

**Titre : Régulation de la transcytose de l'immunoglobuline A chez des patients atteints de maladies chroniques des voies aériennes supérieures**

**Résumé du background :**

Moins médiatisées, et souvent moins bien connues que les pathologies cardio-vasculaires ou cancéreuses, les pathologies respiratoires chroniques posent néanmoins un véritable défi en terme de santé publique en ce début de 21<sup>ème</sup> siècle. En effet, il y a actuellement une véritable explosion dans la prévalence des maladies allergiques, en particulier la rhinite allergique.

Les principales maladies chroniques de la sphère naso-sinusienne sont au nombre de trois : la rhinite allergique, la polypose naso-sinusienne (PNS) et la sinusite chronique. La rhinite allergique est caractérisée par une rhinorrhée et/ou une obstruction nasale, avec salves sternutoires, prurit oculo-nasal et/ou larmoiement, en réponse à une stimulation allergénique. Près de 30% de la population belge en souffre. La PNS est caractérisée par de nombreuses formations polypoïdes qui se développent aux dépens de la muqueuse naso-sinusienne, entraînant obstruction nasale, rhinorrhée, hyposmie et céphalées. Dans un tiers des cas, elle est associée à l'asthme, on parle alors de syndrome de Widal. La sinusite chronique se caractérise par une inflammation chronique de la muqueuse naso-sinusienne (>3 mois) avec écoulement nasal muco-purulent, obstruction nasale et pesanteur ou douleurs au niveau des sinus. Si la pathogenèse de la sinusite chronique reste mal comprise, il y a néanmoins l'évidence d'une implication infectieuse ainsi qu'un déficit des réponses immunitaires adaptatives au niveau nasal et sinusien. De récentes études sur la sinusite chronique ont mis en évidence un déficit de la barrière épithéliale immunitaire qui compromet l'interaction entre l'hôte et son environnement.

On sait aujourd'hui que les maladies des voies respiratoires supérieures et inférieures sont liées par des phénomènes complexes. Elles ne sont d'ailleurs plus considérées (ni prises en charge) comme des pathologies distinctes. La relation entre muqueuses nasale et bronchique a été mise en évidence grâce à des observations épidémiologiques, expérimentales, immunologiques et thérapeutiques. On a montré, par exemple, que l'asthme est fréquemment associé à une rhinite allergique ou une polypose naso-sinusienne (PNS). La sinusite chronique partage quant à elle certaines caractéristiques avec la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) à laquelle elle est d'ailleurs parfois associée. De nombreuses études ont aussi montré une similitude de structure entre la muqueuse du nez et de celle des bronches. Enfin, sur le plan expérimental, une réponse bronchique (bronchospasme) peut être induite après provocation allergénique endo-nasale, et vice versa. Il apparaît ainsi que ce dialogue naso-bronchique est essentiellement de nature immunologique. Il est notamment caractérisé par un recrutement de cellules inflammatoires, tant au niveau nasal que bronchique, à partir de la muqueuse exposée, via une réponse de la moelle osseuse.

Cette relation s'exprime également dans les mécanismes de défense. En effet, l'Immunoglobuline A sécrétoire (S-IgA) fait partie du système de défense de première ligne dans les voies aériennes supérieures et inférieures, en prévenant l'adhérence à l'épithélium des antigènes et des pathogènes (bactéries, virus). Ce mécanisme de défense humorale nécessite l'expression à la surface basolatérale des cellules épithéliales d'un récepteur spécifique pour les Immunoglobulines polymériques (pIgA et IgM) qui permet leur transport actif dans la lumière muqueuse. La partie extracellulaire du récepteur pour Immunoglobuline polymérique (pIgR) est relargué après clivage au niveau du pôle apical comme composant sécrétoire (SC) qui existe à la fois sous la forme libre ou liée à la pIgA ou à l'IgM.

Or, dans la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO), un déficit de transport de l'IgA au travers de l'épithélium bronchique a été identifié, probablement dû au clivage du pIgR par les protéinases (dont l'élastase) sécrétées par les neutrophiles. Pour rappel, la BPCO est une pathologie caractérisée par une détérioration progressive et irréversible de la fonction bronchique, principalement causée par le tabagisme. Les symptômes typiques (dyspnée, toux) sont souvent tardifs et affectent de manière importante la qualité de vie. La BPCO est caractérisée par une activation de l'épithélium bronchique et des macrophages alvéolaires, recrutant via des chemokines des neutrophiles et des lymphocytes Tc (CD8). Ces cellules effectrices vont libérer des oxydants et des protéases entraînant une sécrétion accrue de mucus au niveau bronchique et la destruction des parois alvéolaires au niveau parenchymateux (« emphysème »). L'obstruction bronchique est multifactorielle : accumulation de mucus au niveau endoluminal, fibrose et œdème péribronchique et perte des attaches alvéolaires liée à l'emphysème.

Contrairement au déficit de la fonction épithéliale de transport de l'IgA documenté dans la BPCO sévère, cette fonction de défense de première ligne a été très peu investiguée en pathologie naso-sinusienne. De plus, le rôle de l'IgA dans la modulation de la réponse inflammatoire de l'épithélium respiratoire supérieur reste méconnu.

Nous avons donc proposé d'investiguer l'immunité sécrétoire de la muqueuse respiratoire supérieure dans différents phénotypes de pathologies naso-sinusielles, avec pour hypothèse que le transport d'IgA pourrait être déficitaire dans la sinusite chronique, comme cela a déjà été mis en évidence dans la BPCO.

### Résultats obtenus :

#### 1/ Recrutement clinique :

La bourse octroyée par la Fondation Saint-Luc a permis de débuter cette étude, d'abord à temps plein durant un an (2009-2010), puis à mi-temps depuis le mois d'octobre 2010. Le recrutement des patients est actuellement terminé (02/2011).

#### **Table des patients:**

Sinusite chronique	13 (8 hommes/5 femmes)
Rhinite allergique	14 (8 hommes/6 femmes)
Polypose naso-sinusienne	11 (9 hommes/2 femmes)
Contrôles	19 (13 hommes/6 femmes)
Total	57 (38 hommes/19 femmes)

Par ailleurs, il existe actuellement une consultation Nez/Bronches, créée il y a quelques années par le Prof Philippe Rombaux (ORL), le Prof Charles Pilette et le Dr Françoise Pirson (pneumologues). Cette consultation a pour but de prendre en charge de manière conjointe les patients souffrant de pathologies intriquées des voies respiratoires supérieures et inférieures, selon le concept « One airway, one disease ». La présence simultanée de médecins de spécialités différentes permet d'aborder de façon complémentaire la pathologie immuno-allergologique. Un groupe pluridisciplinaire d'Allergologie a vu le jour tout récemment. Il réunit divers spécialistes (pneumologues, ORL, dermatologues, pédiatres, biologistes, gastro-entérologues, etc) des Cliniques Universitaires Saint-Luc et Mont-Godinne qui abordent le domaine de l'Allergologie sous différents aspects. Cette réflexion pluridisciplinaire permet une meilleure compréhension de la maladie allergique et donc une prise en charge optimalisée de nos patients.

#### 2/ Explorations ex vivo de l'épithélium naso-sinusien :

#### Evaluation de l'expression du plgR et de la production d'IgA sécrétoire :

Les résultats préliminaires obtenus sur une partie des échantillons semblent démontrer une diminution du taux de plgR dans la muqueuse sinusoïdale des patients qui présentent une sinusite chronique, avec ou sans polypes (technique : RT-qPCR). Par contre, toujours parmi les données pilotes, la production d'IgA sécrétoire semble être augmentée dans ces mêmes groupes (technique : ELISA).

#### Phénotypage de l'infiltration cellulaire :

Differentes colorations immunohistochimiques ont été réalisées sur les échantillons de muqueuse, pour chacun des patients. Celles-ci ont révélé que le nombre de lymphocytes T (CD3) et B (CD20) ne varient pas de manière significative entre les différents groupes. On a par contre remarqué l'augmentation du nombre de macrophages dans le groupe de patients présentant une sinusite chronique. Cette augmentation n'est pas corrélée à la diminution du plgR évoquée au paragraphe précédent.

#### 3/ Cultures primaires d'épithélium naso-sinusien :

D'autre part, sur le plan fondamental, des cultures primaires ont pu être initiées à partir de cellules nasales ou sinusoïdales. En effet, la littérature sur la mise en culture de cellules épithéliales nasales est peu abondante, et cette approche permettra dans un second temps de notre projet (à partir des cellules ayant été congelées dans l'azote liquide) d'explorer les mécanismes impliqués dans la régulation d'expression nasosinusoïdale du plgR.

#### Conclusion et perspectives :

La bourse de la Fondation St-Luc m'a donc permis de développer le projet de recherche de l'épithélium respiratoire dans la rhino-sinusite chronique : 1/ recrutement de 57 patients réalisé (clôturé en 02/2011) ; 2/ phénotypage de l'inflammation cellulaire en voie de finalisation (résultats pilotes montrant une augmentation du nombre de macrophages dans le groupe sinusite chronique) ; 3/ réduction d'expression du plgR observée par PCR quantitative dans le tissu sinusoïdal de patients atteints de sinusite chronique, avec ou sans polypes (analyses finales en cours).

Les perspectives sont de documenter les modifications de l'épithélium sinusoïdal associées aux anomalies d'expression du plgR observées dans la sinusite chronique, et déterminer dans quelle mesure elles sont responsables d'une altération de transport transépithélial d'IgA dans les sécrétions naso-sinusoïdales chez ces patients.

Par ce projet de recherche clinique nous avons également pu renforcer l'interdisciplinarité ORL-pneumologie, d'une part sur le plan clinique en favorisant les relations entre ORL et autres spécialistes, et d'autre part sur le plan de la recherche en développant un volet d'investigation rhinologique en immunopathologie des muqueuses.