HAL
open science

Antagonistes du récepteur CRTH2 et asthme allergique

Laetitia Pouzol

To cite this version:

Laetitia Pouzol. Antagonistes du récepteur CRTH2 et asthme allergique. Sciences pharmaceutiques. 2010. hal-01732606

HAL Id: hal-01732606

https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732606v1

Submitted on 14 Mar 2018

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

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

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

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

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

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

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY I

2010

FACULTE DE PHARMACIE DE NANCY

Antagonistes du récepteur CRTH2 et asthme allergique.

THESE

Présentée et soutenue publiquement

le 08 Novembre 2010

pour obtenir

le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie

par **Laetitia POUZOL**
née le 10 Novembre 1985 à Toulouse (31)

Membres du Jury

Président : Madame Isabelle LARTAUD, Professeur de Pharmacologie, Faculté de Pharmacie – Nancy Université.

Juges : Madame Nelly FROSSARD, Directeur de recherche INSERM, Laboratoire d'Innovation thérapeutique, Faculté de Pharmacie – Strasbourg Université.

Monsieur François MARCHAL, Professeur de Physiologie et Praticien Hospitalier, Service d'explorations fonctionnelles pédiatriques, Hôpital d'Enfants, Vandoeuvre.

Monsieur François DUPUIS, Maître de conférences de Pharmacologie, Faculté de Pharmacie – Nancy Université.

UNIVERSITÉ Henri Poincaré, NANCY 1
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2010-2011

DOYEN
Francine PAULUS
Vice-Doyen
Francine KEDZIEREWICZ
Président du Conseil de la Pédagogie
Bertrand RIHN
Commission de la Recherche
Christophe GANTZER
Mobilité ERASMUS et Communication
Francine KEDZIEREWICZ
Hygiène Sécurité
Laurent DIEZ

Responsable de la filière Officine : Francine PAULUS

Responsables de la filière Industrie : Isabelle LARTAUD,
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable du Collège d'Enseignement : Pharmaceutique Hospitalier Jean-Michel SIMON

DOYEN HONORAIRE
Chantal FINANCE
Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES
Jeffrey ATKINSON
Marie-Madeleine GALTEAU
Gérard SIEST
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES
Roger BONALY
Thérèse GIRARD
Maurice HOFFMANN
Michel JACQUE
Lucien LALLOZ
Pierre LECTARD
Vincent LOPPINET
Marcel MIRJOLET
François MORTIER
Maurice PIERFITTE
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES
Monique ALBERT
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Andrée IMBS
Marie-Hélène LIVERTOUX
Jean-Louis MONAL
Dominique NOTTER
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ASSISTANT HONORAIRE
Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

ENSEIGNANTS

PROFESSEURS

Gilles AULAGNER .....Pharmacie clinique
Alain BAGREL .....Biochimie
Jean-Claude BLOCK .....Santé publique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON .....Pharmacologie cardiovasculaire
Chantal FINANCE .....Virologie, Immunologie
Pascale FRIANT-MICHEL.....Mathématiques, Physique, Audioprothèse
Christophe GANTZER .....Microbiologie environnementale
Max HENRY .....Botanique, Mycologie
Jean-Yves JOUZEAU .....Bioanalyse du médicament
Pierre LABRUDE .....Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile
Isabelle LARTAUD .....Pharmacologie cardiovasculaire
Dominique LAURAIN-MATTAR.....Pharmacognosie
Brigitte LEININGER-MULLER .....Biochimie
Pierre LEROY .....Chimie physique générale
Philippe MAINCENT .....Pharmacie galénique
Alain MARSURA .....Chimie thérapeutique
Patrick MENU .....Physiologie
Jean-Louis MERLIN.....Biologie cellulaire oncologique
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS .....Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN .....Biochimie, Biologie moléculaire
Jean-Michel SIMON .....Economie de la santé, législation pharmaceutique

MAITRES DE CONFÉRENCES

Sandrine BANAS .....Parasitologie
Mariette BEAUD .....Biologie cellulaire
Emmanuelle BENOIT .....Communication et santé
Isabelle BERTRAND.....Microbiologie environnementale
Michel BOISBRUN .....Chimie thérapeutique
François BONNEAUX .....Chimie thérapeutique
Ariane BOUDIER .....Chimie Physique
Cédric BOURA .....Physiologie
Igor CLAROT .....Chimie analytique
Joël COULON.....Biochimie
Sébastien DADE .....Bio-informatique
Dominique DECOLIN .....Chimie analytique
Roudayna DIAB.....Nanotechnologies pharmaceutiques
Béatrice DEMORE.....Pharmacie clinique
Joël DUCOURNEAU .....Biophysique, audioprothèse, acoustique
Florence DUMARCAY.....Chimie thérapeutique
François DUPUIS.....Pharmacologie
Raphaël DUVAL .....Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE ……..Hématologie - Génie Biologique
Adel FAIZ .....Biophysique-acoustique

Luc FERRARI .....Toxicologie
Caroline GAUCHER DI STASIO.....Expertise biopharmacologique
Stéphane GIBAUD .....Pharmacie clinique
Thierry HUMBERT .....Chimie organique
Frédéric JORAND .....Santé et environnement
Olivier JOUBERT.....Toxicologie, sécurité sanitaire
Francine KEDZIEREWICZ .....Pharmacie galénique
Alexandrine LAMBERT .....Informatique, Biostatistiques
Faten MERHI-SOUSSI.....Hématologie biologique
Christophe MERLIN .....Microbiologie environnementale et moléculaire
Blandine MOREAU .....Pharmacognosie
Maxime MOURER .....Pharmacochimie supramoléculaire
Francine PAULUS .....Informatique
Christine PERDICAKIS .....Chimie organique
Caroline PERRIN-SARRADO .....Pharmacologie
Virginie PICHON .....Biophysique
Anne SAPIN.....Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER .....Mycologie, Botanique
Nathalie THILLY .....Santé publique
Gabriel TROCKLE .....Pharmacologie
Marie-Noëlle VAULTIER .....Biodiversité végétale et fongique
Mohamed ZAIOU .....Biochimie et Biologie moléculaire
Colette ZINUTTI .....Pharmacie galénique

ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES

Marie SOCHA.....Pharmacie clinique
Julien PERRIN.....Hématologie

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER .....Sémiologie

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD .....Anglais

Bibliothèque Universitaire Santé - Lionnois (Pharmacie - Odontologie)

Anne-Pascale PARRET..... Directeur

SERMENT DES APOTHICAIRES

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

> **D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**
>
> **D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**
>
> **De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer tout d'abord mes remerciements aux membres du Jury qui ont accepté d'évaluer mon travail de thèse.

A Madame Isabelle Lartaud,

Professeur de Pharmacologie, Responsable de la filière Industrie à la Faculté de Pharmacie de Nancy,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence et la direction de cette thèse. Pour l'enseignement dont j'ai eu le privilège de bénéficier au cours de mon cursus, pour votre pédagogie, votre disponibilité pour mon encadrement.

Je vous adresse ici l'expression de ma plus haute considération.

A Madame Nelly Frossard

Directeur de recherche INSERM, Laboratoire d'Innovation thérapeutique, Faculté de Pharmacie à Strasbourg.

Je vous remercie pour l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de juger ce travail ainsi que pour vos remarques et suggestions lors de la lecture de ce manuscrit.

A Monsieur François Marchal,

Professeur de Physiologie et Praticien hospitalier, Service d'exploration fonctionnelle pédiatriques, Hôpital d'Enfants, Vandoeuvre,

Vous m'avez fait le plaisir de vous intéresser à ce sujet de thèse et d'accepter de vous joindre au jury en tant que spécialiste. Je vous adresse toute ma gratitude et suis honorée de votre présence.

A Monsieur François Dupuis

Maître de conférences de Pharmacologie à la Faculté de Pharmacie de Nancy,

Pour m'avoir inculqué les bases de mon métier, pour votre sympathie et votre bonne humeur. Vous avez accepté de juger cette thèse. Veuillez trouver ici l'expression de mes plus vifs remerciements.

Je tiens aussi à remercier ma famille, particulièrement mes parents qui m'ont guidé et soutenu dans cette voie.

Je profite aussi de cette occasion pour remercier William de sa présence et de son soutien lorsqu'il a fallu faire des choix. Je ne regrette rien. Je te dédie cette thèse.

Je remercie mes amis et particulièrement Sophie, Carole, Joséphine et Amélie qui ont été présentes tout au long de ces années d'études et avec qui j'ai partagé et je partage toujours de très bons moments.

Je remercie enfin toutes les personnes d'Actelion Ltd et particulièrement Sylvie Froidevaux et Jeremy Scherer avec qui je travaille, sans qui, rien n'aurait été possible. Un grand merci pour m'avoir apporté votre aide, vos connaissances et bien sûr pour votre bonne humeur.

SOMMAIRE

Abréviations 12

Table des illustrations 14

INTRODUCTION 14

PARTIE I : ALLERGIE ET ASTHME 17

I) L'allergie 18

1.1 Historique 18

1.2 Hypersensibilité immédiate et retardée 18

II) L'asthme 21

2.1 Définition 21

2.2 Epidémiologie 23

2.3 Etiologie 24

2.3.1 Facteurs de risques endogènes 24

A) Le terrain atopique 24

B) Prédisposition génétique 25

C) Prédisposition Hormonale 25

D) Obésité 25

2.3.2 Facteurs de risques exogènes 26

A) Les allergènes 26

B) La pollution atmosphérique 27

C) Le tabagisme 27

D) Infections virales 28

2.4 Principales anomalies sur le plan physiopathologique de l'asthme 28

2.4.1 L'inflammation bronchique chronique 28

2.4.2 Remodelage des voies aériennes 29

2.4.3 Hyperréactivité bronchique (HRB) 29

2.5 Mécanismes immunologiques de l'asthme 30

2.5.1 Phase précoce 31

2.5.2 Phase tardive 31

2.6 Les principaux acteurs 32

2.6.1 Les médiateurs de l'inflammation 32

2.6.2 Les immunoglobulines E 33

2.6.3 Les cellules impliquées dans le mécanisme allergique 34

A) Les lymphocytes 34

B) Les cellules dendritiques 37

C) Les mastocytes 39

D) Les polynucléaires éosinophiles 40

2.6.4 Les cytokines 42

A) Cytokines Th2 43

B) Cytokines Th1 46

C) Autres cytokines 47

2.7 Les modèles animaux d'asthme 48

2.8 Traitement de l'asthme : classes thérapeutiques disponibles 50

2.8.1 Traitement anti-inflammatoire de l'asthme 51

A) Les corticostéroïdes inhalés (CSI) 51
B) Les antileucotriènes 52
C) Les cromones 53
D) Théophylline et dérivés 53
E) Antihistaminiques H1 54
2.8.2 Traitement bronchodilatateur dans l'asthme 55
A) Les β_2 stimulants 55
B) Anticholinergiques antiasthmatiques 56
2.8.3 Autres : anti-IgE 57
2.9 Prise en charge thérapeutique 57
2.9.1 Education thérapeutique et contrôle environnemental 57
2.9.2 Stratégie thérapeutique 57

PARTIE II : LA PROSTAGLANDINE D_2: EFFICACITE DES ANTAGONISTES DU CRTH2 DANS L'ASTHME ? 61

I) La Prostaglandine D_2 62
1.1 Métabolisme de la PGD_2 62
1.2 Effets de la PGD_2 dans l'asthme 63
1.3 Récepteur DP1 : rôles et implications dans l'asthme 64
1.4 Récepteur CRTH2 : rôles et implications dans l'asthme 66

II) Revue des études pré-cliniques in vivo et cliniques impliquant des antagonistes du récepteur CRTH2 69
2.1 Résultats d'études pré-cliniques chez l'animal 69
2.2 Etudes cliniques en cours avec des antagonistes du récepteur CRTH2 70
2.2.1 Rappel sur les phases de développement clinique 70
2.2.2 Revue des différents composés en développement clinique 71

CONCLUSION 74

BIBLIOGRAPHIE 76

Abréviations

AC : Adenylate cyclase

Ag : Antigène

Alum : Hydroxyde d'aluminium

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CPA : Cellule présentatrice d'antigène

CD : Marqueur de différentiation

COX : Cyclooxygénase

CRTH2 : Chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on Th2 cells

CSI : Corticostéroïdes inhalés

CVF : Capacité vitale forcée

DEP: Débit expiratoire de pointe

DK-PGD2 : 13,14-dihydro-15-keto-PGD_2

DP1 : D prostanoid receptor

ESPS : Enquête santé et protection sociale

FEV1 : Forced expired volume in 1 seconde

GINA : Global initiative for asthma

GM-CSF: Granulocyte macrophage-colony stimulating factor

HRB : Hyperréactivité bronchique

INFγ : Interféron γ

IgE : Immunoglobuline E

IL : Interleukine

ISAAC : International study for asthma and allergies in childhood

It : Intratrachéale

Iv : Intraveineuse

LBA : Lavage bronchoalvéolaire

NANC : Non adrénergique, non cholinergique

NK : Natural killer

NO : Monoxyde d'azote

OMS : Organisation mondiale de la santé

OVA : Ovalbumine

PAF : Facteur d'activation plaquettaire

PCR : Protéine C réactive

PDE4 : Phosphodiestérase de type 4

PGD_2 : Prostaglandine D_2

PGDS : Prostaglandine D synthase

PKA : Protéine kinase A

PKG : Protéine kinase G

PLA2 : Phospholipase A2

RANTES : Regulated upon activation in normal T cells expressed and secreted

RCPG: Récepteur couplé aux protéines G

TCR : T-cell receptor

Th : T helper

TNF-α : Tumor necrosis factor-α

VEMS : Volume Expiratoire Maximal par Seconde

VIP : Vasoactive intestinal peptide

Table des illustrations

Liste des figures :

Figure 1 : Mécanismes immunologiques impliqués dans le phénomène d'hypersensibilité immédiate. **20**

Figure 2 : Représentation de l'état des bronches et symptômes observés chez un sujet asthmatique. **22**

Figure 3 : Développement de 2 phases distinctes : précoce et tardive chez un individu sensibilisé en réponse à l'allergène..... **32**

Figure 4 : La structure de l'IgE..... **33**

Figure 5 : Photographie d'un lymphocyte issu d'un frottis sanguin humain **35**

Figure 6 : Différentiation Th1 et Th2. ..... **37**

Figure 7 : Une cellule dendritique au repos (à gauche) et activée (à droite)..... **38**

Figure 8 : Exemple de coloration à l'éosine d'un frottis sanguin montrant un éosinophile. **40**

Figure 9 : Voie de synthèse de la prostaglandine D_2 (PGD_2). **63**

Figure 10 : Rôle de la PGD_2 dans l'inflammation allergique *via* son récepteur CRTH2 ..... **68**

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Classification de la sévérité de l'asthme. **23**

Tableau 2 : Les sources d'allergènes les plus fréquemment rencontrées. **27**

Tableau 3 : Principales cytokines impliquées dans l'asthme allergique. **43**

Tableau 4 : Exemples de modèles animaux d'asthme..... **50**

Tableau 5 : Niveaux de contrôle de l'asthme. **58**

Tableau 6 : Etapes successives de traitement basées sur le contrôle de l'asthme chez les adultes, adolescents et enfants de plus de 5 ans..... **59**

Tableau 7 : Résumé des principaux effets biologiques associés au récepteur DP1 de la PGD_2. ..... **65**

Tableau 8 : Résumé des principaux effets biologiques associés au récepteur CRTH2 de la PGD_2. ..... **66**

Tableau 9 : Revue des publications montrant une efficacité d'antagonistes du récepteur CRTH2 dans des modèles animaux d'asthme au 30 septembre 2010. ..... **69**

Tableau 10 : Antagonistes du récepteur CRTH2 en développement clinique au 31 décembre 2009. ..... **71**

INTRODUCTION

L'asthme est une maladie chronique inflammatoire des voies aériennes qui affecte 300 millions de personnes à travers le monde. Les traitements actuels de l'asthme sont relativement efficaces en particulier pour les formes légères et intermédiaires de l'asthme, cependant du fait de sa chronicité, l'asthme nécessite un traitement au long cours et pose ainsi un problème d'observance thérapeutique ou compliance. De plus, en France, selon les résultats issus de l'enquête santé et protection sociale 2006 (ESPS), près de 3 asthmatiques sur 10 se sentent limités dans leurs activités en comparaison à des personnes non malades. Les sujets asthmatiques sont plus nombreux à déclarer une dépression ainsi que des maladies allergiques, par rapport à des personnes non asthmatiques (Afrite *et al.*, 2008). Sur le plan clinique, cela nécessite de prendre en compte l'ensemble de ces symptômes afin de mettre en place une stratégie thérapeutique qui assure un niveau de contrôle adéquat de la maladie.

D'après le groupe Global Initiative for Asthma (GINA), moins de 50 % des asthmatiques ont recours à un traitement de fond. De plus, chez plus de la moitié des asthmatiques (6 sur 10), les symptômes sont insuffisamment contrôlés : partiellement dans 46% des cas et totalement dans 15% des cas (GINA, 2008).

Il existe donc un besoin pour de nouveaux traitements afin d'améliorer l'observance des patients, l'efficacité du traitement et la qualité de vie.

Cette recherche de nouveaux traitements implique une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques de cette maladie, notamment de l'inflammation, afin d'aider à la mise en évidence de nouvelles cibles thérapeutiques.

De nombreux axes de recherche sont actuellement étudiés, notamment des inhibiteurs sélectifs de phosphodiestérase intracellulaire, des inhibiteurs de certaines cytokines et chimiokines impliquées dans l'asthme, des inhibiteurs d'adhésion cellulaire, mais aussi, des antagonistes de récepteurs membranaires de médiateurs libérés par les mastocytes tels que la prostaglandine D_2 (PGD_2) (Barnes, 2004).

Le terrain atopique est le plus important des facteurs prédisposant à l'asthme puisque la prévalence de l'asthme augmente avec le taux d'immunoglobulines E (IgE) (Rotsides *et al.*, 2009). La PGD_2 est un prostanoïde majeur produit par les

mastocytes suite à une stimulation allergique. La liaison de la PGD_2 à son récepteur CRTH2 (Chemoattractant receptor homologous molecule expressed on Th2 cells) produit une cascade d'évènements qui est impliquée dans la pathogenèse de l'asthme. En effet, cette activation induit le recrutement de cellules inflammatoires telles que les lymphocytes Th2, les éosinophiles et les basophiles sur les sites de l'inflammation. De ce fait, l'inhibition du récepteur CRTH2 suscite de l'intérêt pour le traitement de maladies allergiques, telles que l'asthme allergique.

C'est dans ce contexte que s'inscrit mon travail bibliographique de thèse : après un bref rappel de ce qu'est l'allergie, nous étudierons la maladie asthmatique, son étiologie, les principaux acteurs impliqués sur le plan physiopathologique puis l'arsenal thérapeutique actuel. Dans un deuxième temps nous nous focaliserons sur le rôle de PGD_2 dans l'asthme et nous ferons la revue des différentes études pré-cliniques et cliniques dans lesquelles des antagonistes du CRTH2 ont montré une efficacité.

PARTIE I : ALLERGIE ET ASTHME

I) L'allergie

L'organisation mondiale de la santé (OMS) place les maladies allergiques au quatrième rang des fléaux mondiaux.

1.1 Historique

Le terme « allergie » du grec *allos* et *ergon*, designant « une autre façon (de répondre) » a été introduit en 1906 par Clemens Von Pirquet.

Auparavant, en 1902, deux savants français C. Richet (Prix Nobel en 1913) et P. Portier découvrirent fortuitement « l'anaphylaxie ». Après avoir inoculé une seconde injection de rappel d'actinies (anémones de mer) à un chien, celui-ci mourut dans les minutes suivant l'injection dans un tableau de collapsus convulsif. Cette constatation contraire à la « protection vaccinale » fut alors baptisée « anaphylaxie » (Portier et Richet, 1902).

Ces deux concepts « anaphylaxie » et « allergie » se sont trouvés confondus dans des pathologies diverses sous le terme général de « maladies allergiques ». En 1923, Coca et Cooke proposèrent un dernier terme l' « atopie » afin de qualifier la notion de terrain prédisposant aux maladies allergiques (Coca et Cooke, 1923).

Ainsi, ce domaine de l'allergie hérite d'une terminologie souvent confuse. Cependant, les progrès considérables apportés par l'immunologie ont permis de clarifier les idées sur la genèse des pathologies d'origine allergique.

En résumé, l'allergie désigne un état d'hypersensibilité c'est à dire une réponse immunitaire anormale, excessive de l'organisme à un agent auquel il est particulièrement sensible sous l'effet de multiples facteurs dont la génétique et l'environnement (David, 2003).

1.2 Hypersensibilité immédiate et retardée

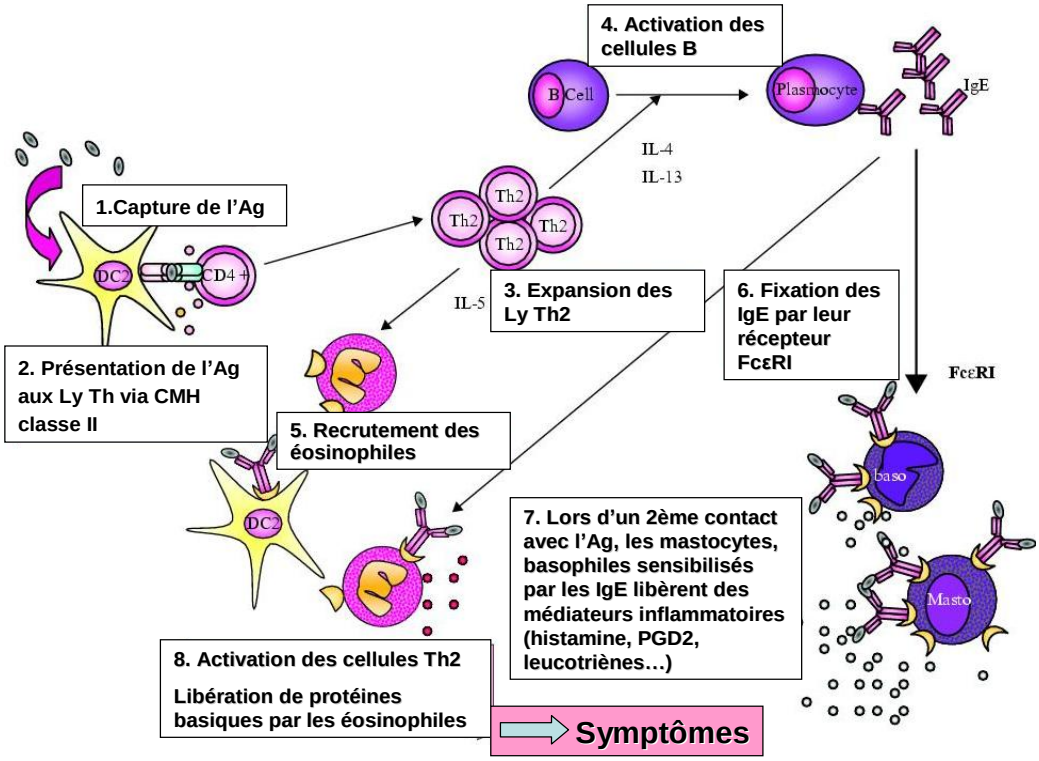
En 1963, Coombs et Gell ont défini quatre types d'hypersensibilité qui peuvent être isolés ou associés. Parmi ceux-ci, deux états représentent la quasi-totalité de l'expression pathologique de l'allergie : l'hypersensibilité immédiate, de type I et l'hypersensibilité retardée, de type IV.

L'hypersensibilité de type I ou allergie immédiate représente la forme d'allergie la plus commune. La réaction a lieu quelques minutes après un second contact avec un allergène chez une personne sensibilisée. Cette hypersensibilité implique la synthèse d'IgE spécifiques contre des allergènes et se déroule en deux phases : la sensibilisation et la réaction allergique (David et Boitard, 1996).

a) La première phase correspond à la production d'IgE spécifiques par les lymphocytes B. Les IgE produites localement se fixent sur des récepteurs de haute affinité sur les mastocytes environnants puis entrent dans la circulation où elles sensibilisent les basophiles circulants puis les mastocytes tissulaires de l'organisme entier. Cette première phase ne provoque aucun symptôme et peut rester longtemps silencieuse.

Le mécanisme conduisant à l'induction et la synthèse de ces IgE implique la participation de cellules présentant l'antigène (CPA) notamment les cellules dendritiques, de cellules T « helper » (Th) et la stimulation des cellules B productrices d'IgE. Ce mécanisme est sous le contrôle de commutation isotypique des anticorps par les cytokines, molécules qui jouent un rôle dans la communication intercellulaire (McCall et Hodgkin, 1999). L'orientation vers la synthèse d'IgE dépend essentiellement des interleukines (IL) 4 et 13. D'autres cytokines interviennent afin de moduler cette réponse, soit en l'amplifiant (IL-5 qui joue un rôle dans les processus d'activation, de survie des éosinophiles), soit en la diminuant (interféron γ ou INFγ, IL-12) (Bacharier et Geha, 2000).

b) Lors d'un 2ème contact avec l'allergène, les mastocytes et basophiles sensibilisés libèrent des médiateurs pharmacologiques (histamine, PGD_2, leucotriènes…) qui déclenchent une réaction inflammatoire intense responsable d'une pathologie telle qu'un asthme ou une rhinite (Holgate, 2000) **[Figure 1]**.



<u>Figure 1 :</u> Mécanismes immunologiques impliqués dans le phénomène d'hypersensibilité immédiate (figure adaptée de Mamessier et Magnan, 2006).
(1.) Dès qu'un antigène (Ag) pénètre dans l'organisme, il est pris en charge par les cellules dendritiques sentinelles. (2.) Celles-ci migrent au niveau des organes lymphoïdes et présentent l'allergène couplé aux molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) aux lymphocytes T CD4+. (3.) Dès qu'une cellule T naïve reconnait l'allergène, il y a expansion clonale et migration vers le lieu de l'inflammation. *In situ,* les cellules Th2 activées produisent des cytokines Th2 : (5.) IL-5 qui permet le recrutement et l'activation des éosinophiles ; (4.) IL-4 et IL-13 qui activent les lymphocytes B, ce qui entraîne la production d'IgE qui se fixent aux cellules de l'immunité non-spécifiques grâce (6.) à leur récepteur de haute affinité FcεR1. (7.) Lors d'un nouveau contact avec l'allergène, les IgE préalablement fixées aux cellules, capturent immédiatement l'allergène ce qui entraîne la libération des médiateurs inflammatoires présents dans les granules des mastocytes, des basophiles et des éosinophiles (8.), responsables des symptômes immédiats de l'allergie.

L'hypersensibilité de type IV, ou allergie retardée, ne fait pas intervenir d'anticorps, mais des mécanismes d'activation cellulaire. Elle est induite par des substances externes qui, après pénétration dans l'organisme, sensibilisent des lymphocytes. Après réintroduction de ces substances, les lymphocytes sensibilisés sont activés et provoquent une réaction cellulaire responsable de l'inflammation. En pathologie allergique, elle se caractérise surtout par l'hypersensibilité de contact, qui engendre une réaction eczémateuse (David, 2003).

Les trois quarts des maladies allergiques sont des affections respiratoires et se présentent sous deux formes : la rhinite et surtout l'asthme qui constitue la forme la plus grave.

II) L'asthme

2.1 Définition

L'asthme est une pathologie complexe définie par ses caractéristiques cliniques, physiologiques et pathologiques. Selon le groupe du GINA, « l'asthme est une maladie chronique inflammatoire des voies aériennes dans laquelle de nombreuses cellules et éléments cellulaires jouent un rôle. L'inflammation chronique cause une hyper-réactivité des voies aériennes qui conduit à des épisodes répétés de sifflements, dyspnée, oppression thoracique et toux, particulièrement la nuit ou au petit matin. Ces épisodes sont habituellement associés à une obstruction bronchique réversible spontanément ou sous traitement » (GINA, 2008).

L'inflammation bronchique est donc l'anomalie de base de l'asthme. Si elle n'est pas précocement et efficacement combattue, elle peut entraîner un remodelage des voies aériennes caractérisé par le dépôt de collagène sous la membrane basale, l'hypertrophie des cellules productrices de mucus, la perte des cellules épithéliales ciliées ainsi que l'hypertrophie et l'hyperplasie des cellules musculaires lisses (Chakir *et al*., 2003). Il en résulte une nouvelle anatomie bronchique qui génère une gêne à l'écoulement de l'air et une augmentation de l'Hyper-Réactivité Bronchique (HRB) **[Figure 2]**. Les symptômes observés peuvent être causés ou déclenchés par de nombreux facteurs endogènes ou exogènes. L'asthme allergique sur lequel cette thèse bibliographique est axée, est un asthme pour lequel les symptômes sont déclenchés par l'exposition à un allergène.

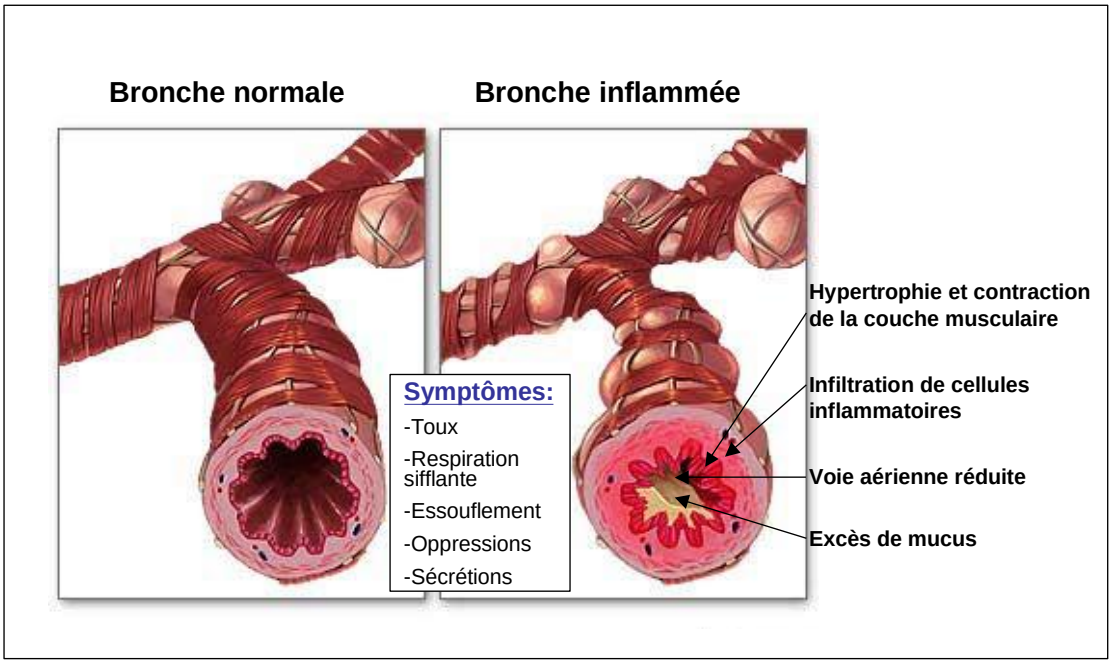


Figure 2 : Représentation de l'état des bronches et symptômes observés chez un sujet asthmatique.

Le diagnostic de l'asthme est souvent basé sur la présence de symptômes caractéristiques comme la toux, les épisodes d'obstruction bronchique et l'oppression thoracique. De plus, la mesure des fonctions respiratoires par spirométrie permet de conforter le diagnostic. Le test de spirométrie le plus important est la mesure de la Capacité Vitale Forcée (CVF) qui est une expiration forcée : le patient inspire profondément, puis expire le plus fort et le plus vite possible tout l'air de ses poumons dans le spiromètre. Pendant la première seconde de cette expiration forcée, un patient sain expire plus de 80% de sa capacité vitale. On définit ce paramètre comme étant le Volume Expiratoire Maximal par Seconde (VEMS) qui est un paramètre très important dans la spirométrie. Le débit d'air augmente très rapidement immédiatement après le départ du test de spirométrie : son maximum est le Débit Expiratoire de Pointe (DEP) qui représente l'expiration de l'air des grandes voies aériennes. Ces différents paramètres permettent d'évaluer la sévérité de la maladie.

Le consensus international de l'asthme (GINA) propose une classification de l'asthme régulièrement actualisée depuis 1995. Cette classification ne s'appuie pas sur l'étiologie de l'asthme qui est trop variable et parfois inconnue, mais sur une

graduation de la sévérité de la pathologie. Le GINA définit 4 degrés d'asthme en associant les caractères cliniques aux paramètres fonctionnels **[Tableau 1]**.

Tableau 1 : Classification de la sévérité de l'asthme (adapté du GINA, 2008)

1e Degré : Asthme Intermittent	
Caractères Cliniques : Manifestations intermittentes < 1 fois/semaine Crises courtes Asymptomatique entre les crises	**Caractères fonctionnels :** DEP ou VEMS : > 80% de la valeur théorique Variabilité < 20%
2e Degré : Asthme Léger permanent	
Caractères Cliniques : Manifestations intermittentes > 1fois/semaine mais < à 1 fois/jour Crises pouvant gêner l'activité ou le sommeil Manifestations nocturnes > 2 fois/mois	**Caractères fonctionnels :** DEP ou VEMS : > ou = à 80% de la valeur théorique Variabilité entre 20% - 30%
3e Degré : Asthme modéré permanent	
Caractères Cliniques : Manifestations quotidiennes Crises pouvant gêner l'activité ou le sommeil Manifestations nocturnes > 1 fois/semaine Utilisation et inhalation quotidienne de ß2-stimulant à action immédiate	**Caractères fonctionnels :** DEP ou VEMS : 60 - 80% de la valeur théorique Variabilité > 30%
4e Degré : Asthme sévère permanent	
Caractères Cliniques : Manifestations quotidiennes Crises fréquentes Manifestations nocturnes fréquentes Limitation des activités physiques	**Caractères fonctionnels :** DEP ou VEMS : < ou = à 60% de la valeur théorique Variabilité > 30%

2.2 Epidémiologie

Du fait de sa prévalence, de la sévérité des symptômes, de la mortalité associée et du poids économique généré, l'asthme représente un véritable problème de santé publique en France et à travers le monde. Cependant, le recueil des données

médicales sur l'asthme reste défaillant du fait de la complexité de cette maladie et par manque d'une définition précise. D'après les estimations de l'OMS, l'asthme atteint 300 millions de personnes dans le monde, soit 5% de la population mondiale et 250 000 personnes en sont décédées en 2005. Il s'agit de la maladie chronique la plus courante chez l'enfant et l'adolescent.

L'asthme n'est pas un problème de santé publique propre aux pays industrialisés. Néanmoins, dans l'ensemble de ces pays, comme la France, la prévalence de cette maladie augmente régulièrement passant de 5,8% en 1998 à 6,7% en 2006 (Bousquet *et al*., 2005).

Selon l'institut de recherche et documentation en économie de la santé, près de 7% de la population française souffre d'asthme en 2006. Globalement, il n'y a pas de différence selon le sexe mais il existe des variations lorsque l'âge est pris en compte. Par exemple, avant l'âge de 15 ans, l'asthme prédomine chez les garçons tandis qu'au delà de cet âge les femmes déclarent plus fréquemment de l'asthme que les hommes (Afrite *et al*., 2008). La mortalité est globalement stable en France depuis 1990, autour de 2000 décès annuels dont la moitié a moins de 65 ans, 600 étant des enfants (Salmeron, 2006).

2.3 Etiologie

L'asthme est un syndrome multifactoriel résultant d'interactions complexes entre des facteurs endogènes (génétiques…) et exogènes (environnementaux…). L'augmentation marquée de l'incidence de l'asthme au cours de ces dernières années pourrait résulter de modifications des facteurs environnementaux, ce qui en souligne l'importance.

2.3.1 Facteurs de risques endogènes

A) Le terrain atopique

L'atopie est l'aptitude à produire une quantité anormale d'IgE spécifiques dirigées contre des allergènes entrant en contact avec l'organisme. Le terrain atopique est le plus important des facteurs prédisposant à l'asthme puisque la prévalence de l'asthme augmente avec le taux d'IgE (Rotsides *et al.*, 2009). Ainsi, le risque de développer un asthme d'effort est multiplié par 9 à 13 chez des adultes présentant

des IgE spécifiques contre des antigènes saisonniers/perannuels (Brutsche *et al*., 1995).

Cependant, l'association asthme-atopie ne concerne qu'une fraction des sujets car la prévalence de l'atopie varie de 30 à 50% dans la population générale (Salmeron, 2006).

B) Prédisposition génétique

Le terrain génétique est un facteur essentiel de la maladie asthmatique. En effet, les enfants de parents asthmatiques et allergiques ont plus de chance de le devenir à leur tour comparé à des enfants de familles non allergiques (Busse et Lemanske, 2001 ; Duffy *et al*., 1998). De nombreuses études ont été effectuées dans différentes populations dans le but de trouver les éléments génétiques prédisposant à l'asthme allergique. Par exemple, certains polymorphismes que présentent le gène de l'IL-13 sont associés à l'asthme et l'allergie, ce qui pourrait expliquer pourquoi la réponse de type Th2 et la production d'IgE sont favorisées chez certaines personnes (Vercelli, 2002). Cependant, l'expression clinique de l'asthme est vraisemblablement dictée par l'interaction de plusieurs gènes dans des conditions environnementales particulières (Yang *et al.*, 2007). Actuellement, une douzaine de gènes sont déjà connus pour être impliqués dans la prédisposition à l'asthme (Székely et Pataki, 2009).

C) Prédisposition Hormonale

Certaines hormones favorisent ou diminuent le risque de développer de l'asthme. Par exemple, la progestérone augmenterait la production de cytokines de type Th2, notamment l'IL-4 et 5 par les lymphocytes CD4+ (Piccinni *et al.*, 1995). *In vivo*, il a été montré que cette hormone aggravait le développement d'un asthme allergique dans un modèle de souris (Mitchell et Gershwin, 2007). Cependant, à notre connaissance, aucune donnée claire ne permet de faire un lien entre taux élevé de progestérone (pendant la grossesse par exemple) et augmentation de l'incidence des crises d'asthme.

D) Obésité

Plusieurs études épidémiologiques ont permis de mettre en évidence une augmentation de la prévalence de l'asthme chez les personnes obèses (Camargo *et*

al., 1999 ; Chen *et al.*, 1993 ; Matricardi *et al.*, 2007) ainsi que chez des adultes présentant un poids élevé à la naissance (Shaheen *et al.*, 1999). Ce lien n'a pas encore été réellement élucidé et de nombreuses interrogations subsistent. Toutefois, plusieurs hypothèses ont été avancées : l'une étant que l'obésité induit une inflammation favorable au développement de l'asthme. En effet, des taux élevés de protéines C réactive (PCR), protéine caractéristique de l'inflammation, sont associés à l'obésité et aux cas d'asthme sévère (Michelson *et al*., 2009). De plus l'obésité est associée à une augmentation du stress oxydatif qui aurait pour conséquence de favoriser une inflammation au niveau des voies aériennes (Holguin et Fitzpatrick, 2010).

Il a également été suggéré que l'obésité réduirait la compliance pulmonaire c'est à dire la capacité du poumon à se distendre lors de la respiration. Cependant, il n'a pas été trouvé de corrélation entre ce paramètre et l'indice de masse corporelle (Surratt *et al.*, 1984).

2.3.2 Facteurs de risques exogènes

A) Les allergènes

Un allergène est une substance capable d'induire une synthèse d'IgE spécifiques dans certaines conditions environnementales, associées à des facteurs génétiques individuels. Il s'agit surtout de protéines de poids moléculaire compris entre 1,5 et 250 kilo daltons. La majorité des réactions allergiques se situe au niveau des voies aériennes supérieures et inférieures. Par conséquent, les sources d'allergènes les plus fréquemment responsables des sensibilisations respiratoires sont les pollens, les acariens, les animaux et les blattes (David *et al.*, 2003). La classification des allergènes repose sur leur voie de pénétration dans l'organisme : voie respiratoire (aéroallergènes), voie digestive (trophallergènes), voies variées (médicaments, venins d'insectes…) **[Tableau 2]**.

Grâce au développement de la biotechnologie, il a été mis en évidence que 51% des allergènes majeurs purifiés ou clonés étaient des protéines douées de propriétés enzymatiques comme par exemple Bla g2, un allergène présent dans les blattes (*Blattella germanica*) qui a une fonction de protéase (Dandeu *et al*., 1995). Ces enzymes ont pour la plupart une action irritante pour les tissus.

Tableau 2 : Les sources d'allergènes les plus fréquemment rencontrées (David, 2003).

Sources d'aéroallergènes :	- Pollens (50%) - Acariens (30%) - Animaux (15%) - Blattes - Moisissures - Latex (professionnel) - Produits chimiques
Sources de trophallergènes :	- Lait (enfant), œufs, arachide, poisson - Soja, fruits exotiques, épices
Divers :	- Venins d'hyménoptères - Médicaments (aspirine)

Contrairement aux toxines bactériennes et aux virus, les substances qui sont potentiellement des allergènes sont des molécules inoffensives pour les personnes non allergiques.

B) La pollution atmosphérique

D'autres facteurs environnementaux sont importants dans la progression et la sévérité de la maladie. Selon l'étude ISAAC (International Study for Asthma and Allergies in Childhood) réalisée en France, les enfants habitant dans des zones de pollution importante présentent 1,5 fois plus d'asthme que les autres (Annesi-Maesano *et al*., 2009). Pourtant, la pollution atmosphérique à polluants acido-particulaires a diminué ces dernières années du fait d'une réglementation mise en place dans les pays industrialisés. Toutefois, l'émission de polluants photochimiques tels que l'ozone et le dioxyde d'azote n'a pas cessé d'augmenter du fait de l'amplification du trafic automobile. Ces derniers polluants jouent un rôle important dans l'exacerbation de l'asthme (Viegi et Baldacci, 2002).

C) Le tabagisme

Chez l'asthmatique, le tabac joue un rôle de cofacteur dans le déclenchement d'une crise d'asthme. La fumée de cigarette provoque une inflammation des voies

aériennes. En effet, elle est capable d'augmenter la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1, 6, 8, Tumor Necrosis Factor-α (TNF-α) et de diminuer le taux de cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10. Le tabagisme induit également une augmentation des IgE sériques et par conséquent favorise le développement de l'asthme (Arnson *et al*., 2009). Enfin, plusieurs études épidémiologiques indiquent une augmentation du risque de développement d'un asthme chez les enfants nés de mères fumeuses (Collins *et al*., 1985 ; Magnusson, 1986).

D) Infections virales

Les infections virales du tractus respiratoire (virus grippal, respiratoire syncytial, rhinovirus) constituent un facteur aggravant l'asthme et sont en cause dans près de 80% des exacerbations chez l'enfant (Friedlander et Busse, 2005). Ces aggravations répondent peu aux traitements habituels de l'asthme.

Paradoxalement, les infections virales au cours de l'enfance semblent être un facteur protecteur contre l'asthme et les autres maladies allergiques (Martinez, 1994). Ceci rejoint la théorie hygiéniste qui postule que le risque plus élevé d'asthme dans les pays développés pourrait être dû à une réduction des contacts avec des agents infectieux au cours de l'enfance du fait de l'augmentation du niveau d'hygiène des populations et des vaccinations (Strachan, 1989).

2.4 Principales anomalies sur le plan physiopathologique de l'asthme

L'asthme est une maladie inflammatoire des voies aériennes qui implique de nombreuses cellules inflammatoires en particulier les mastocytes, les éosinophiles et les lymphocytes T. Sur un terrain particulier, cette inflammation entraîne une hyperréactivité bronchique ainsi qu'un remodelage des voies aériennes.

2.4.1 L'inflammation bronchique chronique

L'inflammation bronchique est une caractéristique commune à toutes les formes d'asthme. Elle affecte l'ensemble des voies aériennes ainsi que les voies respiratoires supérieures mais ses effets physiopathologiques sont plus prononcés au niveau des bronches de taille moyenne (Cohn *et al*., 2004). Sa chronicité implique le fait qu'il persiste de nombreux stigmates même en l'absence de symptômes. Cette

inflammation met en jeu des cellules inflammatoires ainsi que des médiateurs cellulaires et humoraux de l'inflammation.

2.4.2 Remodelage des voies aériennes

Le remodelage des voies aériennes chez l'asthmatique est variable selon le degré de sévérité de l'asthme. Ces modifications structurales sont caractérisées morphologiquement par une destruction irrégulière de l'épithélium accompagnée d'une augmentation de l'espace situé entre les cellules épithéliales basales, une hypertrophie du muscle lisse, une hypertrophie des cellules glandulaires associée à une hypersécrétion de mucus et une fragmentation des fibres d'élastine du tissu conjonctif (Busse *et al*., 1999). Un épaississement de la membrane basale, caractérisé par un dépôt de collagène et multiplication du nombre des myofibroblastes, est également observé chez les patients asthmatiques (Brewster *et al*., 1990). Ceci est probablement dû à l'activation de ces cellules mésenchymateuses par les médiateurs produits par les différentes cellules inflammatoires qui infiltrent la muqueuse bronchique (Kariyawasam et Robinson, 2007) ainsi que par les cellules épithéliales bronchiques qui sécrètent de nombreuses cytokines pro-inflammatoires (Aubier, 2003).

L'ensemble de ces remaniements structuraux observés chez les asthmatiques est probablement la conséquence de la répétition de cycles de lésions et de réparations (Wang *et al.*, 2003).

2.4.3 Hyperréactivité bronchique (HRB)

L'inflammation de la muqueuse bronchique s'accompagne sur le plan fonctionnel d'une aggravation de l'HRB.

Le muscle lisse bronchique est l'effecteur principal de la réactivité bronchique, c'est-à-dire de la capacité de se contracter afin de réduire le diamètre des voies aériennes en réponse à un stimulus. L'HRB est une caractéristique majeure de l'asthme et se traduit par une augmentation de la sensibilité des voies aériennes à différents stimuli exogènes. En effet, le muscle lisse de l'arbre bronchique se contracte plus intensément en réponse à un stimulus donné comparé à la réponse obtenue chez des individus sains. Cet état n'est pas spécifique de l'asthme, mais la

quasi-totalité des patients asthmatiques présentent une HRB (Busse et Lemanske, 2001).

Plusieurs mécanismes sont susceptibles de l'expliquer, notamment des anomalies au niveau du muscle lisse bronchique comme l'hypertrophie musculaire qui entraîne un rétrécissement des voies aériennes plus important pour un stimulus donné (Wang *et al.*, 2003). Le muscle lisse des voies aériennes possède des récepteurs membranaires qui peuvent être stimulés par les médiateurs de l'inflammation. L'HRB pourrait également être expliquée par des anomalies au niveau des voies nerveuses impliquées dans la régulation de la broncho-motricité.

Ces voies font intervenir :

- le système cholinergique constituant la commande bronchoconstrictrice principale par interaction de l'acétylcholine avec les récepteurs muscariniques (sous-type M3 au niveau du muscle lisse) ;
- le système adrénergique qui est peu représenté excepté par les récepteurs β-adrénergiques (β_2) sur lesquels les catécholamines ont un effet bronchodilatateur (Marthan, 2003) ;
- le système non adrénergique, non cholinergique (NANC) qui selon les neuropeptides a une action bronchoconstrictrice (tachykinines) ou une action inhibitrice relaxante (Vasoactive intestinal peptide ou VIP, monoxyde d'azote ou NO) (Ellis et Undem, 1994).

Ainsi, des anomalies de ces systèmes pourraient être en cause dans l'HRB par augmentation du système excitateur (cholinergique, NANC excitateur) ou par diminution du système inhibiteur (β_2-adrénergiques, NANC inhibiteur).

Les mécanismes menant à l'HRB ne sont pas totalement élucidés et il existe une variabilité des anomalies d'un sujet asthmatique à l'autre, ce qui augmente la complexité de cette pathologie.

2.5 Mécanismes immunologiques de l'asthme

L'asthme allergique est une maladie inflammatoire qui se caractérise par l'implication d'IgE spécifiques à un allergène et la liaison avec le mastocyte. Le

modèle classique de la réaction asthmatique se produit en deux phases distinctes **[Figure 3]**.

2.5.1 Phase précoce

La phase précoce est une réaction de bronchoconstriction aigüe qui apparaît dans les minutes suivant l'inhalation de l'allergène. Elle ne dure qu'environ 30 minutes et peut disparaître spontanément ou avec l'utilisation de bronchodilatateur. Cette phase est associée à la dégranulation des mastocytes sensibilisés par les IgE spécifiques de l'allergène. Ils libèrent leur contenu en médiateurs préformés broncho-actifs comme l'histamine qui entraîne une vasodilatation, caractéristique du mécanisme inflammatoire et qui exerce des effets constricteurs sur les fibres musculaires lisses.

Cette activation est essentielle à la seconde phase. En effet, si la dégranulation des mastocytes est neutralisée, la phase retardée est alors abolie (Galli et Costa, 1995). Des essais cliniques avec des anticorps monoclonaux anti-IgE ont également démontré que ce type d'Ig est essentiel à l'initiation de la réponse inflammatoire observée dans l'asthme (Holgate *et al*., 2009).

2.5.2 Phase tardive

La dégranulation des mastocytes est suivie de près par la synthèse de médiateurs tels que les leucotriènes et les prostaglandines qui sont issus du métabolisme des phospholipides membranaires. Ces médiateurs jouent un rôle dans l'afflux local et l'activation des cellules effectrices secondaires elles-mêmes sensibilisées par les IgE, notamment les éosinophiles.

Les médiateurs et facteurs pro-inflammatoires libérés par ces cellules sont à l'origine de la phase tardive : une seconde phase de bronchoconstriction qui survient 6 à 12 heures après la réaction initiale. Elle est observée chez environ 50% des asthmatiques. Cette réaction tardive inflammatoire qui peut durer plusieurs jours, est responsable d'un œdème, d'une hyperhémie de la muqueuse des voies respiratoires, d'exsudats et d'une destruction tissulaire pouvant conduire au remodelage de la paroi bronchique. La production des cytokines de type Th2 est corrélée avec la sévérité des symptômes (Busse et Lemanske, 2001).

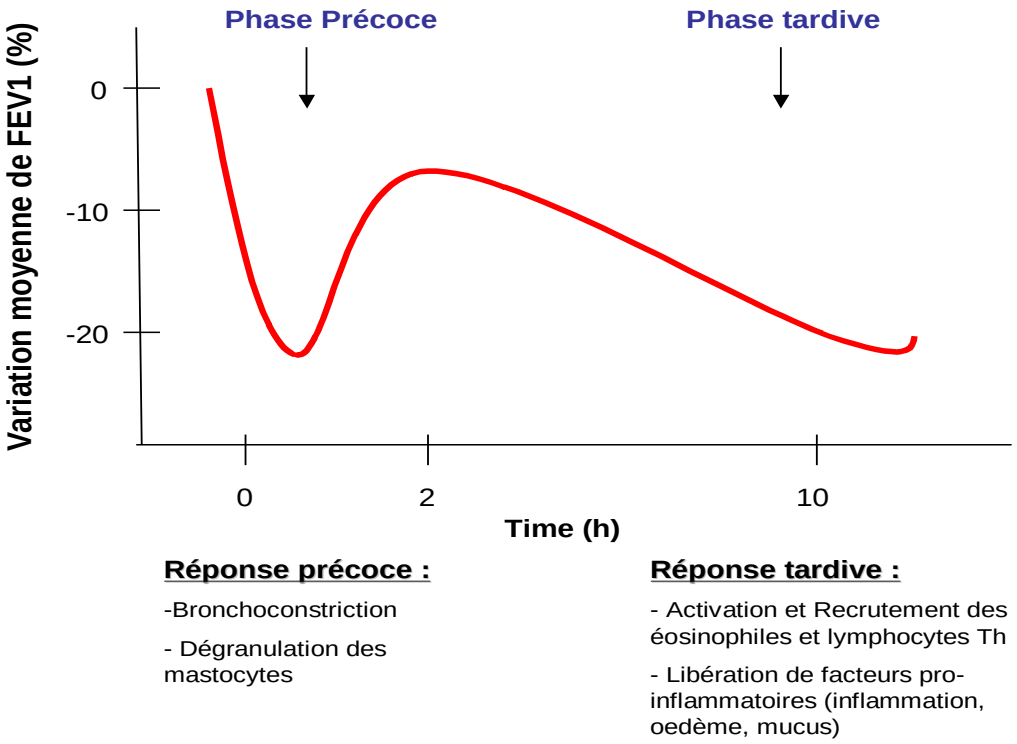


Figure 3 : Développement de 2 phases distinctes : précoce et tardive chez un individu sensibilisé en réponse à l'allergène (figure adaptée de Pettipher, 2008). FEV1 = Forced Expired Volume in 1 seconde (VEMS)

2.6 Les principaux acteurs

De nombreuses cellules et médiateurs dont les prostaglandines sont impliqués dans l'inflammation bronchique constatée chez le sujet asthmatique.

2.6.1 Les médiateurs de l'inflammation

De nombreux médiateurs sont impliqués dans l'asthme allergique tels que :

- les amines vasoactives, premiers médiateurs libérés lors du déclenchement du mécanisme inflammatoire (sérotonine des plaquettes, histamine des mastocytes, basophiles et plaquettes).
- les médiateurs lipidiques, dérivés des phospholipides membranaires comprennent les dérivés de l'acide arachidonique tels que les prostaglandines (voir Partie II) et les leucotriènes.
- les cytokines qui sont des protéines de communication qui orchestrent les interactions cellulaires (voir 2.6.4)

- les enzymes lysosomiales qui sont déversées dans le milieu extérieur par la lyse des polynucléaires et qui entraînent un remodelage de la matrice extra-cellulaire.

2.6.2 Les immunoglobulines E

Les IgE, initialement nommées « réagines » constituent les principaux acteurs de l'allergie immédiate. Comme toutes les immunoglobulines, l'IgE est formée de l'association de deux chaînes légères et de deux chaînes lourdes **[Figure 4].**

Parmi les cinq classes d'immunoglobulines présentes dans l'organisme, elles sont celles dont la concentration et la durée de vie dans la circulation sont les plus faibles. Tout individu fabrique ces anticorps, mais le taux d'IgE sérique peut s'accroître d'un facteur 10 à 100, voire plus, en cas d'atopie (Dessaint, 2003).

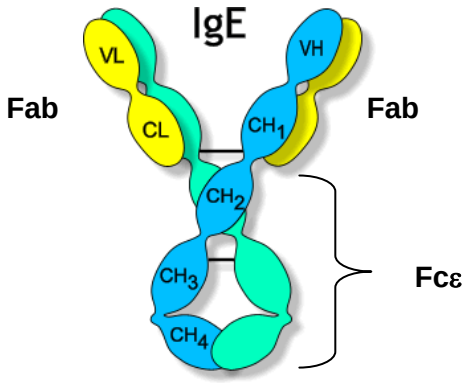


Figure 4 : La structure de l'IgE.
L'IgE est formée de l'association de deux chaînes légères (représentées en jaune) et de deux chaînes lourdes (en bleu et vert). Ces chaînes sont structurées en domaines variables (VL et VH) et constants (CL et CH1 à CH4), pour constituer deux modules identiques de reconnaissance de l'antigène (Fab) et une région constante (Fcε), formée par l'appariement des domaines constants présents sur les chaînes lourdes : CH2 à CH4.

L'IgE exerce ses effets biologiques par l'intermédiaire de récepteurs portés par des cellules cibles, notamment présents sur les mastocytes et polynucléaires basophiles mais aussi sur les éosinophiles et les cellules dendritiques. Deux principaux récepteurs membranaires des IgE ont été identifiés :

- récepteur de forte affinité pour l'IgE (FcεRI), abondant à la surface des mastocytes et basophiles ;

- récepteur de faible affinité pour l'IgE (FcεRII).

Le récepteur de forte affinité implique une fixation durable des IgE libres à la surface des basophiles et mastocytes. Ces récepteurs sont monovalents : une seule molécule d'IgE peut se fixer par récepteur. Cette fixation protège l'IgE et le récepteur contre la dégradation, ce qui explique le délai possible entre la sensibilisation des cellules et le déclenchement de l'anaphylaxie après exposition à l'allergène (MacGlashan *et al.*, 1999). De plus, l'expression du FcεRI par les mastocytes et basophiles est induite par l'IgE, ce qui explique l'augmentation progressive de densité du récepteur sur les cellules durant l'enfance, plus rapide chez les sujets atopiques (Wada *et al*., 1999).

L'activation du mastocyte ou du basophile est le résultat de l'agrégation des récepteurs membranaires sous l'effet de la formation du complexe immun (pontage des IgE par l'allergène multivalent). La dimérisation des récepteurs suffit à la délivrance d'un signal activateur. Souvent, l'excès d'antigènes aboutit à la formation de complexes immuns où une seule molécule d'IgE est complexée à une seule molécule d'antigène, ce qui ne provoque pas le regroupement des récepteurs (Dessaint, 2003).

D'autres cellules que les mastocytes et basophiles peuvent exprimer des récepteurs pour l'IgE tels que les éosinophiles, les macrophages, les cellules dendritiques. Deux types de récepteurs ont été identifiés sur ces cellules : un variant du FcεRI et la lectine FcεRII pour laquelle l'interaction avec l'IgE est de faible affinité (Shi *et al*., 1997). Leur expression est faible comparée à celle du FcεRI sur les mastocytes et basophiles.

Les cellules activées par les IgE jouent le rôle de cellules effectrices, sources de médiateurs immédiats ou retardés de la réaction allergique et contribuent également à l'induction et à la régulation des réponses lymphocytaires, qui contrôlent la production de l'IgE et la réponse inflammatoire.

2.6.3 Les cellules impliquées dans le mécanisme allergique

A) Les lymphocytes

Les lymphocytes T et B sont des cellules qui proviennent de cellules souches hématopoïétiques et qui se différencient soit dans le thymus pour la lignée T, soit

dans la moelle osseuse pour la lignée B. Ce sont des cellules de petite taille avec un grand noyau et peu de cytoplasme **[Figure 5]**.

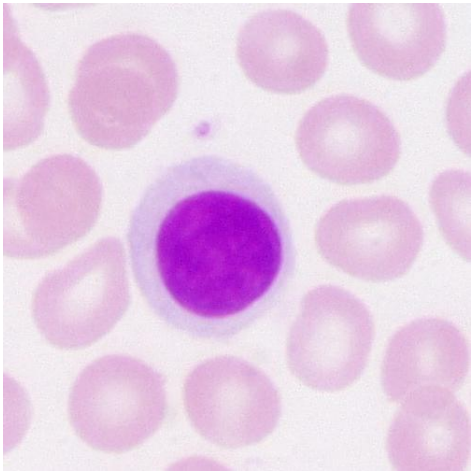


Figure 5 : Photographie d'un lymphocyte issu d'un frottis sanguin humain (grossissement x 1000)

A la différence des lymphocytes B, dont la reconnaissance spécifique de l'antigène passe par une interaction directe avec les Ig membranaires, les lymphocytes T ne peuvent reconnaître, *via* leur récepteur T pour l'antigène (TCR), qu'un fragment peptidique de l'antigène. Ce fragment est présenté à la cellule T sous forme associée à une molécule du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de classe I ou II par une CPA.

Les lymphocytes Th caractérisés par le marqueur de différentiation 4 (CD4), responsables de l'initiation et de la régulation des réponses immunes, reconnaissent les peptides présentés par des molécules du CMH de classe II. A l'inverse, les lymphocytes T-cytotoxiques (Tc) caractérisés par le marqueur CD8, impliqués dans les réponses à médiation cellulaire reconnaissent les peptides associés aux molécules CMH de classe I (Roitt et Rabson, 2002).

a) Rôle des lymphocytes Th

Bien que les lymphocytes Tc puissent être impliqués dans la physiopathologie de l'asthme (Hamelmann *et al*., 1996), c'est le rôle des lymphocytes Th qui est le mieux connu dans cette pathologie. Ainsi, il a été montré que le recrutement d'éosinophiles dans les voies aériennes de souris sensibilisées et provoquées par un allergène était diminué chez les animaux pré-traités par un anticorps monoclonal dirigé contre les cellules Th (Nakajima *et al.*, 1992).

Des données similaires ont été rapportées chez des souris déficientes en lymphocytes Th (Hogan *et al.*, 1998). En effet, la déplétion en ces lymphocytes prévenait également le développement de l'HRB. De plus, il a été montré chez des patients atteints d'asthme sévère que l'administration d'un anticorps monoclonal chimérique dirigé contre les lymphocytes Th améliorait les scores cliniques (Kon *et al*., 1998).

b) Orientation de la réponse lymphocytaire Th

Dans les années 1980, il a été proposé de différencier les lymphocytes Th en deux sous-populations Th1 et Th2 (Mosmann *et al*., 1986). Cette classification repose sur la fonctionnalité des cellules T et leur capacité à produire certaines cytokines.

Ainsi, les cellules Th1 produisent de l'IL-2 et de l'INFγ impliqués dans l'hypersensibilité retardée et l'immunité protectrice vis à vis de microorganismes à développement intracellulaire. A l'inverse les cellules Th2 sécrètent de l'IL-4, IL-5, IL-13 et IL-10 ce qui favorise la production d'IgE par les lymphocytes B et induit la croissance et la différenciation des éosinophiles (Mamessier et Magnan, 2006).

L'orientation du profil lymphocytaire se fait au moment de la présentation de l'antigène aux cellules Th indifférenciées (Th0). L'interaction du TCR et de l'antigène lié au CMH II initie une cascade d'évènements qui induit l'activation des lymphocytes Th, qui prolifèrent et se différencient. L'environnement en cytokines au cours de cette activation détermine le profil lymphocytaire Th1 ou Th2. Ainsi, l'IL-4 est essentielle pour le développement d'une réponse Th2 et l'IL-12 est essentielle pour le développement d'une réponse Th1 **[Figure 6]**.

c) L'asthme allergique : une réponse Th2

Différentes études ont montré l'importance des lymphocytes Th2 dans la maladie asthmatique. Il a d'ailleurs été montré que les cellules du liquide de lavage broncho-alvéolaire chez le sujet asthmatique présentent un profil Th2 préférentiel et ce, même dans l'asthme allergique en début d'évolution (Robinson *et al.*, 1992). De plus, chez l'asthmatique, l'augmentation du nombre de lymphocytes Th2 après exposition à un allergène est associée à l'augmentation du nombre d'éosinophiles observée au cours de la réaction asthmatique tardive (Olivenstein *et al*., 1999).

Le rôle majeur des lymphocytes Th2 dans l'asthme a été confirmé par des études chez la souris. En effet, le transfert de clones lymphocytes Th2 de souris sensibilisées à des souris non sensibilisées, entraîne, après provocation allergénique des animaux receveurs, un recrutement d'éosinophiles et une HRB. Cependant, le transfert de clones lymphocytes Th1 spécifiques de l'allergène n'induit aucun de ces effets (Cohn *et al*., 1998). Il en résulte une dualité fonctionnelle entre les deux systèmes Th1-Th2 **[Figure 6]**.

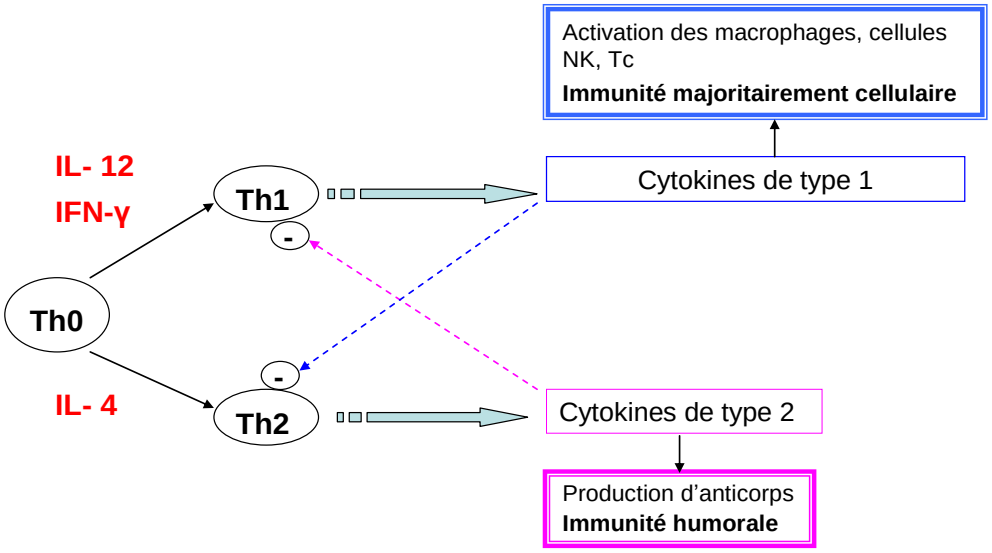


Figure 6 : Différentiation Th1 et Th2.
Selon l'environnement en cytokines, les cellules Th0 se différencient en lymphocytes Th1 ou Th2 et secrètent respectivement, des cytokines impliquées dans l'immunité cellulaire et dans l'immunité humorale. Les deux populations de cytokines sont mutuellement antagonistes : les cytokines Th1 inhibent le développement des lymphocytes Th2 et inversement. Cellules natural killer (NK)

B) Les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques constituent une population cellulaire hétérogène bien qu'elles proviennent de la même cellule souche CD34+ de la moelle osseuse. On distingue trois populations différentes : les cellules dendritiques interstitielles ou myéloïdes, les cellules de Langerhans et les cellules dendritiques dites plasmacytoïdes, dénommées ainsi en raison de similitudes avec le plasmocyte (David, 2003).

Durant leur maturation, les cellules dendritiques remplissent des fonctions distinctes. En effet, en stade immature, elles sont plutôt spécialisées dans l'acquisition et l'apprêtement d'antigène. Ensuite, au cours de leur maturation, cette capacité est perdue au profit de leur capacité à stimuler les cellules T naïves

(Schuler G *et al*., 1997). Morphologiquement, elles développent de longues dendrites qui leur permettent de prendre contact avec de nombreuses cellules T **[Figure 7]**.

Elles sont présentes dans tout l'organisme et particulièrement dans les organes en situation d'interface avec l'environnement comme les muqueuses respiratoires. Elles sont donc éminemment exposées aux allergènes inhalés.

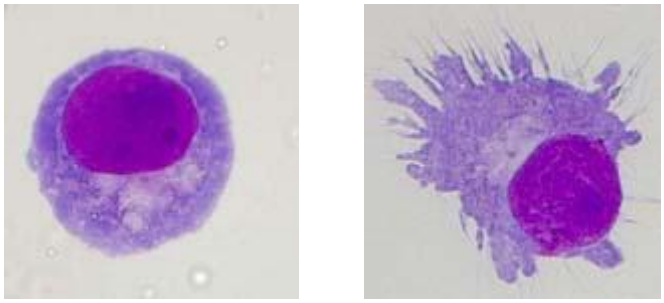


Figure 7 : Une cellule dendritique au repos (à gauche) et activée (à droite) (grossissement x 1000).

Au cours de la réponse immune allergique, les cellules dendritiques jouent un rôle primordial aussi bien durant la phase de sensibilisation que pendant la phase de déclenchement de la réaction allergique. En effet, elles interviennent dès la première étape en capturant l'allergène pour la première fois soit par endocytose médiée par des récepteurs spécialisés (allergène de haut poids moléculaire), soit par absorption passive (molécules de petite taille) (Holt, 2000).

La deuxième étape implique la migration des cellules dendritiques des tissus vers les ganglions lymphatiques régionaux. Cette migration s'accompagne de phénomènes de maturation avec l'acquisition de nouveaux récepteurs de chimiokines. Ces modifications phénotypiques et fonctionnelles transforment les cellules dendritiques immatures en cellules dendritiques matures qui expriment les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II ainsi que des molécules costimulatrices CD40, CD80, CD86 et CD83 (David, 2003). L'ensemble de ces phénomènes font des cellules dendritiques matures les stimulateurs les plus puissants des cellules T naïves.

Comme pour les cellules Th1 ou Th2, deux sous-populations de cellules dendritiques ont été individualisées. Les cellules dendritiques myéloïdes sont responsables de la polarisation Th1 car elles produisent d'abondantes quantités d'IL-12, cytokine clé dans l'orientation de la réponse de type Th1. Par contre, les cellules

dendritiques plasmacytoïdes induisent une réponse Th2 (Rissoan *et al*., 1999). Cette dichotomie est actuellement controversée et certaines études ont montré que les cellules dendritiques myéloïdes peuvent induire une réponse Th1 et une réponse Th2 (Langenkamp *et al*., 2000), le facteur critique étant la concentration d'IL-12 sécrétée par les cellules dendritiques (Kalinski *et al*., 1999). Cette sécrétion peut être contrôlée par plusieurs facteurs tels que la nature de l'allergène, les molécules costimulatrices et le micro-environnement cellulaire (cytokines, chimiokines, médiateurs inflammatoires). En effet, certaines prostaglandines, en particulier la PGE_2 et la PGD_2 régulent négativement la production d'IL-12 et favorisent l'émergence d'un profil Th2, caractéristique immunologique chez les sujets atopiques (Gosset *et al*., 2003 ; Kalinski *et al*., 1999).

La présentation de l'antigène aux lymphocytes T par les cellules dendritiques est donc une étape cruciale non seulement pour initier, mais aussi pour déterminer la nature de la réponse immunitaire engagée.

C) Les mastocytes

Les mastocytes ont été découverts par Ehrlich vers 1877. Ces cellules sont impliquées dans le mécanisme d'hypersensibilité immédiate qui constitue la base physiopathologique de l'allergie. Ce sont de volumineuses cellules mononucléées, appelées ainsi en raison de la présence de granules spécifiques dits métachromatiques intra cytoplasmiques.

Les mastocytes sont distribués dans la muqueuse bronchique tout au long du tractus respiratoire. Il existe une grande diversité morphologique, correspondant à des différences dans la nature des protéases et des cytokines qu'ils contiennent (Lee *et al*., 1985). Ce sont les principales cellules, avec les polynucléaires basophiles, porteuses de récepteurs membranaires de forte affinité pour les IgE, le FcεR1. Ils sont donc capables de fixer ces anticorps à leur surface. L'expression du récepteur est quantitativement importante (10000-200000 récepteurs par cellule) et serait augmentée sous l'effet des IgE elles-mêmes (Tunon De Lara, 2003). C'est pourquoi, les mastocytes sont associés à la phase initiale de la réaction allergique IgE dépendante.

Ainsi, après activation par l'allergène, ils libèrent de multiples médiateurs stockés (histamine) et/ou synthétisés (médiateurs lipidiques tels que la PGD_2) qui

interviennent dans la réaction inflammatoire par le biais d'une action vaso-régulatrice, ou par leur pouvoir d'attraction cellulaire.

Les prélèvements de muqueuse bronchique per-fibroscopie ont permis de mettre en évidence une dégranulation caractéristique chez les sujets asthmatiques comparés aux sujets sains (Djukanovic *et al*., 1995). Il a également été démontré que le nombre de mastocytes au niveau des cellules musculaires lisses bronchiques (partie effectrice de l'HRB) est plus élevé chez les asthmatiques (Brightling *et al*., 2002). La même observation a été faite dans le liquide bronchoalvéolaire (LBA) de patients asthmatiques. Ce nombre de mastocytes dans le LBA serait corrélé avec l'HRB au cours d'une provocation allergénique (Beasley *et al*., 1989).

De plus, les mastocytes activés par les IgE constituent une source importante de cytokines dont certaines, notamment l'IL-5, sont capables d'entretenir et d'amplifier la réaction inflammatoire, en particulier par le biais du recrutement d'autres cellules comme les éosinophiles (Bradding *et al.*, 1994).

Ainsi, les mastocytes jouent un rôle central dans la physiopathologie de l'asthme allergique. Ils résument à eux seuls les caractéristiques de l'allergie avec la fixation des IgE, l'activation par l'allergène puis la libération et la production de médiateurs ayant un effet délétère sur les organes cibles.

D) Les polynucléaires éosinophiles

Tout comme le mastocyte, le polynucléaire éosinophile a été découvert par Paul Ehrlich en 1879. Ces cellules possèdent un noyau bilobé et leur cytoplasme contient des granulations volumineuses qui se colorent en rouge orangé au moyen de l'éosine, d'où les éosinophiles tirent leur nom **[Figure 8]**.

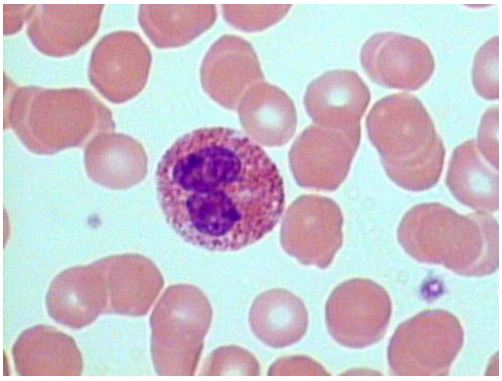


Figure 8 : Exemple de coloration à l'éosine d'un frottis sanguin montrant un éosinophile. (grossissement 1000x)

Leur développement et leur maturation s'effectuent dans la moelle osseuse à partir d'un progéniteur hématopoïétique exprimant la molécule CD34 à sa surface. L'IL-5 est la principale cytokine impliquée dans la différentiation des polynucléaires éosinophiles dans la moëlle osseuse. Les éosinophiles matures se retrouvent principalement dans les tissus, notamment au sein des tissus formant une interface avec l'environnement tels que le tractus pulmonaire (Kato *et al*., 1998).

Le recrutement tissulaire des éosinophiles au site de l'inflammation allergique s'effectue d'une part grâce à des molécules d'adhérence (sélectines et intégrines), d'autre part par l'intervention de facteurs chimiotactiques. Ces facteurs sont soit des cytokines, principalement les éotaxines, l'IL-8, RANTES (Regulated upon Activation in Normal T cells Expressed and Secreted), soit des protéines du complément, ou des médiateurs lipidiques (PGD_2). Après des tests de provocation allergénique, une production accrue de chimiokines a été mise en évidence au sein de la muqueuse bronchique (Powell *et al.*, 1996).

Ces facteurs chimiotactiques possèdent également la capacité d'activer les éosinophiles ce qui se traduit par une modification des marqueurs membranaires de la cellule ainsi que par des modifications morphologiques qui entraînent des changements de densité cellulaire (Prin *et al*., 1983). La cellule activée acquiert une taille plus importante et libère des médiateurs dont des protéines basiques, lytiques ou activatrices, issues de ses granules spécifiques. Ces protéines (la protéine basique majeure, la protéine cationique et la peroxydase de l'éosinophile) ont une activité cytotoxique directe sur les cellules du revêtement bronchique (Walsh GM, 2001). La protéine basique majeure notamment est capable d'accroître l'HRB en provoquant la formation de pores dans les cellules ce qui entraîne une bronchoconstriction.

L'éosinophile possède également la capacité de produire de nombreuses cytokines et chimiokines, ce qui peut expliquer en partie l'effet pro-inflammatoire de cette cellule une fois recrutée dans les bronches. Certaines cytokines libérées participent au recrutement d'autres cellules inflammatoires et au développement de la fibrose (IL-1, 6, 8, TNF-α). L'IL-3, 5 et le facteur de croissance des granulocytes et macrophages (GM-CSF) retardent l'apoptose des éosinophiles localement et contribuent au maintien de la réponse inflammatoire (Prin *et al*., 2003). Les

polynucléaires éosinophiles génèrent également des eicosanoïdes tels que les leucotriènes et les prostaglandines qui font partie des substances à l'origine des symptômes de l'asthme (Bandeira-Melo *et al.*, 2002).

Les éosinophiles présentent des fonctions immunomodulatrices en participant à la régulation de la réponse immune. En effet, ils sont capables d'interagir avec des lymphocytes T *via* des molécules CMH II qu'ils expriment à leur surface. Ils ont donc la capacité de présenter l'antigène et d'induire la prolifération des lymphocytes T (Shi *et al*., 2000).

Ainsi, cette population cellulaire présente des potentialités multiples en rapport avec la physiopathologie de l'asthme.

2.6.4 Les cytokines

Les cytokines sont des messagers protéiques solubles, sécrétés par une cellule de manière transitoire. Elles interviennent dans la croissance cellulaire, l'inflammation, l'immunité, la différenciation et la réparation cellulaire en se fixant à des récepteurs de surface plus ou moins spécifiques d'une cellule. Les cytokines jouent le rôle de messagers inter-cellulaires et à la différence des hormones endocrines, elles agissent localement sur un mode paracrine ou même autocrine (Roitt et Rabson, 2002). Les cytokines sont pléiotropiques c'est-à-dire qu'elles ont des effets multiples sur différents types cellulaires et il existe entre elles une redondance considérable puisqu'elles peuvent avoir des effets similaires (Kips, 2001) **[Tableau 3]**.

Tableau 3 : Principales cytokines impliquées dans l'asthme allergique (adapté de Mamessier et Magnan, 2006).

Cytokine	Source cellulaire	Récepteur cellulaire et expression cellulaire	Principaux effets dans les réactions allergiques
IL-4	Lymphocytes Th2 activés, mastocytes, basophiles, cellules NK1	**IL-4R/CD124** Lymphocytes, macrophages, mastocytes, fibroblastes, cellules épithéliales et endothéliales	- Régulation de la différentiation des cellules T vers un profil Th2 - Entraîne les plasmocytes à sécréter des IgE - Facteur de survie et de croissance pour les mastocytes - Induction de la production d'éotaxine par les cellules épithéliales du poumon
IL-5	Lymphocytes Th2 activés, lymphocytes B, mastocytes, éosinophiles	**IL-5R/CD125** Eosinophiles	- Différentiation, activation, maturation et survie des éosinophiles
IL-10	Lymphocytes T naïfs et mémoires Th1, Th2, lymphocytes B, cellules NK, monocytes, macrophages	**IL-10Rα & β** Monocytes, macrophages et cellules dendritiques	- Inhibition de l'activation des macrophages et des lymphocytes
IL-12	CPA, cellules dendritiques, éosinophiles	**IL-12R1 & 2/CD212**	- Régulation de la différentiation en lymphocytes Th1 - Induction de la production d'IFN-γ - Inhibition de la synthèse d'IgE
IL-13	Lymphocytes Th2 activés, mastocytes, cellules NK	**IL-13R/CD213**	- Commutation isotypique vers le type E - Augmentation de la sécrétion de mucus et d'éotaxine
IFN-γ	Lymphocytes Th1, lymphocytes cytotoxiques et cellules NK	**IFN-γR**	- Principal activateur des macrophages - Activation des cellules endothéliales - Antagonise la réponse Th2 et la production d'IgE
TNF-α	Macrophages, monocytes, cellules NK	**TNF-αR**	- Stimule l'accumulation de leucocytes au site de l'inflammation - Stimule les macrophages à produire de l'IL-1 - Stimule les cellules endothéliales et les fibroblastes

A) Cytokines Th2

Les cytokines caractéristiques produites par les cellules de type Th2, notamment l'IL-4, l'IL-13 et l'IL-5 jouent un rôle primordial dans la réponse immunitaire allergique.

a) Interleukine-4

L'IL-4 est principalement sécrétée par les lymphocytes Th2, mais les mastocytes et les éosinophiles sont également capables d'en libérer (Lamkhioued *et al*., 1995). L'expression de l'IL-4 (à la fois l'ARNm et la protéine) est augmentée dans les biopsies bronchiques de patients asthmatiques comparés à des contrôles sains. De

plus, le nombre de copies d'ARNm d'IL-4 détecté dans les biopsies bronchiques de patients souffrant d'asthme allergique est corrélé positivement avec les taux d'IgE présents dans le sérum (Humbert *et al*., 1996).

L'IL-4 est un facteur de croissance et de différentiation pour les lymphocytes, mais aussi pour les basophiles et mastocytes (Ricci *et al*., 1997). Des études expérimentales chez l'animal ont permis de montrer que les lymphocytes de souris déficientes en IL-4 ne présentaient pas de profil Th2 après sensibilisation et provocation allergénique (Coyle *et al*., 1995). Ceci confirme le fait que l'IL-4 est une cytokine clé dans l'orientation et la différentiation des lymphocytes T naïfs vers le phénotype Th2.

De plus, l'IL-4 joue un rôle majeur dans la production des IgE par les lymphocytes B. En effet, cette cytokine a un effet sur la commutation isotypique des immunoglobulines vers le type E et induit également la différentiation plasmocytaire des lymphocytes B (Ryzhov *et al.*, 2004). La délétion du gène de l'IL-4 dans un modèle animal a confirmé le rôle essentiel de cette cytokine dans l'induction de la réponse IgE (Brusselle *et al*., 1994).

Il semblerait également que l'IL-4 puisse jouer un rôle dans l'inflammation éosinophilique. Ainsi, une équipe a rapporté que le recrutement d'éosinophiles en réponse à une provocation allergénique était très atténué chez des souris sensibilisées déficientes en IL-4 comparées à des souris sauvages (Brusselle *et al.*, 1994 ; Hamelmann *et al.*, 2000). Ce recrutement pouvait être restauré par l'apport local d'IL-4 dans le poumon (Hamelmann *et al*., 2000). De plus, il a été observé que l'inhalation d'IL-4 humaine recombinante permettait d'induire un infiltrat éosinophilique au niveau des voix aériennes de patients asthmatiques (Shi *et al.*, 1998).

Cette cytokine ne peut être responsable à elle seule de toutes les caractéristiques observées dans l'asthme et d'autres cytokines sont impliquées dans cette maladie.

b) Interleukine-13

Tout comme l'IL-4, l'IL-13 est produite par les lymphocytes Th2 chez l'homme et la souris, par les Th1 uniquement chez l'homme, mais aussi par les basophiles, mastocytes et éosinophiles (Schmid-Grendelmeier *et al*., 2002).

Cette cytokine est également présente en grande quantité dans les voies aériennes de patients asthmatiques (Huang *et al*., 1995 ; Humbert *et al*., 1997 ; Naseer *et al*., 1997). L'administration d'IL-13 recombinante humaine permet de déclencher des symptômes de l'asthme comme une infiltration en éosinophiles et une hypersécrétion de mucus (Blanchard *et al*., 2005).

Les effets biologiques de l'IL-13 sont très similaires à ceux de l'IL-4 puisque ces cytokines partagent une même sous-unité du récepteur à l'IL-4 (Gauchat *et al.*, 1997). Il a été proposé que l'IL-4 ait un rôle crucial dans la différentiation des lymphocytes T naïfs vers le phénotype Th2 lors de la première sensibilisation et que l'IL-13 ait un rôle plus important lors des expositions secondaires à l'allergène (De Vries, 1998 ; McKenzie *et al*., 1999). En effet, l'administration d'anticorps anti IL-4 lors de la sensibilisation inhibe le développement Th2 ce qui confirme l'importance de cette cytokine dans la réponse précoce à l'allergène. Cependant, l'administration d'un traitement anti-IL4 à des animaux déjà sensibilisés a un effet moindre au niveau de la production des cytokines Th2, de l'infiltration des éosinophiles et de l'HRB (Coyle *et al*., 1995). Ceci confirme les données *in vitro* montrant que les cellules T ayant acquis le phénotype Th2, deviennent IL-4 indépendantes (Huang *et al*., 1997).

La neutralisation de la libération endogène de l'IL-13 par une protéine de fusion IL-13Rα2Fc lors d'une seconde exposition à un antigène inhibe les caractéristiques de l'asthme dans des modèles murins (Grünig *et al*., 1998 ; Taube *et al*., 2002). Ces résultats suggèrent que l'IL-13 joue un rôle plus important que l'IL-4 lors de la seconde exposition à un antigène.

c) Interleukine-5

Une augmentation importante des taux d'IL-5 ainsi que de l'ARN codant pour sa synthèse est détectée dans les biopsies bronchiques de patients asthmatiques (Humbert *et al*., 1996). Cette observation est confirmée par les données obtenues dans les modèles d'animaux sensibilisés et provoqués par un allergène chez lesquels les taux d'IL-5 sont augmentés dans les lavages bronchoalvéolaires en comparaison avec des animaux contrôles (Gavett *et al*., 1997).

L'IL-5 joue un rôle essentiel dans la différentiation des éosinophiles à partir de leurs précurseurs hématopoïétiques (Stirling *et al*, 2001), leur maturation, leur chimiotactisme et leur activation. Elle assure également la survie de l'éosinophile en

bloquant le processus apoptotique. Sans facteurs de survie, l'éosinophile entre en apoptose en seulement quelques heures *in vitro* (Yamaguchi *et al*., 1988).

En activant les éosinophiles, l'IL-5 induit la libération d'autres agents chémotactiques comme l'éotaxine et les protéines basiques responsables des dommages tissulaires (Mamessier et Magnan, 2006).

Dans les modèles animaux visant à reproduire les caractéristiques de l'asthme, la sur-expression d'IL-5 induit un infiltrat éosinophilique accru dans les LBA ou les tissus par rapport à des animaux sains (Lefort *et al*., 1996). Par contre, la neutralisation de l'IL-5 à l'aide d'anticorps spécifiques ou encore l'utilisation de souris déficientes en IL-5 inhibe cet infiltrat et améliore la fonction respiratoire (Foster *et al*, 1996). Cette inhibition peut être levée par l'apport exogène d'IL-5 (Hamelmann *et al*., 2000).

B) Cytokines Th1

Les cytokines de la réponse Th1, comme l'IL-12 et l'IFNγ, sont impliquées dans les mécanismes de défense de l'immunité à médiation cellulaire et s'opposent à la maladie allergique.

a) IL-12

L'expression d'IL-12 est réduite dans les biopsies de poumons de patients asthmatiques en comparaison avec des patients sains (Naseer *et al*., 1997).

Cette cytokine est produite par les CPA et est connue pour jouer un rôle important dans la différentiation des lymphocytes T naïfs vers un profil Th1 (Rissoan *et al*., 1999). Des modèles animaux ont permis de confirmer que l'administration exogène d'IL-12 lors de la première sensibilisation supprimait le développement d'une réponse Th2 en faveur d'un profil Th1 (Gavett *et al*., 1995 ; Kips *et al*., 1996).

En effet, l'administration d'IL-12 à des souris sensibilisées et provoquées par un allergène permet de prévenir l'inflammation éosinophilique et l'HRB. En accord avec ces résultats, des souris déficientes en IL-12, sensibilisées et provoquées par un allergène, présentent des taux d'éosinophiles dans leurs lavages bronchoalvéolaires augmentés par rapport à des souris contrôles après provocation (Zhao *et al*., 2000).

L'Il-12 agit sur la production d'autres cytokines, elle induit la production d'IFN-γ et diminue celle d'IL-5 (Lee *et al*., 1999).

b) IFN-γ

Les données disponibles suggèrent que les taux d'IFN-γ (ARNm et protéine) auraient tendance à être augmentés chez les sujets asthmatiques par rapport à des sujets sains (Cho *et al*., 2005 ; Quaedvlieg *et al*., 2006 ; Truyen *et al*., 2006). De plus, les taux d'ARNm d'IFN-γ sont plus élevés chez des sujets asthmatiques allergiques comparés à des sujets asthmatiques non allergiques (Quaedvlieg *et al*., 2006 ; Truyen *et al.*, 2006).

Or, les modèles animaux ont permis de mettre en évidence le rôle inhibiteur de l'IFN-γ sur la réponse immunitaire de type Th2 (Lack *et al*., 1996 ; Li *et al.*, 1996). En effet, l'administration par aérosol d'IFN-γ dans les voies aériennes de souris sensibilisées et provoquées par un allergène entraîne une diminution de la production d'IgE spécifiques (Hofstra *et al.*, 1998). De plus, l'IFN-γ semble avoir également un effet inhibiteur sur le recrutement des éosinophiles dans les voies aériennes de souris rendues asthmatiques (Lack *et al*., 1996). Récemment, une équipe a montré qu'un polymorphisme du gène codant pour l'IFN-γ, entraînant une diminution de sa production, augmentait la susceptibilité de développer des maladies atopiques (Hussein *et al*., 2009).

Néanmoins, l'action de l'IFN-γ sur l'inflammation allergique est sujet à controverse puisque certaines études sur l'animal ont démontré l'importance des cellules Th1 dans l'inflammation (Cui *et al*., 2005 ; Hansen *et al*., 1999) et dans l'HRB induite par l'allergène (Hessel *et al.*, 1997). De plus, l'administration d'IFN-γ chez l'homme s'est révélée décevante jusqu'à ce jour (Boguniewicz *et al*., 1995 ; Boguniewicz *et al*., 1993).

C) Autres cytokines

De nombreuses autres cytokines, comme le TNF-α mais aussi l'IL-10 jouent un rôle prépondérant dans l'asthme allergique.

Le TNF-α entraîne des effets pro-inflammatoires tels que le recrutement des leucocytes *via* l'induction d'une augmentation des molécules d'adhésion, ou

l'induction de la synthèse de cytokines et chemokines (Hirata *et al*., 1998). Il intervient également dans le remodelage des voies aériennes, observé chez les patients asthmatiques, en stimulant les cellules mésenchymateuses comme les fibroblastes et les cellules musculaires lisses (Amrani *et al*., 1996). Indépendamment de ces effets, le TNF-α agit aussi sur l'HRB. De plus, les patients avec un asthme réfractaire montrent une régulation positive de cette cytokine (Howarth *et al*., 2005 ; Berry *et al*., 2006).

A l'opposé, l'IL-10 est considérée comme une cytokine anti-inflammatoire puisqu'elle inhibe la synthèse de nombreuses cytokines pro-inflammatoires à la fois Th1 et Th2 (Koulis et Robinson, 2000). L'Il-10 est également capable de réduire la synthèse de collagène de type I ainsi que la prolifération des cellules musculaires lisses, ce qui entraîne un effet bénéfique sur le remodelage des voix aériennes observé dans l'asthme (Reitamo *et al*., 1994 ; Selzman *et al*., 1998). Cependant, les données concernant le potentiel modulateur de cette cytokine chez les patients asthmatiques sont sujet à controverse. En effet, certains auteurs rapportent une diminution des taux d'IL-10 dans le LBA de patients asthmatiques comparés à des sujets sains (Borish *et al*., 1996) tandis que d'autres indiquent des quantités similaires de cette cytokine chez les asthmatiques par rapport aux contrôles (Tillie-Leblond *et al*., 1999).

2.7 Les modèles animaux d'asthme

Idéalement, les modèles animaux devraient refléter toutes les caractéristiques de l'asthme observées chez l'homme. Cependant, l'asthme étant une maladie inflammatoire complexe et les animaux de laboratoire ne la développant pas spontanément, il n'existe pas de modèle animal « idéal » mimant parfaitement cette pathologie. Il est ainsi nécessaire de redéfinir continuellement les modèles établis en fonction de l'avancée des connaissances en physiopathologie.

Le développement et l'utilisation de ces modèles jouent un rôle important dans la découverte de nouveaux médicaments mais aussi dans la compréhension des mécanismes mis en jeu dans la maladie, ce qui peut permettre d'améliorer le diagnostic et le suivi des patients par la proposition de biomarqueurs (Zosky et Sly, 2007).

Le développement de la plupart des modèles animaux d'asthme implique un processus de sensibilisation de l'animal à un allergène, donné le plus souvent par voie systémique, en association avec un adjuvant comme l'hydroxyde d'aluminium (alum) ou l'adjuvant de Freund incomplet. L'adjuvant permet d'accroître le pouvoir immunogène de l'allergène qui lui est mélangé, en facilitant l'ingestion de l'antigène par les CPA, en induisant des co-stimulateurs…Les animaux sensibilisés sont ensuite exposés à ce même allergène par inhalation, par voie intranasale ou encore intratrachéale dans le but d'induire une réponse allergique localisée au niveau du système respiratoire (Taube *et al*., 2004). La réponse obtenue dépend de la méthode de sensibilisation utilisée, du choix de l'antigène (Johnson *et al*., 2004) et de l'espèce (Kurucz et Szelenyi, 2006) et parfois même de la souche (Hylkema *et al.,* 2002 ; Whitehead *et al*., 2003).

Les modèles employant la souris sont les plus communément utilisés. Ils présentent l'avantage de répondre à de nombreux allergènes comme l'ovalbumine (OVA) (Kumar *et al*., 2008 ; Hylkema *et al.,* 2002), les allergènes de cafard (Lukacs *et al*., 2008), les acariens (Johnson *et al*., 2004), *Aspergillus fumigatus* (Mehlhop *et al*, 1997). De plus, le développement de souris transgéniques rend ces modèles intéressants pour étudier les mécanismes pathophysiologiques de l'asthme allergique.

Enfin, la disponibilité de ces animaux associée à leur faible coût et surtout l'accès aux outils immunologiques comme des anticorps monoclonaux spécifiques, en ont fait un modèle de choix.

Cependant, ces modèles murins présentent certains inconvénients. En effet, la réponse inflammatoire observée chez les souris sensibilisées mises en contact avec l'allergène est essentiellement dominée par un afflux d'éosinophiles dans les voies aériennes. Or, ces cellules ont une importance controversée dans les modèles d'asthme murins du fait de l'absence de dégranulation contrairement à l'observation faite sur des éosinophiles humains (Malm-Erjefält *et al*., 2001).

De plus, les médiateurs libérés par les mastocytes provenant de rongeurs sont sensiblement différents de ceux libérés par les cellules humaines (Bischoff, 2007). Ainsi, les mastocytes de rongeurs libèrent de la sérotonine qui n'est pas connue pour jouer un rôle dans l'asthme humain.

L'un des inconvénients majeurs des modèles animaux murins est la difficulté d'établir des modèles d'asthme chronique permettant, entre autres, l'étude du remodelage bronchique (Fulkerson *et al.*, 2005). En effet, l'exposition répétée à l'allergène des souris ou des rats préalablement sensibilisés peut entraîner le développement d'une tolérance et par conséquent une suppression de la réponse inflammatoire et de l'HRB (Kumar *et al*., 2008 ; Ostroukhova *et al*., 2004).

Il n'existe pas de modèle animal d'asthme idéal et c'est sans doute pourquoi il existe une multitude de modèles décrits dans la littérature [**Tableau 4**]. Plusieurs revues reprennent les principales caractéristiques des modèles murins utilisés dans la compréhension de l'asthme (Kumar *et al*., 2008 ; Nials et Uddin, 2008 ; Zosky et Sly, 2007).

Tableau 4 : Exemples de modèles animaux d'asthme.

Espèce/ souche	Sensibilisation	Ré-exposition à l'allergène	Caractéristiques de la réponse	Références
Souris/ BALB/c ♀	OVA/Alum (i.p) jours 0 et 14	20 min inhalation aérosols OVA aux jours 28-30 (1%) et au jour 32 (5%)	Bronchoconstriction avec phase précoce et retardée	Cieslewicz *et al*., 1999
Souris/ BALB/c ♀	OVA/Alum (i.p.) aux jours 0 et 14	Aérosols d'OVA aux jours 28 à 30	HRB, eosinophiles, lymphocytes et cytokines augmentés dans le lavage bronchoalvéolaire.	Hamelmann *et al.,* 1999
Souris/ BALB/c ♂	Oeufs de blattes/adjuvant incomplet de Freund (i.p.) au jour 0.	Œufs de blattes en solution : • (2µg, i.n.) au jour 14 • (6µg, i.t.) aux jours 19 et 21	Inflammation éosinophilique, HRB, hyperplasie des cellules à mucus, cytokines Th2 augmentées	Lukacs *et al*., 2008

2.8 Traitement de l'asthme : classes thérapeutiques disponibles

Les médicaments disponibles peuvent être classés en deux groupes : le traitement de fond, devant généralement se prendre régulièrement et à long terme, qui vise la composante inflammatoire de l'asthme, et le traitement de la crise pour les exacerbations aigües.

On distingue ainsi :

- des anti-inflammatoires, de type :
  - corticostéroïdes
  - antileucotriènes
  - cromones
  - théophylline et dérivés
  - antihistaminiques
- des bronchodilatateurs qui agissent soit :
  - par stimulation adrénergique (β_2 agonistes)
  - soit par inhibition de la composante vagale (anticholinergiques).

2.8.1 Traitement anti-inflammatoire de l'asthme

A) Les corticostéroïdes inhalés (CSI)

De nombreuses spécialités présentées sous diverses formes (aérosol-doseur, poudre pour inhalation…) sont actuellement sur le marché, notamment la béclomethasone dipropionate (Béclojet®), le budésonide (Pulmicort®), la fluticasone (Flixotide®).

Les CSI ont une action anti-inflammatoire locale puissante sur l'inflammation bronchique (GINA, 2008). Leur action prédomine sur la phase tardive de la réaction asthmatique qui survient 6 à 12 heures après une provocation allergénique. Ils exercent des effets multiples sur les cellules impliquées dans le phénomène immuno-inflammatoire telles que les lymphocytes, les éosinophiles et les mastocytes. En effet, le nombre de ces cellules est fortement diminué dans le LBA et la paroi bronchique de patients traités par des glucocorticoïdes inhalés (Barnes et Adcock, 2003).

Leur récepteur fait partie de la superfamille des récepteurs nucléaires. Ces récepteurs subissent une translocation dans le noyau à l'arrivée de l'hormone puis se lient à un site spécifique localisé sur l'ADN. Il s'ensuit une transcription génomique conduisant aux synthèses protéiques. Les glucocorticoïdes exercent de nombreux effets génomiques. Ils sont capables de conduire à la synthèse de facteurs anti-

inflammatoires comme la lipocortine qui inhibe la phospholipase A2 (PLA2), ce qui entraîne une inhibition des facteurs inflammatoires tels que les leucotriènes et les prostaglandines.

Les corticoïdes permettent de diminuer la synthèse de protéines pro-inflammatoires et d'augmenter celle de protéines anti-inflammatoires. Par exemple, *in vitro*, la fluticasone inhibe l'IL-5 et 13 et augmente la synthèse de l'IL-10 par des lymphocytes CD4+ stimulés avec l'allergène (Peek *et al*., 2005).

Par voie inhalée, les corticoïdes sont principalement indiqués dans le traitement de fond de l'asthme persistant (dès qu'un β_2 stimulant est utilisé plus de 3 fois par semaine) (GINA, 2008). Ils ont peu d'effets secondaires par voie locale, principalement des candidoses oro-pharyngées et des irritations locales. Cependant, un surdosage peut entraîner un retentissement sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Or, il existe une grande variabilité dans la réponse aux CSI et certains patients nécessitent des doses plus élevées ce qui augmente le risque d'effets secondaires (GINA, 2008).

B) Les antileucotriènes

Cette classe est représentée par le montelukast (Singulair®).

Le montelukast est un antagoniste sélectif des récepteurs aux cystéinyl leucotriènes, médiateurs pro-asthmatiques produits par les mastocytes et les éosinophiles. Les leucotriènes jouent un rôle important dans les deux phases de la réponse asthmatique. En effet, ils induisent un effet bronchoconstricteur 100 à 1000 fois plus important que celui provoqué par l'histamine (Barnes *et al*., 1984). Ils entraînent également une augmentation de la production de mucus (Marom *et al.*, 1982), de la perméabilité vasculaire (Drazen *et al*., 1980) et un recrutement des éosinophiles (Foster et Chan, 1991). Chez les patients asthmatiques, les antagonistes des récepteurs aux leucotriènes sont capables de réduire le nombre d'éosinophiles au niveau des expectorations, des biopsies bronchiques ainsi que dans le sang (Holgate et Sampson, 2000). *In vitro*, ils sont également capables d'inhiber de manière dose-dépendante la libération de cytokines Th2 telles que l'IL-3, IL-4 et le GM-CSF par des cellules mononucléaires du sang de patients asthmatiques (Tohda *et al*., 1999). De plus, une étude a récemment mis en évidence

que l'association du montelukast à des corticoïdes inhalés permettait de diminuer le risque de bronchoconstriction aiguë (Ulrick et Diamant, 2010).

Les antileucotriènes sont très bien tolérés et n'induisent que très peu d'effets secondaires comme des céphalées (GINA, 2008).

C) Les cromones

Cette classe est représentée par le : cromoglycate disodique (Lomudal®).

Les cromones sont des médicaments dits « stabilisateurs de membrane ». Leur propriété principale est l'inhibition de la dégranulation des mastocytes et de la formation des médiateurs pro-inflammatoires. Ils stabilisent la membrane des mastocytes par inhibition de la pénétration intracellulaire du calcium (Caramori et Adcock, 2003). Ils interviennent donc à la phase précoce de la réaction asthmatique, juste après la stimulation antigénique. *In vitro*, les cromones semblent être capables de moduler la balance Th1/Th2 (Farrar *et al*., 1995). Cependant, la plupart des études cliniques n'ont pas montré d'efficacité de ces médicaments dans l'asthme persistant comparé au placebo (Van der Wouden *et al*., 2008).

Lomudal® peut induire, dans de rares cas, des irritations pharyngées, une toux et un bronchospasme modéré transitoire (GINA, 2008).

D) Théophylline et dérivés

Plusieurs spécialités à base de théophylline sont disponibles, notamment Dilatrane LP®, Euphylline LA®…

La théophylline est un médicament qui s'apparente à la caféine. Il s'agit de la 1,3 diméthylxanthine. Elle est utilisée depuis plusieurs décennies dans le traitement de l'asthme à travers le monde. Elle possède de nombreuses propriétés pharmacologiques :

- au niveau de l'appareil bronchopulmonaire : une action bronchodilatatrice par inhibition de la phosphodiestérase, ce qui a pour conséquence d'augmenter le taux d'AMPc (Rabe *et al*., 1995). Elle inhibe également la libération d'histamine à partir des mastocytes et basophiles ;
- elle est psychostimulante : elle stimule la fonction respiratoire au niveau des centres bulbaires (Aubier *et al*., 1981);

- au niveau cardiaque, elle entraîne des effets inotropes positifs et chronotropes positifs.

Récemment, des études ont montré que la théophylline administrée à faibles doses avait des propriétés anti-inflammatoires dans les voies aériennes des patients asthmatiques (Barnes, 2003 ; Barnes, 2005). En effet, elle permet de réduire l'infiltration en éosinophiles et en lymphocytes CD4+ observée chez les asthmatiques après un contact avec l'allergène (Sullivan *et al*., 1994 ; Jaffar *et al*., 1996). Il a également été mis en évidence qu'un traitement par de faibles doses de théophylline permettait de réduire le nombre de lymphocytes CD4+, CD8+, ainsi que le taux d'IL-4 et -5 dans les cellules issues de biopsies bronchiques provenant de patients asthmatiques (Djukanovic *et al.*, 1995 ; Finnerty *et al.*, 1996). A plus forte dose, la théophylline augmente la production d'IL-10, une cytokine anti-inflammatoire (Mascali *et al*., 1996).

Les bases xanthiques peuvent induire des effets indésirables dose-dépendants :

- excitabilité, nervosité, pesanteur gastrique, et, à dose plus forte, tachycardie, nausées, vomissements, gastralgies, diarrhée, céphalées, insomnies, tremblements ;
- en fin de grossesse : possibilité d'excitation et de tachycardie chez le nouveau-né.

La marge thérapeutique de la théophylline est très étroite (la dose thérapeutique est proche de la dose toxique), aussi les cas de surdosage ne sont pas rares avec le risque de tachycardie, agitation, vomissements, convulsions, hyperthermie, hypotension, hyperventilation, dépression respiratoire, risque de fibrillation ventriculaire. Ces traitements nécessitent donc une surveillance accrue (GINA, 2008).

E) Antihistaminiques H1

Cette classe de médicaments antiasthmatiques est représentée par le kétotifène (Zaditen®).

Le kétotifène possède des propriétés antiallergiques : il s'agit d'un stabilisateur de membrane avec une propriété antihistaminique (blocage des récepteurs H1), non bronchodilatateur (Mancel *et al*., 1999). Le kétotifène est donc indiqué dans le

traitement prophylactique de l'asthme bronchique allergique ou à composante allergique.

Il inhibe la bronchoconstriction et l'accumulation d'éosinophiles dans les voies aériennes induites par le facteur d'activation plaquettaire (PAF) et la libération d'histamine.

L'effet indésirable majeur des antihistaminiques est un effet sédatif avec somnolence diurne.

2.8.2 Traitement bronchodilatateur dans l'asthme

La stimulation du système sympathique au niveau du muscle lisse pulmonaire *via* les récepteurs β_2 provoque une bronchodilatation.

A) Les β_2 stimulants

Les β_2 stimulants sont regroupés en fonction de leur latence et durée d'action. Les β_2 stimulants d'action brève sont principalement représentés par le salbutamol (Ventoline®) et ceux d'action prolongée par le formotérol (Foradil®) et le salmétérol (Serevent®).

Ces agonistes spécifiques des récepteurs β_2 adrénergiques induisent une relaxation du muscle lisse bronchique.

Les récepteurs β_2 adrénergiques sont des récepteurs à 7 passages transmembranaires couplés à l'adenyl cyclase par une protéine Gs. Leur stimulation induit la formation d'AMP cyclique, second messager qui déclenche une cascade de phosphorylation de protéines impliquées dans la régulation du tonus musculaire lisse. En effet, l'AMPc induit l'activation d'enzymes, les protéines kinases dépendantes de l'AMPc ou dépendantes du GMPc, respectivement protéines kinases A (PKA) et protéines kinases G (PKG).
L'activation des protéines kinases favorise trois types de réponses qui vont concourir à la relaxation des muscles lisses : une diminution des concentrations en calcium cytosolique, l'inhibition des interactions actine-myosine et l'ouverture de canaux potassiques Ca2+-dépendants de conductance élevée conduisant à une hyperpolarisation et à une mise au repos de la cellule.

Lorsque le médicament arrive dans les voies aériennes pulmonaires l'effet s'installe très rapidement. Il s'agit d'un antagonisme fonctionnel capable d'induire une relaxation des muscles lisses bronchiques, quel que soit le médiateur ayant provoqué la contraction. Par voie pulmonaire, les agonistes β_2 sont pratiquement dépourvus de tout effet sur les récepteurs β_1 cardiaques.

Cependant, ces médicaments n'ont pas d'effets sur l'inflammation et sont donc prescrits en association avec les glucocorticoïdes (GINA, 2008).

Par voie inhalée, les effets indésirables sont très rares à doses thérapeutiques car ils sont liés au passage systémique. Cependant un surdosage, notamment avec les β_2 agonistes à action prolongée peut provoquer des problèmes cardio-vasculaires comme une tachycardie, des palpitations, des tremblements, une hypotension…(GINA, 2008).

B) Anticholinergiques antiasthmatiques

Cette classe de médicaments antiasthmatiques est représentée par l'ipratropium bromure (Atrovent®) et le tiotropium bromure (Spiriva®).

Le système cholinergique comprend 3 types de récepteurs muscariniques M1, M2 et M3. Les récepteurs M3, postsynaptiques, engendrent les effets systémiques de l'acétylcholine, notamment l'hypersécrétion bronchique, une bronchoconstriction, une vasodilatation. Les antagonistes cholinergiques actuellement commercialisés sont non spécifiques et bloquent les 3 récepteurs muscariniques sans pour autant provoquer beaucoup d'effets systémiques par voie inhalée. Leur effet bronchodilatateur qui est plus retardé que celui des β_2 stimulants, concerne surtout les grosses bronches proximales (GINA, 2008).

Des essais réalisés avec l'ipratropium bromure associé à un β_2 stimulant chez des patients atteints d'asthme aigu ont permis de mettre en évidence une diminution des admissions à l'hôpital ainsi qu'une amélioration des fonctions pulmonaires (Rodrigo *et al*., 1999).

Le principal effet secondaire des anticholinergiques administrés par voie inhalée est une sécheresse de la bouche (GINA, 2008).

2.8.3 Autres : anti-IgE

L'omalizumab (Xolair®) est un anticorps monoclonal recombinant humanisé qui se lie sélectivement aux IgE et qui, ainsi, réduit la quantité d'IgE circulantes. Cette option de traitement est donc réservée aux patients ayant un taux élevé d'IgE, notamment les patients souffrant d'asthme allergique persistant sévère mal contrôlé par les glucocorticoïdes inhalés (Humbert *et al.*, 2005).

L'omalizumab est bien toléré et entraîne peu d'effets secondaires chez les patients de 12 ans et plus (GINA, 2008).

2.9 Prise en charge thérapeutique

Les objectifs principaux de la prise en charge des patients asthmatiques sont :

- d'évaluer la sévérité et le contrôle de l'asthme ;
- de rechercher les facteurs de risque, les complications et le risque d'asthme aigu grave.

2.9.1 Education thérapeutique et contrôle environnemental

L'éducation des patients doit faire partie intégrante de la stratégie de prise en charge de l'asthme. Elle comporte au minimum un apprentissage à l'autogestion du traitement par le patient. Il est nécessaire que le patient comprenne mieux sa maladie afin de la gérer au quotidien et de percevoir correctement la présence de symptômes indiquant une évolution de l'état respiratoire. De plus, la connaissance par le patient de l'action des médicaments sur sa maladie permet d'augmenter son observance au traitement et ainsi d'améliorer sa qualité de vie.

La base du traitement de l'asthme reste le contrôle environnemental qui permet d'éviter l'installation de l'inflammation bronchique. Plusieurs actions de prévention sont possibles pour le patient afin d'éviter l'allergène. Si ces mesures d'évitement allergénique n'ont pas un effet suffisant, les médicaments sont alors indiqués.

2.9.2 Stratégie thérapeutique

Le principal objectif du traitement de l'asthme est d'atteindre un niveau de maîtrise conforme aux critères établis. Le choix des classes thérapeutiques, des doses et des associations dépendent du traitement de fond en cours et du degré de

contrôle de l'asthme. Le contrôle de l'asthme peut être classé en 3 niveaux : non contrôlé, partiellement contrôlé et contrôlé. Les paramètres définissant ces niveaux de contrôle sont adaptés des lignes directrices internationales (GINA) [**Tableau 5**]. Une telle classification reflète le fait que non seulement la gravité de l'affection, mais aussi la façon dont le patient réagit au traitement, sont des marqueurs importants de la gravité de l'asthme.

Tableau 5 : Niveaux de contrôle de l'asthme (adapté du GINA, 2008).

Caractéristiques	**Contrôlé** (tous les items sont validés)	**Partiellement contrôlé** (au moins 1 item présent n'importe quelle semaine)	**Non contrôlé**
1. Symptômes diurnes	< 2/semaine	> 2/semaine	≥ 3 items du contrôle partiel présents n'importe quelle semaine
2. Limitation des activités	Aucune	Oui	
3. Symptômes nocturnes	Aucun	Oui	
4. Recours à des β_2 stimulants d'action rapide	< 2/semaine	> 2/semaine	
5. Fonction pulmonaire (VEMS/DEP)	Normale	< 80% de la meilleure valeur personnelle ou valeur prédictive	
6. Exacerbations	Aucune	≥ 1/an	1 crise n'importe quelle semaine

En fonction de ce niveau de contrôle, une étape de traitement est déterminée pour chaque patient [**Tableau 6**]. En cas de changement dans le niveau de contrôle de l'asthme, le traitement est majoré ou diminué par paliers successifs : lorsque l'asthme n'est pas suffisamment contrôlé, il convient de passer au palier de traitement supérieur ; lorsque l'asthme est bien contrôlé, on recherche le traitement minimal efficace. Généralement, le passage d'une étape de traitement à l'autre s'effectue après un temps d'attente de 3 mois afin d'obtenir l'effet optimal du nouveau traitement mis en place.

Tableau 6 : Etapes successives de traitement basées sur le contrôle de l'asthme chez les adultes, adolescents et enfants de plus de 5 ans (adapté du GINA, 2008).

Etape 1	Etape 2	Etape 3	Etape 4	Etape 5
- β_2 stimulants d'action rapide à la demande - Pas de traitement de fond	- Premier choix: CSI à faibles doses - Deuxième choix: antileucotriènes	- Premier choix: CSI à faibles doses **plus** β_2 mimétique à longue durée d' action - Deuxième choix: • **soit** CSI à posologie moyennement élevée ou élevée • **soit** CSI à faibles doses **plus** antileucotriènes • **soit** CSI à faibles doses **plus** théophylline à libération prolongée	CSI à posologie moyennement élevée ou élevée **plus** β_2 - mimétique à longue durée d' action Ajouter éventuellement: - antileucotriènes - et/ou théophylline à libération prolongée	Médicaments de l' étape 4 **plus** - corticostéroïdes oraux (posologie la plus faible possible) - et/ou omalizumab

Les traitements actuels de l'asthme sont relativement efficaces en particulier pour les formes légères et intermédiaires de la maladie. Une part importante des asthmatiques ne contrôle cependant pas ses symptômes du fait de traitements insuffisants (Com-Ruelle *et al*., 2010). De plus, l'observance des patients pour les traitements inhalés et notamment les CSI est faible. Elle pourrait être améliorée par l'apport de médicaments à prise orale quotidienne avec peu d'effets secondaires. Ainsi, une meilleure prise en charge ambulatoire de l'asthme permettrait d'améliorer la qualité de vie des patients asthmatiques en évitant les épisodes d'exacerbations aiguës et de complications, entraînant parfois des hospitalisations coûteuses, voire des décès.

Il reste donc un besoin pour de nouveaux médicaments à prise orale, qui permettraient d'augmenter la marge de manœuvre thérapeutique des professionnels de santé, afin d'améliorer la prise en charge des patients asthmatiques en termes de gestion des mesures environnementales et de traitement des causes notamment allergiques.

Sur le plan clinique, cela nécessite de prendre en compte l'ensemble des symptômes afin de mettre en place une stratégie thérapeutique qui assure un niveau de contrôle adéquat de la maladie et qui améliore l'observance des patients.

En dépit des efforts considérables des industries pharmaceutiques dans le domaine, il est très difficile de développer des médicaments appartenant à de nouvelles classes thérapeutiques dans l'asthme. En 30 ans, seule une nouvelle classe de médicaments anti-asthmatiques a été introduite sur le marché : les anti-leucotriènes (montelukast). La stratégie consiste plutôt à améliorer les classes thérapeutiques existantes, en améliorant la pharmacocinétique, la sélectivité des médicaments.

Toutefois, de nombreux axes de recherche sont actuellement étudiés dans le traitement de l'asthme, notamment des antagonistes de médiateurs inflammatoires tels que :

- des inhibiteurs d'interleukines, comme un anticorps anti-IL-5 (mepolizumab) qui prévient l'afflux d'éosinophiles dans les voies aériennes de l'asthmatique après stimulation par l'allergène mais qui n'a pas d'effet sur l'asthme ou la fonction respiratoire (Flood-Page *et al*., 2007)
- des antagonistes des récepteurs de l'endothéline-1, peptide sécrété par l'endothélium vasculaire qui induit la prolifération des cellules musculaires lisses au niveau des voies respiratoires et un phénotype pro-fibrotique. Il pourrait donc avoir un rôle dans l'inflammation chronique et le remodelage des voies aériennes observés dans l'asthme (Benigni et Remuzzi, 1999). Cependant, il est difficile de montrer l'efficacité de telles drogues sur un processus très lent comme le remodelage sans avoir des bio-marqueurs validés.
- des antagonistes du récepteur CRTH2 de la PGD_2. Cette prostaglandine libérée par les mastocytes activés est un médiateur clé dans l'asthme : elle est une cible thérapeutique idéale car elle constitue un lien essentiel entre la phase précoce et la phase tardive observées dans les réactions allergiques. La deuxième partie de cette thèse présente le rôle de cette prostaglandine dans l'asthme et l'intérêt qu'elle suscite auprès des industries pharmaceutiques.

PARTIE II : LA PROSTAGLANDINE D_2: EFFICACITE DES ANTAGONISTES DU CRTH2 DANS L'ASTHME ?

I) La Prostaglandine D_2

1.1 Métabolisme de la PGD_2

Les prostaglandines, tout comme les leucotriènes, appartiennent à la superfamille des eicosanoïdes, une famille complexe de molécules à 20 atomes de carbone, dérivées d'acides gras poly-insaturés. Le précurseur des prostanoïdes est l'acide arachidonique qui est produit par l'hydrolyse des phospholipides membranaires par la PLA2 [**Figure 10**]. L'acide arachidonique est ensuite oxydé par la voie des cyclooxygénases (COX).

Il existe deux isoformes de COX, codées par des gènes différents : les COX-1 qui sont exprimées de manière constitutionnelle et qui jouent un rôle dans le maintien de l'homéostasie tissulaire, et les COX-2 qui sont induites par l'inflammation. L'activité peroxydase de ces enzymes transforme la PGG_2 en PGH_2, intermédiaire non stable qui est à son tour convertie en différentes prostaglandines sous l'effet de prostaglandines synthases (Funk, 2001).

La prostaglandine D synthase (PGDS) est l'enzyme qui catalyse l'isomérisation de la PGH_2 en PGD_2. Il en existe deux différents types, la lipocaline-PGDS (L-PGDS) et l'enzyme hématopoïétique PGDS (H-PGDS). La L-PGDS est localisée dans le système nerveux central et dans les organes génitaux mâles tandis que la H-PGDS est distribuée dans les mastocytes, les CPA et les lymphocytes Th2 (Kanaoka et Urade, 2003). La H-PGDS est donc l'enzyme-clé de la synthèse de la PGD_2 dans le système immunitaire et les mastocytes.

La PGD_2 est rapidement métabolisée par déshydratation pour former une grande variété de métabolites, notamment PGJ_2 et 15-deoxy-delta^{12,14} PGD_2 [**Figure 9**].

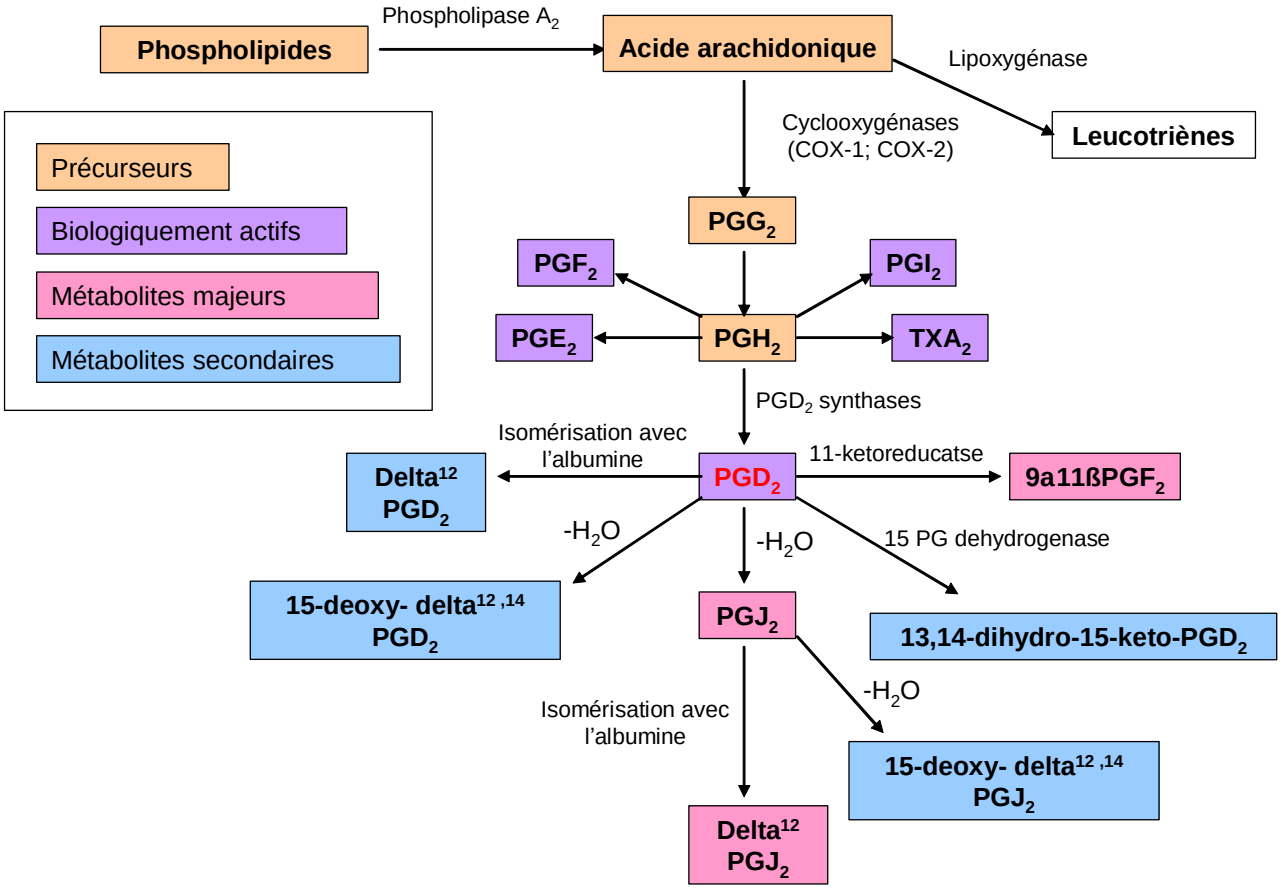


Figure 9 : Voie de synthèse de la prostaglandine D_2 (PGD_2).
L'acide arachidonique est métabolisé par les enzymes COX1 et COX2 en PGG_2 puis en PGH_2 au cours d'une réaction en deux étapes (oxydation et réduction). La prostaglandine PGH_2, relativement instable, est convertie enzymatiquement par des synthases spécifiques : thromboxane (TXAS), PGE, PGD et PGI synthases, en l'un des cinq prostanoïdes : TXA_2, PGE_2, PGD_2 et PGI_2, respectivement (Pettipher *et al*., 2007).

1.2 Effets de la PGD_2 dans l'asthme

Chez les patients asthmatiques, une stimulation allergique entraîne une production rapide de PGD_2 qui peut être détectée dans le LBA à des taux très élevés (Liu *et al*., 1991). Il en est de même pour les métabolites de la PGD_2 dont la concentration est augmentée dans le plasma et l'urine des patients asthmatiques stimulés par un allergène (Bochenek *et al*., 2004).

La PGD_2 est principalement libérée par les mastocytes activés aux sites de l'inflammation allergique. De ce fait, la mesure de la PGD_2 et de ses métabolites a été proposée comme marqueur sélectif de l'activation des mastocytes dans l'asthme clinique (Dahlén et Kumlin, 2004).

Cette prostaglandine peut mimer de nombreux symptômes observés dans les maladies allergiques, notamment la bronchoconstriction (Black *et al*., 1986), la vasodilatation (Alving *et al*., 1991), une augmentation de la perméabilité vasculaire (Flower *et al*., 1976) et la production de mucus (Marom *et al*., 1981). La PGD_2, tout comme l'histamine, active les éosinophiles (Raible *et al.,* 1992) et induit leur recrutement (Emery *et al*., 1989). Elle affecte également d'autres facteurs clés de l'inflammation, comme la production de cytokines Th2. En effet, des souris transgéniques qui sur-expriment l'enzyme L-PGDS au niveau des poumons, soumises à une inflammation allergique induite par l'OVA, présentent des taux élevés d'IL-4 et -5 dans le LBA et de façon générale une réponse allergique augmentée par rapport à des souris sauvages (Fujitani *et al*., 2002). De plus, la nébulisation de PGD_2 chez des souris sensibilisées puis ré-exposées à de faibles doses d'OVA augmente l'afflux d'éosinophiles, les niveaux de cytokines Th2 dans les poumons et conduit au développement d'HRB (Honda *et al*., 2003).

Ainsi, ces données supportent le fait que la PGD_2 joue un rôle important comme médiateur dans l'asthme allergique. En initialisant les processus cellulaires menant au recrutement et à l'activation des lymphocytes Th2 et des éosinophiles, elle constitue un lien essentiel entre la phase précoce et la phase tardive observées dans les réactions allergiques. Ses effets sont médiés par ses principaux récepteurs appartenant à la famille des récepteurs à sept domaines trans-membranaires couplés aux protéines G (RCPG): DP1 (D prostanoid receptor) et CRTH2 (chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on Th2 cells).

1.3 Récepteur DP1 : rôles et implications dans l'asthme

L'activation du récepteur DP1 couplé à la protéine Gs active l'adenylate cyclase (AC) ce qui induit la production d'AMPc (Boie *et al*., 1995).

Ce récepteur est exprimé au niveau des muscles lisses bronchiques et vasculaires et son activation par un agoniste sélectif comme le BW245C entraîne une relaxation qui conduit à une bronchodilatation et une vasodilatation (Matsuoka *et al*., 2000). Le récepteur DP1 est également exprimé par les plaquettes dans lesquelles son activation a des effets anti-agrégants (Whittle *et al*., 1985). De plus, le récepteur DP1 est aussi exprimé par les cellules épithéliales, les fibroblastes, et les cellules dendritiques. L'activation du récepteur par la PGD_2 inhibe la migration des

cellules dendritiques des poumons aux ganglions lymphatiques après stimulation à l'OVA, réduisant ainsi la prolifération des lymphocytes et la production de cytokines (Hammad *et al*., 2003). D'autre part, l'activation du récepteur DP1 inhibe la migration (Spik *et al*., 2005) et l'apoptose des éosinophiles (Gervais *et al*., 2001). Le [**Tableau 3**] résume les principaux effets biologiques du récepteur DP1.

Tableau 7 : Résumé des principaux effets biologiques associés au récepteur DP1 de la PGD_2 (adapté de Pettipher et Hansel, 2008).

Récepteur	Ligands endogènes	Mécanisme de signalisation	Localisation du récepteur	Effets biologiques
DP1	PGD2	RCP**Gs** ↑ AMPc	Muscles lisses bronchiques et vasculaires ; Cellules dendritiques ; Plaquettes.	Bronchodilatation, vasodilatation, suppression de la production d'IL-12 par les cellules dentritiques ; Inhibition de l'agrégation plaquettaire ; Inhibition de la migration et de la dégranulation des basophiles ; Inhibition de l'apoptose et prolongement de la survie des éosinophiles.

L'activation du récepteur DP1 par la PGD_2 induit donc des effets biologiques bénéfiques pour le traitement de l'asthme, or son rôle dans l'inflammation reste controversé. En effet, chez des souris génétiquement déficientes en récepteur DP1, l'inflammation des voies aériennes en réponse à un antigène à faible dose est diminuée : la production de cytokines Th2, l'infiltration éosinophilique, la production de mucus et l'HRB sont diminuées en comparaison avec des souris sauvages (Matsuoka *et al*., 2000). Ces derniers résultats suggèrent que l'antagonisme du récepteur DP1 pourrait constituer un traitement de l'asthme. Cependant, une récente étude clinique réalisée avec le laropirant, antagoniste sélectif du DP1 sur 100 patients asthmatique n'a pas permis de valider cette hypothèse : aucune différence ne fut observée entre les patients traités et les patiens sous placebo (Philip G *et al*., 2009).

1.4 Récepteur CRTH2 : rôles et implications dans l'asthme

Comme son nom l'indique, le récepteur CRTH2 est exprimé par les lymphocytes Th2 (Cosmi *et al*., 2000), les basophiles, les éosinophiles (Nagata *et al*., 1999) et les monocytes. Il fut identifié comme un récepteur à la PGD_2 plus récemment que le récepteur DP1. Il a peu d'homologie structurale avec les récepteurs aux prostanoïdes et s'apparente plus aux récepteurs chiomiotactiques, notamment les récepteurs au leucotriène B4.

L'activation du récepteur CRTH2, couplé à la protéine Gi, conduit à la réduction des taux d'AMPc ainsi qu'à une augmentation du Ca^{2+} intracellulaire (Sawyer *et al*., 2002).

Les observations faites *in vitro* ont permis de mettre en évidence le rôle pro-inflammatoire du CRTH2 dans l'allergie. En effet, le chimiotactisme de la PGD_2 exercé sur les cellules Th2, les éosinophiles, les basophiles se fait *via* son récepteur CRTH2 (Hirai *et al*., 2001). D'ailleurs, le taux d'expression du récepteur CRTH2 par ces cellules est augmenté chez les sujets atopiques. En effet, les éosinophiles de sujets atopiques présentent des taux d'ARNm et de protéines de CRTH2 augmentés en comparaison à des sujets sains (Arima et Fukuda, 2008).

De plus, l'effet de la PGD_2 sur la production de cytokines Th2 par les lymphocytes est également attribué au récepteur CRTH2. L'activation de ce récepteur par un agoniste sélectif, notamment la 13,14-dihydro-15-keto-PGD_2 (DK-PGD_2) entraîne une augmentation de la production d'IL-4, -5 et -13, qui ne peut être reversée par un antagoniste sélectif du récepteur DP1 (Tanaka *et al*., 2004). Le [**Tableau 8**] résume les principaux effets biologiques du récepteur CRTH2.

Tableau 8 : Résumé des principaux effets biologiques associés au récepteur CRTH2 de la PGD_2 (adapté de (Pettipher et Hansel, 2008).

Récepteur	Ligands endogènes	Mécanisme de signalisation	Localisation du récepteur	Effets biologiques
CRTH2	PGD_2, DK-PGD_2…	RCP**Gi** ↑ Ca2+ ↓ AMPc	Lymphocytes Th2 ; Eosinophiles ; Basophiles.	Chimiotactisme et activation des cellules Th2, éosinophiles, basophiles ; ↑ cytokines Th2 ; ↑ expression des molécules d'adhésion.

Les effets pro-inflammatoires de ce récepteur ont également été confirmés *in vivo*. En effet, l'administration de PGD_2 ou d'agonistes sélectifs du récepteur CRTH2 par voie intra-trachéale (it) ou intra-veineuse (iv) chez des rats est responsable d'une infiltration éosinophilique au niveau des poumons (Almishri *et al*., 2005 ; Shichijo *et al*., 2003).

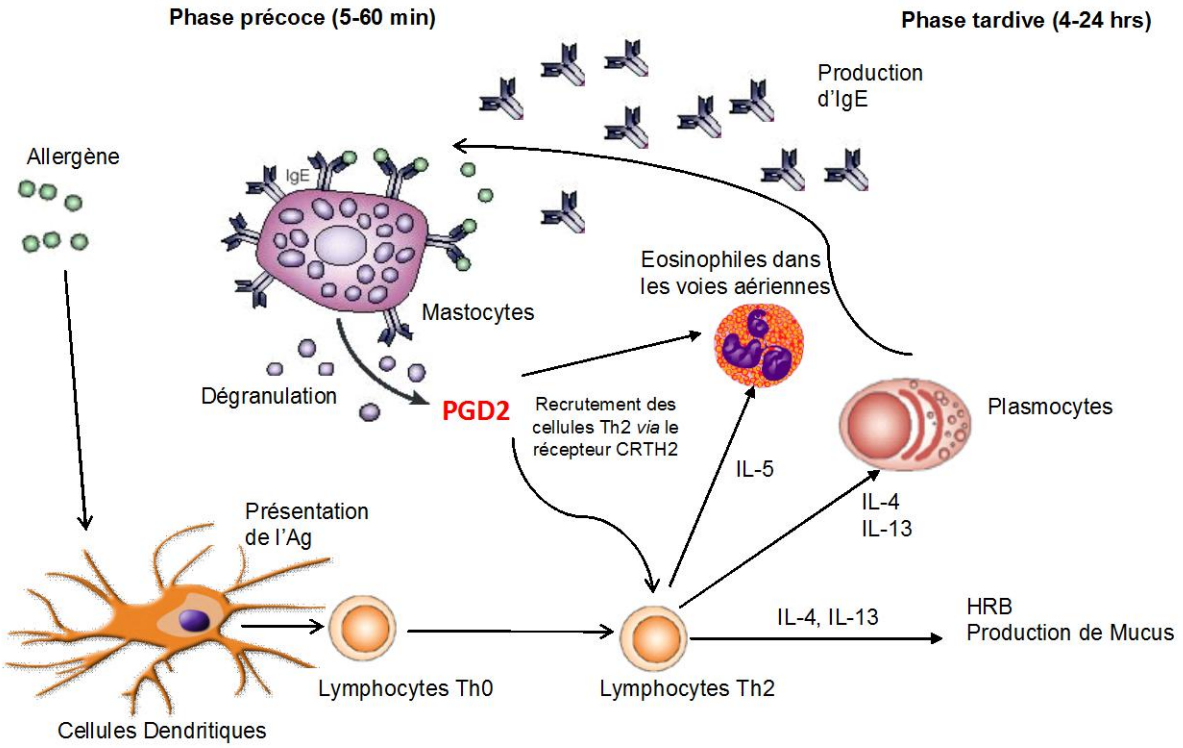
Ces dernières années, les recherches sur les rôles du CRTH2 ont été facilitées par l'utilisation d'un antagoniste synthétique : le ramatroban. Cette molécule, commercialisée sous le nom de Baynas™ au Japon pour le traitement de la rhinite allergique, est à la fois un antagoniste du récepteur au thromboxane A2 et un antagoniste du récepteur CRTH2 (Sugimoto *et al*., 2003). Le ramatroban est capable d'inhiber l'accumulation d' éosinophiles induite par un agoniste sélectif du CRTH2, la DK-PGD_2, dans le sang et les voies aériennes (Shichijo *et al*., 2003 ; Shiraishi *et al*., 2005).

Récemment, une équipe a montré qu'un nouvel antagoniste sélectif du récepteur CRTH2 réduisait le recrutement d'éosinophiles et l'hyperplasie des cellules à mucus dans un modèle d'asthme allergique chez la souris (Uller *et al*., 2007).

Cependant, les études sur des souris déficientes pour le gène du CRTH2 ont produit des résultats conflictuels. En effet, tandis que certaines ont rapporté que l'inflammation de la peau et la production en IgE étaient diminuées chez les souris déficientes en CRTH2 (Satoh *et al*., 2006), d'autres ont montré que le recrutement en éosinophiles dans les poumons étaient augmenté chez les souris déficientes par rapport aux souris sauvages (Chevalier *et al*., 2005).

Ces données rappellent que les résultats obtenus chez l'animal sont à analyser avec beaucoup de précaution. En effet, chez l'Homme, l'expression du récepteur CRTH2 est limitée aux cellules de type Th2 alors que les deux sous-populations de lymphocytes Th1 et Th2 murins expriment le récepteur (Abe *et al*., 1999 ; Chevalier *et al*., 2005). Ainsi, les fonctions du récepteur peuvent être différentes entre les humains et les animaux de laboratoire. L'identification de variants génétiques de CRTH2 chez des patients ayant une prédisposition allergique a permis de mettre en évidence une association avec l'asthme sévère dans des populations américaines, africaines et chinoises. Ces individus présentent une réponse chimiotactique exagérée à la PGD_2, ce qui conduit à une augmentation du recrutement et de l'activation des lymphocytes Th2 et des leucocytes impliqués dans les réactions

allergiques (Huang *et al*., 2004). Ces données renforcent le fait que le récepteur CRTH2 joue un rôle important dans l'inflammation allergique, notamment dans l'asthme allergique. Le schéma présenté **[Figure 10]** résume le rôle de ce récepteur dans l'asthme allergique.



<u>Figure 10 :</u> Rôle de la PGD_2 dans l'inflammation allergique *via* son récepteur CRTH2 (adapté de Pettipher *et al*., 2007).

La phase précoce correspond à la production d'IgE spécifiques par les lymphocytes B qui se fixent sur les mastocytes environnants. Lors d'un deuxième contact avec l'allergène, les mastocytes sensibilisés libèrent des médiateurs pharmacologiques, dont la PGD_2. Celle-ci est également produite par les lymphocytes Th2, polarisés sous l'influence des cellules dendritiques. La PGD_2 se lie à son récepteur CRTH2, ce qui entraîne le recrutement et l'activation des éosinophiles et des lymphocytes Th2. Ces lymphocytes activés produisent des cytokines qui déclenchent une réaction inflammatoire intense, responsable d'une pathologie telle que l'asthme.

Ainsi, le récepteur CRTH2 représenterait une excellente cible pour influencer l'évolution des maladies respiratoires, l'utilisation d'antagonistes permettant une modulation du recrutement des leucocytes dans le poumon.

II) Revue des études pré-cliniques in vivo et cliniques impliquant des antagonistes du récepteur CRTH2

2.1 Résultats d'études pré-cliniques chez l'animal

A l'heure actuelle, il existe peu de publications montrant l'efficacité d'antagonistes du récepteur CRTH2 dans des modèles animaux d'asthme. Le tableau ci-dessous [**Tableau 8**] résume les principales études réalisées sur ce sujet.

Tableau 9 : Revue des publications montrant une efficacité d'antagonistes du récepteur CRTH2 dans des modèles animaux d'asthme au 30 septembre 2010.

Espèce/ souche	Allergène/ adjuvant	Antagoniste au CRTH2	Résultats obtenus chez les animaux traités	Référence
Rats/ Sprague Dawley	OVA/Alum	BAYu3405	- ↓ infiltrats d'éosinophiles et de lymphocytes dans la paroi bronchique - ↓ IL-4 et IL-5 mais ↑ IFN γ	Lou *et al*., 2010
Souris/ Balb/c	Œufs de blattes/ Ajuvant incomplet de Freund	Composé Actimis	- inhibition de l'HRB induite par métacholine - ↓ hyperplasie des cellules à mucus et de l'inflammation - ↓ de cytokines Th2 - ↓ gènes codant pour le CRTH2 et la PGDS	Lukacs *et al*., 2008
Souris/ Balb/c	OVA/ Alum	TM30089 Ramatroban	- ↓ hyperplasie des cellules à mucus et ↓ infiltrats d'éosinophiles	Uller *et al*., 2007
Rats/Brown Norway Mice/Balb/c	OVA/Alum plus *Bordetella pertussis*	Ramatroban	- ↓ de l'HRB induite par la métacholine et ↓ infiltrats d'éosinophiles	Shiraishi *et al*., 2008

Ainsi, seules les industries Actimis et 7TM Pharma ont publié des résultats obtenus avec leurs antagonistes du CRTH2 sur des modèles animaux. Or ces industries ne sont pas les plus avancées dans le développement de ces composés.

Cependant, il n'existe pas de modèle animal « idéal » mimant parfaitement l'asthme. Les différences entre les animaux de laboratoire et l'Homme telles que la taille, la structure de l'appareil respiratoire, les cellules disponibles, illustrent les difficultés à transposer les résultats obtenus dans les espèces murines à la pathologie humaine, d'où la nécessité pour les industries d'initier des essais chez l'Homme.

2.2 Etudes cliniques en cours avec des antagonistes du récepteur CRTH2

2.2.1 Rappel sur les phases de développement clinique

La phase de développement clinique consiste à tester les molécules sur l'Homme de manière progressive afin d'évaluer la molécule dans des conditions aussi proches que possible des conditions d'utilisation thérapeutique. On distingue 3 grandes étapes dans le développement clinique d'un médicament :

- Phase I ou étude de tolérance : La molécule est administrée à des volontaires sains (sauf pour les anti-cancéreux cytotoxiques et certains anti-viraux) afin d'évaluer son innocuité. Cette phase permet de déterminer la dose maximale du médicament en développement toléré chez l'homme. Elle permet aussi d'étudier la pharmacocinétique du produit, c'est à dire déterminer le devenir du médicament au sein de l'organisme en fonction de son mode d'administration.

- Phase II ou étude de l'efficacité : La phase II permet d'affiner les connaissances sur la pharmacocinétique et le métabolisme du produit. Elle a pour objectif principal de déterminer le posologie optimale du produit en terme d'efficacité et de tolérance sur population limitée et homogène de patients. La phase II recense les propriétés pharmacologiques de la molécule, établit les courbes de relation dose-effet et commence la recherche des interactions.

- Phase III ou essai comparatif : Ces essais de plus grande envergure, sont conduits sur plusieurs milliers de patients représentatifs de la population de malades à laquelle le médicament est destiné. Cette phase permet de définir la place du produit comparativement aux autres médicaments connus efficaces pour la maladie. Ces essais visent à démontrer l'intérêt thérapeutique du médicament et à en évaluer son rapport bénéfice/risque.

2.2.2 Revue des différents composés en développement clinique

De nombreuses entreprises pharmaceutiques ont axé leur recherche sur la PGD_2. De ce fait, 10 antagonistes du récepteur CRTH2 qui présentent l'avantage d'être administrés par voie orale, sont déjà au stade de développement clinique dans le traitement de l'asthme [**Tableau 9**]. Pour le moment, très peu de structures de ces composés ont été publiées et seules deux industries pharmaceutiques : Oxagen Ltd et Actelion Ltd ont rapporté des résultats positifs dans le traitement de l'asthme.

Tableau 10 : Antagonistes du récepteur CRTH2 en développement clinique au 31 décembre 2009 (adapté de Norman, 2010).

Composé	Industrie pharmaceutique	Indication	Phase de développement
AZD-1981	AstraZeneca	Asthme, Broncho-pneumopathie chronique obstructive	Phase II
ACT-129968	Actelion	Asthme	Phase II
OC-459	Oxagen	Asthme, allergies	Phase II
S-555739	Shionogi	Rhinite allergique	Phase IIa
AMG-853	Amgen	Asthme	Phase II
AP-761	Actimis	Asthme, maladies allergiques	Phase I
AZD-5985	AstraZeneca	Asthme	Phase I
AZD-8075	AstraZeneca	Asthme	Phase I
AM-211	Amira	Asthme	Phase I

L'industrie pharmaceutique AstraZeneca semble être la plus avancée avec 3 composés en clinique dont AZD-1981 qui est actuellement en phase II pour le traitement de l'asthme et de la broncho-pneumopathie chronique obstructive. Plusieurs études sont conduites dont une étude de 1 mois effectuée sur 510 patients asthmatiques peu contrôlés par les CSI dans laquelle sont comparées 3 doses d'AZD-1981 (50, 400 et 1000 mg par voie orale) par rapport au placebo

(AstraZeneca, 2009). A ce jour, les résultats n'ont pas encore été communiqués. Les composés AZD-5985 et AZD-8075 sont tous deux en phase I.

Oxagen Ltd a été de manière très précoce une des industries les plus actives dans ce domaine. Son composé, OC-459, a progressé jusqu'en phase II et les données ont été reportées au congrès de la Société Européenne Respiratoire en septembre 2009.
Cette étude de phase IIa fut réalisée sur 132 patients atteints d'asthme atopique modéré permanent selon les critères du GINA (voir 1.1, tableau 1). Les patients étaient traités soit par OC-459 (200 mg par voie orale, deux fois par jour) soit par placebo pendant 4 semaines. Le VEMS des patients traités avec OC-459 augmenta significativement de 7,4% en comparaison avec les patients sous placebo (Oxagen Ltd, 2009). De plus, le nombre d'éosinophiles dans les crachats ainsi que la quantité d'IgE dans le sérum furent réduits de manière significative dans le groupe de patients traités par OC-459 en comparaison au groupe placebo. L'industrie Oxagen a relancé une autre étude de Phase II qui a débuté en Avril 2009 sur 480 patients atteints d'asthme léger à modéré permanent. Cette étude compare 3 doses d'OC-459 : 25 mg une fois par jour, 100 mg deux fois par jour et 200 mg une fois par jour pendant 17 semaines. Cet essai est terminé depuis juillet 2010, mais les résultats ne sont pas encore connus (Oxagen Ltd, 2010).

Actelion Ltd a également rapporté l'efficacité de son composé ACT-129968 dans l'asthme modéré. Dans cette étude réalisée sur 18 patients en double aveugle, le composé fut bien toléré et le paramètre VEMS fut significativement augmenté dans le groupe de patients traités par ACT-129968 en comparaison au groupe placebo. Actelion a annoncé l'initiation d'une phase II pour fin 2010, dans laquelle plusieurs doses du composé seront testées (Actelion Ltd, 2010).

S-555739 appartenant à l'entreprise Shionogi est actuellement en Phase IIa au Japon. Ce composé est décrit comme un antagoniste à la PGD_2 mais son affinité pour les récepteurs DP1, CRTH2 reste peu claire et peu de données sont à ce jour disponibles.

C'est seulement en Janvier 2010 que Amgen a annoncé la progression de son composé AMG-853 en phase II. Le composé est décrit comme un antagoniste des

récepteurs de la PGD_2 qui offre une sélectivité double pour les récepteurs CRTH2 et DP1.

Les entreprises Amira et Actimis Pharmaceuticals ont toutes deux été fondées en 2005. L'une a été crée par un groupe de scientifiques anciennement chez Merck et l'autre par l'ancien vice président du département recherche sur les maladies respiratoires de Bayer. Amira Phamaceuticals possède déjà deux antagonistes du récepteur CRTH2 en développement dont AM-211 qui a donné de bons résultats en phase I en juillet 2009 (Amira Pharmaceuticals, 2009). Le composé d'Actimis, AP-761, fut aussi en phase I mais les résultats n'ont pas encore été communiqués.

Les résultats cliniques des deux composés OC-459 et ACT-129968 permettent de confirmer que le blocage du récepteur CRTH2 peut être démontré chez les humains, ce qui confirme les résultats obtenus chez l'animal. Le développement de ces composés atteint le stade le plus critique car il faut désormais démontrer une activité significative sur l'asthme clinique et définir la place des antagonistes du récepteur CRTH2 comparativement aux autres médicaments déjà utilisés dans l'asthme. Les résultats de telles études ne seront probablement pas disponibles avant fin 2011.

CONCLUSION

L'asthme est une maladie chronique complexe qui atteint près de 300 millions de personnes à travers le monde. Il s'agit d'une maladie grave, invalidante, qui reste responsable de 1500 à 2500 décès par an en France. L'asthme, qui est dû à un dysfonctionnement immunitaire, induit une intolérance de l'appareil respiratoire à certains antigènes de l'environnement. Leur présence provoque une cascade d'évènements néfastes orchestrés par des cellules immunitaires qui activent la production de médiateurs de la réaction allergique dont la PGD_2. Le traitement de fond de l'asthme persistant de l'adolescent et de l'adulte repose essentiellement sur l'administration d'un corticoïde inhalé. Malgré l'existence d'un arsenal thérapeutique performant, la prise en charge de l'asthme peut encore progresser.

En effet, le contrôle de la maladie, qui est un élément central dans les recommandations du GINA, est toujours insuffisant chez une forte proportion de patients. S'agissant d'un enjeu majeur de santé publique, de nouvelles pistes de recherche sont explorées afin d'améliorer la compliance des patients, l'efficacité du traitement et ainsi le contrôle de l'asthme. Parmi celles-ci, l'antagonisme du récepteur de la PGD_2 a suscité de l'intérêt pour le traitement de l'asthme allergique. En effet, la liaison de la PGD_2 à son récepteur CRTH2 produit une cascade de réactions impliquées dans la pathogenèse de l'asthme. Cette activation induit le recrutement et l'activation des cellules inflammatoires telles que les lymphocytes Th2 et les éosinophiles sur les sites de l'inflammation. De ce fait, la PGD_2 constitue une cible thérapeutique intéressante actuellement étudiée par plusieurs industries pharmaceutiques. Cependant, le rationnel ainsi que les données prometteuses obtenues *in vitro* et *in vivo* avec des antagonistes du récepteur CRTH2 restent à être confirmées chez l'Homme. Actuellement, un seul antagoniste non sélectif du récepteur CRTH2, le ramatroban, est présent sur le marché. En effet, cette molécule commercialisée au Japon dans le traitement de la rhinite allergique est à la fois un antagoniste du récepteur du thromboxane A2 et un antagoniste du récepteur CRTH2. Aussi, l'efficacité de composés sélectifs du récepteur CRTH2 reste à être prouvée dans les maladies allergiques chez l'Homme.

Dix industries pharmaceutiques en sont déjà aux phases de développement clinique principalement dans le traitement de l'asthme. Deux d'entres elles ont déjà pu rapporter l'innocuité de leurs antagonistes du récepteur CRTH2 ainsi qu'un effet positif du composé sur la fonction respiratoire. De plus ces antagonistes présentent l'avantage d'être administrés par voie orale ce qui permettrait d'améliorer l'observance des patients.

Ces premiers résultats positifs devront être confirmés par des études cliniques réalisées sur un plus grand nombre de patients. De plus, il reste à évaluer l'apport thérapeutique que pourrait représenter cette classe de composés dans le traitement actuel de l'asthme. Ces réponses ne seront disponibles que dans quelques années, lorsque les premières études de phase III seront achevées.

BIBLIOGRAPHIE

Abe H, Takeshita T, Nagata K, Arita T, Endo Y, Fujita T, Takayama H, Kubo M, Sugamura K (1999). Molecular cloning, chromosome mapping and characterization of the mouse CRTH2 gene, a putative member of the leukocyte chemoattractant receptor family. Gene **227(1):** 71-77.

Actelion Ltd. Clinical development, updated 2010 Freely available online at: http://www1.actelion.com/documents/corporate/fact_sheets/FS_ClinicalDevelopment.pdf (accessibility verified 26 september 2010).

Afrite A, Allonier C, Com-Ruelle L, Le Guen N (2008). L'asthme en France en 2006 / prévalence et contrôle des symptômes. *Questions d'économie de la santé, IRDES* **n°138:** 1-8.

Almishri W, Cossette C, Rokach J, Martin JG, Hamid Q, Powell WS (2005). Effects of prostaglandin D2, 15-deoxy-Delta12,14-prostaglandin J2, and selective DP1 and DP2 receptor agonists on pulmonary infiltration of eosinophils in Brown Norway rats**.** *J Pharmacol Exp Ther* **313(1):** 64-69.

Alving K, Matran R, Lundberg JM (1991). The possible role of prostaglandin D2 in the long-lasting airways vasodilatation induced by allergen in the sensitized pig. *Acta Physiol Scand* **143(1):** 93-103.

Amira Pharmaceuticals. Amira Pharmaceuticals announces initial positive phase 1 clinical data for AM211, a novel product candidate for the treatment of respiratory diseases. Available oline at: http://www.medicalnewstoday.com/articles/155914.php (accessibility verified 26 september 2010).

Amrani Y, Panettieri RA Jr, Frossard N, Bronner C (1996). Activation of the TNF alpha-p55 receptor induces myocyte proliferation and modulates agonist-evoked calcium transients in cultured human tracheal smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* **15(1):** 55-63.

Annesi-Maesano I, Caillaud D, Lavaud F, Moreau D, Le Moullec Y, Taytard A, Pauli G, Charpin D (2009). Exposure to fine air particles and occurrence of allergic diseases: results of ISAAC-France phase 2. *Arch Pediatr* **16(3):** 299-305.

Arima M, Fukuda T (2008). Prostaglandin D2 receptors DP and CRTH2 in the pathogenesis of asthma. *Curr Mol Med* **8:** 365-375.

Arnson Y, Shoenfeld Y, Amital H (2009). Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *J Autoimmun* **34(3):** J258-265.

AstraZeneca. One month dose response study of AZD1981 in asthma patients uncontrolled on inhaled steroids (OLIVE) updated 2009, NTC00758589. Freely available online at: http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00758589 (accessibility verified 26 september 2010).

Aubier M (2003). L'épithélium bronchique, in : Vervloet D, Magnan A. Traité d'allergologie. Médecine-Sciences, Flammarion, Paris, pp. (300-304).

Aubier M, De Troyer A, Sampson M, Macklem PT, Roussos Ch (1981). Aminophylline improves diaphragmatic contractility. *N Engl J Med* **305:** 249-252.

Bacharier LB, Geha RS (2000). Molecular mechanisms of IgE regulation. *J Allergy Clin Immunol* **105:** S547-558.

Bandeira-Melo C, Bozza PT, Weller PF (2002). The cellular biology of eosinophil eicosanoid formation and function. *J Allergy Clin Immunol* **109(3):** 393-400.

Barnes NC, Piper PJ, Costello JF (1984). Comparative effects of inhaled leukotriene C4, leukotriene D4, and histamine in normal human subjects. *Thorax* **39(7):** 500-504.

Barnes PJ (2004). New drugs for asthma. *Nat Rev Drug Discov* **3(10):** 831-844.

Barnes PJ (2005). Theophylline in chronic obstructive pulmonary disease: new horizons. *Proc Am Thorac Soc* **2(4):** 334-339. discussion 340-341.

Barnes PJ (2003). Theophylline: new perspectives for an old drug. *Am J Respir Crit Care Med* **167(6):** 813-818.

Barnes PJ, Adcock IM (2003). How do corticosteroids work in asthma? *Ann Intern Med* **139(5 Pt 1):** 359-370.

Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST (1989). Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis* **139:** 806-817.

Benigni A, Remuzzi G (1999). Endothelin antagonists. *Lancet* **353(9147):** 133-138.

Berry MA, Hargadon B, Shelley M, Parker D, Shaw DE Green RH, Bradding P, Brightling CE, Wardlaw AJ, Pavord ID (2006). Evidence of a role of tumor necrosis factor a in refractory asthma. *N Eng J Med* **354:** 697-708

Bischoff SC (2007). Role of mast cells in allergic and non-allergic immune responses: comparison of human and murine data. *Nat Rev Immunol* **7(2):** 93-104.

Black JL, Armour CL, Vincenc KS, Johnson PR (1986). A comparison of the contractile activity of PGD2 and PGF2 alpha on human isolated bronchus. *Prostaglandins* **32(1):** 25-31.

Blanchard C, Mishra A, Saito-Akei H, Monk P, Anderson I, Rothenberg ME (2005). Inhibition of human interleukin-13-induced respiratory and oesophageal inflammation by anti-human-interleukin-13 antibody (CAT-354). *Clin Exp Allergy* **35(8):** 1096-1103.

Bochenek G, Nizankowska E, Gielicz A, Swierczyńska M, Szczeklik A (2004). Plasma 9alpha,11beta-PGF2, a PGD2 metabolite, as a sensitive marker of mast cell activation by allergen in bronchial asthma. *Thorax* **59(6):** 459-464.

Boguniewicz M, Martin RJ, Martin D, Gibson U, Celniker A, Williams M, Leung DY (1995). The effects of nebulized recombinant interferon-gamma in asthmatic airways. *J Allergy Clin Immunol* **95(1 Pt 1):** 133-135.

Boguniewicz M, Schneider LC, Milgrom H, Newell D, Kelly N, Tam P, Izu AE, Jaffe HS, Bucalo LR, Leung DY (1993). Treatment of steroid-dependent asthma with recombinant interferon-gamma. *Clin Exp Allergy* **23(9):** 785-790.

Boie Y, Sawyer N, Slipetz DM, Metters KM, Abramovitz M (1995). Molecular cloning and characterization of the human prostanoid DP receptor. *J Biol Chem* **270(32):** 18910-18916.

Borish L, Aarons A, Rumbyrt J, Cvietusa P, Negri J, Wenzel S (1996). Interleukin-10 regulation in normal subjects and patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* **97(6):** 1288-1296.

Bousquet J, Bousquet PJ, Godard P, Daures JP (2005). The public health implications of asthma. *Bull World Health Organ* **83:** 548-554.

Bradding P, Roberts JA, Britten KM, Montefort S, Djukanovic R, Mueller R, Heusser CH, Howarth PH, Holgate ST (1994). Interleukin-4, -5, and -6 and tumor necrosis factor-alpha in normal and asthmatic airways: evidence for the human mast cell as a source of these cytokines. *Am J respir Cell Mol Biol* **10:** 471-480.

Brewster CE, Howarth PH, Djukanovic R, Wilson J, Holgate ST, Roche WR (1990). Myofibroblasts and subepithelial fibrosis in bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* **3(5):** 507-511.

Brightling CE, Bradding P, Symon FA, Holgate ST, Wardlaw AJ, Pavord ID (2002). Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. *N Engl J Med* **346:** 1699-1705.

Brusselle GG, Kips JC, Tavernier JH, van der Heyden JG, Cuvelier CA, Pauwels RA, Bluethmann H (1994). Attenuation of allergic airway inflammation in IL-4 deficient mice. *Clin Exp Allergy* **24(1):** 73-80.

Brutsche M, Britschgi D, Dayer E, Tschopp JM (1995). Exercise-induced bronchospasm (EIB) in relation to seasonal and perennial specific IgE in young adults. *Allergy* **50:** 905-909.

Busse W, Elias J, Sheppard D, Banks-Schelgel S (1999). Airway remodeling and repair. *Am J Respir Crit Care Med* **160:** 1035-1042.

Busse WW, Lemanske RF (2001). Asthma. *N Engl J Med* **344:** 350-362.

Camargo CA Jr, Weiss ST, Zhang S, Willett WC, Speizer FE (1999). Prospective study of body mass index, weight change, and risk of adult-onset asthma in women. *Arch Intern Med* **159(21):** 2582-2588.

Caramori G, Adcock I (2003). Pharmacology of airway inflammation in asthma and COPD. *Pulm Pharmacol Ther* **16(5):** 247-277.

Chakir J, Shannon J, Molet S, Fukakusa M, Elias J, Laviolette M, Boulet LP, Hamid Q (2003). Airway remodeling-associated mediators in moderate to severe asthma: effect of steroids on TGF-beta, IL-11, IL-17, and type I and type III collagen expression. *J. Allergy Clin Immunol* **111:** 1293-1298.

Chen Y, Horne SL, Dosman JA (1993). Body weight and weight gain related to pulmonary function decline in adults: a six year follow up study. *Thorax* **48(4):** 375-380.

Chevalier E, Stock J, Fisher T, Dupont M, Fric M, Fargeau H, Leport M, Soler S, Schmidlin F, Pruniaux MP, Fink M, Bertrand CP, McNeish J, Li B (2005). Cutting edge: chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on Th2 cells plays a restricting role on IL-5 production and eosinophil recruitment. *J Immunol* **175(4):** 2056-2060.

Cho SH, Stanciu LA, Holgate ST, Johnston SL (2005). Increased interleukin-4, interleukin-5, and interferon-gamma in airway CD4+ and CD8+ T cells in atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* **171(3):** 224-230.

Cieslewicz G, Tomkinson A, Adler A, Duez C, Schwarze J, Takeda K, Larson KA, Lee JJ, Irvin CG, Gelfand EW (1999). The late, but not early, asthmatic response is dependent on IL-5 and correlates with eosinophil infiltration. *J Clin Invest* **104(3):** 301-308.

Coca AF, Cooke RA (1923). On the phenomenon of hypersensitiveness. *J Immunol* **8:** 163-182.

Cohn L, Elias JA, Chupp GL (2004). Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annuv Rev Immunol* **22:** 789-815.

Cohn L, Tepper JS, Bottomly K (1998). IL-4-independent induction of airway hyperresponsiveness by Th2, but not Th1, cells. *J immunol* **161(8):** 3813-3816.

Collins MH, Moessinger AC, Kleinerman J, Bassi J, Rosso P, Collins AM, James LS, Blanc WA (1985). Fetal lung hypoplasia associated with maternal smoking: a morphometric analysis. *Pediatr Res* **19(4):** 408-412.

Com-Ruelle L, Da Poian MT, Le Guen N (2010). Les dépenses médicales de ville des asthmatiques en 2006. *Questions d'économie de la santé, IRDES* **n°152:** 1-8.

Cosmi L, Annunziato F, Galli MIG, Maggi RME, Nagata K, Romagnani S (2000). CRTH2 is the most reliable marker for the detection of circulating human type 2 Th and type 2 T cytotoxic cells in health a nd disease. *Eur J Immunol* **30(10):** 2972-2979.

Coyle AJ, Le Gros G, Bertrand C, Tsuyuki S, Heusser CH, Kopf M, Anderson GP (1995). Interleukin-4 is required for the induction of lung Th2 mucosal immunity. *Am J Respir Cell Mol Biol* **13(1):** 54-59.

Cui J, Pazdziorko S, Miyashiro JS, Thakker P, Pelker JW, Declercq C, Jiao A, Gunn J, Mason L, Leonard JP, Williams CM, Marusic S (2005). TH1-mediated airway hyperresponsiveness independent of neutrophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* **115(2):** 309-315.

Dahlén SE, Kumlin M (2004). Monitoring mast cell activation by prostaglandin D2 in vivo. *Thorax* **59(6):** 453-455.

Dandeu JP, Rabillon J, David B (1995). Structure et fonction de quelques protéines allergéniques d'origine animale et végétale. *Rev Fr Allergol* **35:** 519-523.

David B (2003). Mieux comprendre les maladies allergiques, Annales de l'institut pasteur / actualités. *Elsevier Masson* 11-240.

David B, Boitard C (1996). Maladies allergiques par hypersensibilité immédiate, allergènes et environnement. *Méd Thérap* **2 (6) :** 411-419.

David B, Rabillon J, Goubran Botros H (2003). Allergènes : structures, fonctions, in : Vervloet D, Magnan A. Traité d'allergologie. Médecine-Sciences, Flammarion, Paris, pp. (5-22).

Dessaint JP (2003). L'immunoglobuline E, synthèse, récepteurs, in : Vervloet D, Magnan A. Traité d'allergologie. Médecine-Sciences, Flammarion, Paris, pp. (163-189).

De Vries JE (1998). The role of IL-13 and its receptor in allergy and inflammatory responses. *J Allergy Clin Immunol* **102(2):** 165-169.

Djukanović R, Finnerty JP, Lee C, Wilson S, Madden J, Holgate ST (1995).The effects of theophylline on mucosal inflammation in asthmatic airways: biopsy results. *Eur Respir J* **8(5):** 831-833.

Drazen JM, Austen KF, Lewis RA, Clark DA, Goto G, Marfat A, Corey EJ (1980). Comparative airway and vascular activities of leukotrienes C-1 and D in vivo and in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* **77(7):** 4354-4358.

Duffy DL, Mitchell CA, Martin NG (1998). Genetic and Environmental Risk Factors for Asthma: a Cotwin-Control Study. *Am J Respir Crit Care Med* **157:** 840-845.

Ellis JL, Undem BJ (1994). Pharmacology of nonadrenergic noncholinergic nerves in airway smooth muscle. *Pulm Pharmacol* **7:** 205-223.

Emery DL, Djokic TD, Graf PD, Nadel JA (1989). Prostaglandin D2 causes accumulation of eosinophils in the lumen of the dog trachea. *J Appl Physiol* **67(3):** 959-962.

Farrar JR, Rainey DK, Norris AA (1995). Pharmacologic modulation of Th1 and Th2 cell subsets by nedocromil sodium. *Int Arch Allergy Immunol* **107(1-3):** 414-415.

Finnerty JP, Lee C, Wilson S, Madden J, Djukanovic R, Holgate ST (1996). Effects of theophylline on inflammatory cells and cytokines in asthmatic subjects: a placebo-controlled parallel group study. *Eur Respir J* **9(8):** 1672-1677.

Flood-Page P, Swenson C, Faiferman I, Matthews J, Williams M, Brannick L, Robinson D, Wenzel S, Busse W, Hansel TT, Barnes NC (2007). International Mepolizumab Study Group. A study to evaluate safety and efficacy of mepolizumab in patients with moderate persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* **176(11):**1062-1071.

Flower RJ, Harvey EA, Kingston WP (1976). Inflammatory effects of prostaglandin D2 in rat and human skin. *Br J Pharmacol* **56(2):** 229-233.

Foster A and Chan CC (1991). Peptide leukotriene involvement in pulmonary eosinophil migration upon antigen challenge in the actively-sensitised guinea pig. *Int Arch Allergy Appl Immunol* **96:** 279-284.

Foster PS, Hogan SP, Ramsay AJ, Matthaei KI, Young IG (1996). Interleukin 5 deficiency abolishes eosinophilia, airways hyperreactivity, and lung damage in a mouse asthma model. *J Exp Med* **183(1):** 195-201.

Friedlander SL, Busse WW (2005). The role of rhinovirus in asthma exacerbations. *J Allergy Clin Immunol* **116(2):** 267-273.

Fujitani Y, Kanaoka Y, Aritake K, Uodome N, Okazaki-Hatake K, Urade Y (2002). Pronounced eosinophilic lung inflammation and Th2 cytokine release in human lipocalin-type prostaglandin D synthase transgenic mice. *J Immunol* **168(1):** 443-449.

Fulkerson PC, Rothenberg ME, Hogan SP (2005). Building a better mouse model: experimental models of chronic asthma. *Clin Exp Allergy* **35(10):** 1251-1253.

Funk CD (2001). Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science* **294(5548):** 1871-1875.

Galli SJ, Costa JJ (1995). Mast-cell-leukocyte cytokine cascades in allergic inflammation. *Allergy* **50(11):** 851-862.

Gauchat JF, Schlagenhauf E, Feng NP, Moser R, Yamage M, Jeannin P, Alouani S, Elson G, Notarangelo LD, Wells T, Eugster HP, Bonnefoy JY (1997). A novel 4-kb interleukin-13 receptor alpha mRNA expressed in human B, T, and endothelial cells encoding an alternate type-II interleukin-4/interleukin-13 receptor. *Eur J Immunol* **27(4):** 971-978.

Gavett SH, O'Hearn DJ, Karp CL, Patel EA, Schofield BH, Finkelman FD, Wills-Karp M (1997). Interleukin-4 receptor blockade prevents airway responses induced by antigen challenge in mice. *Am J Physiol* **272(2 Pt 1):** L253-261.

Gavett SH, O'Hearn DJ, Li X, Huang SK, Finkelman FD, Wills-Karp M (1995). Interleukin 12 inhibits antigen-induced airway hyperresponsiveness, inflammation, and Th2 cytokine expression in mice. *J Exp Med* **182(5):** 1527-1536.

Gervais FG, Cruz RP, Chateauneuf A, Gale S, Sawyer N, Nantel F, Metters KM, O'neill GP (2001). Selective modulation of chemokinesis, degranulation, and apoptosis in eosinophils through the PGD2 receptors CRTH2 and DP. *Allergy Clin Immunol* **108(6):** 982-988.

Global Initiative for asthma. Global strategy for asthma management and prevention updated 2008, Freely available online at http: //www.ginasthma.com (accessibility verified 01 february 2010).

Gosset P, Bureau F, Angeli V, Pichavant M, Faveeuw C, Tonnel AB, Trottein F (2003). Prostaglandin D2 affects the maturation of human monocyte-derived dendritic cells: consequence on the polarization of naive Th cells. *J Immunol* **170:** 4943-4952.

Grünig G, Warnock M, Wakil AE, Venkayya R, Brombacher F, Rennick DM, Sheppard D, Mohrs M, Donaldson DD, Locksley RM, Corry DB (1998). Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. *Science* **282(5397):** 2261-2263.

Hamelmann E, Cieslewicz G, Schwarze J, Ishizuka T, Joetham A, Heusser C, Gelfand EW (1999). Anti-interleukin 5 but not anti-IgE prevents airway inflammation and airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* **160(3):** 934-941.

Hamelmann E, Oshiba A, Paluh J, Bradley K, Loader J, Potter TA, Larsen GL, Gelfand EW (1996). Requirement for CD8+ T cells in the development of airway hyperresponsiveness in a marine model of airway sensitization. *J Exp Med* **183(4):** 1719-1729.

Hamelmann E, Schwarze J, Takeda K, Oshiba A, Larsen GL, Irvin CG, Gelfand EW (1997). Noninvasive measurement of airway responsiveness in allergic mice using barometric plethysmography. *Am J Respir Crit Care Med* **156:** 766-775.

Hamelmann E, Takeda K, Haczku A, Cieslewicz G, Shultz L, Hamid Q, Xing Z, Gauldie J, Gelfand EW (2000). Interleukin (IL)-5 but not immunoglobulin E reconstitutes airway inflammation and airway hyperresponsiveness in IL-4-deficient mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* **23(3):** 327-334.

Hammad H, de Heer HJ, Soullie T, Hoogsteden HC, Trottein F, Lambrecht BN (2003). Prostaglandin D2 inhibits airway dendritic cell migration and function in steady state conditions by selective activation of the D prostanoid receptor 1. *J Immunol* **171(8):** 3936-3940.

Hansen G, Berry G, DeKruyff RH, Umetsu DT (1999). Allergen-specific Th1 cells fail to counterbalance Th2 cell-induced airway hyperreactivity but cause severe airway inflammation. *J Clin Invest* **103(2):** 175-183.

Hessel EM, Van Oosterhout AJ, Van Ark I, Van Esch B, Hofman G, Van Loveren H, Savelkoul HF, Nijkamp FP (1997). Development of airway hyperresponsiveness is dependent on interferon-gamma and independent of eosinophil infiltration. *Am J Respir Cell Mol Biol* **16(3):** 325-334.

Hirai H, Tanaka K, Yoshie O, Ogawa K, Kenmotsu K, Takamori Y, Ichimasa M, Sugamura K, Nakamura M, Takano S, Nagata K (2001). Prostaglandin D2 selectively induces chemotaxis in T helper type 2 cells, eosinophils, and basophils via seven-transmembrane receptor CRTH2. *J Exp Med* **193(2):** 255-261.

Hirata N, Kohrogi H, Iwagoe H, Goto E, Hamamoto J, Fujii K, Yamaguchi T, Kawano O, Ando M (1998). Allergen exposure induces the expression of endothelial adhesion molecules in passively sensitized human bronchus: time course and the role of cytokines. *Am J Respir Cell Mol Biol* **18(1):** 12-20.

Hofstra CL, Van Ark I, Hofman G, Nijkamp FP, Jardieu PM, Van Oosterhout AJ (1998). Differential effects of endogenous and exogenous interferon-gamma on immunoglobulin E, cellular infiltration, and airway responsiveness in a murine model of allergic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* **19(5):** 826-835.

Hogan SP, Koskinen A, Matthaei KI, Young IG, Foster PS (1998). Interleukin-5-producing CD4+ T cells play a pivotal role in aeroallergen-induced eosinophilia, bronchial hyperreactivity, and lung damage in mice. *Am J Respir Crit Care Med* **157(1):** 210-218.

Holgate ST (2000). The role of mast cells and basophils in inflammation. *Clin Exp Allergy* 30 suppl **1:** 28-32.

Holgate ST, Sampson AP (2000). Antileukotriene therapy. Future directions. *Am J Respir Crit Care Med* **161(2 Pt 2):** S147-153.

Holgate S, Smith N, Nassanari M, Jimenez P (2009). Effects of omalizumab on markers of inflammation in patients with allergic asthma. *Allergy* **64(12):** 1728-1736.

Holguin F, Fitzpatrick A (2010). Obesity, asthma and oxidative stress. *J Appl Physiol* **108(3):** 754-759.

Holt PG (2000). Antigen presentation in the lung. *Am J Respir Crit Care Med* **162:** S151-156.

Honda K, Arima M, Cheng G, Taki S, Hirata H, Eda F, Fukushima F, Yamaguchi B, Hatano M, Tokuhisa T, Fukuda T (2003). Prostaglandin D2 reinforces Th2 type inflammatory responses of airways to low-dose antigen through bronchial expression of macrophage-derived chemokine. *J Exp Med* **198(4):** 533-543.

Howarth PH, Babu KS, Arshad HS, Lau L, Buckley M, McConnell W, Beckett P, Al Ali M, Chauhan A, Wilson SJ, Reynolds A, Davies DE, Holgate ST (2005). Tumour necrosis factor (TNF) as a novel therapeutic target in symptomatic corticosteroid dependent asthma. *Thorax* **60:** 1012-1018.

Huang JL, Gao PS, Mathias RA, Yao TC, Chen LC, Kuo ML, Hsu SC, Plunkett B, Togias A, Barnes KC, Stellato C, Beaty TH, Huang SK. (2004). Sequence variants of the gene encoding chemoattractant receptor expressed on Th2 cells (CRTH2) are associated with asthma and differentially influence mRNA stability. *Hum Mol Genet* **13:** 2691-2697.

Huang H, Hu-Li J, Chen H, Ben-Sasson SZ, Paul WE (1997). IL-4 and IL-13 production in differentiated T helper type 2 cells is not IL-4 dependent. *J Immunol* **159(8):** 3731-3738.

Huang SK, Xiao HQ, Kleine-Tebbe J, Paciotti G, Marsh DG, Lichtenstein LM, Liu MC (1995). IL-13 expression at the sites of allergen challenge in patients with asthma. *J Immunol* **155(5):** 2688-2694.

Humbert M, Beasley R, Ayres J, Slavin R, Hébert J, Bousquet J, Beeh KM, Ramos S, Canonica GW, Hedgecock S, Fox H, Blogg M, Surrey K (2005). Benefits of omalizumab as add-on therapy in patients with severe persistent asthma who are inadequately controlled despite best available therapy (GINA 2002 step 4 treatment): INNOVATE. *Allergy* **60(3):** 309-316.

Humbert M, Durham SR, Kimmitt P, Powell N, Assoufi B, Pfister R, Menz G, Kay AB, Corrigan CJ (1997). Elevated expression of messenger ribonucleic acid encoding IL-13 in the bronchial mucosa of atopic and nonatopic subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol* **99(5):** 657-665.

Humbert M, Durham SR, Ying S, Kimmitt P, Barkans J, Assoufi B, Pfister R, Menz G, Robinson DS, Kay AB, Corrigan CJ (1996). IL-4 and IL-5 mRNA and protein in bronchial biopsies from patients with atopic and nonatopic asthma: evidence against "intrinsic" asthma being a distinct immunopathologic entity. *Am J Respir Crit Care Med* **154(5):** 1497-1504.

Hussein YM, Ahmad AS, Ibrahem MM, El Tarhouny SA, Shalaby SM, Elshal AS, El Said M (2009). Interferon gamma gene polymorphism as a biochemical marker in Egyptian atopic patients. *J Investig Allergol Clin Immunol* **19(4):** 292-298.

Hylkema MN, Hoekstra MO, Luinge M, Timens W (2002).The strength of the OVA-induced airway inflammation in rats is strain dependent. *Clin Exp Immunol* **129(3):** 390-396.

Jaffar ZH, Sullivan P, Page C, Costello J (1996). Low-dose theophylline modulates T-lymphocyte activation in allergen-challenged asthmatics. *Eur Respir J* **9(3):** 456-462.

Johnson JR, Wiley RE, Fattouh R, Swirski FK, Gajewska BU, Coyle AJ, Gutierrez-Ramos JC, Ellis R, Inman MD, Jordana M (2004). Continuous exposure to house dust mite elicits chronic airway inflammation and structural remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* **169(3):** 378-385.

Kalinski P, Hilkens CM, Wierenga EA, Kapsenberg ML (1999). T-cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal. *Immunol Today* **20(12):** 561-567.

Kanaoka Y, Urade Y (2003). Hematopoietic prostaglandin D synthase. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **69(2-3):** 163-167.

Kariyawasam HH, Robinson DS (2007).The role of eosinophils in airway tissue remodelling in asthma. *Curr Opin Immunol* **19(6):** 681-686.

Kato M, Kephart GM, Talley NJ, Wagner JM, Sarr MG, Bonno M, McGovern TW, Gleich GJ (1998). Eosinophil Infiltration and Degranulation in Normal Human Tissue. *Anat Rec* **252(3):** 418-425.

Kips JC (2001).Cytokines in asthma. *Eur Respir J Suppl* **34:** 24s-33s.

Kips JC, Brusselle GJ, Joos GF, Peleman RA, Tavernier JH, Devos RR, Pauwels RA (1996). Interleukin-12 inhibits antigen-induced airway hyperresponsiveness in mice. *Am J Respir Crit Care Med* **153(2):** 535-539.

Kon OM, Sihra BS, Compton CH, Leonard TB, Kay AB, Barnes NC (1998). Randomised, dose-ranging, placebo-controlled study of chimeric antibody to CD4 (keliximab) in chronic severe asthma. *Lancet* **352(9134):** 1109-1113.

Koulis A, Robinson DS (2000). The anti-inflammatory effects of interleukin-10 in allergic disease. *Clin Exp Allergy* **30(6):** 747-750.

Kumar RK, Herbert C, Foster PS (2008). The “Classical” ovalbumin challenge model of asthma in mice. *Curr Drug Targets* **9(6):** 485-494.

Kurucz I, Szelenyi I (2006). Current animal models of bronchial asthma. *Curr Pharm Des* **12(25):** 3175-3194.

Lack G, Bradley KL, Hamelmann E, Renz H, Loader J, Leung DY, Larsen G, Gelfand EW (1996). Nebulized IFN-gamma inhibits the development of secondary allergic responses in mice. *J Immunol* **157(4):** 1432-1439.

Langenkamp A, Messi M, Lanzavecchia A, Sallusto F (2000). Kinetics of dendritic cell activation: impact on priming of TH1, TH2 and nonpolarized T cells. *Nat Immunol* **1(4):** 311-316.

Lamkhioued B, Aldebert D, Gounni AS, Delaporte E, Goldman M, Capron A, Capron M (1995). Synthesis of cytokines by eosinophils and their regulation. *Int Arch Allergy Immunol* **107:** 122-123.

Lee TDG, Swieter M, Bienenstock J, Befus AD (1985). Heterogeneity in mast cell populations. *Clin Immunol Rev* **4:** 143-199.

Lee Y, Fu C, Chiang B (1999). Administration of interleukin-12 exerts a therapeutic instead of a long-term preventive effect on mite Der p I allergen-induced animal model of airway inflammation. *Immunology* **97(2):** 232-240.

Lefort J, Bachelet CM, Leduc D, Vargaftig BB (1996). Effect of antigen provocation of IL-5 transgenic mice on eosinophil mobilization and bronchial hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol* **97(3):**788-99.

Li XM, Chopra RK, Chou TY, Schofield BH, Wills-Karp M, Huang SK (1996). Mucosal IFN-gamma gene transfer inhibits pulmonary allergic responses in mice. *J Immunol* **157(8):** 3216-3219.

Liu MC, Hubbard WC, Proud D, Stealey BA, Galli SJ, Kagey-Sobotka A, Bleecker ER, Lichtenstein LM (1991). Immediate and late inflammatory responses to ragweed antigen challenge of the peripheral airways in allergic asthmatics. Cellular, mediator, and permeability changes. *Am Rev Respir Dis* **144(1):** 51-58.

Lou HQ, Ying YF, Hu Y (2010). CRTH2 antagonist ameliorates airway inflammation in rats with asthma. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* **39(1):** 64-70. Chinese.

Lukacs NW, Berlin AA, Franz-Bacon K, Sásik R, Sprague LJ, Ly TW, Hardiman G, Boehme SA, Bacon KB (2008). CRTH2 antagonism significantly ameliorates airway hyperreactivity and downregulates inflammation-induced genes in a mouse model of airway inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* **295(5):** L767-779.

MacGlashan D Jr, Lichtenstein LM, McKenzie-White J, Chichester K, Henry AJ, Sutton BJ, Gould HJ (1999). Upregulation of FcεRI on human basophils by IgE antibody is mediated by interaction of IgE with FcεRI. J *Allergy Clin Immunol* **104:** 492-498.

Magnusson CG (1986). Maternal smoking influences cord serum IgE and IgD levels and increases the risk for subsequent infant allergy. *J Allergy Clin Immunol* **78(5 Pt 1):** 898-904.

Malm-Erjefält M, Persson CG, Erjefält JS (2001). Degranulation status of airway tissue eosinophils in mouse models of allergic airway inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* **24(3):** 352-359.

Mamessier E, Magnan A (2006). Cytokines in atopic diseases: revisiting the Th2 dogma. *Eur J Dermatol* **16(2):** 103-113.

Mancel E, Drouet M, Sabbah A (1999). Membrane stabilizers (chromones and ketotifen). *Allerg Immunol (Paris)* **31(4):** 103-105.

Marom Z, Shelhamer JH, Bach MK, Morton DR, Kaliner M (1982). Slow-reacting substances, leukotrienes C4 and D4, increase the release of mucus from human airways in vitro. *Am Rev Respir Dis* **126(3):** 449-451.

Marom Z, Shelhamer JH, Kaliner M (1981). Effects of arachidonic acid, monohydroxyeicosatetraenoic acid and prostaglandins on the release of mucous glycoproteins from human airways in vitro. *Clin Invest* **67(6):** 1695-1702.

Marthan R (2003). Cellules musculaires lisses bronchiques et vasculaires pulmonaires, in : Vervloet D, Magnan A. Traité d'allergologie. Médecine-Sciences, Flammarion, Paris, pp. (306-322).

Martinez FD (1994). Role of viral infections in the inception of asthma and allergies during childhood: could they be protective ? *Thorax* **49(12):** 1189-1191.

Mascali JJ, Cvietusa P, Negri J, Borish L (1996). Anti-inflammatory effects of theophylline: modulation of cytokine production. *Ann Allergy Asthma Immunol* **77:** 34-38.

Matricardi PM, Grüber C, Wahn U, Lau S (2007). The asthma-obesity link in childhood: open questions, complex evidence, a few answers only. *Clin Exp Allergy* **37(4):** 476-484.

Matsuoka T, Hirata M, Tanaka H, Takahashi Y, Murata T, Kabashima K, Sugimoto Y, Kobayashi T, Ushikubi F, Aze Y, Eguchi N, Urade Y, Yoshida N, Kimura K, Mizoguchi A, Honda Y, Nagai H, Narumiya S (2000). Prostaglandin D2 as a mediator of allergic asthma. *Science* **287(5460):** 2013-2017.

McCall MN, Hodgkin PD (1999). Switch recombination and germ-line transcription are division-regulated events in B lymphocytes. *Biochim Biophys Acta* **1447:** 43-45.

McKenzie GJ, Fallon PG, Emson CL, Grencis RK, McKenzie AN (1999). Simultaneous disruption of interleukin (IL)-4 and IL-13 defines individual roles in T helper cell type 2-mediated responses. *J Exp Med* **189(10):** 1565-1572.

Mehlhop PD, van de Rijn M, Goldberg AB, Brewer JP, Kurup VP, Martin TR, Oettgen HC (1997). Allergen-induced bronchial hyperreactivity and eosinophilic inflammation occur in the absence of IgE in a mouse model of asthma. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94(4):** 1344-1349.

Michelson PH, Williams LW, Benjamin DK, Barnato AE (2009). Obesity, inflammation, and asthma severity in childhood: data from the National Health and Nutrition Examination Survey 2001-2004. *Ann Allergy Asthma Immunol* **103(5):** 381-385.

Mitchell VL, Gershwin LJ (2007). Progesterone and environmental tobacco smoke act synergistically to exacerbate the development of allergic asthma in a mouse model. *Clin Exp Allergy* **37(2):** 276-286.

Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL (1986). Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J immunol* **136(7):** 2348-2357.

Nagata K, Hirai H, Tanaka K, Ogawa K, Aso T, Sugamura K, Nakamura M, Takano S (1999). CRTH2, an orphan receptor of T-helper-2-cells, is expressed on basophils and eosinophils and responds to mast cell-derived factor(s). *FEBS Lett* **(2):** 195-199.

Nakajima H, Iwamoto I, Tomoe S, Matsumura R, Tomioka H, Takatsu K, Yoshida S (1992). CD4+ T-lymphocytes and interleukin-5 mediate antigen-induced eosinophil infiltration into the mouse trachea. *Am Rev Respir Dis* **146(2):** 374-377.

Naseer T, Minshall EM, Leung DY, Laberge S, Ernst P, Martin RJ, Hamid Q (1997). Expression of IL-12 and IL-13 mRNA in asthma and their modulation in response to steroid therapy. *Am J Respir Crit Care Med* **155(3):** 845-851.

Nials AT, Uddin S (2008). Mouse models of allergic asthma: acute and chronic allergen challenge. *Dis Model Mech* **1:** 213-220.

Norman P (2010). DP(2) receptor antagonists in development. *Expert Opin Investig Drugs* **19(8):** 947-61.

Olivenstein R, Taha R, Minshall EM, Hamid QA (1999). IL-4 and IL-5 mRNA expression in induced sputum of asthmatic subjects: comparison with bronchial wash. *J Allergy Clin Immunol* **103(2 Pt 1):** 238-245.

Ostroukhova M, Seguin-Devaux C, Oriss TB, Dixon-McCarthy B, Yang L, Ameredes BT, Corcoran TE, Ray A (2004). Tolerance induced by inhaled antigen involves CD4(+) T cells expressing membrane-bound TGF-beta and FOXP3. *J Clin Invest* **114(1):** 28-38.

Oxagen Ltd. Novel CRTH2 antagonist shows potential in moderate persistent asthma: presented at ERS 18 September 2009. Freely available from:

http://main.pslgroup.com/news/content.nsf/medicalnews/852576140048867A85257635005BC1C3?OpenDocument&id=&count=10. Accessibility verified on 26/09/10.

Oxagen Ltd. OC000459 Dose finding study in patients with mild to moderate persistent asthma, updated 2010, NCT00890877. Available from: http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00890877. Accessibility verified on 26/09/10.

Peek EJ, Richards DF, Faith A, Lavender P, Lee TH, Corrigan CJ, Hawrylowicz CM (2005). Interleukin-10-secreting "regulatory" T cells induced by glucocorticoids and beta2-agonists. *Am J Respir Cell Mol Biol* **33(1):** 105-111.

Pettipher R (2008). The roles of the prostaglandin D(2) receptors DP(1) and CRTH2 in promoting allergic responses. *Br J Pharmacol* **153 Suppl 1:** S191-199.

Pettipher R, Hansel TT (2008). Antagonists of the prostaglandin D2 receptor CRTH2. *Drug News Perspect* **21:** 317-322.

Pettipher R, Hansel TT, Armer R (2007). Antagonism of the prostaglandin D2 receptors DP1 and CRTH2 as an approach to treat allergic diseases. *Nat Rev Drug Discov* **6:** 313-325.

Philip G, van Adelsberg J, Loeys T, Liu N, Wong P, Lai E, Dass SB, Reiss TF (2009). Clinical studies of the DP1 antagonist laropiprant in asthma and allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* **124(5):** 942-948.

Piccinni MP, Giudizi MG, Biagiotti R, Beloni L, Giannarini L, Sampognaro S, Parronchi P, Manetti R, Annunziato F, Livi C (1995). Progesterone favors the development of human T helper cells producing Th2-type cytokines and promotes both IL-4 production and membrane CD30 expression in established Th1 cell clones. *J Immunol* **155(1):**128-133.

Portier P, Richet C (1902). De l'action anaphylactique de certains venins. *Bull Soc Biol* 170-172.

Powell N, Humbert M, Durham SR, Assoufi B, Kay AB, Corrigan CJ (1996). Increased expression of mRNA encoding RANTES and MCP-3 in the bronchial mucosa in atopic asthma. *Eur Respir J* **9:** 2454-2460.

Prin L, Capron M, Tonnel AB, Bletry O, Capron A (1983). Heterogeneity of human peripheral blood eosinophils: variability in cell density and cytotoxic ability in relation to the level and the origin of hypereosinophilia. *Int Arch Allergy Appl Immunol* **72:** 336-346.

Prin L, Roumier AS, Capron M (2003). Les éosinophiles dans les réactions immunes physiologiques et pathologiques, in : Vervloet D, Magnan A. Traité d'allergologie. Médecine-Sciences, Flammarion, Paris, pp. (255-271).

Quaedvlieg V, Henket M, Sele J, Louis R (2006). Cytokine production from sputum cells in eosinophilic versus non-eosinophilic asthmatics**.** *Clin Exp Immunol* **143(1):** 161-166.

Rabe KF, Magnussen H, Dent G (1995). Theophylline and selective PDE inhibitors as bronchodilators and smooth muscle relaxants. *Eur Respir J* **8:** 637–642.

Raible DG, Schulman ES, DiMuzio J, Cardillo R, Post TJ (1992). Mast cell mediators prostaglandin-D2 and histamine activate human eosinophils. *J Immunol* **148(11):** 3536-3542.

Reitamo S, Remitz A, Tamai K, Uitto J (1994). Interleukin-10 modulates type I collagen and matrix metalloprotease gene expression in cultured human skin fibroblasts. *J Clin Invest* **94(6):** 2489-2492.

Ricci M, Matucci A, Rossi O (1997). Source of IL-4 able to induce the development of TH2-like cells. *Clin Exp Allergy* **27(5):** 488-500.

Rissoan MC, Soumelis V, Kadowaki N, Grouard G, Briere F, de Waal Malefyt R, Liu YJ (1999). Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation. *Science* **283(5405):** 1183-1186.

Robinson DS, Hamid Q, Ying S, Tsicopoulos A, Barkans J, Bentley AM, Corrigan C, Durham SR, Kay AB (1992). Predominant TH2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N Engl J Med* **326:** 298-304.

Rodrigo G, Rodrigo C, Burschtin O (1999). A meta-analysis of the effects of ipratropium bromide in adults with acute asthma. *Am J Med* **107(4):** 363-370.

Roitt I, Rabson A (2002). Immunologie médicale, l'essentiel. Maloine pp.(1-272).

Rotsides DZ, Goldstein IF, Canfield SM, Perzanowski M, Mellins RB, Hoepner L, Ashby-Thompson M, Jacobson JS (2009). Asthma, allergy, and IgE levels in NYC head start children. *Respir Med* **104(3):** 345-355.

Ryzhov S, Goldstein AE, Matafonov A, Zeng D, Biaggioni I, Feoktistov I (2004). Adenosine-activated mast cells induce IgE synthesis by B lymphocytes: an A2B-mediated process involving Th2 cytokines IL-4 and IL-13 with implications for asthma. *J Immunol* **172(12):** 7726-7733.

Salmeron S (2006). Pneumologie. Estem, De Boeck Diffusion, pp. (129-163).

Satoh T, Moroi R, Aritake K, Urade Y, Kanai Y, Sumi K, Yokozeki H, Hirai H, Nagata K, Hara T, Utsuyama M, Hirokawa K, Sugamura K, Nishioka K, Nakamura M (2006). Prostaglandin D2 plays an essential role in chronic allergic inflammation of the skin via CRTH2 receptor. *J Immunol* **177(4):** 2621-2629.

Sawyer N, Cauchon E, Chateauneuf A, Cruz RP, Nicholson DW, Metters KM, O'Neill GP, Gervais FG (2002). Molecular pharmacology of the human prostaglandin D2 receptor, CRTH2. *Br J Pharmacol* **137(8):** 1163-1172.

Schmid-Grendelmeier P, Altznauer F, Fischer B, Bizer C, Straumann A, Menz G, Blaser K, Wüthrich B, Simon HU (2002). Eosinophils express functional IL-13 in eosinophilic inflammatory diseases. *J Immunol* **169(2):** 1021-1027.

Schuler G, Thurner B, Romani N (1997). Dendritic cells : from ignored cells to major players in T-cell-mediated immunity. *Int Arch Allergy Immunol* **12:** 317-322.

Selzman CH, Meldrum DR, Cain BS, Meng X, Shames BD, Ao L, Harken AH (1998). Interleukin-10 inhibits postinjury tumor necrosis factor-mediated human vascular smooth muscle proliferation. *J Surg Res* **80(2):** 352-356.

Shaheen SO, Sterne JA, Montgomery SM, Azima H (1999). Birth weight, body mass index and asthma in young adults. *Thorax* **54(5):** 396-402.

Shefrin AE, Goldman RD (2009). Use of dexamethasone and prednisone in acute asthma exacerbations in pediatric patients. *Can Fam Physician* **55:** 704-706.

Shi HZ, Deng JM, Xu H, Nong ZX, Xiao CQ, Liu ZM, Qin SM, Jiang HX, Liu GN, Chen YQ (1998). Effect of inhaled interleukin-4 on airway hyperreactivity in asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* **157(6 Pt 1):** 1818-1821.

Shi J, Ghirlando R, Beavil RL, Beavil AJ, Keown MB, Young RJ, Owens RJ, Sutton BJ, Gould HJ (1997). Interaction of the low-affinity receptor CD23/Fc epsilonRII lectin domain with the Fc epsilon3-4 fragment of human immunoglobulin E. *Biochemistry* **36:** 2112-2122.

Shi HZ, Humbles A, Gerard C, Jin Z, Weller PF (2000). Lymph node trafficking and antigen presentation by endobronchial eosinophils. *J Clin Invest* **105:** 945-953.

Shichijo M, Sugimoto H, Nagao K, Inbe H, Encinas JA, Takeshita K, Bacon KB, Gantner F (2003). Chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on Th2 cells activation in vivo increases blood leukocyte counts and its blockade abrogates 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin D2-induced eosinophilia in rats. *J Pharmacol Exp Ther* **307(2):** 518-525.

Shiraishi Y, Asano K, Nakajima T, Oguma T, Suzuki Y, Shiomi T, Sayama K, Niimi K, Wakaki M, Kagyo J, Ikeda E, Hirai H, Yamaguchi K, Ishizaka A (2005). Prostaglandin D2-induced eosinophilic airway inflammation is mediated by CRTH2 receptor. *J Pharmacol Exp Ther* **312(3):** 954-960.

Shiraishi Y, Asano K, Niimi K, Fukunaga K, Wakaki M, Kagyo J, Takihara T, Ueda S, Nakajima T, Oguma T, Suzuki Y, Shiomi T, Sayama K, Kagawa S, Ikeda E, Hirai H, Nagata K, Nakamura M, Miyasho T, Ishizaka A (2008). Cyclooxygenase-2/prostaglandin D2/CRTH2 pathway mediates double-stranded RNA-induced enhancement of allergic airway inflammation. *J Immunol* **180(1):** 541-549.

Smith AM, Pomes A, Chapman MD (2000). Molecular biology of indoors allergens. *Clin Rev Allergy Immunol* **18:** 265-283.

Spik I, Brénuchon C, Angéli V, Staumont D, Fleury S, Capron M, Trottein F, Dombrowicz D (2005). Activation of the prostaglandin D2 receptor DP2/CRTH2 increases allergic inflammation in mouse. *J Immunol* **174(6):** 3703-3708.

Stirling RG, van Rensen EL, Barnes PJ, Chung KF (2001). Interleukin-5 induces CD34(+) eosinophil progenitor mobilization and eosinophil CCR3 expression in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* **164(8 Pt 1):** 1403-1409.

Strachan DP (1989). Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* **299(6710):** 1259-1260.

Sugimoto H, Shichijo M, Iino T, Manabe Y, Watanabe A, Shimazaki M, Gantner F, Bacon KB (2003). An orally bioavailable small molecule antagonist of CRTH2, ramatroban (BAY u3405), inhibits prostaglandin D2-induced eosinophil migration in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* **305:** 347-352.

Sullivan P, Bekir S, Jaffar Z, Page C, Jeffery P, Costello J (1994). Anti-inflammatory effects of low-dose oral theophylline in atopic asthma. *Lancet* **343(8904):** 1006-1008.

Suratt PM, Wilhoit SC, Hsiao HS, Atkinson RL, Rochester DF (1984). Compliance of chest wall in obese subjects. *J Appl Physiol* **57(2):** 403-407.

Székely JI, Pataki A (2009). Recent findings on the pathogenesis of bronchial asthma. *Acta Physiol Hung* **96(4):** 385-405.

Tanaka K, Hirai H, Takano S, Nakamura M, Nagata K (2004). Effects of prostaglandin D2 on helper T cell functions. *Biochem Biophys Res Commun* **316(4):** 1009-1014.

Taube C, Dakhama A, Gelfand EW (2004). Insights into the pathogenesis of asthma utilizing murine models. *Int Arch Allergy Immunol* **135(2):** 173-186.

Taube C, Duez C, Cui ZH, Takeda K, Rha YH, Park JW, Balhorn A, Donaldson DD, Dakhama A, Gelfand EW (2002). The role of IL-13 in established allergic airway disease. *J Immunol* **169(11):** 6482-6489.

Tillie-Leblond I, Pugin J, Marquette CH, Lamblin C, Saulnier F, Brichet A, Wallaert B, Tonnel AB, Gosset P (1999). Balance between proinflammatory cytokines and their inhibitors in bronchial lavage from patients with status asthmaticus. *Am J Respir Crit Care Med* **159(2):** 487-494.

Tohda Y, Nakahara H, Kubo H, Haraguchi R, Fukuoka M, Nakajima S (1999). Effects of ONO-1078 (pranlukast) on cytokine production in peripheral blood mononuclear cells of patients with bronchial asthma. *Clin Exp Allergy* **29(11):** 1532-1536.

Truyen E, Coteur L, Dilissen E, Overbergh L, Dupont LJ, Ceuppens JL, Bullens DM (2006). Evaluation of airway inflammation by quantitative Th1/Th2 cytokine mRNA measurement in sputum of asthma patients. *Thorax* **61(3):** 202-208.

Tsumuro T, Alejandra Hossen M, Kishi Y, Fujii Y, Kamei C (2006). Nasal congestion model in Brown Norway rats and the effects of some H1-antagonists. *Int Immunopharmacol* **6:** 759-763.

Tunon De Lara JM (2003). Mastocytes et basophiles, in : Vervloet D, Magnan A. Traité d'allergologie. Médecine-Sciences, Flammarion, Paris, pp. (192-208).

Uller L, Mathiesen JM, Alenmyr L, Korsgren M, Ulven T, Hogberg T, Andersson G, Persson CG, Kostenis E (2007). Antagonism of the prostaglandin D2 receptor CRTH2 attenuates asthma pathology in mouse eosinophilic airway inflammation. *Respir Res* **8:** 16.

Ulrik CS, Diamant Z (2010). Add-on montelukast to inhaled corticosteroids protects against excessive airway narrowing. *Clin Exp Allergy* **40(4):** 576-581.

Van der Wouden JC, Uijen JH, Bernsen RM, Tasche MJ, de Jongste JC, Ducharme F (2008). Inhaled sodium cromoglycate for asthma in children. *Cochrane Database Syst Rev* **(4):** CD002173.

Vercelli D (2002). Genetics of IL-13 and functional relevance of IL-13 variants. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* **2:** 389-393.

Viegi G, Baldacci S (2002). Epidemiological studies of chronic respiratory conditions in relation to urban air pollution in adults, in: the impact of air pollution on respiratory health. *Eur Respir Mon* **7:** 1-16.

Wada T, Toma T, Shimura S, Kudo M, Kasahara Y, Koizumi S, Ra C, Seki H, Yachie A (1999). Age-dependent increase of IgE-binding and FcεRI expression on circulating basophils in children. *Pediatr Res* **46:** 603-607.

Walsh GM (2001). Eosinophil granule proteins and their role in disease. *Curr Opin Hematol* **8:** 28-33.

Wang L, McParland BE, Paré PD (2003). The functional consequences of structural changes in the airways: implications for airway hyperresponsiveness in asthma. *Chest* **123 (3 suppl):** 356S-362S.

Weth G, Koch H, Haubitz J (1985). Behavior of the second messenger cAMP in status asthmaticus before and following administration of theophylline-ethylenediamine. *Arzneimittelforschung* **35(12):** 1859-1862.

Whitehead GS, Walker JK, Berman KG, Foster WM, Schwartz DA (2003). Allergen-induced airway disease is mouse strain dependent. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* **285(1):** L32-42.

Whittle BJ, Hamid S, Lidbury P, Rosam AC (1985). Specificity between the anti-aggregatory actions of prostacyclin, prostaglandin E1 and D2 on platelets. *Adv Exp Med Biol* **192:** 109-125.

Yamaguchi Y, Hayashi Y, Sugama Y, Miura Y, Kasahara T, Kitamura S, Torisu M, Mita S, Tominaga A, Takatsu K (1988). Highly purified murine interleukin 5 (IL-5) stimulates eosinophil function and prolongs in vitro survival. IL-5 as an eosinophil chemotactic factor. *J Exp Med* **167(5):** 1737-1742.

Yang IA, Savarimuthu S, Kim ST, Holloway IW, Bell SC, Fong KM (2007). Gene-environmental interaction in asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* **7(1):** 75-82.

Zhao LL, Lindén A, Sjöstrand M, Cui ZH, Lötvall J, Jordana M (2000). IL-12 regulates bone marrow eosinophilia and airway eotaxin levels induced by airway allergen exposure. *Allergy* **55(8):** 749-756.

Zosky GR, Sly PD (2007). Animal models of asthma. *Clin Exp Allergy* **37:** 973-979.

FACULTE DE PHARMACIE **UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY 1**

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : **08/11/2010**

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE présenté par Laetitia POUZOL Sujet : Antagonistes au récepteur CRTH2 et asthme allergique Jury : Président : Isabelle Lartaud, Professeur de Pharmacologie, Faculté de Pharmacie – Nancy Université. Juges : - Nelly FROSSARD, Directeur de recherche INSERM, Laboratoire d'Innovation thérapeutique, Faculté de Pharmacie – Strasbourg Université. - François MARCHAL, Professeur de Physiologie et Praticien Hospitalier, Service d'explorations fonctionnelles pédiatriques, Hôpital d'Enfants, Vandoeuvre. - François DUPUIS, Maître de conférences de Pharmacologie, Faculté de Pharmacie – Nancy Université.	Vu, Nancy, le 6-10-10 Le Président du Jury I. LARTAUD M. Le Directeur de Thèse M.
Vu et approuvé, Nancy, le 08 OCT. 2010 Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1, ***Francine PAULUS*** Francine KEDZIEREWICZ Vice-doyen	Vu, Nancy, le Le Président de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1, ***Jean-Pierre FINANCE*** Pour le Président et par Délégation, La Vice-Présidente du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire, C. CAPDEVILLE-ATKINSON N° d'enregistrement : 3457

N° d'identification : 3457

TITRE

Antagonistes du récepteur CRTH2 et asthme allergique.

Thèse soutenue le 08/11/2010

Par Laetitia POUZOL

RESUME :

L'asthme est une maladie chronique inflammatoire des voies aériennes qui pose un véritable problème de santé publique en France et à travers le monde. Les traitements actuels de l'asthme sont relativement efficaces en particulier pour les formes légères et intermédiaires, cependant une part importante des sujets asthmatiques ne contrôle pas ses symptômes du fait de traitements insuffisants. De nombreux axes de recherche sont actuellement étudiés afin de trouver de nouveaux médicaments qui permettraient d'améliorer la prise en charge des patients asthmatiques en termes de gestion des mesures environnementales, de traitement des causes notamment allergiques. Le terrain atopique constitue l'un des facteurs les plus importants prédisposant à l'asthme. Or, la prostaglandine D_2 (PGD_2) est un médiateur clé dans les réactions allergiques. En effet, la liaison de la PGD_2 à son récepteur CRTH2 (Chemoattractant Receptor homologous molecule expressed on Th2 cells) produit une cascade d'évènements impliquée dans la pathogenèse de l'asthme, dont le recrutement de cellules inflammatoires telles que les lymphocytes Th2, les éosinophiles et les basophiles sur les sites de l'inflammation. De ce fait, la PGD_2 constitue une cible thérapeutique idéale pour le traitement de l'asthme allergique et l'inhibition du récepteur CRTH2 suscite de l'intérêt auprès des industries pharmaceutiques. Ce travail, après rappel des mécanismes cellulaires et des médiateurs impliqués dans l'asthme allergique, présente le rôle de la PGD_2 et fait le point de l'avancement des recherches pré-cliniques et cliniques sur les antagonistes du récepteur CRTH2. Actuellement, 10 antagonistes du récepteur CRTH2 sont en développement clinique pour le traitement de l'asthme allergique.

MOTS CLES :
Asthme, Prostaglandine D2, Récepteur CRTH2, Allergie, Essais cliniques

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Isabelle LARTAUD	Pharmacologie	**Expérimentale** ☐ **Bibliographique** √ **Thème** **3**

Thèmes **1 – Sciences fondamentales** **2 – Hygiène/Environnement**
3 – Médicament **4 – Alimentation – Nutrition**
5 - Biologie **6 – Pratique professionnelle**