer que l'inflammation précéderait l'infection.

Ainsi, la chronologie exacte des cycles infection-inflammation ainsi que leur origine endogène ou exogène reste encore à élucider.

3. *Pseudomonas aeruginosa*

a) Généralités

La bactérie *P. aeruginosa* est une bactérie à Gram négatif, ubiquitaire et opportuniste¹⁷³. En effet, étant saprophyte – c'est-à-dire capable de se nourrir de matière organique morte ou en décomposition – elle est retrouvée dans la plupart des plans d'eau stagnante, sols humides ou à la surface des végétaux. Bien qu'elle ne représente pas de réel danger pour un individu sain, elle peut néanmoins devenir très pathogène pour un individu ayant ses défenses immunitaires diminuées ou « surmenées ». Comme la plupart des microorganismes dits opportunistes, *P. aeruginosa* peut être à l'origine d'infections nosocomiales. En effet, une étude prospective réalisée entre 2013 et 2019 dans 268 hôpitaux répartis dans 42 pays d'Afrique, d'Amérique du Nord et du Sud, d'Europe, d'Asie du Sud-Est et des régions Pacifique-Ouest a montré l'implication de *P. aeruginosa* dans 6 % des infections recensées par cathéter veineux¹⁷⁴.

La présence d'un flagelle rend cette bactérie, en forme de bâtonnet, motile. Au cours de la colonisation de l'hôte, *P. aeruginosa* adopte un mode de vie sessile en perdant son flagelle et en formant un biofilm (**Figure 12**), la rendant difficilement accessible aux antibiotiques et favorisant ainsi sa survie¹⁷⁵.

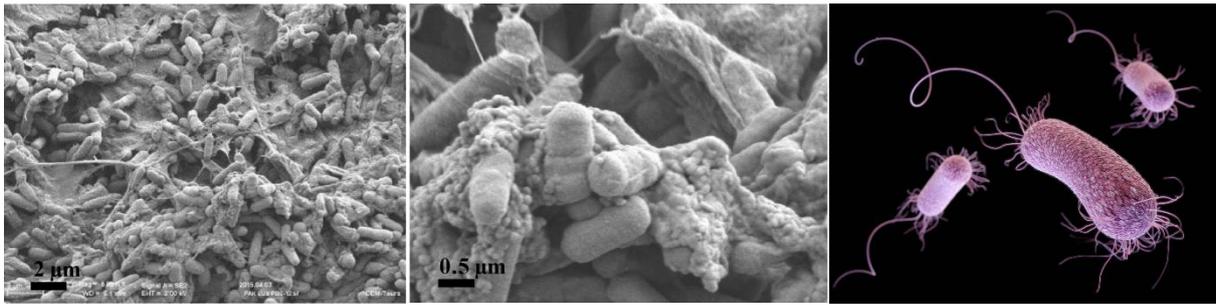


Figure 12. Microphotographies de la bactérie *P. aeruginosa*. A gauche et au centre, microphotographies obtenues par microscopie électronique à balayage (Guillon *et al.*, 2018¹⁷⁶) du biofilm d'une souche de *P. aeruginosa*. A droite, une représentation tridimensionnelle de la forme planctonique de *P. aeruginosa* générée par ordinateur à partir d'images de microscopie à balayage (Crédit : Jennifer Oosthuizen - *Medical Illustrator - CDC/ Antibiotic Resistance Coordination and Strategy Unit*).

P. aeruginosa a été isolée dans les années 1890 à partir de blessures de deux patients en France. Elle doit un de ses noms à la couleur bleu-vert caractéristique du pus associé aux infections qu'elle provoquait : *Bacillus pyocyaneus* (« bacille du pus bleu »)¹⁷⁷.

La pathogénicité d'un microorganisme peut s'expliquer par l'expression de facteurs de virulence. Ces derniers peuvent être définis comme des produits issus du génome de l'agent infectieux qui a tiré un avantage évolutif lui permettant d'échapper aux défenses immunitaires de l'hôte et de profiter de ses ressources¹⁷⁸. Un facteur de virulence peut donc par exemple favoriser l'adhérence du pathogène aux cellules hôtes, ainsi que l'échappement ou l'inhibition du système immunitaire de l'hôte. On parle alors respectivement de colonisation, d'immunoévasion ou d'immunosuppression. D'autre part, les facteurs de virulence peuvent également être exprimés sous forme de toxines qui endommagent directement les cellules environnantes.

P. aeruginosa, pathogène majoritaire dans les voies respiratoires des patients mucoviscidosiques adultes (**Figure 11**), exprime de nombreux facteurs de virulence - membranaires ou sécrétés - et a développé au cours de son évolution une résistance aux antibiotiques¹⁷⁹.

Ainsi, l'apparition d'une colonisation chronique par *P. aeruginosa*, de par ses nombreux facteurs de virulence et sa résistance aux antibiotiques, est peu encourageante vis-à-vis du pronostic du patient^{179,180}. C'est pourquoi nous nous intéressons particulièrement à cette bactérie et à certains de ses facteurs de virulence au cours de cette étude.

b) Le « quorum sensing » (QS) de *P. aeruginosa*

L'expression de nombreux facteurs de virulence de *P. aeruginosa* est régulée par un mécanisme dépendant de la densité bactérienne appelé quorum sensing (QS)¹⁸¹. Il s'agit d'un système de communication bactérienne reposant sur la synthèse et la diffusion d'acylhomosérine lactone (AHL) de proche en proche, d'une bactérie à une autre. Ce mécanisme a été décrit en détails par Ruimy *et al.*¹⁸².

Le QS est retrouvé dans plusieurs espèces de bactéries à Gram négatif¹⁸³, dont certaines sont à l'origine d'infections opportunistes chez l'homme telles que *P. aeruginosa*¹⁸⁴⁻¹⁸⁷. Le QS permet, dans cette bactérie, une induction de la transcription des gènes dits de virulence¹⁸⁸.

Deux systèmes ont été découverts chez *P. aeruginosa* : le système *las*, qui a été le premier décrit¹⁸⁵ et le système *rhl*. Le système *las* comprend les gènes *lasR* et *lasI*, codant respectivement pour une protéine régulatrice LasR et une enzyme auto-inducteur synthase, LasI¹⁸². Cette dernière est nécessaire pour la production de l'AHL N-(3-oxododecanoyl)-L-homosérine lactone (3-oxo-C12-HSL), qui possède la faculté de traverser les membranes bactériennes, constituant ainsi un moyen de communication inter-bactérien¹⁸². Lorsque les niveaux de 3-oxo-C12-HSL atteignent un certain seuil, proportionnellement à la densité bactérienne, une molécule d'AHL se fixe à deux protéines LasR afin de former un complexe activateur de transcription. Plusieurs gènes vont ainsi être transcriptionnellement induits, de manière synchrone dans la totalité de la population bactérienne. Parmi les gènes régulés par le système *las*, sont induits *lasB*¹⁸⁵, *lasA*¹⁸⁹ et *aprA*¹⁸⁴, qui codent respectivement pour des élastases et une protéase alcaline, responsables en partie de la destruction des tissus pulmonaires ; ou encore *lasI*, qui permet une rapide augmentation de la synthèse de 3-oxo-C12-HSL, amplifiant ainsi le signal au sein de la population bactérienne par auto-induction¹⁹⁰. Selon le même principe, le système *rhl* comprend le gène *rhlR* et le gène *rhlI*, codant respectivement pour la protéine régulatrice RhlR et une enzyme auto-inducteur synthase RhlI¹⁸². Cette dernière est nécessaire à production d'un autre AHL : le N-butyryl-L-homosérine lactone (C4-HSL)^{191,192}. Le complexe RhlR-C4-HSL contrôle, entre autres, l'expression des gènes *lasB*, *lasA*, *aprA* et *rhlI*¹⁸². Les différents acteurs du QS de *P. aeruginosa* et leurs interactions sont représentés schématiquement pour une meilleure compréhension dans la **Figure 13**.

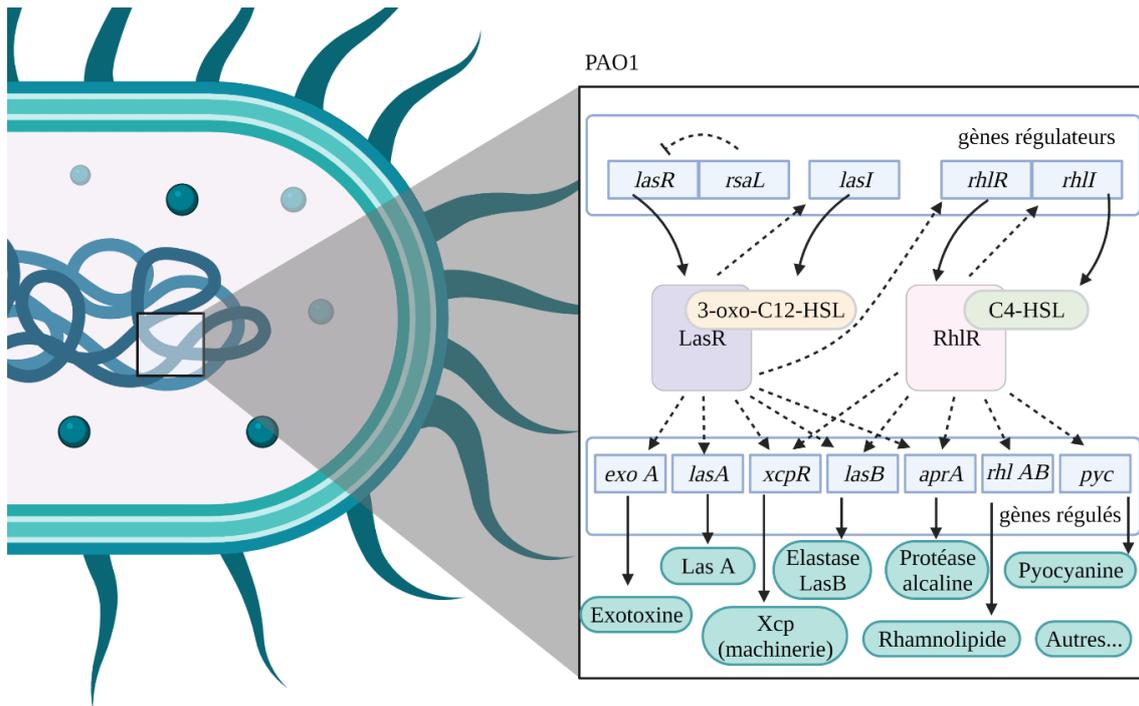


Figure 13. Représentation de divers acteurs du « quorum sensing » (QS) de la souche PAO1 de *P. aeruginosa*. Adapté de Ruimy *et al.*, 2004 ¹⁸².

c) Les facteurs de virulence de *P. aeruginosa*

Parmi les différents facteurs de virulence exprimés par *P. aeruginosa* (**Figure 14**), nous nous intéresserons plus particulièrement au lipopolysaccharide (LPS), à la flagelline (FLA) ainsi qu'à LasB, l'élastase codée par le gène *lasB*.

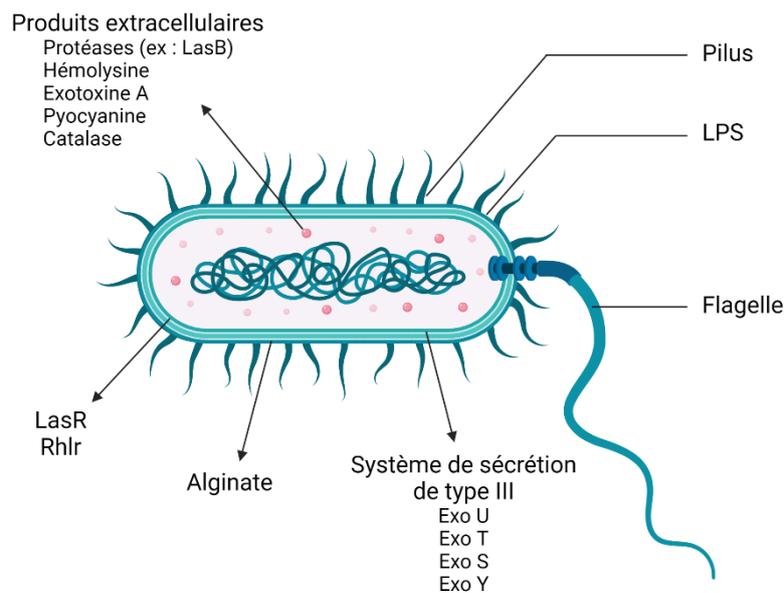


Figure 14. *P. aeruginosa* et ses principaux facteurs de virulence. Adapté de Sadikot *et al.*, 2005 ¹⁴³.

i. L'élastase LasB

L'élastase LasB de *P. aeruginosa*, aussi appelée pseudolysine, est une métalloprotéase dont la taille de 33kDa et la présence d'un site actif et de trois sites de liaison d'atome de zinc ont été caractérisés dès 1988¹⁹³. Les données bioinformatiques actuelles suggèrent la fixation d'un ion Zn^{2+} et d'un ion Ca^{2+} en tant que cofacteurs de cette protéase (Source : Uniprot, <https://www.uniprot.org/uniprot/P14756>).

LasB a une activité catalytique lui permettant de dégrader diverses protéines telles que le collagène de type I¹⁹⁴ ou des composants de la matrice extracellulaire (collagène de types III et IV, élastine, fibronectine, laminine, vitronectine), pouvant provoquer des lésions tissulaires et des hémorragies¹⁹⁵. La capacité de cette élastase à cliver la partie N-terminale du récepteur *proteinase-activated receptor 2* (PAR-2) dans les voies respiratoires, inhibant sa fonction, a également été mise en évidence¹⁹⁶. L'activation du récepteur PAR-2 a souvent été décrite comme déclenchant une cascade pro-inflammatoire¹⁹⁷. Néanmoins, ce constat semble plus nuancé au sein du tissu pulmonaire, dans lequel l'activation de PAR-2 pourrait avoir des effets pro-inflammatoires ou au contraire protecteurs¹⁵⁹. En effet, des études ont montré que l'activation de ce récepteur induit, d'une part, la production de prostaglandine E₂ (PGE₂), ayant un rôle broncho-protecteur et anti-inflammatoire au niveau pulmonaire^{198,199} et, d'autre part, la production de facteurs pro-inflammatoires tels que la métalloprotéase matricielle-9 (MMP9)²⁰⁰, le facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages (GM-CSF)^{201,202}, l'éotaxine²⁰², l'IL-6 et l'IL-8²⁰³. Ainsi, PAR-2, exprimé par divers types cellulaires des voies respiratoires et notamment au niveau apical des cellules épithéliales, est un important facteur de la réponse immunitaire innée pulmonaire. Sa neutralisation fonctionnelle par clivage par l'élastase LasB de *P. aeruginosa* favoriserait ainsi la colonisation bactérienne, tout en altérant les processus de défense et de réparation tissulaire¹⁵⁹.

LasB, en plus de sa capacité à endommager les tissus, semble également altérer directement les composants du système immunitaire^{204,205}. Elle est capable de cliver les immunoglobulines A et G^{206,207}. Par ailleurs, des expériences impliquant une infection de l'hémolymphe de la larve du ver à soie par les souches PAO1 de *P. aeruginosa* sauvages ou délétées pour LasB (PAO1 Δ LasB) ont indiqué que la présence de LasB induit une diminution de la production de peptides antimicrobiens synthétisés naturellement par les insectes²⁰⁸. Cette fonction immunomodulatrice de LasB avait également été montrée par sa capacité à dégrader la flagelline de *P. aeruginosa*, permettant à la bactérie de ne pas être reconnue et d'échapper au

système immunitaire ²⁰⁹. D'autre part, LasB semble agir au niveau intracellulaire en initiant la croissance du biofilm formé par *P. aeruginosa* ^{210,211}.

Une étude récente a également montré l'implication de LasB dans la dégradation de médiateurs immunitaires tels que l'IL-6 ou la trappine-2, un médiateur anti-inflammatoire ²¹² ; tandis qu'elle induit la sécrétion d'IL-8 par les cellules épithéliales pulmonaires ²¹³.

Pour finir, LasB joue un rôle primordial dans le contexte de la mucoviscidose car elle altère les processus de réparation épithéliale en inhibant la voie de signalisation IL-6/STAT3 et semble provoquer une diminution de l'expression et de la fonction du canal CFTR ²¹². Ces données font suite à une précédente étude montrant qu'une autre élastase produite par des neutrophiles humains (hNE), est également capable de dégrader CFTR et de diminuer sa fonction *in vitro* et *in vivo* ²¹⁴.

Les nombreux substrats de LasB connus à l'heure actuelle sont répertoriés dans une revue parue en septembre 2021²⁰⁷, néanmoins, la démonstration d'un clivage effectif *in vivo* reste à faire pour une majorité d'entre eux.

Ainsi, d'après Cathcart *et al.*²¹⁵, l'élastase LasB de *P. aeruginosa* pourrait jouer son rôle de facteur de virulence de trois façons :

- en dégradant directement les tissus de l'hôte par une protéolyse permettant la libération de nutriments favorables à la croissance bactérienne
- en agissant sur l'immunomodulation et les composants du système immunitaire de l'hôte, favorisant l'apparition de cycles inflammatoires
- en favorisant la formation de biofilms bactériens, augmentant ainsi la résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques et à la réponse immunitaire de l'hôte.

S'ajoute à ces trois éléments l'action de LasB sur l'expression et la fonction de CFTR, indiquant un lien avec la protéine dont les variants pathogènes sont responsables de la mucoviscidose et faisant donc de LasB une potentielle cible thérapeutique ²⁰⁷.

ii. Le lipopolysaccharide (LPS)

Le lipopolysaccharide (LPS) est un *pathogen-associated molecular pattern* (PAMP), facteur clé de la virulence de certains agents bactériens et des réponses immunitaires de l'hôte. Il s'agit d'un élément constitutif de la membrane externe des bactéries à Gram négatif, composé de 3 parties :

- le lipide A : partie hydrophobe du LPS qui permet son ancrage à la membrane externe de la bactérie. Elle possède plusieurs isoformes pouvant être penta-, hexa- ou hepta-acylées, chacune ayant une affinité différente avec le récepteur *Toll-like receptor 4* (TLR4). Ce dernier est impliqué dans l'activation de l'immunité innée via la reconnaissance des pathogènes^{216,217}. Un mécanisme évolutif de *P. aeruginosa* a permis d'observer l'apparition d'une palmitoylation du lipide A dans des souches cliniques isolées de patients atteints de mucoviscidose²¹⁸. Cette modification du lipide A pourrait permettre à la bactérie de masquer ce composant du LPS et donc d'échapper à une éventuelle réponse immunitaire ;
- le noyau oligosaccharidique ou core : est lui-même composé d'un noyau interne et d'un noyau externe, variables selon les espèces bactériennes. Chez *P. aeruginosa*, le core est composé de Kdo, d'heptose, de galactosamine, de glucose et de rhamnose²¹⁷. Il s'agit ainsi d'une région polaire, assurant une stabilité de la membrane *via* des interactions avec des cations divalents²¹⁹, et des protéines spécifiques²²⁰ ;
- l'antigène O : polymère composé d'unités de sucres répétitives variables en fonction des espèces²²¹. L'antigène O peut être ajouté à la molécule de LPS ou non, ainsi seulement certaines molécules de LPS ont une « coiffe » d'antigène O. La longueur de l'antigène O semble être associée à une résistance aux défenses immunitaires de l'hôte, notamment *via* une interférence avec les voies d'activation du complément²¹⁷. De plus, l'antigène O protégerait également les bactéries de la phagocytose²²².

iii. La flagelline

La flagelline est une protéine monomérique très conservée au sein des différentes espèces bactériennes et qui, présente en plus d'un millier d'exemplaires, constitue le flagelle de *P. aeruginosa*²²³. Elle est ainsi impliquée dans la motilité de la bactérie puis dans son passage d'état planctonique à l'état de biofilm. En effet, le flagelle disparaît lors de la formation du biofilm bactérien, retrouvé fréquemment chez les patients mucoviscidosiques colonisés de manière chronique par *P. aeruginosa*²²⁴.

La flagelline bactérienne se fixe aux récepteurs *Toll-like receptor 5* (TLR5) et induit la production par les cellules de cytokines pro-inflammatoires, en réponse à l'infection^{225,226}. D'après nos connaissances actuelles, cette production de cytokines se fait *via* deux voies de signalisation (**Figure 15**) : la voie p38 MAPK²²⁷⁻²²⁹ et la voie NF- κ B²³⁰.

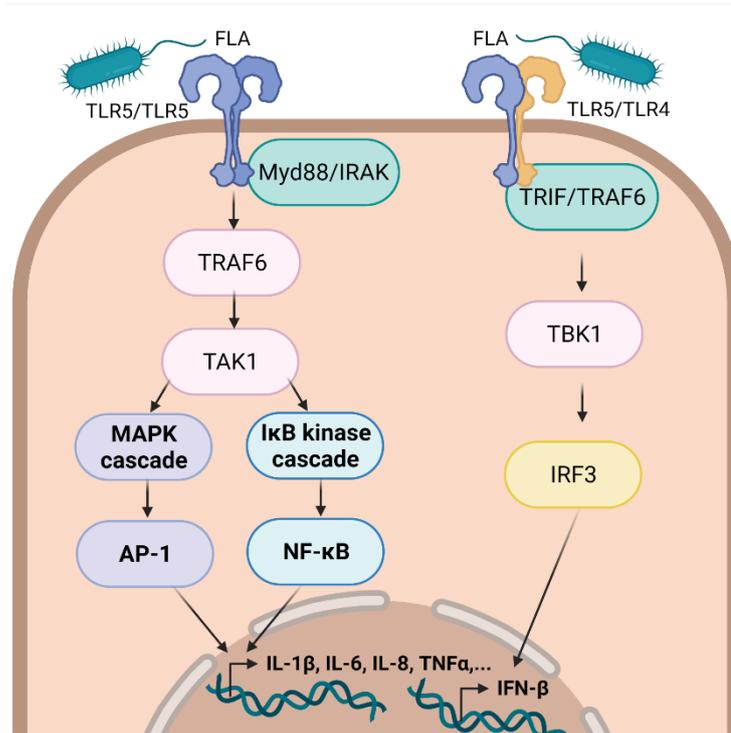


Figure 15. Voies de signalisation activées par la flagelline de *P. aeruginosa*.
Adapté de Hajam *et al.*, 2017²³¹

Les cellules de mammifères ont acquis au cours de l'Évolution l'expression du récepteur TLR5, qui reconnaît les monomères de flagelline et induit l'activation de la réponse immunitaire innée, permettant de lutter contre les pathogènes flagellés²³². Parmi les stratégies d'immunoévasion mises en place par les bactéries, *P. aeruginosa* sécrète une protéase alcaline AprA qui inhibe la signalisation TLR5 en dégradant les monomères de flagelline présents dans l'environnement, laissant le polymère de flagelline qui constitue le flagelle et le récepteur TLR5 intacts²³³. Plus récemment, il a été montré que l'élastase LasB agit de concert avec AprA²⁰⁹ (**Figure 16**).

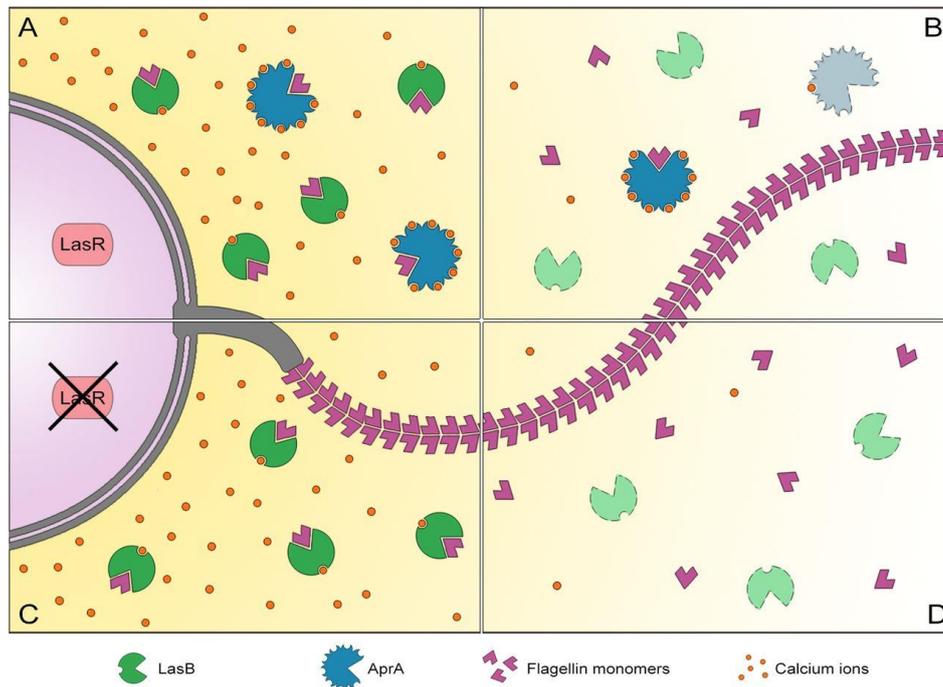


Figure 16. Représentation de l'impact des protéinases LasB et AprA sur la reconnaissance immunitaire induite par la flagelline de *P. aeruginosa*. **(A)** Dans des conditions de croissance optimales, LasB et AprA sont produites et peuvent agir pour éliminer la flagelline. **(B)** La faible disponibilité des ions calcium entraîne la perte de l'activité de LasB; l'activité d'AprA est moins sensible à la pénurie de calcium et agit comme un agent anti-flagelline. **(C)** La perte de LasR abolit la production d'AprA. En présence de quantités suffisantes de calcium, l'activité LasB élimine la flagelline. **(D)** La perte de LasR entraîne la perte d'AprA et la faible disponibilité des ions calcium rend LasB non fonctionnelle. L'inactivation des deux protéases conduit à une immunogénéité accrue en raison de la reconnaissance immunitaire médiée par la flagelline. Extrait de Casilag *et al.*, 2015¹⁷⁸

d) *P. aeruginosa* et réparation épithéliale

Des études ont montré que la protéine CFTR joue un rôle fondamental dans divers événements cellulaires tels que le développement foetal^{234–239}, la différenciation et la polarisation du tissu épithélial^{240–244}, la transition épithélio-mésenchymateuse^{245–249} ainsi que les processus de régénération tissulaire^{250–252}.

Ainsi, les patients atteints de mucoviscidose présentent une altération de la réparation épithéliale. Cette dernière est essentielle à la restauration de l'intégrité de l'épithélium bronchique et de sa fonction de barrière en cas d'infection, d'inflammation ou encore de lésion²⁵³. Plusieurs étapes constituent le processus de réparation : l'adhésion et la migration cellulaires, pendant lesquelles les cellules recouvrent le site de la blessure, puis la prolifération des cellules qui finissent par se redifférencier, afin de reconstituer un épithélium polarisé intact^{254–256}.

Les processus de réparation ont été observés lors d'une xénogreffe de voies respiratoires humaines dans un modèle murin, permettant de comparer la régénération tissulaire des épithéliums normaux et mucoviscidosiques ²⁵¹. Les résultats indiquent un retard de différenciation du tissu CF, associé à une prolifération accrue au cours de la réparation et ce, même en l'absence d'inflammation ^{250,251}. Ce retard de réparation et cette augmentation de prolifération cellulaire ont été confirmés dans diverses études revues par Amaral *et al.*, en 2020 ²⁵³. D'autre part, la régénération altérée dans les cellules des voies respiratoires CF semble être partiellement améliorée par l'utilisation de modulateurs de CFTR, suggérant que la fonction de ce canal est essentielle à la réparation épithéliale des voies respiratoires ²⁵⁷. De manière intéressante, des expériences de réparation réalisées sur des cellules épithéliales primaires des voies aériennes humaines normales ou mucoviscidosiques différenciées, en présence ou non du facteur de virulence flagelline (FLA) de *P. aeruginosa*, ont mis en évidence des différences de niveaux ainsi que de temporalité d'expression des marqueurs génétiques des différents types cellulaires ²⁵⁸. Ces résultats nous apportent davantage de compréhension sur les mécanismes sous-jacents à la différenciation et la régénération des cellules épithéliales des voies aériennes humaines, encore mal connus à ce jour ²⁵⁸.

Ainsi, en plus de la fonction de CFTR, la présence de facteurs de virulence de *P. aeruginosa* tels que la flagelline semble également impacter la réparation épithéliale.

L'influence de *P. aeruginosa* sur l'intégrité et la réparation épithéliales a été revue en détails par Ruffin *et al.*, ²⁵⁹. Brièvement, les divers facteurs de virulence de *P. aeruginosa* permettent de créer des lésions au niveau de l'épithélium des voies aériennes, tels que les rhamnolipides, qui contribuent à la rupture de la barrière épithéliale par le biais d'altérations de jonctions serrées ²⁶⁰. D'autre part, et comme précisé précédemment, LasB, joue également un rôle majeur dans l'intégrité épithéliale en altérant la matrice extracellulaire de l'épithélium bronchique *via* la dégradation des protéines de collagène de type I et de type IV ^{194,261}. La perte de fibres de stress et la dépolymérisation du cytosquelette d'actine ont par ailleurs été observées après l'exposition de cellules épithéliales des voies aériennes à LasB purifiée ²⁶². Enfin, une étude réalisée chez la souris a mis en évidence des lésions tissulaires étendues et un remodelage suite à une exposition pulmonaire chronique à la pyocyanine, caractérisés par une hyperplasie des cellules caliciformes, une fibrose et une destruction alvéolaire ²⁶³. Ces différentes lésions favorisent l'adhésion de la bactérie, qui se lie préférentiellement au bord des plaies épithéliales ainsi qu'au niveau des membranes basales dorénavant accessibles ²⁶⁴⁻²⁶⁶. Aussi, il a été montré que *P. aeruginosa* adhère plus fréquemment au mucus et aux cellules mortes ^{265,266} ainsi qu'aux

cellules basales et cellules migratoires aplaties présentant des lamellipodes^{264,267,268}. Enfin, des études ont montré que les facteurs sécrétés par *P. aeruginosa* ont tendance à diminuer la prolifération des cellules épithéliales des voies respiratoires^{269,270} et la migration cellulaire^{262,270} (**Figure 17**).

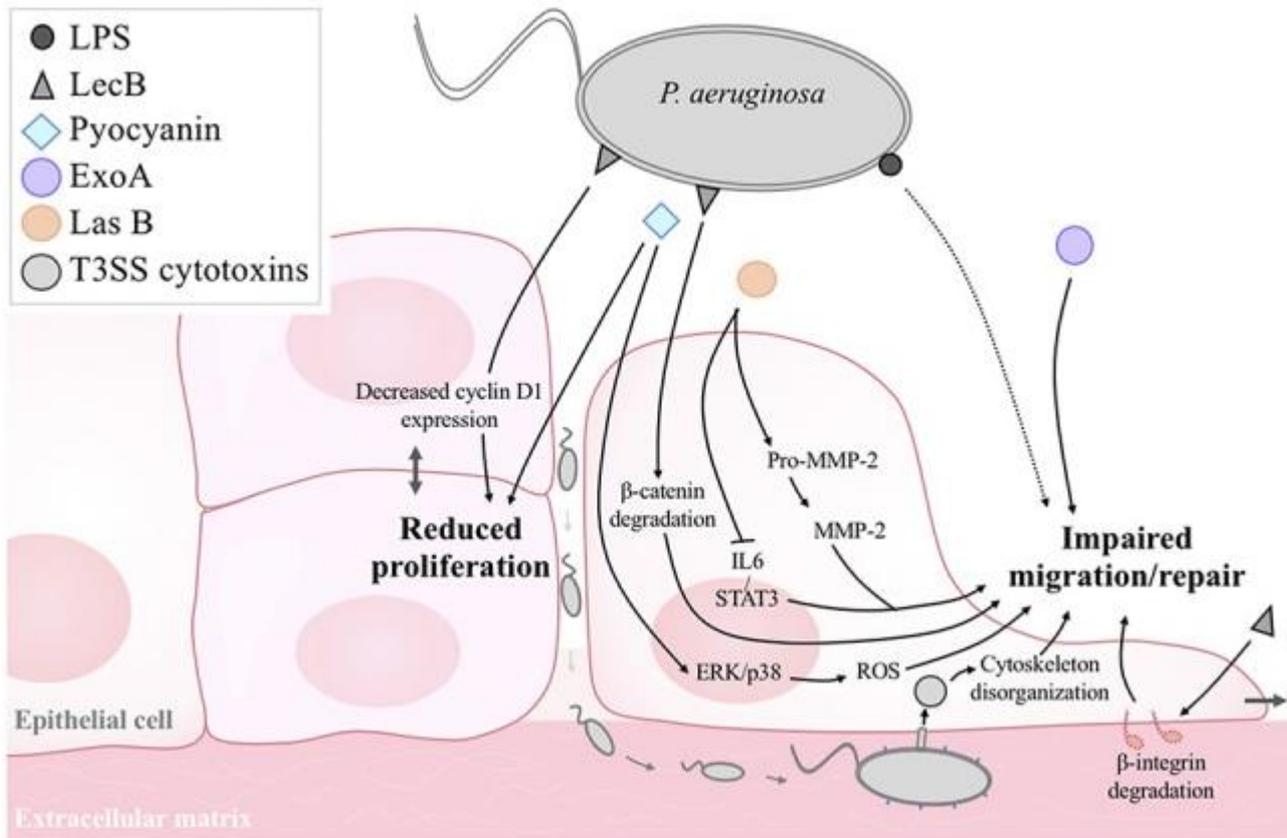


Figure 17. Impact de *P. aeruginosa* sur la prolifération, la migration et la réparation épithéliale bronchique. Extrait de Ruffin *et al.*, 2019²⁵⁹.

Ainsi, la physiopathologie pulmonaire de la mucoviscidose est très complexe et majoritairement responsable de la mortalité des patients atteints de mucoviscidose. C'est pourquoi il existe à ce jour plusieurs pistes thérapeutiques visant à traiter l'atteinte respiratoire des patients. Chaque stratégie thérapeutique agit à des niveaux différents de la cascade physiopathologique de la mucoviscidose.

4. Soins et traitements de l'atteinte pulmonaire

A ce jour, il n'existe pas de traitement permettant la guérison de la mucoviscidose. La prise en charge de l'atteinte respiratoire des patients (**Figure 18**) consistait jusqu'à présent majoritairement en des traitements symptomatiques, tels que la kinésithérapie et l'administration de mucolytiques. Ces traitements permettent une fluidification et une évacuation du mucus, favorisant le dégagement des voies respiratoires, améliorant la respiration

et limitant les infections. Des séances de nébulisations permettent une administration rapide et locale de différents médicaments, tels que des antibiotiques ou des anti-inflammatoires. (<https://www.vaincrelamuco.org/vivre-avec/la-mucoviscidose/symptomes-respiratoires/aerosols>). La voie intraveineuse est privilégiée dans certains cas, notamment lors d'épisodes d'exacerbations respiratoires nécessitant une cure d'antibiotiques. Ces traitements sont contraignants, demandent beaucoup de temps et peuvent être douloureux pour les patients.

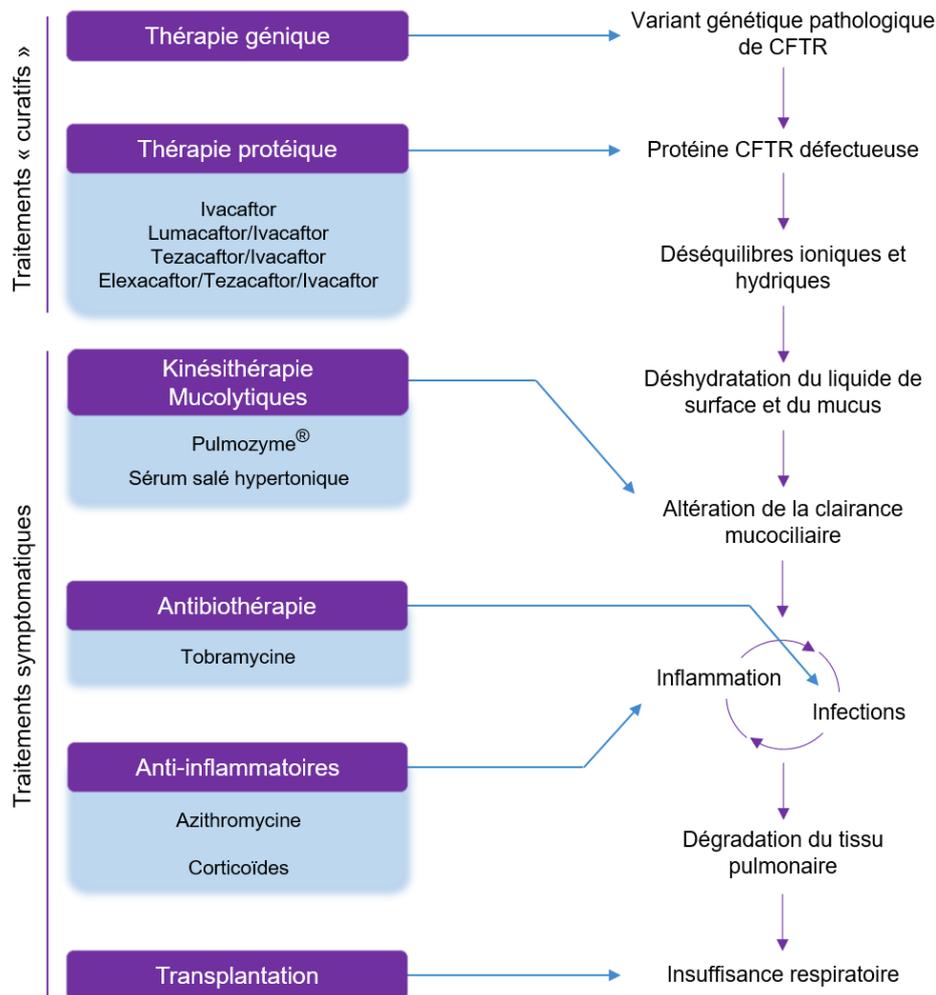


Figure 18. Stratégies thérapeutiques de prise en charge de l'atteinte respiratoire des patients atteints de mucoviscidose.

Bien qu'ayant prouvé leur efficacité, ces traitements permettent une prise en charge des conséquences de la maladie, et non de la cause, comme ont pour but les thérapies protéiques et géniques. Les avantages et limites de ces thérapies dites curatives, qui ont connu des avancées majeures ces dernières années, ont été développées en détail dans notre récente revue perspective²⁷¹. Lorsque la dégradation du tissu pulmonaire est trop importante et que l'état du

patient atteint l'insuffisance respiratoire, le seul traitement possible est alors la transplantation pulmonaire^{272,273}.

a) Thérapie protéique

La thérapie protéique est la stratégie thérapeutique à visée curative et la plus développée à ce jour. Elle a pour but de rétablir le transport à la membrane de la protéine CFTR correctement formée et/ou de permettre son fonctionnement optimal. Le type de modification pharmacologique à apporter dépend donc principalement de la classe de variants mise en cause.

Ainsi, la société Vertex Pharmaceuticals a mis au point des « correcteurs » de CFTR tel que le Lumacaftor® (ou Vx-809), qui permet d'empêcher la dégradation de la protéine et rend possible sa maturation puis son trafic depuis le réticulum endoplasmique jusqu'à la membrane plasmique. L'efficacité de cette molécule a été démontrée notamment en observant une augmentation des efflux chlorures dépendants de CFTR et une augmentation de l'épaisseur du liquide de surface²⁷⁴. Ce médicament vise principalement les variants de classe II telles que F508del.

D'autres molécules appelées « potentiateurs » de CFTR permettent quant à elles de favoriser la fonction de la protéine, en augmentant par exemple la conductance ou la probabilité d'ouverture du canal. Le Kalydéco® (ou Ivacaftor ou Vx-770) est le premier potentiateur de CFTR à avoir été testé lors d'essais cliniques²⁷⁵ et obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) par la commission européenne. Cette molécule cible les variants de classe III et IV.

L'association du Lumacaftor® et du Kalydéco® a donné naissance à Orkambi®. Ce médicament a montré au cours de différentes études cliniques une augmentation de 5 % du VEMS de patients homozygotes F508del, ainsi qu'une diminution du nombre d'hospitalisations et d'exacerbations respiratoires de ces patients²⁷⁶⁻²⁷⁸. Orkambi® obtient à la suite de ces études une AMM de la *Food and drug administration* (FDA) en 2015 ainsi que de l'Agence européenne du médicament (AEM) en 2016.

Un nouveau correcteur de CFTR, Tezacaftor® ou Vx-661, est utilisé en association avec l'Ivacaftor® sous le nom de Symdeko® depuis 2018. En octobre 2019, une nouvelle association de Symdeko® avec l'Eleacaftor (Vx-445), un correcteur de CFTR de nouvelle génération, a montré des effets prometteurs lors d'un essai clinique de phase 3²⁷⁹.

Au cours de la dernière décennie, de nouveaux médicaments appelés "modulateurs de CFTR" s'attaquant aux conséquences directes des variants de *CFTR* sur la protéine CFTR ont été

identifiés grâce au criblage à haut débit ²⁸⁰. Les variants de *CFTR* de classe I, qui entraînent l'absence de synthèse protéique, et les variants de *CFTR* de classe V et VI, qui entraînent une diminution de la production de la quantité de protéines CFTR, sont exclus des thérapies par modulateur.

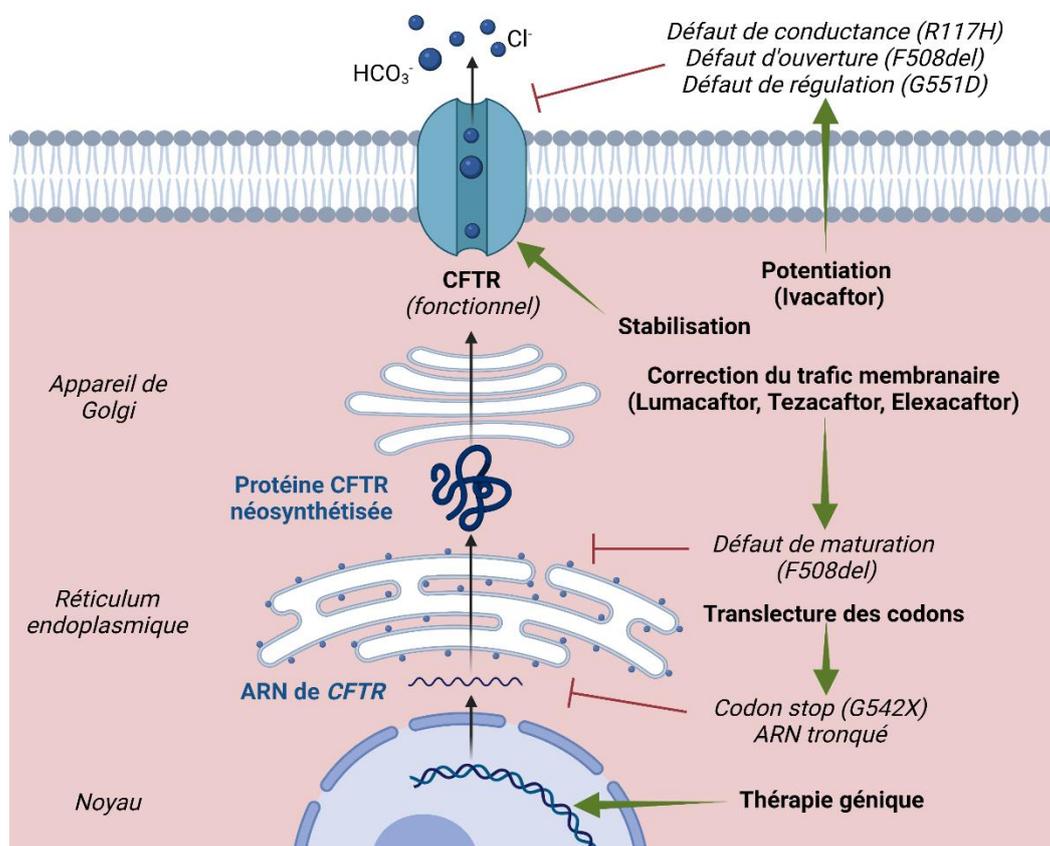


Figure 19. Cibles et modes d'action des différentes thérapies en fonction du variant de *CFTR*. Adapté de <https://lejournal.cnrs.fr/articles/de-nouvelles-strategies-contre-la-mucoviscidose>, F. Aguila, S. Belaud, 2017.

L'approbation des modulateurs de CFTR représente une percée dans le traitement de la mucoviscidose car une amélioration significative de la fonction pulmonaire des patients (évaluée par des mesures du VEMS) a été observée (**Table 3**).

Molécules	First approval date	Eligibility age	Indication*	Absolute change in ppFEV1
Ivacaftor	2012	≥6 m.o.	G551D/other Ramsey et al. (2011)	10.6%
Lumacaftor/ivacaftor	2015	≥2 y.o.	Class III variants/Other Davies et al. (2013)	12.5%
Tezacaftor/ivacaftor	2018	≥6 y.o.	F508del/F508del Wainwright et al. (2015)	2.8%
			F508del/F508del Taylor-Cousar et al. (2017)	4%
			F508del/residual function variant in trans Rowe et al. (2017)	6.8%
Elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor	2019	≥12 y.o.	F508del/minimal function variant in trans Middleton et al. (2019)	13.8%
			F508del/F508del Heijerman et al. (2019)	10.4%

Table 3. Les modulateurs de CFTR actuellement sur le marché. Extrait de Mercier *et al.*, 2021²⁷¹. (ppFEV1 : percent-predicted forced expiratory volume in 1 sec ; m.o. : months old ; y.o. : years old)

Ivacaftor, le premier potentialisateur conçu pour cibler le variant G551D (le variant de classe III le plus répandu), a montré lors de l'essai clinique de phase 3 que les patients gagnent plus de 10 % de VEMS²⁸¹. L'ivacaftor a ensuite été validé pour d'autres variants de *CFTR* de classe III. Quelques années plus tard, des modulateurs ciblant le variant le plus fréquent de *CFTR*, F508del, sont apparus. L'association du correcteur lumacaftor et du potentiateur ivacaftor a été approuvée pour les patients F508del homozygotes mais a montré une amélioration limitée du VEMS. De nouveaux correcteurs et de nouvelles combinaisons ont été développés par la suite, ayant des effets plus importants sur le gain de VEMS et permettant de traiter les patients porteurs d'un seul variant F508del (**Table 3**). La dernière combinaison (elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor) a en effet montré des résultats impressionnants avec une augmentation de 14 % du VEMS^{279,282}. Même si le niveau d'augmentation de la fonction pulmonaire reste la principale mesure de l'efficacité du traitement, ces modulateurs se sont également révélés bénéfiques pour d'autres paramètres cliniques, notamment l'augmentation de l'indice de masse corporelle, l'amélioration de la qualité de vie et la diminution de la fréquence des exacerbations²⁸³.

Au total, en fonction de leur âge et de leur génotype, environ 80 % des patients recensés dans le registre des patients de la *Cystic Fibrosis Foundation* sont éligibles aux modulateurs de *CFTR* (<https://www.cff.org/Research/Researcher-Resources/Patient-Registry/>). Selon ce registre, 10 % des patients sont encore trop jeunes pour être éligibles aux modulateurs de *CFTR* ; et les 10 % restants sont soit porteurs de variants de *CFTR* dont la réponse aux modulateurs est encore inconnue, soit ayant un génotype inconnu ou incomplet. Parmi ces patients, on a estimé que 7 % pourraient avoir besoin de thérapie génique.

Dans cette nouvelle ère prometteuse, d'autres préoccupations subsistent. Par exemple, il est important de noter que le recul concernant ces nouveaux traitements est limité, ce qui rend difficile l'évaluation de leur efficacité et de leur tolérance à long terme. Selon les politiques nationales de santé, le coût de ces traitements pourrait également constituer un obstacle à leur accès pour tous les patients atteints de mucoviscidose. Enfin, comme le montre une récente étude rétrospective, parmi 845 patients ayant commencé le traitement lumacaftor/ivacaftor, 22,8 % l'ont totalement ou temporairement interrompu, principalement en raison d'effets indésirables respiratoires²⁸⁴. Ces effets indésirables pourraient donc limiter le nombre total de patients pouvant bénéficier de ces traitements.

La dernière génération de modulateurs, la trithérapie, elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor, a donné des résultats impressionnants, ce qui nous amène à nous interroger sur la pertinence de la poursuite des recherches sur la thérapie génique dans la mucoviscidose.

b) Thérapie génique

La thérapie génique consiste à introduire un gène fonctionnel dans les cellules hôtes pour remplacer un gène défectueux. En théorie, cela pourrait parfaitement répondre aux besoins d'une maladie monogénique comme la mucoviscidose et pourrait conduire à un traitement universel pour les patients atteints de mucoviscidose. Johnson et ses collègues ont pu montrer en 1992 que 6 à 10 % des cellules corrigées pour CFTR sont suffisantes pour observer un effet fonctionnel *in vitro*²⁸⁵. Nous pouvons ainsi imaginer que la correction de toutes les cellules bronchiques d'un patient mucoviscidosique n'est peut-être pas nécessaire afin d'observer le même effet *in vivo*.

Cependant, la course au traitement de la mucoviscidose par la thérapie génique s'est avérée plus difficile que prévu jusqu'à présent.

Le poumon représente un organe de choix pour l'administration de traitements spécifiques aux organes en raison de sa facilité d'accès. Par conséquent, l'administration par aérosol a été largement utilisée dans les précédents essais cliniques de thérapie génique pulmonaire, comme l'ont examiné Resnier *et al.*²⁸⁶. Cependant, la difficulté majeure rencontrée lors de ces essais est la délivrance du gène dans les cellules épithéliales des voies respiratoires. En effet, le mucus, la clairance mucociliaire et les réponses immunitaires pulmonaires compliquent l'entrée de l'agent de transfert de gènes dans les cellules cibles, et les rares qui y parviennent rencontrent un nouvel obstacle : la membrane nucléaire²⁸⁷⁻²⁹⁰. De plus, comme l'épithélium des voies respiratoires se renouvelle progressivement, un autre défi est de cibler les cellules progénitrices pour obtenir un traitement permanent et éviter les interventions répétées nécessaires²⁹¹.

Un an seulement après la découverte du rôle du gène *CFTR* dans la mucoviscidose en 1989⁸⁶⁻⁸⁸, deux groupes ont montré de manière indépendante qu'il était possible de produire une protéine CFTR fonctionnelle en utilisant un vecteur viral pour introduire le gène complet *in vitro*^{292,293}. Cette preuve de concept a ouvert la voie aux premiers essais cliniques de thérapie génique de la mucoviscidose. Pour introduire efficacement un gène *CFTR* normal dans les cellules, diverses stratégies d'administration ont été mises au point au cours des trois dernières

décennies, y compris des systèmes de vecteurs viraux et non viraux, récemment revus en détail ^{271,294–296}.

À ce jour, les essais cliniques de la thérapie génique de la mucoviscidose n'ont pas été concluants. En effet, les résultats de ces essais ont souvent permis d'observer un faible impact sur la fonction pulmonaire des patients et ce, associé à d'importantes réponses immunitaires pouvant rendre le traitement inefficace. En outre, comme mentionné précédemment, le récent développement de médicaments efficaces tels que la trithérapie, a donné naissance à l'idée que "la mucoviscidose est presque guérie". Cependant, les médicaments actuellement sur le marché ne s'adressent pas à tous les patients, laissant près de 10 % des patients atteints de mucoviscidose sans traitement curatif, comme le souligne le registre des patients de la CFF.

Au cours des 20 dernières années, la thérapie génique a donné de bons résultats, transitoires ou permanents, pour plusieurs maladies, telles que le déficit immunitaire combiné sévère lié à l'X ²⁹⁷, le déficit en adénosine désaminase ²⁹⁸, l'amaurose congénitale de Leber ²⁹⁹, l'hémophilie ³⁰⁰, la bêta-thalassémie sévère ^{301,302}, mais aussi la maladie de Parkinson ³⁰³ ou la leucémie, dont 27 enfants sont en rémission complète après traitement ³⁰⁴. En 2012, le premier traitement par thérapie génique virale a été approuvé en Europe pour le traitement du déficit en lipoprotéine lipase ³⁰⁵ et a donné de bons résultats même des années plus tard ³⁰⁶. Récemment, la thérapie génique a également montré des résultats prometteurs dans le cadre du traitement de la neuropathie optique héréditaire de Leber en améliorant la vision bilatérale des patients sur 96 semaines de suivi après une injection intravitréenne unilatérale ³⁰⁷. Ces essais fructueux ont été réalisés sur des cellules souches hématopoïétiques facilement accessibles ou par des injections de vecteurs directement au sein de tissus spécifiques. Ces modes d'administration ne sont actuellement pas applicables dans le cadre de la mucoviscidose, ce qui peut expliquer l'échec des précédents essais de thérapie génique par rapport à d'autres maladies.

En plus de la stratégie d'administration du gène *CFTR* de type sauvage, l'édition du gène *CFTR* par la technologie CRISPR/Cas9 est apparue comme une option thérapeutique prometteuse pour les patients atteints de mucoviscidose ³⁰⁸. De nouvelles stratégies sont également testées dans le cadre d'essais en cours, tels que l'essai clinique de phase I/II RESTORE-CF (<http://ClinicalTrials.gov> Identifiant: NCT03375047), qui évalue la sécurité et la tolérance de MRT5005, une thérapie à base d'ARN. La thérapie à base d'ARN présente l'avantage de ne pas perturber le génome, mais elle nécessite des administrations répétées²⁷¹.

Une autre stratégie prometteuse consiste à combiner la thérapie génique avec des cellules souches pluripotentes (iPSC) : on parle alors de thérapie cellulaire. À titre de preuve de concept, Hawkins *et al.* ont récemment réussi à dériver des cellules basales des voies respiratoires à partir de iPSC humaines, à effectuer une xénogreffe trachéale chez des souris immunodéprimées, et à générer un épithélium ayant une structure et une composition similaires à celles des voies respiratoires *in vivo*³⁰⁹. L'objectif à long terme est d'obtenir une génération *de novo* de toute la diversité des cellules pulmonaires et de créer des tissus pulmonaires transplantables, qui pourraient être corrigés par thérapie génique et transplantés directement dans les poumons de patients atteints de mucoviscidose³¹⁰.

La piste de la thérapie génique comme traitement universel de la mucoviscidose semble encore avoir un bel avenir devant elle.

Toutefois, bien que la mucoviscidose soit une maladie monogénique, les variants génétiques de *CFTR* n'expliquent pas à eux seuls les différentes sévérités des manifestations de la maladie chez les patients mucoviscidosiques.