

**UNIVERSITE DE NANTES
FACULTE DE MEDECINE**

Année 2010

N°99

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Diplôme d'Etudes Spécialisées de Pneumologie

Par

Florence CALO-LINTZ

Née le 19 mai 1981 à Vannes

Présentée et soutenue publiquement le 18 octobre 2010

INTERET DE LA METFORMINE DANS L'HYPERTENSION ARTERIELLE PULMONAIRE : MISE EN PLACE D'UN ESSAI THERAPEUTIQUE

Président : Monsieur le Professeur Antoine MAGNAN

Directeur de Thèse : Monsieur le Docteur Christian AGARD

ABREVIATIONS

- **ALAT** : Alanine Amino Transférase hépatiques
- **AMPK** : AMP-kinase intra-cellulaire
- **AP** : artères pulmonaires
- **apoE** : apolipoprotein E
- **ASAT** : Aspartate Amino Transférase hépatiques
- **BH4** : Tetrahydrobiopeterin
- **BMP** : Bone morphogenetic protein
- **BPCO** : broncho-pneumopathie chronique obstructive
- **CPP** : Comité de Protection des Personnes
- **CML** : cellules musculaires lisses
- **GMPc** : guanosine monophosphate cyclique
- **GTP-CH1** : enzyme GTP-cyclohydrolase 1
- **HAS** : haute autorité de santé
- **5-HT**: sérotonine
- **HTAP** : Hypertension Artérielle Pulmonaire
- **IC** : index cardiaque
- **NFAT**: nuclear factor of activated T-cells
- **NYHA** : New York Heart Association
- **PAPm** : pression artérielle pulmonaire moyenne
- **PDE** : Phosphodiesterase
- **PDE-5** : phosphodiesterase de type 5
- **PDGF** : platelet-derived growth factor

- **PDK** : pyruvate déshydrogénase kinase
- **PKG** : protéine kinase G
- **PPAR γ** : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ
- **RAP** : résistance artérielle pulmonaire
- **RCP** : résumé des caractéristiques du produit
- **ROS** : Reactive oxygen species
- **RVP** : résistances vasculaires pulmonaires
- **T6M** : test de marche de 6 minutes
- **sGC** : guanylate cyclase soluble
- **VD** : ventricule droit

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
 PREMIERE PARTIE : PRESENTATION GENERALE DE L’HTAP ET DES TRAITEMENTS ACTUELLEMENTS DISPONIBLES	2
 I- <u>L’hypertension artérielle pulmonaire</u>	3
 I.1 Définition	3
I.2 Epidémiologie	3
I.3 Génétique	3
I.4 Pronostic	4
I.5 Manifestations cliniques	4
I.6 Classification	5
I.7 Physiopathologie	8
 II - <u>Prise en charge thérapeutique actuelle de l’HTAP</u>	11
 II.1 Mesures générales	11
II.2 Les inhibiteurs calciques (nifédépine/ diltiazem)	11
II.3 Les traitements spécifiques de l’HTAP	12
II.3.1 La Prostacycline (ou prostaglandine I2) :	13
A. L'époprosténol (Flolan®)	13
B. L'iloprost (Ventavis®)	14
C. Le treprostinil (Remodulin®).....	14
D. Le beraprost.....	15
II.3.2 Les antagonistes des récepteurs de l'endothéline 1 (ET-1)	16
A. Le bosentan (Tracleer®).....	16

B. Le sitaxentan (Thélin®).....	17
C. L'ambrisentan (Volibris®).....	18
II.3.3 Les Inhibiteurs de la phosphodiesterase de type 5	18
A. Le sildénafil (Révatio®).....	18
B. Le tadalafil (Adcirca®).....	19
II.3.4 Les associations	21
II.4 Traitements non médicamenteux	21
II.5 Synthèse	21

DEUXIEME PARTIE : IDENTIFICATION DE NOUVELLES STRATEGIES THERAPEUTIQUES.....24

I- Actualités et perspectives sur les cibles connues.....25

I.1 La prostacycline et ses analogues.....	25
I.2 Les anti-endothéline-1.....	26
I.3 Les inhibiteurs de la phosphodiesterase de type 5.....	26

II- Autres cibles thérapeutiques.....28

II.1 La voie du NO et du GMPc (guanosine monophosphate cyclique)	29
II.1.1 Les phosphodiesterases (PDE).....	29
II.1.2 Le riociguat, activateur de guanylate cyclase.....	30
II.1.3 La tétrahydrobioptérine et NO synthase endothéliale.....	31
II.2 Les inhibiteurs de tyrosine kinase	31
II.3 Les statines	32
II.4 Les inhibiteurs de la Rho kinase (fasudil)	33
II.5 La déhydroépiandrosterone (DHEA)	36
II.6 Le dichloroacétate, inhibiteur de la pyruvate déshydrogénase kinase	38
II.7 Inhibition de la voie de la sérotonine	40
II.8 L'adrénomédulline	42
II.9 La restauration de la voie BMP/ BMPR	42
II.10 Inhibition de NFAT	45

II.11 Inhibition de ALK5.....	45
II.12 Inhibition de l'élastase.....	46
II.13 Inhibition de la survivine.....	48
II.14 Autogreffe de cellules souches de précurseurs endothéliaux.....	46
II.11 Inhibition de NOTCH3.....	47
 <u>III- La metformine : nouvelle thérapeutique à évaluer dans l'HTAP</u>	48
III.1 La metformine, un antidiabétique oral.....	48
III.2 La metformine, un protecteur vasculaire	48
III.3 Justification de l'évaluation de la metformine dans l'HTAP expérimentale	49
III.4 Traitement de l'HTAP expérimentale par la metformine chez le rat : résultats...	50
 TROISIEME PARTIE : PROTOCOLE MetHTAP	53
 <u>I- Mise en place du protocole MetHTAP</u>	54
I.1 Naissance du protocole.....	54
I.2 Rédaction du protocole.....	55
 <u>II- Evaluation des besoins financiers</u>	57
 <u>III- Protocole MetHTAP</u>	62
 <u>CONCLUSION</u>	112
 <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	114
 <u>ANNEXES</u>	127
1. Formulaire d'information destiné au patient.....	128

2. Décision de promotion du CPP	133
--	-----

INTRODUCTION

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une maladie rare, caractérisée par l'augmentation progressive des résistances artérielles pulmonaires, aboutissant à une insuffisance cardiaque droite fatale [1]. Les récentes avancées thérapeutiques ont amélioré le pronostic de cette maladie orpheline qui reste cependant une maladie incurable et de mauvais pronostic. Malgré les trois familles de traitements vasodilatateurs pulmonaires spécifiques (la prostacycline, les antagonistes des récepteurs de l'endothéline-1 et les inhibiteurs de phosphodiesterase de type 5), la mortalité demeure élevée (50 % à 5 ans en moyenne) et la qualité de vie reste médiocre. Il existe de nombreuses molécules prometteuses dans l'hypertension artérielle pulmonaire qui demeurent non encore expérimentées chez l'homme. Dans l'HTAP comme dans toute autre pathologie, de nombreuses années sont nécessaires entre la découverte d'une molécule et sa mise à disposition dans la pharmacopée.

La metformine possède des propriétés vasorelaxantes et des propriétés de protection vasculaire qui pourraient à priori être mises à profit pour le traitement de l'HTAP. Cette molécule appartient à la famille des biguanides, c'est un antidiabétique oral, utilisé depuis longtemps chez les patients diabétiques de type 2, avec un bon profil de tolérance. Son mode d'action moléculaire précis reste incertain mais elle est connue pour activer l'AMPkinase intracellulaire, enzyme de la régulation du métabolisme énergétique. Des effets de protection vasculaire, médiés par l'activation de l'AMPkinase, ont été décrits depuis 10 ans. Notre équipe a récemment décrit, sur 2 modèles d'HTAP chez le rat, un effet préventif et curatif avec la metformine [2]. Il a été notamment montré que dans les artérioles pulmonaires du rat, la metformine améliore la fonction endothéliale, possède un effet vasorelaxant, inhibe la vasoconstriction et la prolifération des cellules musculaires lisses.

Ce travail de thèse a pour but de réaliser «un état des lieux» des nouvelles approches pharmacologiques potentielles dans l'HTAP et de présenter une étude pilote ayant pour objectif d'évaluer l'efficacité de la metformine dans le traitement de l'HTAP chez l'homme. Il s'agit d'une étude prospective, ouverte, non randomisée, bicentrique, durant 2 ans, qui débutera fin 2010. La première partie de ce travail présente l'HTAP et les thérapeutiques actuellement disponibles. La deuxième partie traite des thérapeutiques en cours de développement expérimental et clinique dont la metformine. La troisième partie présente le protocole « MetHTAP ».

PREMIERE PARTIE :

PRESENTATION GENERALE DE L'HTAP ET DES TRAITEMENTS ACTUELLEMENT DISPONIBLES

I- L'hypertension artérielle pulmonaire

I.1 Définition

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une maladie chronique caractérisée par l'augmentation progressive des pressions artérielles pulmonaires et une élévation des résistances vasculaires pulmonaires, qui aboutissent à une hypertrophie puis une insuffisance ventriculaire droite et au décès du patient en l'absence de traitement [1, 3].

L'HTAP est dépistée par la technique d'échographie transthoracique (ETT) qui estime la pression artérielle pulmonaire systolique par la mesure de la vitesse du flux de l'insuffisance tricuspide.

Le diagnostic d'HTAP est posé par le cathétérisme cardiaque droit. L'hypertension pulmonaire est définie par une pression artérielle moyenne supérieure ou égale à 25 mmHg au repos. L'atteinte précapillaire est affirmée par une pression capillaire pulmonaire bloquée inférieure ou égale à 15 mmHg. Le cathétérisme cardiaque droit permet également de constater une élévation des résistances vasculaires pulmonaires (RVP) supérieure à 3 unités Wood et souvent une diminution du débit cardiaque [4].

I.2 Epidémiologie

La prévalence de l'HTAP en France est de 15 cas par million d'habitants [5]. Il existe une grande variation de prévalence entre les régions, ainsi Paris est la région avec la plus forte prévalence (25 cas par million d'habitants) en raison du dépistage plus important de cette pathologie et du probable effet « centre », l'équipe de pneumologie de l'hôpital Antoine Béchère, à Clamart, étant labellisé centre national de référence de l'HTAP. L'incidence de l'HTAP est de 2,4 par million d'habitants par an en France [5].

I.3 Génétique

L'HTAP familiale est souvent une maladie génétique autosomique dominante, à pénétrance variable et anticipation génique par mutation du gène du récepteur de type 2 de la protéine *bone morphogenetic protein* (BMPR-2) (mutation la plus fréquente) [4]. Le produit de ce

gène semble participer à l'homéostasie vasculaire et ses mutations sont à l'origine d'une perte de sa fonction ayant pour conséquence la prolifération des cellules vasculaires pulmonaires.

Chez les patients avec HTAP idiopathique, la mutation du gène de BMPR-2 est retrouvée dans 25% des cas. Six à 10% des formes d'HTAP dites idiopathiques sont en fait des formes familiales et dans la grande majorité des cas, le gène de BMPR-2 est muté [5].

I.4 Pronostic

Cette affection reste actuellement incurable et de mauvais pronostic. Malgré des progrès réalisés avec l'avènement de nouveaux traitements pharmacologiques depuis 10 ans environ, la mortalité des patients atteints d'HTAP reste en moyenne en France de l'ordre de 50 % à 5 ans et la qualité de la vie reste médiocre chez près de la moitié de ces patients en monothérapie [6, 7].

L'analyse des résultats du registre REVEAL (Registry to Evaluate Early and Long-Term PAH Disease Management) publié en 2010 [8] concernait 54 centres de références aux Etats-Unis et incluait 2716 patients atteints d'HTAP. La survie à un an était de 87.7 % et de 72.1 % à 3 ans. Les patients en classe fonctionnelle I ou II de la NYHA avaient un meilleur pronostic de survie au diagnostic que les patients à un stade clinique plus avancé de la maladie.

En France la survie à un an et trois ans était respectivement évaluée à 83% et 58 % en 2006. Cette différence entre les deux registres pourrait s'expliquer en partie par un diagnostic plus tardif en France avec une prise en charge des patients à un stade plus évolué de la maladie [5]. Le pronostic de l'HTAP lié à une sclérodémie systémique est encore moins bon que celui de l'HTAP idiopathique avec un taux de survie évalué à 55 % à un an [9, 10].

De nombreux facteurs pronostiques de l'HTAP ont été identifiés. Les critères de mauvais pronostic correspondent à un diagnostic tardif de la maladie en classe fonctionnelle III ou IV de la NYHA (*New York Heart Association*), une faible capacité à l'effort évaluée par le test de marche de 6 minutes (T6M), des pressions élevées dans l'oreillette droite, une dysfonction ventriculaire droite, un index cardiaque bas, un taux sérique élevé de *brain natriuretic peptide* (BNP) et l'association à une sclérodémie systémique [4]. Les patients qui répondent à un traitement avec un gain d'une ou de deux classes fonctionnelles ont un meilleur pronostic.

L'échocardiographie est d'intérêt faible pour apprécier le pronostic d'une hypertension pulmonaire. Néanmoins, la présence d'un épanchement péricardique et le *Tei index* (index de performance myocardique) sont proposés comme facteurs pronostiques.

I.5 Manifestations cliniques

Il n'existe pas de signes cliniques spécifiques de l'HTAP. Ces manifestations ne traduisent que le retentissement de la maladie sur le cœur droit ou les manifestations liées à la maladie sous-jacente (sclérodermie, cirrhose...).

Le symptôme principal est la dyspnée, survenant initialement à l'effort puis secondairement au repos. L'apparition de cette dyspnée de façon progressive est souvent négligée, expliquant le fréquent retard à la prise en charge. Le délai moyen entre le début des symptômes et le diagnostic d'HTAP est de 2 ans [5]. D'autres signes cliniques sont à rechercher comme les signes d'insuffisance cardiaque droite, les douleurs précordiales (ischémie ventriculaire droite), les palpitations, une hémoptysie, une dysphonie témoignant d'une paralysie récurrentielle gauche secondaire à la compression du nerf récurrent par le tronc de l'artère pulmonaire gauche dilatée (Syndrome d'Ortner). La survenue de malaises et de signes de bas débit cardiaque sont de mauvais pronostic, et témoigne d'un risque de mort subite.

I.6 Classification

La dernière classification (tableau n°1) est celle adoptée en 2008 lors du quatrième symposium mondial sur l'hypertension pulmonaire, à Dana Point, en Californie [11]. L'hypertension pulmonaire est ainsi classée en 5 catégories.

Les hypertensions pulmonaires du groupe 1 sont appelées HTAP et sont précapillaires (pression capillaire pulmonaire normale ≤ 15 mm Hg) par atteinte du réseau artériolaire et capillaire pulmonaire. Elles ont une pathogénie proche et des approches thérapeutiques communes. Elles regroupent les HTAP idiopathiques, qui en est la forme la plus fréquente, les HTAP familiales, les HTAP liées à la prise de certains médicaments ou toxiques, dont les anorexigènes, l'hypertension pulmonaire persistante du nouveau-né, et enfin les formes d'HTAP dites « associées » (connectivites, dont la sclérodermie systémique dans 3 cas sur 4), cardiopathies congénitales avec shunt gauche-droit, hypertension portale, infection au virus VIH, schistosomiase et anémie hémolytique chronique).

Les hypertensions pulmonaires du groupe 2 sont des hypertensions pulmonaires post-capillaires, conséquence d'une cardiopathie ou d'une valvulopathie du cœur gauche. Etant

donnée la prévalence élevée de ces cardiopathies, les hypertensions pulmonaires du groupe 2 sont les plus fréquentes de toutes les hypertensions pulmonaires.

Le groupe 3 regroupe les hypertensions pulmonaires associées aux pathologies pulmonaires et/ou à l'hypoxémie chronique, notamment les bronchopneumopathies chroniques obstructives (BPCO), et les maladies interstitielles pulmonaires.

Les hypertensions pulmonaires du groupe 4 sont les formes secondaires aux thromboses et/ou aux embolies des artères pulmonaires.

Enfin, le groupe 5 réunit des causes variées et exceptionnelles d'hypertension pulmonaire dont le mécanisme est indéterminé.

Tableau n°1 : Classification clinique actuelle de l'hypertension pulmonaire.

(D'après Simonneau G, et al. J Am Coll Cardiol 2009;54:S43-54)

1. Hypertension artérielle pulmonaire (HTAP)

- 1.1 HTAP idiopathique
- 1.2 HTAP d'origine héréditaire
 - 1.2.1 Mutation BMPR-2
 - 1.2.2 Mutation ALK-1 ou endogline
 - 1.2.3 Mutation inconnue
- 1.3 HTAP associée à des médicaments, drogues, ou toxiques
- 1.4 HTAP associée :
 - 1.4.1 Connectivites
 - 1.4.2 Infection au VIH
 - 1.4.3 Hypertension portale
 - 1.4.4 Cardiopathies congénitales
 - 1.4.5 Schistosomiase
 - 1.4.6 Anémie hémolytique chronique
- 1.5 Hypertension pulmonaire persistante du nouveau-né

1' Maladie veino-occlusive pulmonaire et/ou hémangiomatose capillaire pulmonaire

2. Hypertension pulmonaire secondaire à une cardiopathie gauche

- 2.1 Dysfonction systolique
- 2.2 Dysfonction diastolique
- 2.3 Valvulopathie

3. Hypertension pulmonaire due aux maladies pulmonaires et/ou à l'hypoxie

- 3.1 Bronchopneumopathie chronique obstructive
- 3.2 Maladies interstitielles pulmonaires
- 3.3 Autre maladie pulmonaire avec atteinte mixte restrictive et obstructive
- 3.4 Troubles respiratoires du sommeil
- 3.5 Hypoventilation alvéolaire
- 3.6 Exposition chronique à l'altitude élevée
- 3.7 Anomalies du développement

4. Hypertension pulmonaire thrombo-embolique chronique

5. Hypertension pulmonaire de mécanisme multifactoriel et imprécis

- 5.1 Atteinte hématologique : syndromes myéloprolifératifs, splénectomie
- 5.2 Maladies systémiques : sarcoïdose, histiocytose Langerhansienne pulmonaire, lymphangioloïomyomatose, neurofibromatose de type 1, vascularite
- 5.3 Maladies métaboliques : glycogénoses, maladie de Gaucher, pathologies thyroïdiennes
- 5.4 Autres : obstruction vasculaire pulmonaire tumorale, fibrose médiastinale, insuffisance rénale chronique dialysée

I.7 Physiopathologie

Notre connaissance actuelle des lésions histologiques observées dans l'HTAP est basée sur l'examen histologique d'explants pulmonaires, de prélèvements post-mortem et rarement de biopsies pulmonaires chirurgicales (indication exceptionnelle). Des nuances histologiques sont observées selon l'étiologie sous-jacente [12-14].

Sur le plan histologique, l'HTAP est une authentique panvasculopathie car les 3 couches vasculaires peuvent comporter des anomalies morphologiques. Les lésions d'artériopathie de l'HTAP concernent essentiellement les artères de moins de 300 microns de diamètre. L'artériopathie plexiforme est une lésion caractéristique de l'HTAP du groupe 1, qui associe une hypertrophie de la média (hyperplasie des fibres musculaires lisses, augmentation de la matrice conjonctive et des fibres élastiques), une fibrose de l'intima, des lésions plexiformes (prolifération focale de cellules endothéliales entourées de myofibroblastes) et des thromboses organisées et re-canalisées. L'hypertrophie de la média est une lésion précoce, plus réversible que la fibrose intimale ou l'artériopathie plexiforme [12].

L'HTAP est une maladie de physiopathologie complexe et multifactorielle. Les principaux mécanismes mis en jeu sont un excès de vasoconstriction artérielle pulmonaire, une dysfonction de l'endothélium, un remodelage de la paroi des artérioles pulmonaires, et des phénomènes thrombotiques, qui conduisent à l'obstruction progressive des artérioles pulmonaires.

La dysfonction endothéliale se caractérise par un déséquilibre de production de médiateurs endothéliaux favorisant la vasoconstriction : surproduction de médiateurs vasoconstricteurs endothéliaux comme l'endothéline -1, surexpression médiale de la sérotonine (5-HT) et de la phosphodiesterase de type 5 (PDE-5) ; ainsi que par la diminution de production de médiateurs vasodilatateurs d'origine endothéliale comme le monoxyde d'azote (NO), la prostacycline et la sous-expression de canaux potassiques voltage dépendants (Kv) [12-14].

La petite protéine G monomérique RhoA est très impliquée dans le contrôle des fonctions de la cellule musculaire lisse (CML) vasculaire, modulant ainsi la structure et le tonus des vaisseaux sanguins [15]. De nombreux travaux expérimentaux ont décrit l'importance de la voie RhoA/Rho kinase dans l'HTAP. L'activation de RhoA/Rho kinase est ainsi impliquée dans la dysfonction endothéliale et les lésions de remodelage des artérioles pulmonaires de

l'HTAP. Sur des cellules endothéliales humaines placées en hypoxie, la baisse de production de NO est due à l'activation de RhoA/Rho kinase [16].

L'inhibition de Rho kinase permet par ailleurs de prévenir le développement des lésions de remodelage vasculaire pulmonaire et l'hypertension pulmonaire expérimentale [17]. Les mécanismes moléculaires qui conduisent à la suractivation de RhoA dans l'hypertension pulmonaire ne sont pas établis. Cependant peu de données chez l'homme sont actuellement disponibles.

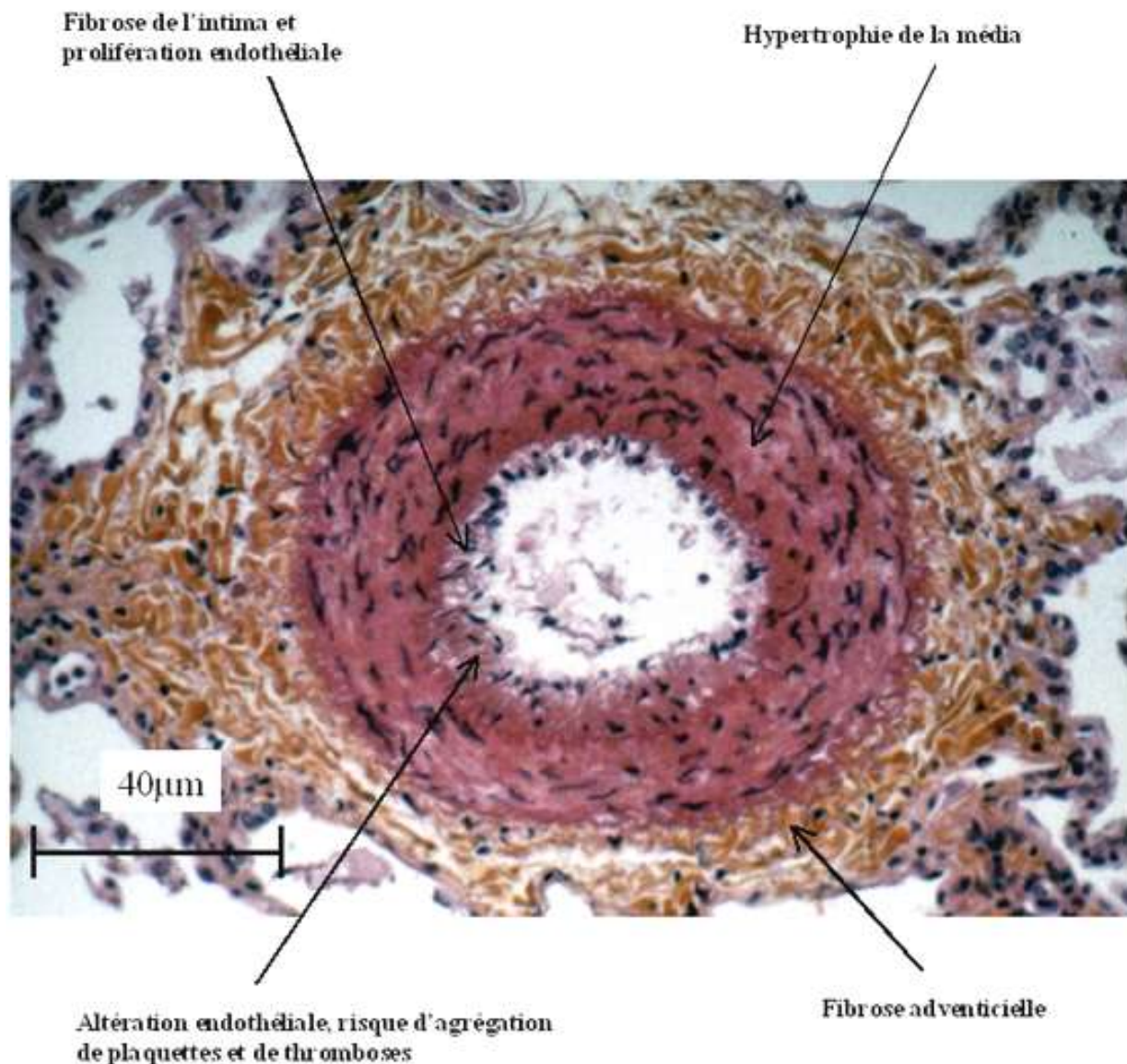


Figure n°1 : Aspect d'une artériole pulmonaire au cours de l'HTAP humaine

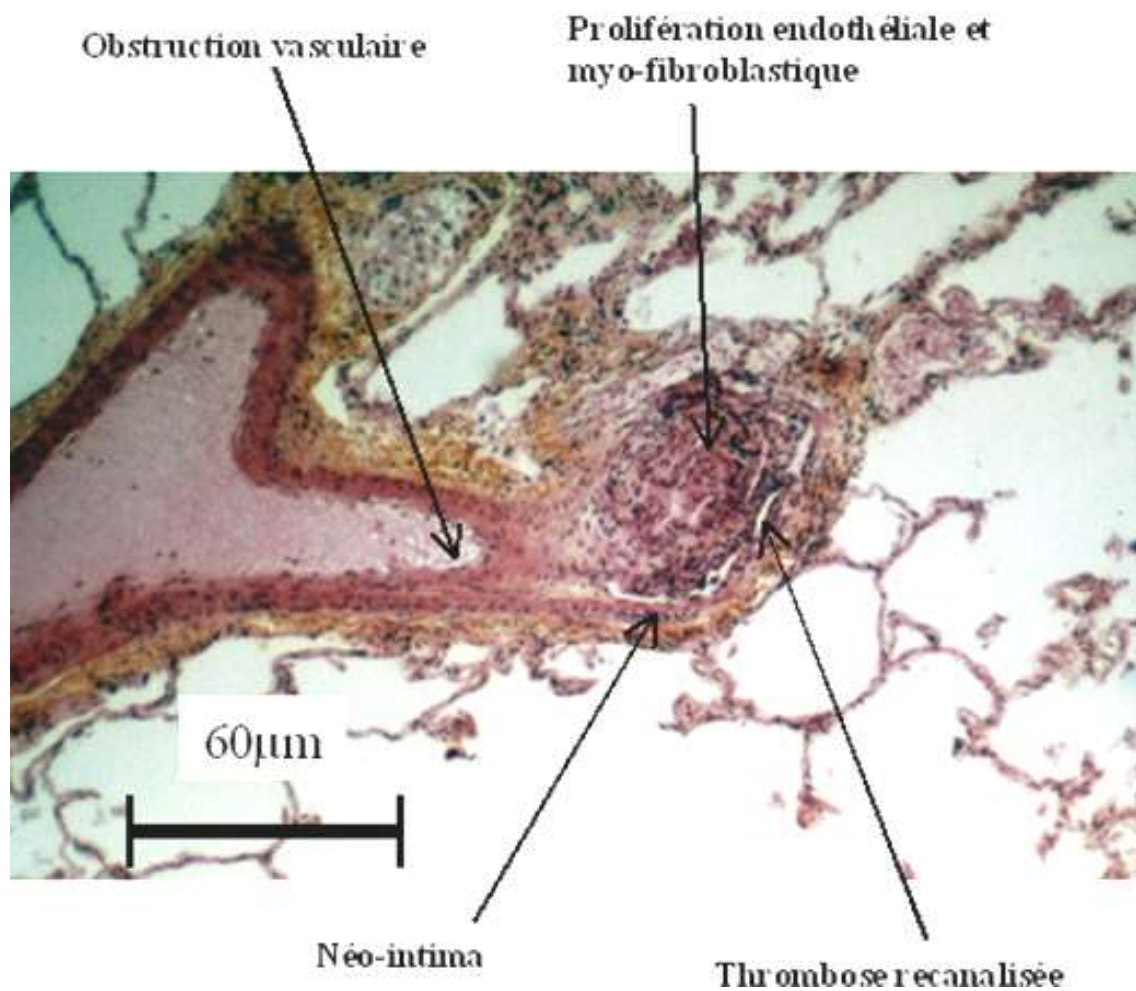


Figure n°2 : Aspect de lésion plexiforme au cours de l'HTAP humaine

II- Prise en charge thérapeutique actuelle de l'HTAP

II.1 Mesures générales

Le traitement conventionnel repose sur des mesures simples [4, 14] : limitation des efforts, éviter les séjours en altitude et toute situation pouvant majorer l'hypoxie et le débit cardiaque. La grossesse est contre-indiquée chez les patients souffrants d'HTAP.

Des traitements non spécifiques sont prescrits en association avec les traitements conventionnels de l'HTAP. L'oxygénothérapie de longue durée est indiquée chez les patients hypoxiques au repos. Un traitement diurétique parfois associé à la digoxine permet d'améliorer les symptômes d'insuffisance cardiaque droite. Un traitement anticoagulant est indiqué pour éviter la survenue d'événements thrombotiques. L'objectif d'INR (*international normalized ratio* = Temps de Quick patient/Temps de Quick témoin) est de 2 à 2,5 dans les cas d'HTAP de classe III ou IV de la NYHA [18].

II.2 Les inhibiteurs calciques (nifédépine/ diltiazem)

Les inhibiteurs calciques (nifédépine, diltiazem, nifédipine) ont un effet d'inhibition des canaux calciques membranaires voltage-dépendants au niveau de la cellule musculaire lisse vasculaire [19]. Ils sont indiqués en première intention lorsqu'on observe une réversibilité de l'HTAP au cathétérisme cardiaque droit après un test de vasodilatation par le monoxyde d'azote inhalé ou la prostacycline en intraveineux. Le test est positif si la pression artérielle pulmonaire moyenne diminue de plus de 10 mmHg avec une PAP moyenne inférieure à 40 mmHg et un débit cardiaque normal ou élevé. Si ce test est positif, les patients ont un meilleur pronostic, avec une survie de 95 % à 5 ans. Cependant, le nombre de patients répondeurs aux inhibiteurs calciques est faible (soit environ 5 %) et de fortes doses sont nécessaires afin d'obtenir un effet thérapeutique [19].

II.3 Les traitements spécifiques de l'HTAP

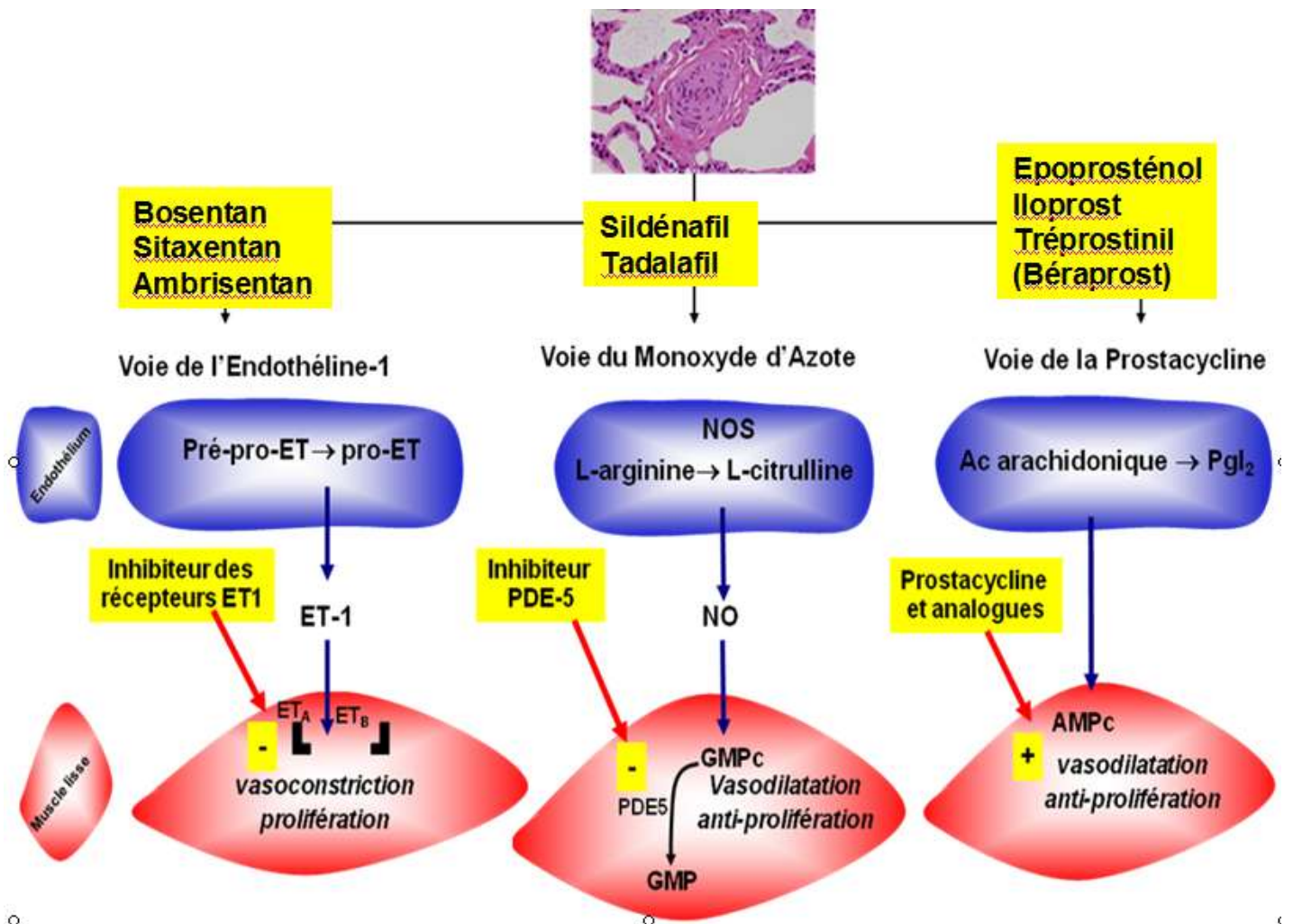


Figure n°3 : Représentation des trois principales voies métaboliques impliquées dans la physiopathologie de l'HTAP.

La voie de l'endothéline-1 (ET-1), du monoxyde d'azote (NO) et de la prostacycline (Pgl₂) sont les cibles de traitements validés dans l'HTAP.

L'inhibition de la phosphodiésterase-5 (PDE5) par le sildénafil limite la dégradation du GMPc vasodilatateur.

II.3.1 La Prostacycline (ou prostaglandine I2) :

A. L'époprosténol (Flolan®)

L'époprosténol est historiquement le premier traitement approuvé dans l'HTAP. C'est une prostacycline synthétique, agissant comme un puissant vasodilatateur systémique et artériel pulmonaire. L'époprosténol inhibe également l'agrégation plaquettaire. Ce traitement est délivré en France depuis mars 1998. Il est recommandé dans les formes sévères d'HTAP, chez les patients en stade clinique fonctionnel III ou IV, atteints d'HTAP idiopathique, familiale ou associée à une collagénose [3, 20].

L'époprosténol est administré par voie intraveineuse continue sur un cathéter veineux central à l'aide d'une pompe pour perfusion ambulatoire en raison de sa courte demi-vie de 3 à 5 min et de son instabilité à un pH<10,5 [21]. Les doses d'époprosténol sont augmentées en fonction des récives ou des aggravations des symptômes de l'HTAP, sur l'objectivation d'une baisse de la tolérance à l'exercice sur les tests de marche de 6 min répétés et sur les paramètres hémodynamiques. L'interruption brusque de la perfusion d'époprosténol ou une réduction importante et/ou brutale du débit de perfusion doivent être évitées en raison du risque de survenue d'un effet rebond pouvant menacer le pronostic vital. Les événements indésirables qui limitent l'augmentation des doses sont le plus souvent : flush, troubles digestifs, céphalées, douleur de la mâchoire, douleur thoracique, gêne respiratoire, bradycardie, hypotension. Une infection de cathéter central est à surveiller. Il faut également noter le risque d'œdème pulmonaire chez les patients atteints de maladie veino-occlusive.

L'étude de Barst et al. qui a conduit à l'AMM de l'époprosténol dans l'HTAP en Europe et aux USA était une étude prospective, randomisée, contrôlée contre placebo qui a inclus 81 patients atteints d'HTAP en stade III ou IV de la NYHA [22]. La distance de marche au test de 6 minutes (T6M) était significativement augmentée chez les 41 patients traités par époprosténol après 12 semaines (362 m contre 315 m en moyenne à l'inclusion), et diminuait chez les 40 patients sous thérapeutique conventionnelle (204 m contre 270 m). La qualité de vie et les paramètres hémodynamiques étaient significativement augmentés dans le groupe époprosténol (PAP moyenne; résistances vasculaires pulmonaires). Depuis, de nombreux essais cliniques ont étudié la sécurité d'administration de ce traitement à long terme et l'amélioration de la survie chez les patients atteints d'HTAP idiopathique [23-25]. Une étude

récente a également montré une amélioration de la survie des patients atteints d'HTAP associée la sclérodermie traités au long cours par de l'époprosténol [26].

B. L'iloprost (Ventavis®)

L'iloprost est un analogue de la prostacycline qui existe sous une forme inhalée et intraveineuse. Seule la forme inhalée de l'iloprost est autorisée en Europe. Ce traitement est indiqué dans l'HTAP idiopathique et familiale avec dyspnée de classe III. L'iloprost est administré à l'aide d'un aérosol (2.5 à 5 µg inhalé en 10 min), 6 à 9 nébulisations par jour sont nécessaires en raison de la courte durée d'action de ce médicament (entre 1 à 2 heures) [27].

Les effets indésirables très fréquents (> 10%) observés au cours des essais cliniques sont la vasodilatation, l'hypotension artérielle systémique et la majoration de la toux. Les effets indésirables fréquents sont les syncopes, les céphalées, le trismus.

L'efficacité de l'iloprost a été démontrée dans une étude randomisée, contrôlée contre placebo incluant 203 patients atteints d'HTAP sévère (stade III ou IV) ou postembolique, sur 12 semaines [28]. Après 12 semaines de traitement, la distance parcourue au T6M a été augmentée en moyenne de 36 mètres dans le groupe iloprost (-3,3 mètres dans le groupe placebo). Après 12 semaines de traitement, la classe NYHA a été améliorée chez 25 % des patients du groupe iloprost (placebo 12,7%) et diminuée chez 5,9 % des patients (placebo 7,8%). Les valeurs hémodynamiques étaient également améliorées après 12 semaines de traitement. Une étude récente de suivi des patients réalisée sur 2 ans de traitement par l'iloprost inhalé a montré une bonne tolérance du traitement au long cours, l'absence de majoration des doses nécessaire pour maintenir une efficacité clinique, et un bénéfice sur la survie des patients à long terme [29].

C. Le tréprostinil (Remodulin®)

Le tréprostinil est un analogue de la prostacycline, stable chimiquement à température ambiante et à pH neutre. Il est indiqué dans le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire idiopathique dans le but d'améliorer la tolérance à l'effort et les symptômes de la maladie chez les patients en classe fonctionnelle III de la NYHA (AMM en France en 2005).

Il s'administre en perfusion sous-cutanée continue. Les effets indésirables tels que flush, céphalées, hypotension, nausées, vomissements et diarrhées sont en général dépendants de la dose de tréprostinil administrée [30]. Ils peuvent disparaître avec la poursuite du traitement, mais s'ils persistent ou sont intolérables pour le patient, le débit de perfusion devra être réduit pour diminuer leur intensité. Au cours des phases de suivi des essais cliniques, les doses moyennes atteintes ont été de 26 ng/kg/min après 12 mois de traitement, de 36 ng/kg/min après 24 mois, et de 42 ng/kg/min après 48 mois. Le principal inconvénient de ce traitement est la survenue de douleurs avec des réactions locales à type d'érythème inflammatoire parfois importantes au point d'injection du produit conduisant parfois le patient à arrêter ce médicament [30].

Deux études cliniques [30, 31] de phase III, randomisées, en double aveugle, contrôlées contre placebo ont été réalisées chez des sujets atteints d'hypertension artérielle pulmonaire stable. Ces deux études ont inclus un total de 469 adultes. Après 12 semaines de traitement, la variation moyenne du T6M par rapport à la valeur à l'inclusion, calculée sur la population globale des 2 essais, était de - 2 mètres $\pm$ 6,61 pour les patients recevant du tréprostinil, et de -21,8 mètres $\pm$ 6,18 dans le groupe traité par le placebo. Ces résultats reflétaient un effet moyen du traitement évalué sur le T6M de 19,7 mètres par rapport au placebo sur la population globale des deux essais. On observait également une amélioration des paramètres hémodynamiques dans le groupe tréprostinil par rapport au placebo. L'amélioration des signes et des symptômes d'hypertension pulmonaire (syncope, sensations vertigineuses, douleurs thoraciques, fatigue et dyspnée) était statistiquement significative.

D. Le béraprost

Le béraprost est un analogue oral de la prostacycline. Ce traitement n'est pas délivré en France, il est autorisé seulement au Japon et en Corée. Deux essais de phase II sont en cours aux Etats-Unis. Dans un essai clinique de 12 semaines [32], incluant 130 patients, il était observé une amélioration du T6M seulement pour les patients présentant une HTAP idiopathique (+25 m). Il n'était pas observé d'amélioration statistiquement significative des paramètres hémodynamiques et de la classe fonctionnelle de la dyspnée. Dans une étude [33] de 12 mois, contrôlée contre placebo, randomisée, en double aveugle incluant un total de 116 patients atteints d'HTAP en classe fonctionnelle II ou III de la NYHA, secondaire à une collagénose ou à un shunt pulmonaire congénital, la progression de la maladie était

significativement moindre (décès, transplantation, mise sous époprosténol intra-veineux, consommation d'oxygène) après 6 mois de traitement. De même, une amélioration du T6M était observée après 3 (22 m) et 6 mois (31 m) de traitement mais non après 9 et 12 mois. Cette étude suggère une efficacité du médicament initiale, mais un échappement sur le long terme.

II.3.2 Les antagonistes des récepteurs de l'endothéline 1 (ET-1)

A. Le bosentan (Tracleer®)

Le bosentan est le premier antagoniste non sélectif des récepteurs de l'endothéline commercialisé en France en mai 2002. Depuis, il a prouvé sa sécurité et son efficacité dans l'HTAP [34, 35]. Le bosentan est indiqué dans l'hypertension artérielle pulmonaire primitive (idiopathique et familiale), l'hypertension artérielle pulmonaire associée à une sclérodermie sans pathologie interstitielle significative associée. Il est conseillé chez les patients présentant une HTAP de classe fonctionnelle II ou III de la NYHA. Le bosentan a également montré son efficacité dans l'HTAP post embolique dans 3 études prospectives [36-38].

Le bosentan est un traitement oral. La posologie recommandée chez l'adulte est de 62,5 mg deux fois par jour pendant un mois, augmentée à 125 mg deux fois par jour en traitement au long cours en l'absence de signes d'hépatotoxicité. Il ne peut être utilisé chez les patients présentant des perturbations modérées à sévères du bilan hépatique (taux sériques des aminotransférases hépatiques et/ou alanine aminotransférases, supérieures à 3 fois la limite supérieure de la normale avant la mise en route du traitement). Une surveillance du bilan hépatique est réalisée tous les mois, car une hépatite est observée chez 10 % des patients sous traitement. De plus, une contraception efficace est recommandée chez les femmes en âge de procréer.

Deux études pivots, contrôlées contre placebo, multicentriques, en double aveugle, randomisées, ont été réalisées chez 32 patients adultes [39] et 213 patients adultes (BREATHE-1) [40] de classe fonctionnelle III-IV de l'OMS atteints d'hypertension artérielle pulmonaire (hypertension pulmonaire primitive ou associée à une sclérodermie principalement). Ces deux études ont montré une augmentation significative de la distance

parcourue au cours du T6M. Les augmentations de la distance de marche corrigées par rapport au placebo ont été de 76 mètres et de 44 mètres respectivement.

L'étude EARLY publiée en 2008 [41, 42] était une étude contrôlée versus placebo, en double-aveugle, multicentrique incluant 185 patients souffrant d'HTAP en classe fonctionnelle OMS II (distance de marche moyenne à 6 minute de 435 mètres) traités par du bosentan 62,5 mg 2 fois par jour pendant 4 semaines suivies pendant 6 mois de 125 mg 2 fois par jour de bosentan (n=93), ou un placebo (n=92). Les patients inclus dans l'étude étaient soit naïfs de traitement pour l'HTAP (n=156) soit en état stable sous sildénafil (n=29). Ainsi après 6 mois de traitement on observait une diminution de 22,6 % des résistances vasculaires pulmonaires sous traitement avec un test de marche de 6 minutes qui augmentait de façon non significative de 19,1 m. Cette étude a ainsi montré l'efficacité du bosentan à un stade précoce ou dans des formes moins sévères de la maladie.

B. Le Sitaxentan (Thélin®)

Le sitaxentan est un antagoniste spécifique des récepteurs A de l'endothéline-1 (ET A récepteur) Son autorisation de mise sur le marché remonte à aout 2006 en Europe. Il est indiqué dans l'HTAP primitive et l'HTAP associée à une connectivite chez des patients en classe fonctionnelle III [43-46]. La posologie conseillée chez l'adulte est de 100 mg une fois par jour, en prise orale, en traitement au long cours en l'absence de signes d'hépatotoxicité. Une surveillance mensuelle du bilan hépatique est préconisée. De plus, il favorise l'augmentation des concentrations plasmatiques des antagonistes de la vitamine K.

Dans l'étude STRIDE-2 (Sitaxsentan To Relieve Impaired Exercise-2) [44], ayant inclus 247 patients atteints d'HTAP, une amélioration statistiquement significative de 31,4 mètres a été observée au T6M, de même une faible toxicité hépatique était relevée (3 % pour le sitaxentan à 100 mg contre 11% pour le bosentan).

C. L'ambrisentan (Volibris®)

L'ambrisentan est un antagoniste peu sélectif des récepteurs de l'endothéline-1. Il est indiqué dans le traitement de l'HTAP chez les patients en classe fonctionnelle II et III de la NYHA depuis avril 2008 en France. Son efficacité a été montrée dans l'HTAP idiopathique et dans l'HTAP associée à une collagénose (études ARIES 1 & 2) [47, 48].

La posologie conseillée chez l'adulte est de 5 mg en prise unique par voie orale, en traitement au long cours en l'absence de signe d'hépatotoxicité. La posologie peut être augmentée à 10 mg chez les patients en classe fonctionnelle III et chez les patients atteints d'une connectivite. Une surveillance mensuelle du bilan hépatique est préconisée. Ce traitement est souvent bien toléré et présente un risque faible de cytolysé hépatique après deux ans de suivi [49].

II.3.3 Les inhibiteurs de la phosphodiesterase de type 5

A. Le sildénafil (Revatio®)

Le sildénafil est un inhibiteur puissant de la phosphodiesterase de type 5 (PDE-5), enzyme qui est responsable de la dégradation du GMPc. Le sildénafil permet d'augmenter la concentration intracellulaire de GMPc au sein des cellules musculaires lisses des artérioles pulmonaires, permettant une vasodilatation du lit vasculaire pulmonaire par l'action du NO. Le sildénafil a été approuvé dans le traitement de l'HTAP par the Food and Drug Administration (FDA) et par l'European Medicines Agency (EMA) en 2005. Il est indiqué chez les patients atteints d'une HTAP en classe fonctionnelle II et III, afin d'améliorer leur capacité à l'effort. L'efficacité a été démontrée dans l'HTAP idiopathique et l'HTAP associée à une connectivite [50].

Le sildénafil est administré par voie orale, à la posologie de 20 mg trois fois par jour. Les effets indésirables les plus fréquemment signalés sont : céphalées, rougeurs du visage, dyspepsie, douleurs dorsales, diarrhée et des douleurs des membres.

L'efficacité du sildénafil a été objectivée dans l'étude SUPER (Sildenafil Use in Pulmonary Arterial Hypertension) [50], étude de phase III, contrôlée versus placebo, qui incluait 278 patients (39 % en classe fonctionnelle II, 58 % en classe fonctionnelle III) recevant trois fois par jour : placebo, sildénafil 20 mg (n=67), 40 mg (n=64) ou 80 mg (n=69). Une

augmentation statistiquement significative de la distance parcourue en 6 minutes a été observée dans les 3 groupes ayant reçu une dose de sildénafil par rapport au groupe ayant reçu un placebo. L'augmentation, corrigée par rapport au placebo, a été de 45 mètres pour le groupe 20 mg de sildénafil, de 46 mètres pour le groupe 40 mg et de 50 mètres pour le groupe 80 mg. L'amélioration de la distance de marche a été manifeste après 4 semaines de traitement et cet effet était toujours présent aux semaines 8 et 12. Les patients sous sildénafil, toutes doses confondues, ont eu une diminution statistiquement significative de leur pression artérielle pulmonaire moyenne (PAPm) par rapport aux patients sous placebo. Aucune différence d'efficacité n'a été démontrée entre le sildénafil 20 mg trois fois par jour et les doses plus importantes étudiées. Le changement moyen de la résistance vasculaire pulmonaire (RVP) par rapport à l'état initial a été de $-122 \text{ dyne/sec/cm}^{-5}$ pour le sildénafil à 20 mg trois fois par jour.

B. Le tadalafil (Adcirca®)

Le tadalafil est un autre inhibiteur de la phosphodiesterase de type 5. Il a reçu son autorisation de mise sur le marché dans l'HTAP de stade II et III de l'OMS, aux Etats-Unis en 2009, et en France en 2010. Le tadalafil a été évalué dans l'étude PHIRST (Pulmonary Arterial Hypertension and Response to Tadalafil), publiée en 2009 [51], qui a inclus 405 patients en classe fonctionnelle II ou III, naïfs de tout traitement spécifique de l'HTAP ou sous bosentan. Les posologies 2,5, 10, 20 et 40 mg étaient comparées au placebo. Seuls les patients traités par 40 mg de tadalafil ont présenté une amélioration significative de leur T6M (+ 33m). Les patients naïfs de traitement spécifique de l'HTAP ont présenté une amélioration plus importante de leur T6M que les patients traités par bosentan (44 m contre 23m). Le tadalafil améliorait également la qualité de vie et l'évolution clinique (amélioration de la classe fonctionnelle, diminution du nombre d'hospitalisations). Ce traitement était bien toléré, les effets secondaires observés les plus fréquents étaient : céphalées, myalgies, rougeurs de la face. Le tadalafil a l'avantage d'être administré en une prise quotidienne contre trois prises pour le sildénafil car sa demi-vie est de 17,5 heures contre 4 heures pour le sildénafil.

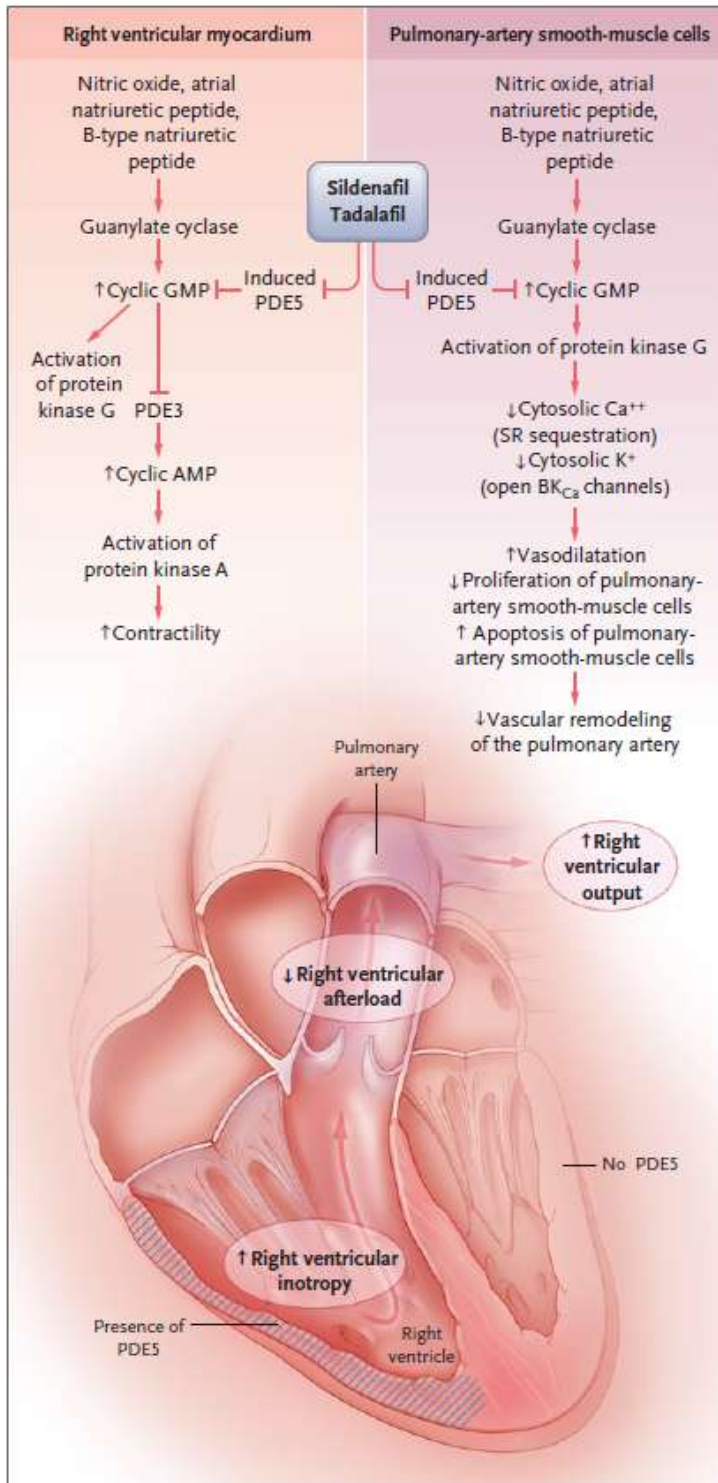


Figure n°4 : Effets de la PDE-5 dans l'HTAP

D'après Archer, S.L. and E.D. Michelakis, Phosphodiesterase type 5 inhibitors for pulmonary arterial hypertension. N Engl J Med, 2009. 361(19): p. 1864-71.

La PDE-5 agit sur le ventricule droit et les artères pulmonaires (par augmentation de l'effet inotrope et diminution de la post charge du ventricule droit).

Dans les cellules musculaires lisses des artères pulmonaires, les effets des inhibiteurs de la PDE-5 sont médiés par la protéine kinase G (PKG) et ses multiples cibles, conduisant à la vasodilatation réduisant la prolifération cellulaire et augmentant l'apoptose.

Le principal effet des inhibiteurs de la PDE-5 est médié par l'augmentation du GMPc qui permet une activation de la protéine kinase A (augmente la contractilité du ventricule droit).

Ces effets combinés diminuent les résistances vasculaires pulmonaires.

II.3.4 Les associations

Traiter un patient en monothérapie est souvent insuffisant. Ainsi, un nombre croissant de patients est désormais sous association de vasodilatateurs pulmonaires de mécanismes d'action différents et idéalement complémentaires [3]. Plusieurs schémas d'association ont fait l'objet d'études ouvertes : bosentan-prostacycline ou analogues [52, 53], sildénafil-prostacycline ou analogues [54]. L'association sildénafil-bosentan est peu étudiée. Une étude publiée en 2007 a montré qu'en cas d'aggravation de l'HTAP sous bosentan seul, l'ajout de sildénafil permettait d'améliorer la classe NYHA et le T6M chez les patients ayant une HTAP idiopathique [55].

De même, plusieurs études de phase III et IV, d'association de l'iloprost avec des traitements oraux de l'HTAP sont en cours comme l'étude "VISION" Trial: Ventavis Inhalation With Sildenafil to Improve and Optimize Pulmonary Arterial Hypertension (NCT00302211).

Deux études de phase III, sont en cours aux Etats-Unis pour évaluer l'efficacité de l'association sildénafil-sitaxentan par rapport au sitaxentan seul.

II.4 Traitements non médicamenteux

Il faut citer le recours possible à la septostomie atriale, qui permet dans certains cas d'améliorer transitoirement l'état hémodynamique des patients, ainsi que la possibilité de réaliser une greffe pulmonaire ou cardio-pulmonaire [56]. Environ 5% de ces greffes sont réalisées dans le monde pour HTAP. Les survies à 1, 3, 5, et 10 ans de ces patients sont respectivement de 66%, 57%, 47% et 27% [57].

II.5 Synthèse

Ainsi, les HTAP du groupe 1 restent des affections sévères avec une morbidité et une mortalité importante. Il existe de nombreux traitements spécifiques de l'HTAP (la prostacycline, les antagonistes des récepteurs de l'endothéline-1 et les inhibiteurs de phosphodiesterase de type 5). Cependant, ceux-ci présentent de nombreux effets secondaires, ils sont contraignants, coûteux et souvent d'une efficacité insuffisante. Actuellement il n'existe pas de traitement curatif de l'HTAP et la survie de cette maladie reste insuffisante en

2010 (60% à 3ans). De nombreuses molécules sont en cours d'évaluation afin de développer de nouveaux traitements ciblés de manière plus précise sur les mécanismes pathogéniques de cette maladie. La metformine est une de ces molécules sur laquelle on peut fonder quelques espoirs.

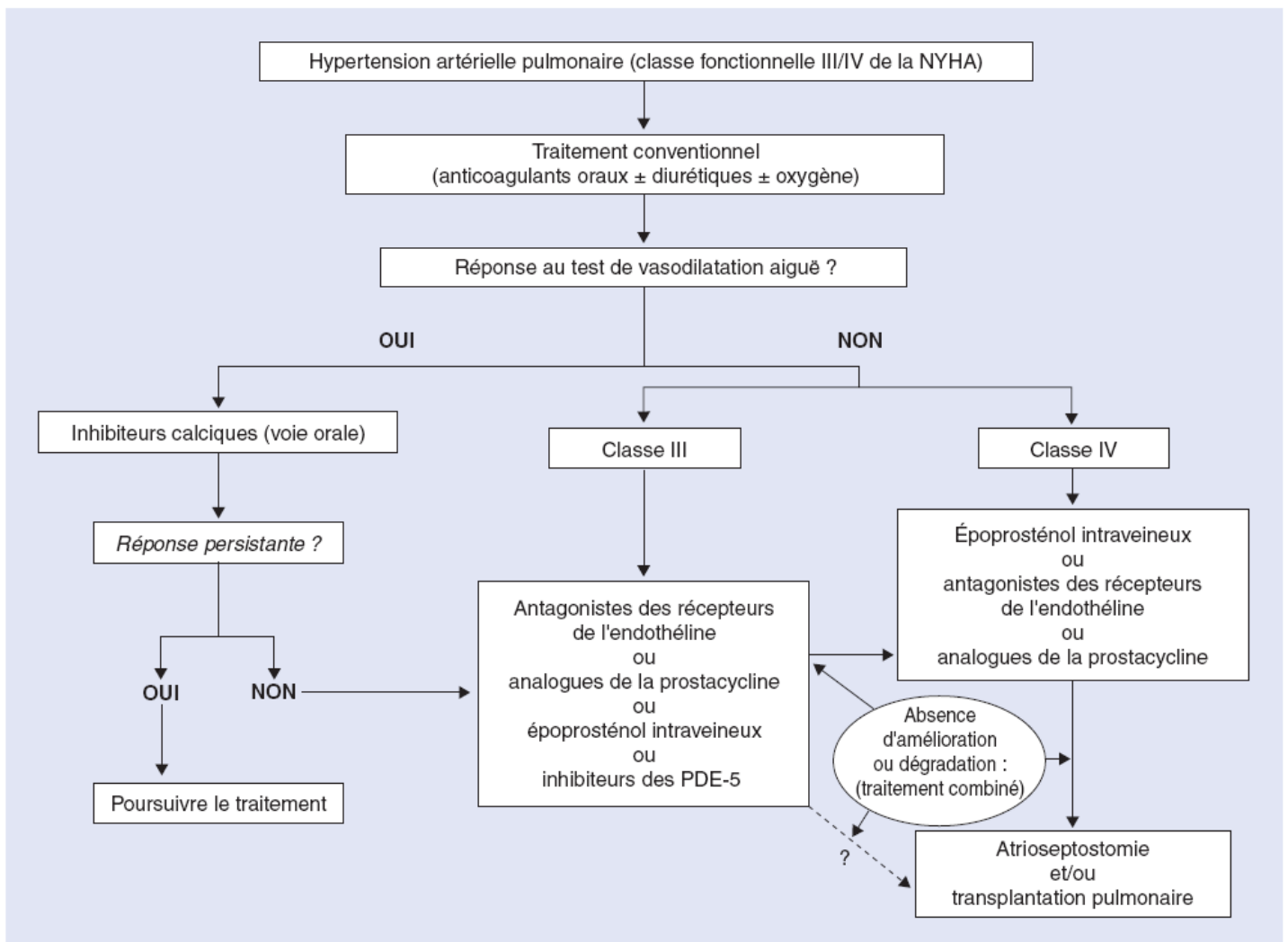


Figure n°5 : Algorithme de prise en charge de l'HTAP

D'après D. Montani, Hypertension artérielle pulmonaire. Revue des maladies respiratoires 2005; 22: 651-66

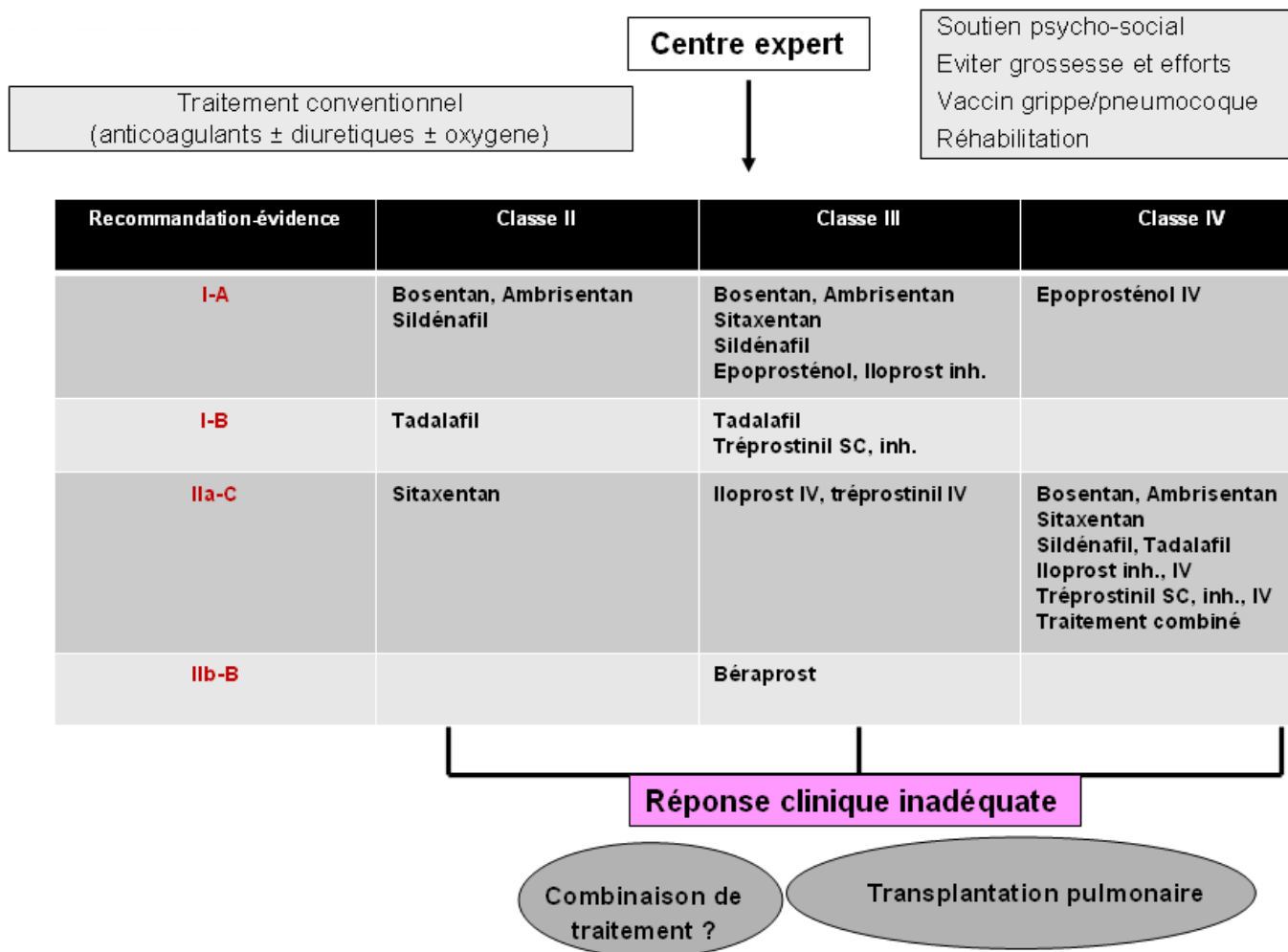


Figure n°6 : Algorithme du traitement de l'HTAP selon les recommandations de l'ERS 2009 (Galié)

DEUXIEME PARTIE :

**IDENTIFICATION DE NOUVELLES STRATEGIES
THERAPEUTIQUES**

I- Actualités et perspectives sur les cibles connues

I.1. La prostacycline et ses analogues

Le tréprostinil inhalé est actuellement étudié dans l'essai intitulé « TRéprostinil Sodium Inhalation Used in the Management of pulmonary Arterial Hypertension » (TRIUMPH-1). Les résultats de cette étude de phase III, de 12 semaines, multicentrique, randomisée, contrôlée contre placebo, réalisée en double aveugle, incluant 235 patients en classe fonctionnelle III ou IV de la NYHA ont été récemment publiés [27, 58]. Le tréprostinil (45 µg, 4 fois par jour) ou le placebo était inhalé. Après 12 semaines de traitement, on observait une amélioration de 20 m du T6M par rapport au placebo. Dans cette étude, le tréprostinil était en « add-on » thérapie d'un traitement spécifique de l'HTAP.

La forme orale du tréprostinil est actuellement en cours de développement. Ainsi, plusieurs études de phase I évaluent la tolérance de ce traitement et ses interactions avec d'autres médicaments. Une étude de phase III, FREEDOM-EXT (NCT01027949), est en cours dans l'hypertension artérielle pulmonaire.

Une forme orale de béraprost à libération prolongée (la molécule TRK-100STP), est en cours de développement. Dans l'étude de Kunieda et al. [59] incluant 46 patients atteints d'HTAP (idiopathique ou liée à une connectivite), en classe fonctionnelle I à III de la NYHA, traités par une dose initiale de 120 µg de TRK-100STP (60 µg matin et soir) augmentée progressivement (par palier de 120 µg par semaine) à 360 µg (180 µg matin et soir) en fonction de la tolérance pendant 12 semaines, le T6M était significativement amélioré (33.4 m). Il était également observé une amélioration des paramètres hémodynamiques.

Le NS-304 (ou Selexipag) est un agoniste du récepteur de la prostaglandine I₂, c'est une pro-drogue, qui a une faible affinité pour le récepteur natif de la prostaglandine, mais il est métabolisé au niveau hépatique en MRE-269, qui lie sélectivement le récepteur de la prostacycline avec une haute affinité. Les études précliniques conduites chez le rat, le chien, et le singe montrent une grande biodisponibilité du composé MRE-269 par voie orale (rat 102 % ; chien 80%) et une longue demi-vie (rat 3,6 h ; chien 6,2 h ; singe 5,6 h) [60]. MRE-269 a une affinité 130 fois supérieure pour le récepteur de la prostaglandine que pour les autres récepteurs des prostanoïdes humains [61]. Une étude de biodisponibilité avec une dose

de 100 µg a été réalisée chez 5 volontaires sains, le composé NS-304 était métabolisé en MRE-269, sa demi-vie plasmatique était de 7,9 h, le seul effet secondaire observé était des maux de tête [61]. Une étude comparative avec le béraprost conduite chez le rat, le chien et le singe montrait une sécurité supérieure du NS-304 ainsi qu'une plus longue demi-vie [61]. Une étude préclinique montrait une efficacité du NS-304 dans l'HTAP induite par la monocrotaline chez le rat [62]. Cette molécule présenterait des propriétés vasodilatatrices importantes, réduirait l'hypertrophie de la paroi vasculaire artérielle pulmonaire, diminuerait la pression systolique du ventricule droit et améliorerait la survie. Les résultats d'une étude de phase II (Study of ACT-293987 (NS-304) in Pulmonary Arterial Hypertension (PAH), NCT00993408) dans l'HTAP sont en attente.

I.2 Les anti-endothéline-1

Le macitentan (ACT-064992) est un inhibiteur lipophile des récepteurs ETA et ETB de l'endothéline-1. In vivo, le macitentan est métabolisé en ACT-132577, métabolite actif qui antagonise spécifiquement la liaison de l'endothéline-1 à ses récepteurs membranaires ETA et ETB. Chez les rats atteints d'HTAP, le macitentan prévient la majoration de l'hypertension artérielle pulmonaire, l'hypertrophie ventriculaire droite et augmente la survie [63].

Le darusentan ou LU-135252, est un inhibiteur sélectif des récepteurs ETA de l'ET-1. La forme inhalée de ce composé induit une vasodilatation pulmonaire avec une bonne tolérance hémodynamique dans les modèles d'HTAP chez le porcelet [64].

Le sulfisoxazole est un antibiotique de la classe des sulfamides qui antagonise les récepteurs ETA de l'ET-1 et améliore la survie et les paramètres hémodynamiques des rats atteints d'HTAP à la monocrotaline [65].

I.3 Inhibiteurs de la phosphodiesterase de type 5

Un troisième agent de cette classe, le vardénafil, indiqué comme le sildénafil et le tadalafil dans les troubles de l'érection masculine, n'a pas encore été approuvé dans le traitement de l'HTAP. Il est en cours de développement dans cette indication. Ainsi une étude [66] préliminaire, multicentrique, ouverte, incluant 45 patients atteints d'HTAP en classe fonctionnelle II à IV, retrouvait une amélioration significative du T6M et des paramètres

hémodynamiques après un an de traitement par vardénafil. Des études complémentaires, randomisées et contrôlées par placebo sont nécessaires afin de préciser l'efficacité et la sécurité d'utilisation de ce traitement à long terme dans l'HTAP.

II- Autres cibles thérapeutiques

Les traitements actuellement disponibles permettent de freiner voire de bloquer l'évolution de la maladie, mais ne sont pas curatifs. Ainsi, la survie à 5 ans de l'HTAP est d'environ 50 % avec les traitements actuellement disponibles [6, 7]. L'HTAP reste une maladie grave qui ne se guérit pas et des progrès thérapeutiques sont nécessaires, ciblant plus précisément les mécanismes moléculaires complexes qui son en jeu dans cette maladie.

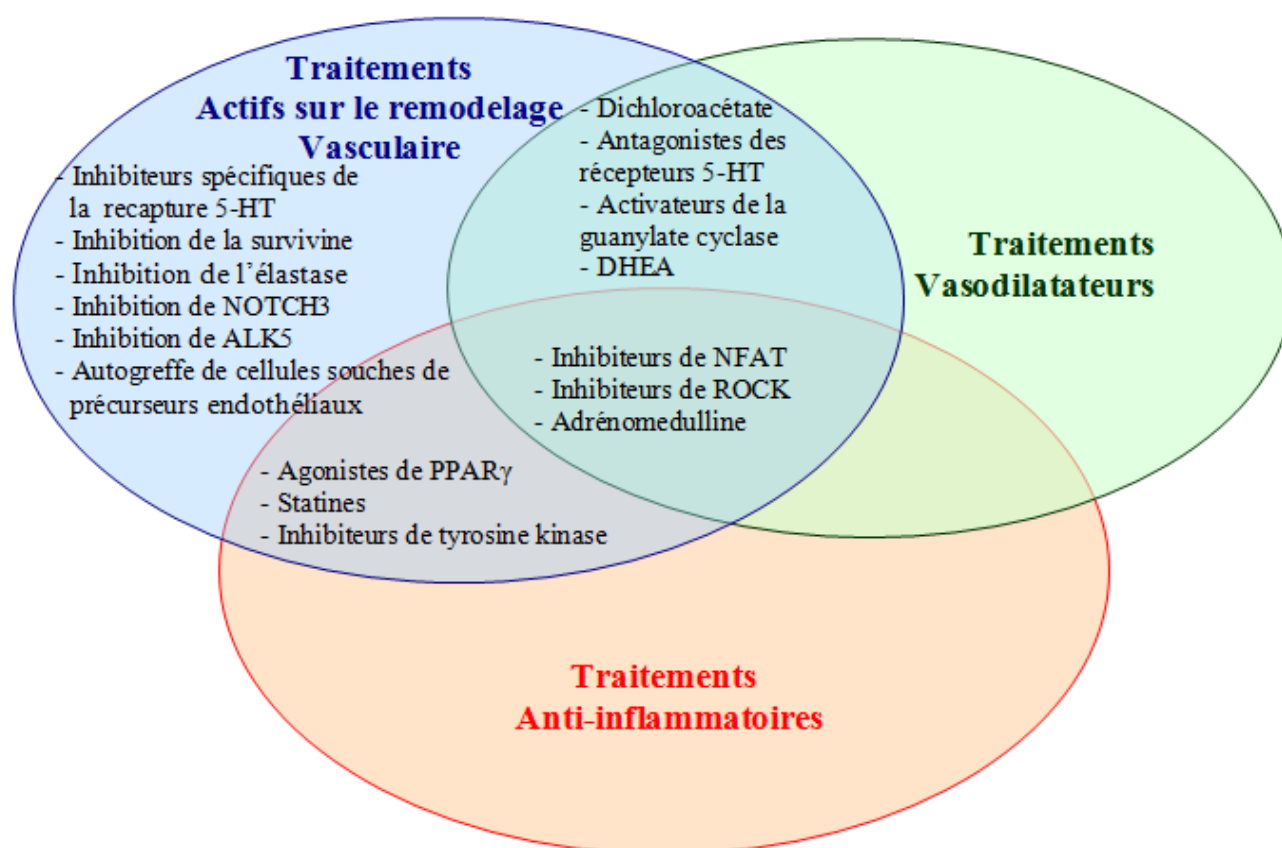


Figure n°7 : Représentation schématique des nouvelles cibles thérapeutiques dans l'HTAP en fonction de leur action sur le remodelage vasculaire et leurs effets vasodilatateurs et anti-inflammatoires.

Adapté d'après Dewachter et al. New therapies for pulmonary arterial hypertension: an update on current bench to bedside translation. Expert Opin Investig Drugs. 2010 Apr;19(4):469-88.

5-HT, sérotonine; ALK5, activin receptor-like kinase-5; DHEA, déhydroépiandrostérone; NFAT, nuclear factor of activated T-cells; ROCK, Rho-kinase.

II.1 La voie du NO et du GMPc (guanosine monophosphate cyclique)

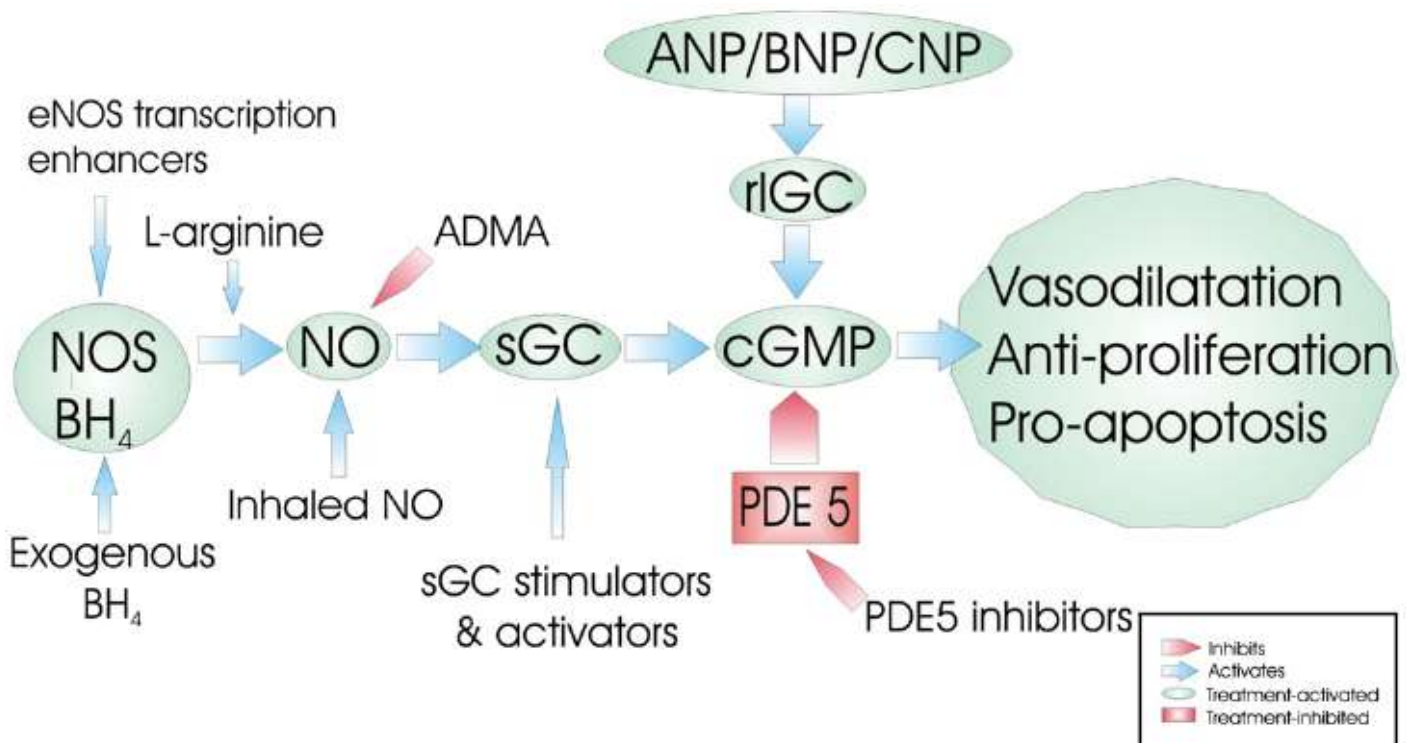


Figure n°8: Représentation schématique des cibles thérapeutiques de la voie du GMPc :

D'après Rhodes, C.J., et al., Therapeutic targets in pulmonary arterial hypertension. Pharmacol Ther, 2009. 121(1): p. 69-88.

NOS, Nitric Oxide Synthase; BH₄, tetrahydrobiopterin; ADMA, asymmetric dimethyl arginine; sGC, soluble guanylyl cyclase; rIGC, receptor-linked guanylyl cyclase; ANP/BNP/CNP, atrial or brain or c-type natriuretic peptides; PDE 5, phosphodiesterase type 5.

II.1.1 Les phosphodiesterases (PDE)

Les isoformes 1 à 9 de la phosphodiesterase permettent d'activer la voie du GMPc.

La PDE-1 est stimulée dans les vaisseaux artériels pulmonaires chez les patients atteints d'HTAP idiopathique et cette observation suggère que la PDE-1 pourrait être une possible cible thérapeutique dans l'HTAP [67]. La molécule 8MM-IBMX (8-méthoxyméthyl-isobutyl-1-méthylxanthine) est un inhibiteur spécifique de la PDE de type 1. Schermuly et al. [67] ont

montré que la perfusion de 8MM-IBMX dans l'HTAP à la monocrotaline chez le rat et en hypoxie chronique chez la souris réduisait les résistances vasculaires pulmonaires et l'hypertrophie ventriculaire droite.

La pumafentrine est un inhibiteur sélectif de la phosphodiesterase de type 3 et 4. Elle a été étudiée dans l'HTAP à la monocrotaline chez le rat [68]. Une réversibilité partielle de l'HTAP, une amélioration de l'index cardiaque, de l'hypertrophie ventriculaire droite et du remodelage vasculaire pulmonaire étaient observés.

Le roflumilast (3-cyclopropylmethoxy-4-difluoromethoxy-*N*-benzamide) est un inhibiteur de la phosphodiesterase de type 4, enzyme qui participe à l'hydrolyse de l'AMP cyclique dans les cellules musculaires lisses pulmonaires et les cellules immunitaires. L'accumulation d'AMPc favorise la contraction musculaire et la prolifération des CML. Le roflumilast est surtout étudié pour ses propriétés anti-inflammatoires. Dans une étude française, récente, le traitement par le roflumilast de l'HTAP hypoxique ou induite par la monocrotaline chez le rat permettait une atténuation significative du remodelage vasculaire et des paramètres hémodynamiques [69].

II.1.2 Le riociguat, activateur de la guanylate cyclase

Plusieurs activateurs de la guanylate cyclase soluble (sGC) sont actuellement en cours de développement [70, 71]. Ces molécules permettent d'augmenter l'expression de GMPc, de favoriser la vasodilatation, l'inhibition de la prolifération cellulaire et l'apoptose.

Ainsi, le riociguat est la première molécule de cette classe à avoir un développement clinique. Un essai de phase II, conduit en Allemagne, de 12 semaines, publié récemment, a étudié le riociguat (BAY 63-2521) chez des patients atteints d'HTAP primitive et thromboembolique en classe fonctionnelle II et III [72]. Il était observé une amélioration significative du T6M dans les deux groupes, de la dyspnée et des données hémodynamiques pour 56 % des patients. Les effets secondaires les plus fréquents étaient la dyspepsie, les céphalées et l'hypotension. Une étude de phase III (NCT00810693) est en cours dans l'HTAP.

II.1.3 La tétrahydrobioptérine et NO synthase endothéliale

La tétrahydrobioptérine (BH4) est un cofacteur indispensable de la NO synthase (NOS), essentiel à la dimérisation de l'enzyme et à la synthèse de NO. Augmenter le niveau d'expression et l'activité de BH4 permettrait d'accroître la synthèse de NO et de GMPC.

La synthèse de BH4 est catalysée par l'enzyme GTP-cyclohydrolase 1 (GTP-CH1), sa surexpression au sein de l'endothélium vasculaire protège les souris contre le développement d'une HTAP [73].

Ces résultats sont confirmés par une étude récente [74], qui a montré que la perfusion de BH4 améliorait l'HTAP des rats hypoxiques par la synthèse de NO et la formation de peroxyde d'hydrogène et peroxynitrite, autres molécules vasodilatatrices. Une étude de phase I initiée en 2007 aux Etats-Unis, dont les résultats sont en cours d'analyse, étudie la tolérance et l'efficacité du BH4 oral (6R-BH4) dans l'HTAP.

II.2 Les inhibiteurs de tyrosine kinase

Le platelet-derived growth factor (PDGF) agit via un récepteur de type tyrosine kinase. Il est impliqué dans le recrutement des cellules musculaires lisses, la prolifération et la dysfonction des cellules endothéliales.

L'imatinib mesylate (Glivec®) est un inhibiteur spécifique des récepteurs kinases du PDGF dont cKIT et Abl kinases. Il a pu montrer une efficacité initialement dans quelques cas HTAP associées aux leucémies myéloïdes chroniques et sur des modèles expérimentaux d'HTAP. Plusieurs études de phase II ont suggéré son efficacité [75]. Ghofrani a publié récemment une étude pilote de phase II, randomisée, contrôlée contre placebo, incluant un total de 59 patients (28 traité par imatinib et 31 sous placebo) [76]. Il n'était pas retrouvé de différence significative pour la distance parcourue au T6M mais il était observé une diminution significative des résistances vasculaires pulmonaires et une augmentation de la fonction cardiaque. Deux études de phase III dirigées par Novartis sont en cours. Ce traitement semblerait efficace dans les HTAP réfractaires aux traitements spécifiques. Cependant l'imatinib présente une toxicité cardiaque avec un risque d'insuffisance cardiaque lorsqu'il est prescrit au long cours.

Le sorafenib (Nexavar®) cible les récepteurs du VEGF, du PDGF et de la Raf-1 kinase. Il prévient le remodelage pulmonaire, améliore la fonction cardiaque et traite l'HTAP à la monocrotaline chez le rat. Il aurait également une action anti-hypertrophique myocardique par l'inhibition de la voie de la Raf-1 kinase [77]. Une étude de phase I est en cours chez l'homme pour évaluer la sécurité et la tolérance de cette molécule.

Deux autres molécules de la famille des inhibiteurs de tyrosines kinases, le sunitinib (Sutent®) et le dasatinib (Sprycel®) sont en cours d'évaluation dans les modèles d'HTAP chez l'animal.

1.2.3 Les statines

Les statines inhibent l'hydroxyméthylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) réductase, bloquant ainsi la synthèse du cholestérol. Cette molécule est bien établie dans le traitement de l'hypercholestérolémie, elle est reconnue pour ses effets pléiotropes. La formation de géranylgeranylpyrophosphate, nécessaire pour la translocation et l'activation de RhoA à la membrane plasmique, est prévenue par les statines grâce à leur effet d'inhibition de la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl co-enzyme A réductase. L'effet bénéfique des statines dans l'athérosclérose ou la resténose pourrait être médié, au moins en partie, par cet effet inhibiteur sur la voie RhoA/Rho kinase. Par ailleurs, les statines augmentent l'expression de la NO synthase endothéliale (eNOS) et elles augmentent l'expression de son cofacteur BH4, la rendant ainsi plus active.

Dans les modèles animaux d'HTAP, la simvastatine diminuait les pressions artérielles pulmonaires et induisait une régression de l'hypertrophie du ventricule droit [78]. Une étude récente randomisée, contrôlée contre placebo a étudié l'efficacité de la simvastatine à 80 mg pendant 6 et 12 mois [79]. Il était observé une diminution de l'hypertrophie ventriculaire droite dans le groupe traité et une diminution du taux de N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) à 6 mois mais cet effet n'était pas maintenu à 12 mois pour plus de la moitié des patients. Il n'était pas observé de différence significative du T6M et de l'index cardiaque.

L'atorvastatine est efficace dans l'HTAP induite par la monocrotaline chez le rat, ces effets seraient associés à une diminution de l'expression du transporteur de la sérotonine (5-HTT) [80].

Plusieurs études portant sur des modèles animaux d'hypertension pulmonaire retrouvent en fait des résultats controversés de l'efficacité des statines [81]. De plus, toutes les statines ne sont probablement pas égales dans leurs propriétés de protection vasculaire [82]. Deux études cliniques, l'une portant sur la simvastatine (phase I) et l'autre sur l'atorvastatine (phase II) sont en cours en Chine.

II.4 Les inhibiteurs de Rho kinase

Différentes études ont montré que Rho-kinase est activement impliquée dans la physiopathologie de l'HTAP [83, 84]. L'activation de RhoA-Rho kinase a lieu au niveau des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses vasculaires (CML), conduisant à des modifications structurelles du cytosquelette, à l'altération des propriétés d'adhésion et d'hypercontractilité cellulaire. L'inhibition de Rho kinase exerce une vasodilatation immédiate et prolongée des artères pulmonaires et en réduit le remodelage par l'inhibition de la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires et des fibroblastes.

La molécule Y-27632 est un inhibiteur spécifique de Rho kinase qui inhibe la contraction des CML vasculaires par l'inhibition de la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine. L'injection d'Y-27632 diminue l'hypertension artérielle pulmonaire et systémique, améliore la fonction cardiaque, prévient et traite l'HTAP hypoxique chez le rat [85].

Le fasudil est un inhibiteur spécifique de Rho kinase. Le Fasudil per os ou en aérosol a montré son efficacité dans le modèle de l'HTAP à la monocrotaline chez le rat par un effet d'inhibition des CML d'artères pulmonaires, d'augmentation de l'apoptose et d'amélioration de la relaxation des cellules endothéliales [86].

Dans une étude récente, le fasudil était capable de traiter l'HTAP à la monocrotaline chez le rat par la réduction du remodelage vasculaire, sans altérer la fonction du ventricule droit [87]. Le fasudil était plus efficace que le sildénafil ou le bosentan. De plus, l'association thérapeutique bosentan / fasudil ou sildénafil / fasudil n'était pas supérieure au fasudil seul.

Le fasudil intraveineux chez l'homme, permettrait une réduction significative de la pression du ventricule droit et de la PAPm mais s'accompagne souvent d'une hypotension systémique [88]. L'administration par voie inhalée [89] semble être mieux tolérée, une étude chez l'homme est en cours au Japon [90].

McNamara et al. ont montré une normalisation spectaculaire de la pression ventriculaire droite dans le modèle d'hypertension artérielle pulmonaire du nouveau-né chez le rat induite par la monocrotaline ou la bléomycine traitée par le Y-27632 et le fasudil [91].

La molécule SB-772077-B [92] est un nouvel aminofurazan qui inhibe Rho-kinase. L'administration intraveineuse de SB-772077-B dans le modèle d'HTAP à la monocrotaline du rat permettrait de diminuer les pressions artérielles pulmonaires et d'améliorer la fonction cardiaque. Son efficacité serait supérieure à la molécule Y-27632 et au fasudil, cependant elle serait moins spécifique de la vascularisation pulmonaire et diminuerait également la pression artérielle systémique de façon significative.

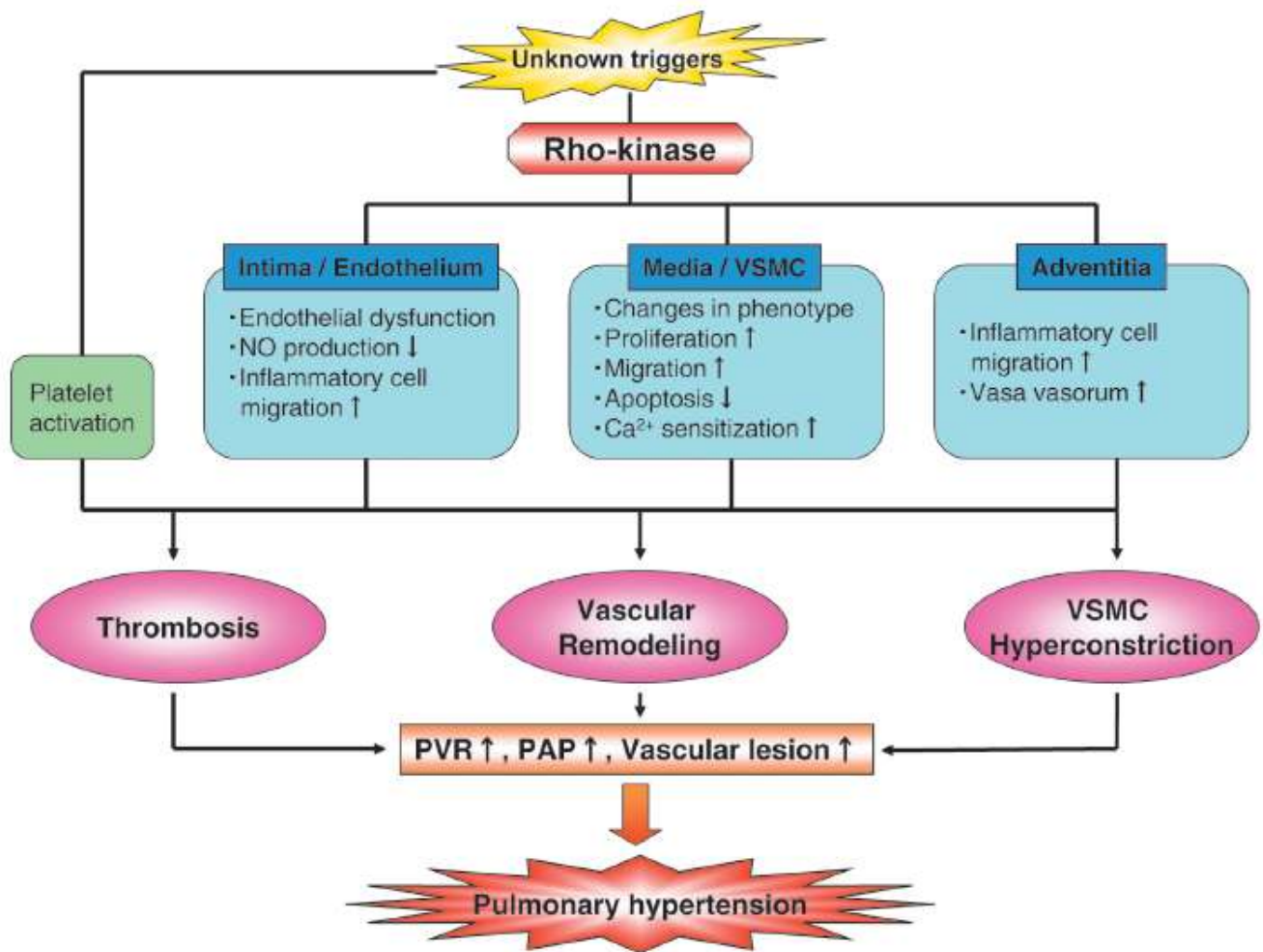


Figure n°9 : Rôle de Rho-kinase dans la physiopathologie de l'HTAP

D'après Fukumoto et al. Recent progress in the treatment of pulmonary arterial hypertension: expectation for rho-kinase inhibitors. Tohoku J Exp Med, 2007. 211(4): p. 309-20.

Rho-kinase intervient dans le remodelage vasculaire, la thrombose vasculaire et l'hypercontractilité des fibres musculaires lisses vasculaires.

NO : monoxyde d'azote ; VSCM : cellules musculaires lisses vasculaires ; PVR : résistances vasculaires pulmonaires ; PAP : pression artérielle pulmonaire.

II.5 La déhydroépiandrostérone (DHEA)

La déhydroépiandrostérone (DHEA) est un stéroïde dérivé du cholestérol, précurseur d'androgènes et d'œstrogènes, synthétisé par les surrénales.

Dans la physiopathologie de l'HTAP, l'expression des canaux potassiques voltage dépendant est diminuée. Leur sous expression favorise la dépolarisation membranaire et l'augmentation du calcium intracellulaire dans les CML des artères pulmonaires et donc la vasoconstriction. La DHEA agit au niveau des canaux potassiques BK_{Ca} et K_v par modification du potentiel oxydatif cellulaire (diminution du ratio $NADH/NAD$), permettant une hyperpolarisation membranaire ce qui limite l'activation des canaux calciques et la pénétration de calcium intracellulaire dans les CML des artères pulmonaires [93]. La DHEA bloque la prolifération cellulaire [94] et induit la mort cellulaire, ces effets seraient associés à une diminution significative de l'activité d'Akt kinase liée à l'activation de GSK3, qui diminue la synthèse de plusieurs facteurs de transcription comme NFAT, CREB et HIF-1 connus pour stimuler la survie cellulaire [95, 96] (cf figure n°10). La DHEA active la guanylate cyclase soluble (sGC) augmentant la synthèse de NO et la vasodilatation des artères pulmonaires dans le modèle d'HTAP à la monocrotaline chez le rat [97]. Elle inhiberait également la voie de RhoA/ROCK agissant ainsi sur la vasoconstriction et le remodelage vasculaire [98]. La DHEA pourrait également prévenir la dysfonction endothéliale dans l'HTAP en activant directement eNOS mais cette action reste controversée [97].

In vivo, les études ont montré que la DHEA prévient et traite l'HTAP à la monocrotaline [97] et l'HTAP hypoxique [99] chez le rat. Elle prévient également le remodelage vasculaire et l'hypertrophie du ventricule droit. Son effet est sélectif sur la circulation pulmonaire et n'entraîne pas d'hypotension artérielle systémique. Chez l'homme, un protocole thérapeutique français de phase III est actuellement en cours dans l'HTAP associée aux BPCO (DHEA-HTAP, NCT00581087).

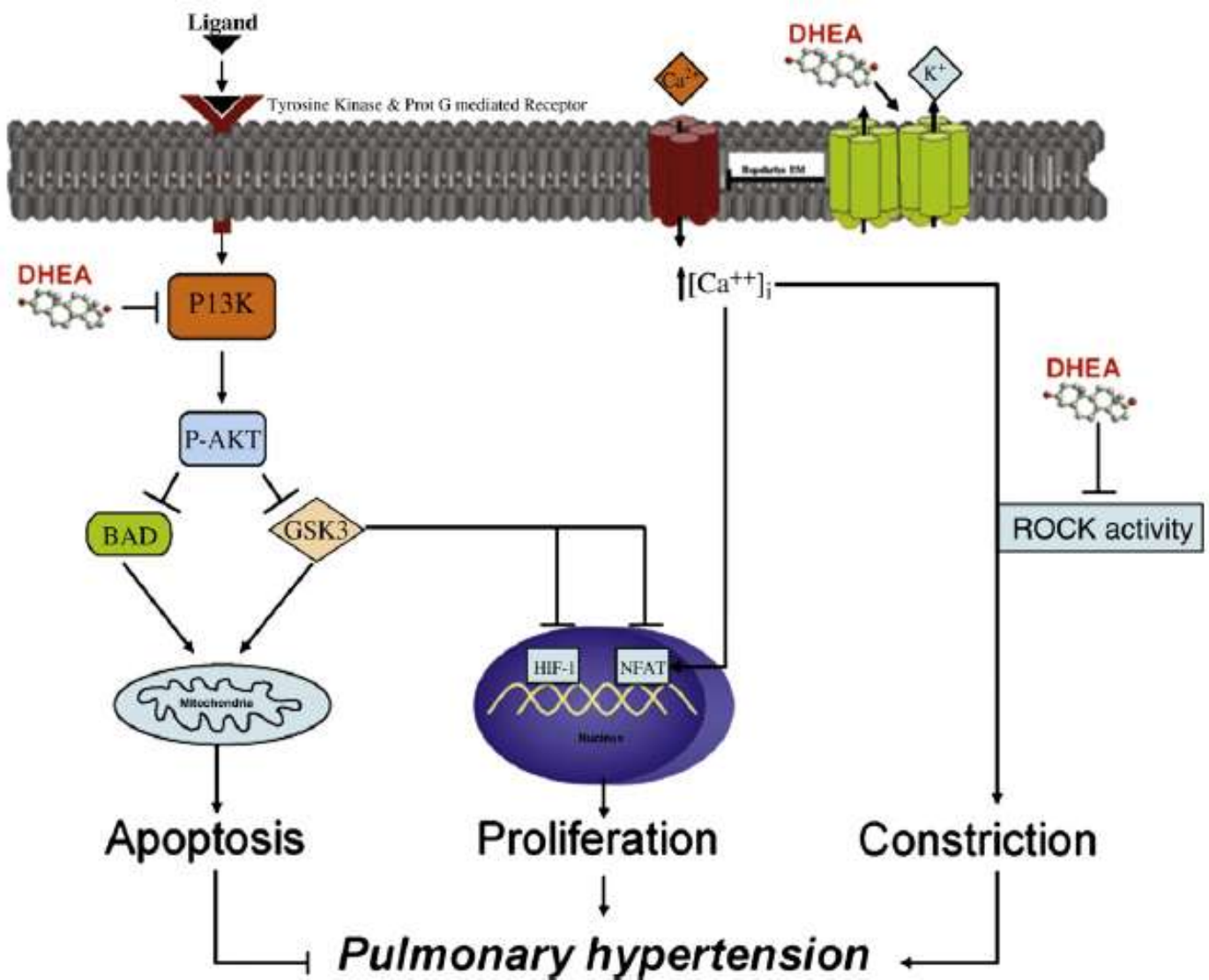


Figure n°10 : Effets de la DHEA sur les CML des artères pulmonaires dans l'HTAP

D'après Dumas de la Roque et al. Dehydroepiandrosterone: A new treatment for vascular remodeling diseases including pulmonary arterial hypertension. Pharmacol Ther, 2010. 126(2): p. 186-99.

La DHEA par l'inhibition de P13K permet :

1. De bloquer l'activation NFAT et HIF-1 et donc d'avoir un effet antiprolifératif
2. De Favoriser l'apoptose dépendante des mitochondries par l'activation de BAD et GSK3 (libération de facteurs pro-apoptotiques comme le cytochrome C)
3. L'ouverture des canaux potassiques, l'hyperpolarisation des CML des artères pulmonaires, la diminution de la concentration du calcium intracellulaire et une diminution de la vasoconstriction

La DHEA a également un effet inhibiteur sur ROCK, potentialisant ses effets vasodilatateurs.

II.6 Le dichloroacétate, inhibiteur de la pyruvate déshydrogénase kinase

Le dichloroacétate inhibe la pyruvate déshydrogénase kinase mitochondriale (PDK) qui inhibe la pyruvate déshydrogénase qui régule l'entrée de pyruvate dans la mitochondrie et donc l'oxydation du glucose, favorisant ainsi la conversion de pyruvate en acétylcoA. Il permet l'augmentation du taux de NADH mitochondrial et le transfert d'électrons pour restaurer la production de ROS (*Reactive oxygen species*). Il permet de normaliser le potentiel membranaire de la mitochondrie, d'éviter l'activation de HIF-1 α , d'inhiber NFAT (*nuclear factor of activated T-cells*), d'augmenter l'expression des canaux K_{v1.5} conduisant ainsi à l'inhibition des canaux calciques voltages dépendant et à la diminution des concentrations de calcium intracellulaire [100, 101]. Ceci s'accompagne également d'un effet pro-apoptotique et d'inhibition de la prolifération des CML [102].

In vivo, le dichloroacétate a montré un effet thérapeutique dans les modèles d'HTAP à la monocrotaline et induite par l'hypoxie chronique chez le rat. Ainsi, il était observé une diminution de la pression et de l'hypertrophie du ventricule droit, une diminution du remodelage vasculaire et une survie significativement prolongée des animaux [102, 103].

Le dichloroacétate agirait de manière spécifique sur les CML d'artères pulmonaires ayant une dysfonction mitochondriale, il diminuerait l'hypertrophie du ventricule droit par restauration de la polarisation du ventricule droit en augmentant l'oxydation du glucose [104] et aurait également un effet inotrope positif [105].

Un essai clinique de phase I est en cours chez l'homme dans l'HTAP familiale, idiopathique ou associée à la prise d'anorexigènes (NCT01083524).

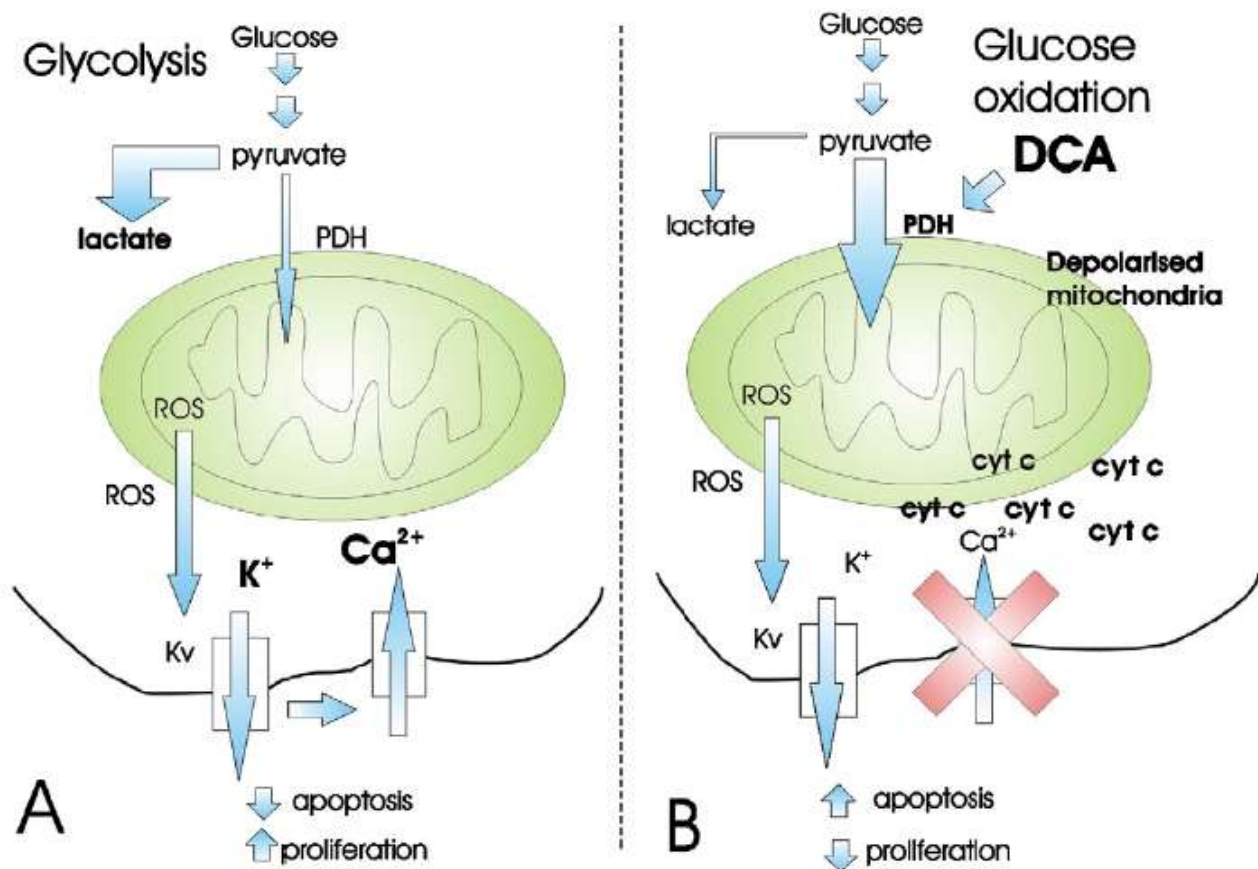


Figure n°11 : Schéma de l'action du dichloroacétate au niveau mitochondrial

D'après Rhodes, C.J., et al., Therapeutic targets in pulmonary arterial hypertension. Pharmacol Ther, 2009. 121(1): p. 69-88.

A. Glycolyse mitochondriale des CML des artères pulmonaires dans l'HTAP.

B. Effet du dichloroacétate (DCA), qui active la pyruvate déshydrogénase (PDH), conduisant à la libération mitochondriale de cytochrome c (Cyt c) et permettant une diminution du calcium intracellulaire. Ces changements diminuent la prolifération cellulaire et induisent l'apoptose cellulaire.

II.7 Inhibition de la voie de la sérotonine

Plusieurs observations suggèrent un rôle de la sérotonine (5-hydroxytryptamine, 5-HT) dans la physiopathologie de l'HTAP mais son mécanisme exact demeure difficile à définir. Le rôle de la sérotonine dans la physiopathologie dans l'HTAP a été initialement évoqué par l'association de l'HTAP à la prise d'anorexigènes dont l'aminorex. Les patients qui prenaient un anorexigène pendant plus de 3 mois avaient trente fois plus de risque de développer une HTAP que la population générale [106]. L'aminorex et la fenfluramine augmentent la libération de sérotonine plaquettaire et inhibent son assimilation cellulaire.

La concentration plasmatique de la sérotonine est normalement peu élevée, la 5-HT est stockée dans les plaquettes via le transporteur de sérotonine (5-HTT) ou est métabolisée au niveau du foie [107]. Les patients atteints d'HTAP idiopathique ont des taux de sérotonine circulant et de son transporteur plus élevés que la population générale [108].

Au niveau pulmonaire, la 5-HT est un puissant vasoconstricteur, son effet est médié principalement par l'activation des récepteurs 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D} ou 5-HT_{2A}. Elle exerce également une activité mitogène nécessitant son internalisation par son transporteur membranaire (5-HTT) favorisant l'hyperplasie des CML d'AP [109]. Les CML d'AP expriment les récepteurs 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, et le 5-HTT [110].

De nombreux médicaments psychotropes inhibant la voie de la 5-HT sont disponibles, dont les inhibiteurs spécifiques de la recapture de la 5-HT (comme la fluoxétine, la fluvoxamine, la paroxétine, le citalopram, l'escitalopram et la sertraline) et les inhibiteurs des récepteurs de la 5-HT (miansérine, kétansérine).

Les souris déficientes en récepteurs 5-HT_{1B} ou 5-HT_{2B} placées en hypoxie chronique se caractérisent par une réduction du remodelage vasculaire des AP et l'absence d'hypertrophie du ventricule droit [111]. Chez l'homme, l'effet vasoconstricteur de la sérotonine serait principalement lié au récepteur 5-HT_{1B}, c'est pourquoi la kétansérine, inhibiteur spécifique du récepteur 5-HT_{2A} a un effet limité sur le remodelage vasculaire de l'HTAP [112].

Un nouvel antagoniste spécifique des récepteurs de 5-HT_{2B}, nommé PRX-08066 permet dans le modèle d'HTAP à la monocrotaline du rat : une amélioration significative de la fraction d'éjection du ventricule droit (VD), une diminution du remodelage vasculaire des AP, une diminution de l'hypertrophie du VD et une baisse des PAPm sans altération du débit cardiaque [113]. Une étude de phase II est en cours aux Etats-Unis pour évaluer l'efficacité

du PRX-08066 dans l'HTAP associée aux BPCO (Safety and Effectiveness of PRX-08066 in Patients With Pulmonary Hypertension and Chronic Obstructive Pulmonary Disease, NCT00345774).

L'inhibition du transporteur de la sérotonine (5-HTT), par lequel est médié l'effet mitogénique de la 5-HT sur les CML d'AP représente également un espoir dans la stratégie thérapeutique de l'HTAP. In vitro, l'hyperplasie des CML d'AP est inhibée de manière dose-dépendante par la fluoxétine et la paroxétine, inhibiteurs spécifiques du 5-HTT. Les souris déficientes en 5-HTT apparaissent protégées de l'HTAP hypoxique [114]. La prolifération induite par la 5-HT de CML d'AP provenant de patients avec HTAP idiopathique est inhibée de manière dose-dépendante par la fluoxétine et le citalopram mais pas par les inhibiteurs des récepteurs 5-HT_{2A} et 1B de la 5-HT [108]. Dans les modèles d'HTAP hypoxique chez la souris et d'HTAP à la monocrotaline chez le rat, l'administration de l'inhibiteur du 5-HTT (fluoxétine), a montré un effet préventif de l'HTAP hypoxique et curatif de l'HTAP à la monocrotaline avec normalisation complète de la PAP et une réversibilité totale du remodelage hypertrophique des vaisseaux pulmonaires [115, 116]. Dans ces expériences, les antagonistes des récepteurs à la 5-HT dirigés contre les récepteurs 5-HT_{2A}, 5-HT_{1B} et 5-HT_{2B} sont sans effets. Une étude rétrospective américaine, évaluant la survie d'une cohorte de 84 patients avec HTAP idiopathique, montrait que le risque de décès était de moitié chez les sujets consommant des médicaments inhibant la recapture de sérotonine [117]. Ces arguments sont à l'origine d'une étude française, multicentrique, de phase III, actuellement en cours dans l'HTAP avec l'escitalopram (Serotonin Transporter Inhibitor Escitalopram in Pulmonary Hypertension, NCT00190333).

Le terguride, développé par Ergonex Pharma®, est un nouvel antagoniste puissant des récepteurs 5-HT_{2B} et 5-HT_{2A}. Il possède une activité antiproliférative, antifibrotique et permet ainsi d'agir sur le remodelage vasculaire observé dans l'HTAP. Il est utilisé au Japon dans l'hyperprolactinémie agissant comme un agoniste partiel de la dopamine sur l'hypophyse. Il améliore l'insulino-résistance chez le rat obèse hypertendu [118]. La Food and Drug Administration (FDA) américaine a accordé au terguride en mai 2008 le statut de médicament orphelin pour le traitement de l'HTAP. Le terguride est en cours d'évaluation dans l'HTAP en Europe, dans un essai pivot de phase II. Cependant actuellement aucun résultat n'est référencé dans la base « pubmed » pour son application dans cette indication.

II.8 L'adrénomédulline

L'adrénomédulline est un puissant peptide vasodilatateur, considéré comme un facteur de protection cardio-vasculaire qui permet une diminution de la pression artérielle systémique et inhibe la prolifération et la migration des CML vasculaires. Il agit sur les vaisseaux par des récepteurs (*calcitonin receptor like*) permettant d'activer des voies de transduction impliquant l'AMPc, la voie NO/GMPc, la voie PI3K/Akt [119]. Des taux élevés d'adrénomédulline sont corrélés avec la sévérité hémodynamique de l'HTAP [120].

Dans les modèles murins d'HTAP induite par la monocrotaline et l'hypoxie chronique, l'adrénomédulline diminue la PAPm, les lésions de remodelage vasculaire et le rapport de Fulton (rapport de la masse du VD sur celle du VG + septum), paramètre qui évalue le degré d'hypertrophie ventriculaire droite [121, 122].

Chez l'homme, l'adrénomédulline a montré une amélioration des paramètres hémodynamiques de 7 patients par voie IV continue à la dose de 0.05µg/kg/min [123]. Elle a également été étudiée en aigu chez 11 patients, traités par un aérosol d'adrénomédulline à 10 µg/kg, la PAPm était réduite de 13 % et les résistances vasculaires pulmonaires de 22 % [124].

De même, le transfert intra-trachéal du gène de l'adrénomédulline a permis de réduire la pression systolique ventriculaire droite chez des rats ayant une hypertension pulmonaire à la monocrotaline [125].

II.9 La restauration de la voie BMP/ BMPR

L'identification du gène BMPR-2 comme prédisposition génétique de l'HTAP a mis en lumière la voie de signalisation de la *Bone morphogenetic protein* (BMP) comme cible thérapeutique potentielle de l'HTAP [126]. BMP est un facteur de croissance impliqué dans la prolifération, la différenciation cellulaire et l'apoptose. La voie de signalisation BMP/ BMPR (*Bone morphogenetic protein receptor*) est altérée dans l'HTAP à la monocrotaline, l'expression de BMPR-2 et de BMP2 est diminuée dans l'HTAP hypoxique du rat. Chez l'homme, le niveau d'expression du récepteur BMPR-2 et du co-récepteur BMPR-1A sur l'endothélium des artères pulmonaires semble plus faible dans les formes sévères d'HTAP et en particulier chez les patients porteurs de la mutation du gène de la protéine BMPR-2. Le transfert adénoviral du gène de BMPR-2 dans l'endothélium pulmonaire a eu un effet sur la

PAP, l'hypertrophie du ventricule droit et les lésions de remodelage dans l'hypertension pulmonaire hypoxique chez le rat [127].

Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ ou PPAR γ est un des signaux d'aval de la voie BMP2/BMPR2, c'est un facteur de transcription nucléaire qui régule l'adipogenèse et le métabolisme du glucose. L'expression pulmonaire de PPAR γ et d'*apolipoprotein E* (apoE), dont la synthèse est induite par PPAR γ , sont diminuées au cours de l'HTAP. Des études récentes suggèrent que l'insulino-résistance associée à des bas niveaux de PPAR γ et d'apoE pourrait être un facteur de risque de développer une HTAP [128]. Ainsi les souris déficientes en apoE ou en PPAR γ développent une HTAP [128, 129]. L'HTAP développée chez les souris déficientes en apoE peut être traitée par un agoniste de PPAR γ [128].

La rosiglitazone, antidiabétique de la famille des thiazolidinediones, est un agoniste de PPAR γ . Elle a montré son efficacité dans le traitement de l'HTAP à la monocrotaline et en hypoxie chronique chez le rongeur [130, 131]. Les agonistes de PPAR γ inhiberaient la prolifération induite par le PDGF-BB des CML d'AP et permettrait de restaurer la voie BMP2/ BMPR-2. Ils induiraient également l'apoptose des cellules vasculaires prolifératives [132]. L'enthousiasme suscité par cette molécule dans le traitement de l'HTAP doit être tempéré par l'augmentation d'incidence des accidents cardio-vasculaires associée à l'utilisation de cette classe thérapeutique (rosiglitazone, pioglitazone) en pratique courante dans le diabète.

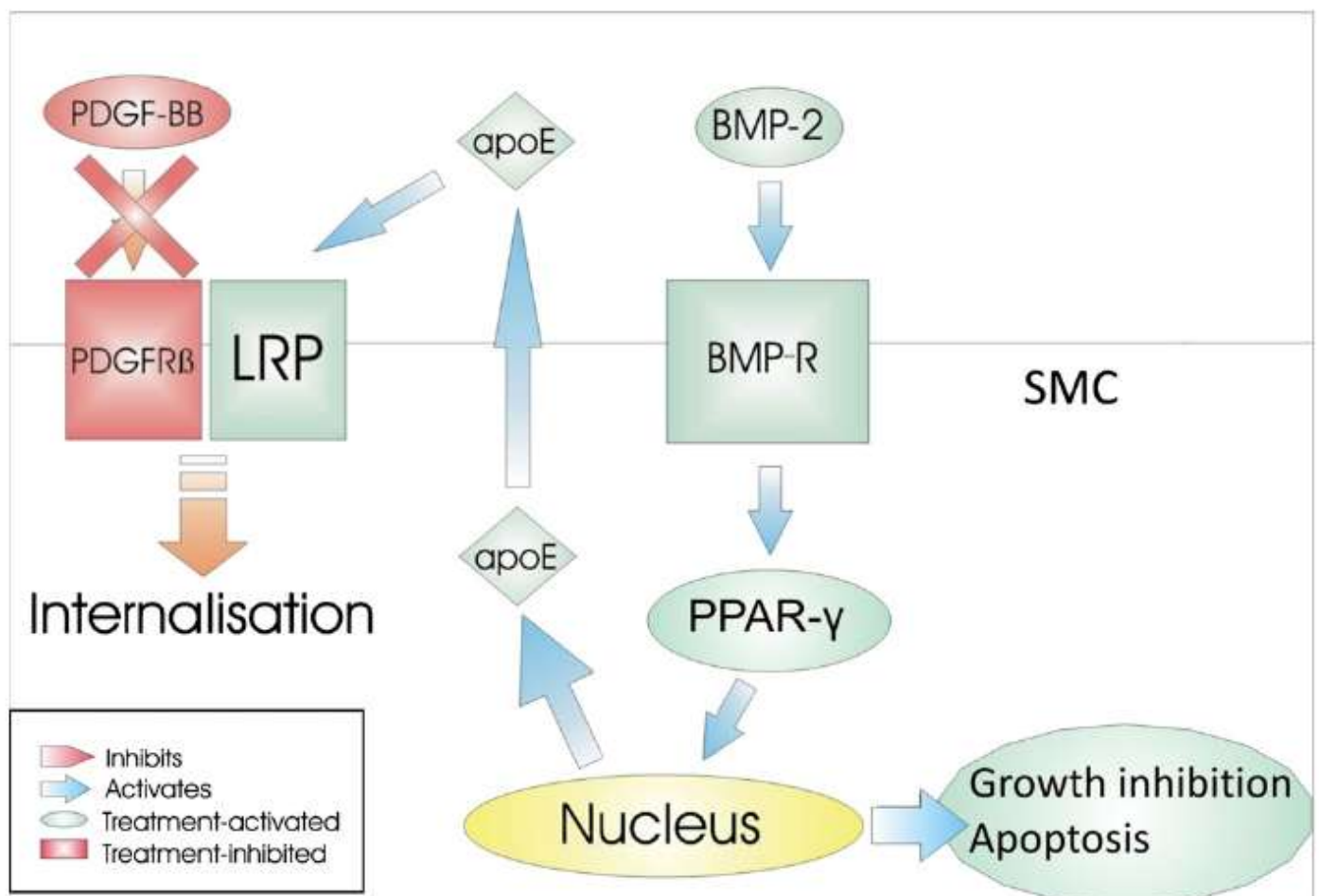


Figure n°12 : Représentation schématique de l'interaction BMP-2 / PPAR-γ

D'après Rhodes, C.J., et al., Therapeutic targets in pulmonary arterial hypertension. Pharmacol Ther, 2009. 121(1): p. 69-88.

BMP-2 se fixe sur son récepteur BMP-R, permettant la libération de PPAR-γ qui agit au niveau nucléaire pour synthétiser l'apoE qui se fixe sur LRP (LDL receptor-related protein), permettant une inhibition de la prolifération des CML et l'apoptose cellulaire via la voie du PDGF-BB.

II.10 Inhibition de NFAT

NFAT ou Nuclear factor of activated T-cells est un facteur de transcription qui régule le remodelage vasculaire, la synthèse de médiateurs de l'inflammation (comme le TNF α), l'activation des cellules T et B mais également le développement et l'hypertrophie myocardique. L'augmentation de calcium intracellulaire entraîne l'activation de la calcineurine qui déphosphoryle NFAT, puis sa relocalisation nucléaire où il va exercer sa fonction transcriptionnelle. Cette activation de NFAT contribue à la down-régulation des canaux K_{v1.5} et à la résistance à l'apoptose par diminution de l'expression de Bcl-2 [133].

L'augmentation de NFAT a été observée dans les modèles murins d'HTAP hypoxique [134], dans les CML d'AP en culture et dans les cellules circulantes de l'inflammation chez des patients atteints d'HTAP [133].

Expérimentalement, l'inhibition de l'activation de NFAT par le peptide VIVIT (peptide inhibant la liaison de la calcineurine à NFAT) ou la ciclosporine A, inhibiteur de la calcineurine, a montré un effet curateur sur l'HTAP induite par la monocrotaline chez le rat [133]. Ainsi, il était observé une baisse de la pression du ventricule droit, une augmentation du débit cardiaque, une baisse du remodelage des CML des AP et de l'hypertrophie du VD. Cependant, de nouveaux inhibiteurs de NFAT doivent être développés pour éviter la toxicité de la ciclosporine A (hypertension artérielle systémique, l'immunodéficience, néphrotoxicité).

II.11 Inhibition de ALK5

Des études récentes ont mis en lumière le rôle de la voie bone morphogenetic protein (BMP)/transforming growth factor (TGF)-beta dans la physiopathologie de l'HTAP familiale. L'expression des récepteurs BMP de type IA et II est diminuée dans les 2 modèles expérimentaux d'HTAP (hypoxique et monocrotaline) chez le rat mais de manière plus prononcée dans l'HTAP à la monocrotaline. De plus l'expression du TGF- β est plus importante dans ce dernier modèle. L'inhibition de l'activin receptor-like kinase-5 (ALK5), par la molécule IN-1233 prévient le développement et la progression de l'HTAP, l'hypertrophie ventriculaire droite et le remodelage vasculaire dans le modèle d'HTAP à la monocrotaline chez le rat [135].

II.12 Inhibition de l'élastase

L'élastase endogène peut induire une prolifération des CML d'AP par la libération de facteurs de croissance extracellulaires. Rabinovitch [136] a démontré que l'activité de la sérine élastase était associée à une progression de l'HTAP chez l'homme. Dans le modèle d'HTAP à la monocrotaline, il a également été observé une augmentation de l'activité de la sérine élastase [137]. Les inhibiteurs de l'élastase permettent de traiter et de prévenir l'HTAP à la monocrotaline [138, 139]. Il a été également montré que des souris transgéniques, surexprimant elafin, un inhibiteur de la sérine élastase, étaient protégées de l'HTAP hypoxique [140]. Cependant, l'inhibition de l'élastase comme stratégie thérapeutique de l'HTAP demeure controversée et nécessite des explorations complémentaires.

II.13 Inhibition de la survivine

La survivine est une protéine anti-apoptotique, qui jouerait un rôle clé dans le contrôle de l'équilibre prolifération-apoptose. La survivine n'est pas exprimée dans les cellules adultes normales, cependant elle est exprimée dans les CML d'AP de patients atteints d'HTAP et chez le rat exposé à la monocrotaline [141]. L'inhibition de cette protéine pourrait prévenir l'hyperplasie de la média. Chez le rat, le transfert adénoviral du gène d'un mutant dominant négatif de la survivine améliore l'évolution de l'hypertension pulmonaire à la monocrotaline avec un effet sur le remodelage vasculaire. L'inhibition de la survivine induit l'apoptose des CML d'AP, inhibe la prolifération, entraîne une dépolarisation mitochondriale, le relargage de cytochrome c dans le cytosol, et augmente l'activité des canaux potassiques membranaires [141].

II.14 Autogreffe de cellules souches de précurseurs endothéliaux

Dans la physiopathologie de l'HTAP, la croissance et la fonction des cellules endothéliales sont altérées en raison d'un déséquilibre entre l'intensité des lésions endothéliales et la capacité de cicatrisation, contribuant à une vasoconstriction anormale et à une hyperplasie des CML [142]). Ainsi, l'autogreffe de cellules souches de précurseurs endothéliaux pourrait être

une nouvelle stratégie thérapeutique dans l'HTAP afin de réduire le remodelage vasculaire pulmonaire.

In vitro, les progéniteurs endothéliaux sont capables d'inhiber l'apoptose des cellules endothéliales des petites artères pulmonaires [143]. La transplantation de progéniteurs endothéliaux autologues permet une amélioration significative des paramètres hémodynamiques, du remodelage vasculaire et cardiaque et du taux de survie dans le modèle de l'HTAP à la monocrotaline chez le rat, ainsi que chez le chien [144, 145].

La transfusion de progéniteurs endothéliaux autologues a déjà été réalisée au cours de l'HTAP idiopathique chez 15 patients, avec une bonne tolérance et un effet significatif à 3 mois sur le T6M, la PAPm, les résistances pulmonaires et le débit cardiaque par rapport à 16 patients contrôles [146]. Un essai clinique canadien de phase I, l'essai PHACeT (Pulmonary Hypertension and Cell Therapy, NCT00469027), est actuellement en cours pour évaluer la transplantation de progéniteurs endothéliaux surexprimant la eNOS dans l'HTAP idiopathique.

II.15 Inhibition de NOTCH3

NOTCH3 est un récepteur exprimé uniquement dans les CML d'AP adultes, impliqué dans la prolifération et la différenciation cellulaire [147]. Il est surexprimé dans les CML d'AP au cours de l'HTAP chez l'homme et la souris [148]. La sévérité de l'HTAP est corrélée avec l'intensité de l'expression de cette protéine dans le poumon. La délétion homozygote de NOTCH3 dans des modèles de souris empêche le développement d'une HTAP hypoxique [148]. De même, l'HTAP hypoxique peut être traitée de façon efficace par l'administration de DAPT, un inhibiteur de l'activation de NOTCH3 dans les CML [148]. Ces résultats suggèrent que NOTCH3 pourrait être une nouvelle cible thérapeutique dans l'HTAP.

III- La metformine : nouvelle thérapeutique à évaluer dans l'HTAP

III.1 La metformine, un anti-diabétique oral

La metformine, ou 1,1-diméthylbiguanide hydrochloride, est un agent pharmacologique de la famille des biguanides, qui a été développé dans les années 1950 et très rapidement utilisé dans le traitement du diabète de type II [149, 150]. La metformine est utilisée depuis 1959 en France, à la dose de 500 mg à 3g/j.

Ce traitement a une efficacité démontrée chez le diabétique de type II, dans le contrôle glycémique, dans la prévention de la microangiopathie et de la macroangiopathie diabétique (cardiopathie ischémique, artériopathie oblitérante des membres inférieurs) et la mortalité cardio-vasculaire [151-153]. Elle favorise également la perte de poids.

Les effets métaboliques de la metformine ont été largement étudiés. Dans le traitement du diabète, la metformine permet un contrôle de la glycémie par inhibition de la néoglucogenèse hépatique et par diminution de la résorption intestinale du glucose. Elle favorise également la pénétration intracellulaire du glucose notamment dans les cellules musculaires squelettiques. De plus, elle permet de potentialiser l'action de l'insuline et des sulfamides hypoglycémiantes lorsqu'elle est associée à ces traitements. Elle n'a pas d'effet hypoglycémiant chez le sujet normoglycémique [149].

III.2 La metformine, un protecteur vasculaire

Plusieurs études ont montré que la metformine induisait un effet protecteur cardio-vasculaire indépendamment du contrôle glycémique [154]. De même, de nombreux travaux suggèrent notamment que la metformine aurait un intérêt dans l'insuffisance cardiaque [155].

Elle a un effet antihypertensif, ainsi qu'un effet de prévention de l'athérosclérose par inhibition de la prolifération des cellules musculaires vasculaires [156, 157] . Par ce mécanisme antiprolifératif, la metformine exerce un effet anti-inflammatoire au niveau de la paroi des vaisseaux artériels.

Les effets cardio-vasculaires imputés à la metformine sont liés à une amélioration de la fonction endothéliale, à des propriétés vasorelaxantes, anti-inflammatoires et antiprolifératives, de telle sorte que l'on considère qu'il s'agit d'une molécule pléiotrope, à l'image des statines [158]. L'effet de protection au niveau de la CML vasculaire et de

l'endothélium semble être médié par l'activation de l'AMP-kinase intra-cellulaire (AMPK), enzyme ubiquitaire de la régulation du métabolisme énergétique et/ou par son action sur la mitochondrie [159]. L'activation de l'AMPK par la metformine est nécessaire pour diminuer la glycémie, augmenter l'oxydation des graisses par les hépatocytes et augmenter la captation du glucose par le muscle strié squelettique. L'AMPK inhibe simultanément la lipogenèse hépatique, la synthèse du cholestérol et la production de glucose [160]. Ainsi, les effets métaboliques de la metformine et de l'activation de l'AMPK sont superposables. La metformine a également un effet antioxydant, car c'est un inhibiteur modéré du complexe I de la chaîne respiratoire de la mitochondrie [161].

III.3 Justification de l'évaluation de la metformine dans l'HTAP expérimentale

La metformine est maintenant bien connue pour ses effets de protection cardiovasculaire, notamment chez le diabétique non insulino-dépendant avec insulino-résistance. La metformine a un effet vaso-relaxant par diminution du taux de calcium intracellulaire dans la cellule musculaire lisse vasculaire. Dans de nombreux modèles, la metformine a montré une amélioration de la fonction endothéliale, notamment par le biais de l'activation de la NO synthase endothéliale (NOS_e), favorisant la formation de NO vasodilatateur [161]. La metformine améliore également l'oxygénation tissulaire et l'angiogénèse.

Dans de nombreux modèles expérimentaux, les effets de protection vasculaire de la metformine ont pu être rapportés à l'activation de l'AMPK. L'activation de l'AMPK améliore directement la fonction endothéliale, car un des effecteurs de l'AMPK est la NOS endothéliale. Les effets mitochondriaux de la metformine sont également impliqués dans la protection vasculaire.

L'amélioration de la fonction endothéliale, l'inhibition de la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, la vasorelaxation sont des objectifs à atteindre dans le traitement de l'HTAP.

L'ensemble de ces données incite donc à évaluer la metformine, ou toute autre stratégie d'activation de l'AMPK, dans l'HTAP.

Une seconde raison justifie l'évaluation de la metformine dans les modèles expérimentaux d'HTAP. Il s'agit du lien qui a été récemment décrit entre l'insulinorésistance et l'HTAP. En effet, l'insulinorésistance est plus fréquente chez les femmes avec HTAP par rapport à des femmes contrôles. Une des signatures de l'insulinorésistance, le déficit en PPAR- γ , semble également être associée à l'HTAP chez l'homme. Il existe des modèles animaux où l'amélioration de l'insulinorésistance, par des activateurs de PPAR- γ , a pu améliorer l'hypertension pulmonaire. Il est donc logique de se demander si la metformine, connue pour améliorer l'insulinorésistance, peut également avoir un effet favorable sur l'hypertension pulmonaire.

Au total, le mode d'action supposé de la metformine sur les vaisseaux artériels, via son effet d'activation de l'AMPK et d'inhibition du complexe I de la chaîne respiratoire, conjugué à ses effets vasculoprotecteurs font que la metformine est un candidat pharmacologique potentiel pour le traitement de l'HTAP.

III.4 Traitement de l'HTAP expérimentale par la metformine chez le rat : résultats

La metformine a été évaluée *in vivo* chez le rat (100 à 200 mg/kg/48h en intra-péritonéal, IP) dans les modèles d'hypertension pulmonaire en hypoxie chronique et à la monocrotaline, ainsi qu'*in vitro* sur des cultures de cellules musculaires lisses d'artère pulmonaire (CML-AP) du rat [2].

Dans les 2 conditions, le traitement par metformine s'accompagnait d'une amélioration, en échocardiographie, de l'épaisseur du ventricule droit et du temps d'accélération du flux pulmonaire. Un effet hémodynamique, sur la PAPm et l'indice de Fulton, était également significativement obtenu avec la metformine dans le modèle de l'hypertension pulmonaire à la monocrotaline. Dans ce modèle, la survie à long terme était significativement améliorée par la metformine (61% de survie sous metformine à J30 vs 30% sans traitement).

L'analyse anatomopathologique des petits vaisseaux artériels pulmonaires de 20 à 60 μ m de diamètre a montré que la metformine exerçait ses propriétés thérapeutiques en partie par un effet d'inhibition sur le remodelage vasculaire. Ainsi, l'épaisseur de la média de ces vaisseaux

était proche de la normale chez les rats traités par metformine, dans les 2 conditions expérimentales.

Enfin, il a été montré que la metformine exerce un effet antiprolifératif qui pourrait être mis à profit dans le traitement de l'HTAP. In vivo, sur des coupes de poumon de rat, le marquage anti-PCNA, marqueur de prolifération cellulaire, était proche de la normale chez les animaux hypoxiés chroniques traités par metformine. En Western Blot sur des artères pulmonaires, l'activation induite par l'hypoxie chronique des protéines Erk et p38 était significativement diminuée chez les rats traités par metformine, suggérant un effet antiprolifératif via l'inhibition de la voie des MAPkinases. Sur des cultures de CML-AP, la metformine exerce également un effet antiprolifératif.

Au total, ces travaux, récemment publiés [2], ont montré que la metformine a un effet thérapeutique préventif et curatif tout à fait intéressant dans 2 modèles différents d'hypertension pulmonaire chez le rat. Un effet favorable a ainsi pu être observé sur le niveau de pression artérielle pulmonaire, ainsi que sur l'hypertrophie ventriculaire droite. Dans ces modèles, la metformine inhibe le remodelage des petits vaisseaux artériels pulmonaires, en partie par un effet d'inhibition de la prolifération des CML-AP. La metformine améliore également la fonction endothéliale des artères pulmonaires, favorisant la vasorelaxation. De plus, elle inhibe la vasoconstriction artérielle pulmonaire.

Ainsi, ces données précliniques incitent à évaluer la metformine dans l'HTAP chez l'homme.

Les résultats de ces travaux ont conduit à déposer deux demandes de brevets :

- Une demande de brevet Européen EP n°09 305 200.7 a été déposée le 10 mars 2009, intitulée : « Biguanide for treating pulmonary hypertension »
- Une demande US provisional n°61/220 705 a été déposée le 26 juin 2009, intitulée « 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) activators for treating pulmonary hypertension »

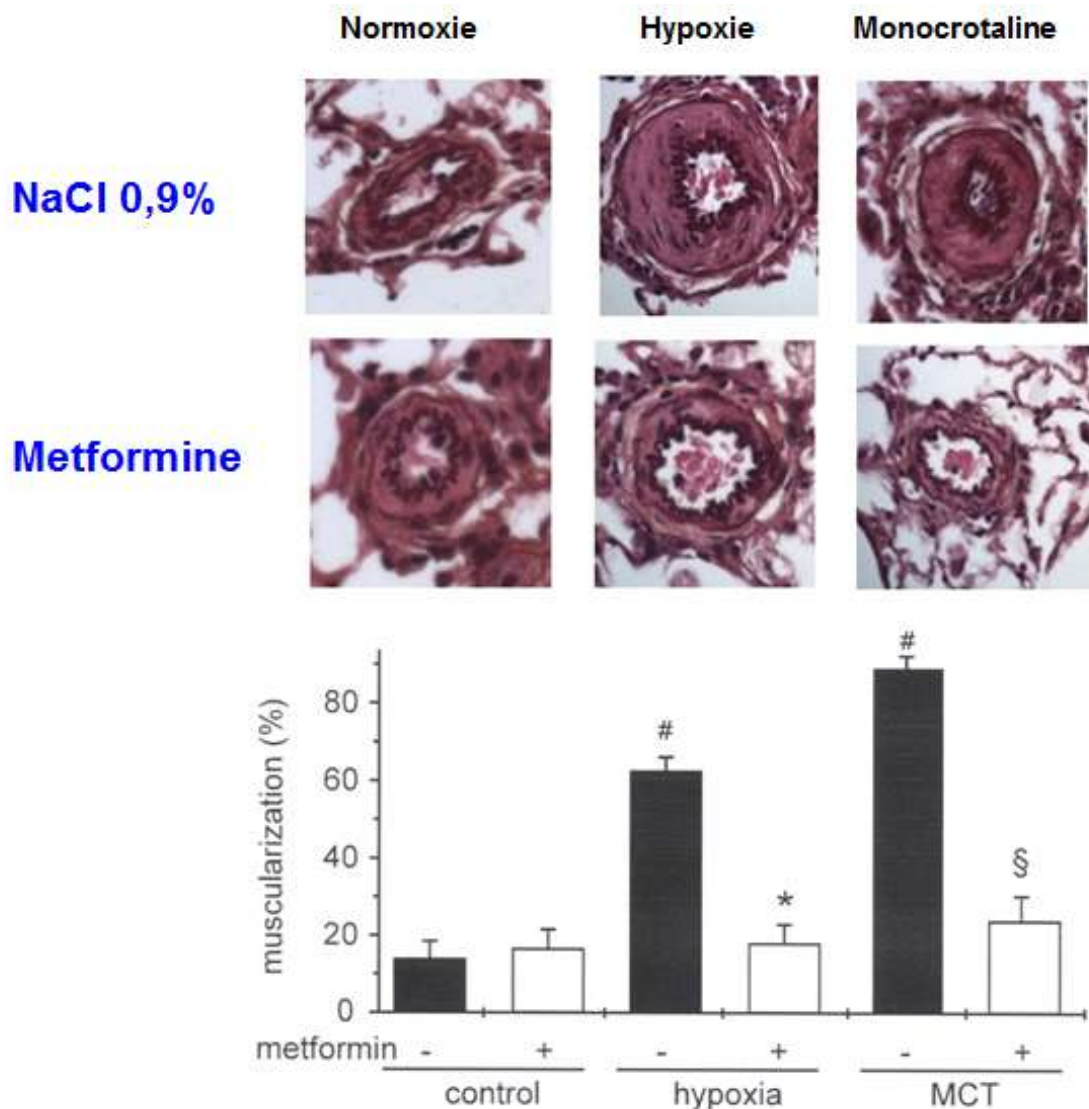


Figure n°13 : Effets de la metformine sur le remodelage vasculaire de l'HTAP du rat Wistar

D'après Agard. C et al., Protective role of the antidiabetic drug metformin against chronic experimental pulmonary hypertension. Br J Pharmacol, 2009. 158(5): p. 1285-94.

TROISIEME PARTIE:

PROTOCOLE MetHTAP

I- Mise en place du protocole MetHTAP

1.1 Naissance du protocole

La naissance d'un essai thérapeutique de la metformine dans le traitement de l'HTAP est le fruit des travaux de la thèse de sciences soutenue par le Docteur Christian Agard en 2009. Ainsi, le Docteur Agard a étudié, au sein de l'équipe INSERM U915, dirigée par le Professeur Pacaud, la place de la voie RhoA/Rho kinase dans la physiopathologie de l'HTAP humaine, avec l'objectif de développer de nouvelles approches pharmacologiques.

Ce travail avait pour objectif d'évaluer les effets d'un activateur de la protéine kinase activée par l'AMP (ou AMPK), la metformine, antidiabétique de la famille des biguanides, sur l'activation de la voie RhoA/Rho kinase dans les CML d'AP et d'évaluer l'efficacité de cette molécule dans les modèles expérimentaux d'hypertension pulmonaire chez le rat.

Ces travaux ont ainsi démontré que la metformine est une molécule efficace dans le traitement de l'hypertension pulmonaire expérimentale chez le rat Wistar [2].

Ces résultats expérimentaux chez le rat ont conduit à une réflexion sur l'évaluation de la metformine dans l'HTAP chez l'homme. Cette réflexion a été menée de manière concertée entre l'équipe de recherche fondamentale représentée par le Docteur Christian Agard et le Professeur Pacaud avec l'équipe du service de Pneumologie du CHU de Nantes : Professeur Antoine Magnan (chef de service), Docteur Alain Haloun (Responsable du centre de compétence de l'HTAP, Nantes), Docteur Delphine Horeau-Langlard, Docteur Isabelle Danner-Boucher, Docteur Laurence Nourry, Karine Botturi-Cavaillès (chargée de projet) et moi-même.

Cinq réunions ont été nécessaires pour définir le type de l'étude que nous souhaitions mettre en place. Ainsi, l'idée d'une étude ouverte, prospective, de type « preuve de concept », a été retenue et a reçu l'approbation du centre national français de référence de l'HTAP (Pr Marc Humbert, Clamart).

1.2 Rédaction du protocole

Dans le développement de ce projet, j'ai été chargée notamment de la rédaction du protocole, baptisé MetHTAP, du cahier d'observation et du formulaire d'information destiné au patient, de novembre 2008 à septembre 2009.

La première étape fut de définir le type d'étude qui était réalisable au stade actuel de la recherche fondamentale dans ce domaine. Une étude pilote, ouverte, prospective, de type « preuve de concept » a rapidement été retenue pour un premier essai de la metformine dans le traitement de l'HTAP chez l'homme.

Nous avons ensuite défini les critères d'inclusion et d'exclusion de cette étude.

J'ai donc réalisé une analyse de la littérature sur les risques et effets secondaires liés à ce traitement. Notre population a été sélectionnée en fonction des risques liés à la metformine et des contre-indications citées dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP). Ce médicament est contre-indiqué chez le sujet de plus de 80 ans, l'insuffisant cardiaque, rénal, hépatique ou respiratoire. L'effet secondaire le plus grave est l'acidose lactique notamment liée à une défaillance de plusieurs organes [162, 163].

Nous avons dû définir également le groupe et la classe d'HTAP que nous souhaitions inclure. Le modèle d'HTAP à la monocrotaline du rat est considéré comme le modèle le moins éloigné, de l'HTAP primitive au niveau physiopathologique. Nous avons donc décidé d'inclure seulement des patients présentant une HTAP du groupe 1, précapillaire, de stade II ou III de la NYHA, d'origine idiopathique ou secondaire à des connectivites. Nous avons exclu les autres groupes (notamment postembolique).

Nous avons dû ensuite définir le critère de jugement principal.

Le test de marche de six minutes (T6M) a été choisi comme critère de jugement principal après l'analyse de la littérature [39, 50, 164] qui a permis la délivrance de l'autorisation de mise sur le marché européen des traitements spécifiques oraux de l'HTAP (notamment le bosentan et le sildénafil). Notre objectif était d'avoir un élément comparatif validé de longue date dans ce domaine. Les mesures des données hémodynamiques recueillies par le cathétérisme cardiaque droit seront analysées dans les critères d'évaluation secondaires (résistances vasculaires pulmonaires, index cardiaque, pression artérielle pulmonaire moyenne, pression de l'oreillette droite).

Le T6M est intégré dans la surveillance et la prise en charge thérapeutique du patient [165]. Sa mesure est simple, sûre, peu coûteuse, aisément réalisable, corrélée à l'oxygénation du patient et hautement reproductible [166]. Les patients qui ont un T6M supérieur à 400 mètres ou inférieur à 150 mètres sont exclus de l'étude. En effet ce test semble manquer de sensibilité pour les valeurs extrêmes [167]. Cependant, actuellement, on s'oriente plus vers des données objectives hémodynamiques comme critère de jugement principal dans les études thérapeutiques portant sur l'HTAP, en raison des difficultés rencontrées à mettre en évidence des différences significatives entre une nouvelle molécule et un placebo.

Puis, nous avons déterminé les tests dont nous avons besoin pour le suivi du patient et l'évaluation de l'efficacité thérapeutique de la metformine. Nous nous sommes également inspirés de la littérature et des recommandations de la haute autorité de santé (HAS, ALD 5)[168].

La posologie de la metformine a été décidée aux vues des résultats obtenus chez l'animal, une augmentation progressive était proposée de 500 mg/j jusqu'à la dose maximale de 3g/j, prescrite régulièrement dans le diabète de type II, sur un mois. L'adaptation de la posologie se fera en fonction de la tolérance du traitement.

Afin de préciser le nombre de sujets nécessaire pour cette étude, nous avons fait appel à Véronique Sébille-Rivain, méthodologiste au CHU de Nantes, qui nous a également aidés pour définir les tests statistiques significatifs de ce projet. Ainsi 33 patients seront inclus dans cette étude. Afin de faciliter l'inclusion des patients, le CHU de Bordeaux a été contacté par l'intermédiaire du Docteur Claire Dromer pour participer à cette étude. Les patients inclus seront donc des patients atteints d'HTAP suivis dans les services de pneumologie et médecine interne de Nantes et le service de pneumologie de Bordeaux.

Finalement, nous avons demandé l'avis du Docteur Jean-Pierre Gueffet, cardiologue spécialisé dans le diagnostic, le suivi et le traitement de l'HTAP pour la relecture de ce protocole, le suivi échographique et le cathétérisme cardiaque droit. L'aide du pharmacien de l'hôpital a été également importante dans l'élaboration du conditionnement, la délivrance et le suivi du traitement. La relecture du protocole a été réalisée par la cellule de pharmacovigilance du CHU de Nantes.

Le protocole a reçu un avis favorable du Comité de Protection des Personnes (CPP) du CHU de Nantes en septembre 2009. Il nous restait à résoudre le problème du financement.

II- Evaluation des besoins financiers

Le calcul du coût global de l'étude a été réalisé par Karine Botturi - Cavaillès.

Le projet MetHTAP représente un coût global de 107 863.74 € sur 3 ans.

Un financement par la fondation Génavie, à hauteur de 15 000 € a été obtenu pour ce projet en mai 2009. Ce financement permettra la mise en place du projet, comprenant :

- Les frais liés au développement et la maintenance du cahier d'observation électronique estimés à 11 226 €
- Les frais d'envoi des traitements entre Nantes et Bordeaux, s'élevant à 3 200 €
- Les frais d'impression des formulaires de consentement en triplicata pour un montant de 200 €
- Une partie des frais de gestion, s'élevant à 374 €.

Le financement demandé au PHRC 2010 à hauteur de 92 864 € se décompose de la manière suivante :

- le coût relatif au personnel ARC/IRC (inclusion des patients, la réalisation du test de marche, la prise de sang, la dispensation traitement, le suivi et le remplissage du cahier d'observation), représentant 2 heures pour les visites V1 et V6 et 1,5 heure pour les visites V2-V5 et V7, ainsi que le temps Chef de projet pour l'ensemble du suivi de l'étude, sont portés à 17 343 € pour les 2 années de suivi
- le coût personnel lié au biostatisticien pour l'analyse des données, ainsi qu'à l'intervention d'un pharmacovigilant à hauteur de 12 259 €
- les dépenses médicales liées aux examens supplémentaires demandés par le protocole (cathétérisme droit, Echographie trans-thoracique, Test de marche, Biologie/biochimie

sanguine), aux consultations, et hospitalisations de jour supplémentaires, à la prise en charge des frais de transport supplémentaires des patients, à la fourniture du produit à l'essai et à la prestation pharmacie, pour un total de 45 257 €

- les frais liés à la Promotion de l'étude comprenant la phase préparatoire et le suivi de l'essai, le temps ARC promotion, les déplacements dans les 2 centres pour le monitoring des données, l'assurance (Classe III), ainsi que le reste des frais de gestion pour un montant global de 18 005 €.

Le détail de la demande financière est présenté dans les pages suivantes

Ainsi, la totalité du financement demandé au PHRC 2010 a été acceptée en juillet 2010.

De plus, après la soumission du protocole au PHRC 2010, 20 000 € ont été octroyés par l'Association des Sclérodermiques de France (ASF) avec l'objectif d'inclure 7 patients sclérodermiques.

Une nouvelle soumission au Comité de Protection des Personnes et à l'AFSAPPS est prévue en septembre 2010 afin de pouvoir commencer à inclure les premiers patients fin 2010.

Frais généraux

Rubrique budgétaire	Nombre jours ou nombre actes	Cout horaire ou cout d'acte	multiplication par le nbre de sujets	Total
<i>Frais de promotion</i>				
Assurance classe III		1417	non	1417
Pharmacovigilance (forfait)	40 vac	143,75	non	5750
Préparation du dossier	5	203	non	1015
Suivi du dossier	6/an	203	non	2436
Gestion des EIGs (1 EIG par patient)	33	29	non	957
Mises en place de l'essai (1j de préparation +1j /centre)	3	203	non	609
Monitoring : 5 déplacements/an/centre	20	203	non	4060
Cloture (1,5 j pour Nantes et 2,5 j pour Bordeaux)	4	203	non	812
Frais de déplacements (Mise en place - Bordeaux) : 1 déplacement	1	270	non	270
Frais déplacements (monitoring et clôture - Bordeaux) : 6 déplacements	6	360	non	2160
Papeterie/ reprographie		4,5	oui	200
<i>Total Frais de Promotion</i>				19686
<i>Frais Base de données</i>				
Développement et maintenance du cahier d'observation électronique			non	11226
<i>Total Base de données</i>				11226
<i>Frais envois prélèvements étude</i>				
Envoi prélèvements Bordeaux	20	160	non	3200
<i>Total envois prélèvements étude</i>				3200
<i>Frais transports de patients</i>				
Prise en charge du transport de 17 patients en véhicule personnel pour 3 visites supplémentaires (aller-retour = 200 kms en moyenne)	200	0,35	oui	3570
Prise en charge du transport de 16 patients en VSL pour 3 visites supplémentaires (aller-retour = 200 kms en moyenne)	200	0,83	oui	9206,4
<i>Total transports de patients</i>				12776,4
<i>Total Frais de gestion (5 %)</i>				4643
TOTAL FRAIS GENERAUX				51531

Dépenses de personnel

Rubrique budgétaire	Base de calcul	Nombre heures ou nombre actes	multiplication par le nbre de sujets	Total
<i>Chef de Projet</i>				
Préparation ou relecture des procédures spécifiques de l'étude et des outils de suivi	TJ 203	5 J	NON	1015
Préparation des mises en place	TJ 203	3 J	NON	609
Gestion de l'étude 6j/ans pendant 2 ans	TJ 203	12 J	NON	2436
<i>Total Chef de Projet</i>				4 060
<i>TEC</i>				
Recrutement des patients (information, gestion consentement)	TH 35	0.30 H	OUI (33)	346,5
Réalisation des examens (1H/ visite; prise de sang, test de marche....)	TH 35	7H	OUI (33)	8085
Dispensation traitement (0,2H/visite)	TH 35	1,40 H	OUI (33)	1617
Gestions d'événements indésirables	TH 35	1 H	OUI (33)	1155
Remplissage du cahier d'observation (0.3H 1ère visite + 0.25H visites suivantes)	TH 35	1,8 H	OUI (33)	2079
<i>Total TEC</i>				13 283
<i>Méthodologiste/Statisticien</i>				
Mise en place plan d'analyse statistique et	TA 78108	1 mois	NON	6 509
TOTAL DEPENSES PERSONNEL				23 852

Dépenses médicales

Rubrique budgétaire	Base de calcul	Nombre heures ou actes	multiplication par le nombre de sujets	Total
Actes médicaux				
Cathétérisme droit (1/patient)	EQQF01 240 €	33	OUI	7920
Echographie trans-Thoracique (1/patient)	DZQM006 95,66 €	33	OUI	3156,78
Test de marche de 6 minutes (3/patient)	EQQP003 28,8 €	99	OUI	2851,2
Biologie sanguine /Biochimie (3/patient)	152B 123,12 €	33	OUI	4062,96
Dosage proBNP (3/patient)	B90 24,30 €	99	OUI	2405,7
Consultations (2/patient)	60	66	OUI	3960
HDJ (1/patient)	125	33	OUI	4125
Total actes médicaux				28481,64
Prestation pharmacie				
Forfait administratif	TH 41,87	1	NON	305
Etude de faisabilité	TH 41,87	8H	NON	335
Coordination des envois	TH 41,87	40H	NON	1675
Masquage, conditionnement, étiquetage		6H	NON	251
Distribution		12H	NON	502
Achat, approvisionnement		1H	NON	42
Suivi des stocks, péremption (3H/centre)		3H		125
Fourniture produit (960 boîtes de 30 comprimés)	0,032€/comp	23 880	NON	764
Total Pharmacie				3999
TOTAL DEPENSES MEDICALES				32 481

III- Protocole MetHTAP

« Evaluation de l'efficacité thérapeutique de la Metformine dans le traitement de l'HTAP »

Investigateur Coordonnateur : Dr Alain HALOUN

Service de Pneumologie
L'Institut du thorax
Centre National de Référence Mucoviscidose
Hôpital Guillaume et René Laennec
Boulevard Jacques Monod-St Herblain
44093 Nantes cedex 1
Tél : (33) 02 40 16 52 35
Fax : (33) 02 40 16 52 41
Email : alain.haloun@chu-nantes.fr

Méthodologiste : Véronique SEBILLE

Plateforme Biostatistique - Cellule de Promotion de la Recherche Clinique
CHU de Nantes
5, allée de l'île Gloriette
44093 Nantes cedex 01 (FRANCE)
Tél : +33 (0)2 40 41 29 96
Fax : +33 (0)2 40 41 29 96
Email : veronique.sebille@univ-nantes.fr

Promoteur :



CHU de Nantes
Cellule de promotion à la recherche clinique
5, allée de l'île Gloriette
44 093 Nantes cedex 01 (FRANCE)
Contact :
Tel : 02 53 48 28 35
Fax : 02 53 48 28 36

Version(s) du protocole

➤ **version 1 :**

Date : 04/01/10

RESUME

Titre de l'étude	Evaluation de l'efficacité thérapeutique de la metformine dans le traitement de l'HTAP
Mots clés	HTAP, Metformine,
Promoteur de l'étude	CHU de Nantes
Investigateur coordonnateur (si étude multicentrique)	Dr Alain Haloun CHU de Nantes
Nombre de centres prévus	2 (Nantes, Bordeaux)
Planning de l'étude	Durée totale : 2 ans Période de recrutement : 17 mois Durée de traitement par patients : 4 mois Durée de suivi par patient : 7 mois
Design de l'étude	- Bicentrique - Preuve de concept - Non contrôlée - Non randomisée - Ouverte - Prospective
Objectifs de l'étude	Objectif principal : Démontrer une amélioration de la distance du test de marche chez des patients atteints d'HTAP traités par Metformine. Objectifs secondaires : Rechercher si le traitement par Metformine permet : 1. une amélioration progressive dans le temps de la distance parcourue 2. une amélioration des données hémodynamiques recueillies par cathétérisme droit représentées par une diminution des pressions artérielles pulmonaires et une amélioration de la fonction du ventricule droit 3. une amélioration de la désaturation du patient à l'effort 4. une amélioration de la fonction respiratoire 5. une amélioration du degré de la dyspnée 6. une amélioration des signes d'insuffisance cardiaque (clinique et biologique) 7. une amélioration de l'hypoxémie
Nombre de cas prévisionnel	33 patients
Calendrier des différentes visites et des différents examens	Les patients seront vus au cours d'une visite de suivi classique pour leur pathologie et l'étude leur sera présentée puis proposée. Dans le cas d'un accord pour participation, les patients seront alors programmés pour leur visite d'inclusion en hôpital de jour (HDJ)

	pour la visite V1. V1 : Seuls les patients stables seront inclus dans l'étude. Les examens suivants seront réalisés en hôpital de jour pour déterminer l'état de base des patients et permettre leur suivi : • Test de marche de 6 minutes • Echographie Trans-Thoracique • Cathétérisme droit • Explorations fonctionnelles respiratoires • Prélèvements sanguins (glycémie, proBNP, GDS, fonction rénale, bilan hépatique) Au cours de cette visite, le patient recevra le traitement par Metformine sous forme de comprimés, pour une durée de 15 jours, jusqu'à sa prochaine visite, à raison de 500 mg/jour en 1 seule prise. Il sera demandé au patient de rapporter ses unités de traitement lors de la prochaine visite à J15. V2 : Les patients seront vus à 15 jours après la première prise de traitement en consultation, afin de s'assurer de l'absence d'évènement indésirable (EI) ou d'évènement indésirable grave (EIG), ainsi que pour relever les traitements concomitants. Les unités de traitement des 15 jours précédents seront comptées puis retournées à la pharmacie de l'hôpital. Ceci sera réalisé afin de vérifier l'observance du patient. La Metformine pour les 15 jours de traitement suivants sera délivrée à raison de 1500 mg/jour en 3 prises de 500 mg (matin, midi et soir). V3-V5 : Les patients seront ensuite revus tous les mois en consultation. Il sera alors réalisé un Test de marche de 6 minutes, ainsi qu'un prélèvement sanguin (glycémie, proBNP, GDS, fonction rénale, bilan hépatique). Les EI et EIG seront relevés. A chaque visite et afin de suivre l'observance du patient, les unités de traitement dispensées à la visite précédente seront rapportées par le patient, comptabilisées puis renvoyées à la pharmacie. La Metformine pour chaque mois de traitement sera délivrée à chaque visite à raison de 3000 mg/jours en 3 prises de 1000 mg (matin, midi et soir). V6 : Après 3 mois de traitement stable par Metformine 3000 mg/jour, les patients seront vus en HDJ. Les examens suivants seront réalisés pour déterminer l'évolution du patient • Test de marche de 6 minutes • Echographie Trans-Thoracique • Cathétérisme droit
--	---

	• Explorations fonctionnelles respiratoires • Prélèvements sanguins (glycémie, proBNP, GDS, fonction rénale, bilan hépatique) Au cours de cette visite, les unités de traitements dispensés à la visite précédente seront rapportées par le patient, comptabilisées puis renvoyées à la pharmacie. V7 : Après trois mois d'arrêt du traitement, les patients seront convoqués en consultation pour une nouvelle ETT et prélèvements sanguins. Une fiche de fin d'étude sera remplie pour chaque patient.
Critères principaux de sélection, d'inclusion, de non-inclusion et d'exclusion	Les patients inclus seront des patients atteints d'HTAP suivis dans les services de pneumologie et médecine interne de Nantes et le service de pneumologie de Bordeaux : Critères d'inclusion : - 18 à 80 ans - sexe indifférent - affiliés à un régime de sécurité sociale - consentement éclairé et écrit - HTAP précapillaire diagnostiquée par un cathétérisme droit, de stade II ou III de la NYHA, d'origine idiopathique ou secondaire à des connectivites. - stables selon les critères suivants : • Absence de modifications thérapeutiques de l'HTAP depuis au moins trois mois • Patient cliniquement stable depuis au moins un mois sans signe de décompensation cardiaque droite : patient ne présentant pas de majoration de la dyspnée, ou l'apparition de douleurs thoraciques ou de malaises. • Examen clinique parfaitement stable (pas d'apparition ou de majoration des oedèmes des membres inférieurs, de turgescence jugulaire, reflux hépato-jugulaire, hépatalgie ou hépatomégalie, pas de modification de l'auscultation cardiaque) • Test de marche comparable sur les trois derniers mois avant l'inclusion Les critères de non inclusion - les femmes enceintes ou en période d'allaitement - les mineurs - les patients incapables de suivre le protocole ou de donner leur consentement - les patients porteurs de pathologies inflammatoires chroniques non liées à l'HTAP - les patients ayant des problèmes d'observance notoire constatés préalablement à l'étude

	- les patients diabétiques - test de marche de six minutes inférieur à 100 mètres ou supérieur à 400 mètres - patient présentant une altération de la fraction d'éjection du ventricule gauche, avec une FEVG < 45 % - Patients HTAP stade I et IV - Patient présentant une HTAP postembolique - Insuffisance rénale modérée à sévère (clairance de la créatinine < 60 ml/min) - Insuffisance hépatocellulaire (Facteur V < 60 %)
Traitement de référence (si applicable)	Non applicable
Critère de jugement principal	Sur la base des études des traitements spécifiques de l'HTAP déjà publiées [9, 10, 12] le critère principal de jugement correspond à l'amélioration de la distance parcourue du test de marche de six minutes entre la visite V1 et V6.
Critère(s) de jugement secondaire(s)	<u>Critères de jugement secondaires correspondent :</u> 1. à l'étude de la cinétique d'évolution de la distance parcourue lors du test de marche de 6 minutes entre les visites V1 et V7. 2. aux données hémodynamiques obtenues par cathétérisme droit : résistances vasculaires pulmonaires, débit cardiaque, index cardiaque, pression artérielle pulmonaire moyenne, et pression oreillette droite et comparées entre V1 et V6 3. à l'étude de la cinétique d'évolution du pourcentage de désaturation du patient au test de marche de six minutes entre les visites V1 et V7. 4. à l'étude de la cinétique d'évolution des paramètres mesurés par les épreuves fonctionnelles respiratoires (EFR) dont l'étude de la diffusion du CO entre les visites V1 et V6. 5. à la diminution du degré de la dyspnée évaluée par la classe fonctionnelle de la NYHA entre V1 et V6 6. à l'étude de la cinétique de la proBNP entre les visites V1 et V7 7. à l'étude de la cinétique d'évolution des paramètres mesurés dans les gaz du sang (pH, pCO₂, PaO₂, bicarbonates) entre V1 et V7
Autres évaluations	Non applicable
Analyse statistiques	L'ensemble des analyses sera ajusté sur la dose de traitement réellement reçue. Selon la normalité des distributions des variables quantitatives étudiées, attestée par un test de Kolmogorov-Smirnov, un test paramétrique ou non paramétrique apparié sera utilisé pour la

	comparaison entre deux temps donnés : V1 et V6 pour le critère de jugement principal et les données hémodynamiques. La diminution du degré de la dyspnée évaluée par la classe fonctionnelle de la NYHA entre V1 et V6 sera évaluée par un test apparié de Mac Nemar. Pour l'analyse des variables quantitatives recueillies au cours du temps (entre V1 et V7), des modèles à effets aléatoires seront utilisés afin de prendre en compte la variabilité inter-individuelle modélisée via les effets aléatoires (suivant l'idée que les patients représentent un échantillon aléatoire d'une population plus vaste) ainsi que la variabilité intra-individuelle modélisée à travers l'erreur de mesure ; l'effet temps sera testé.
--	--

PAGE DE SIGNATURE

SIGNATURE DU PROMOTEUR

Le promoteur s'engage à réaliser cette étude selon toutes les dispositions législatives et réglementaires dont pourrait relever la recherche et selon le protocole.		
Nom et Fonction du représentant signataire : Mme Anne OMNES CHU de Nantes Cellule de promotion à la recherche clinique 5, allée de l'île Gloriette 44093 Nantes cedex 01 (FRANCE) tél : (33) 02 53 48 28 35 fax : (33)02 53 48 28 36 Email : anne.omnes@chu-nantes.fr	Date :	Signature :

SIGNATURE DES INVESTIGATEURS

J'ai lu l'ensemble des pages du protocole de l'essai clinique dont le CHU de Nantes est le promoteur. Je confirme qu'il contient toutes les informations nécessaires à la conduite de l'essai. Je m'engage à réaliser l'essai en respectant le protocole et les termes et conditions qui y sont définis. Je m'engage à réaliser l'essai en respectant : ❖ les principes de la "Déclaration d'Helsinki", ❖ les règles et recommandations de bonnes pratiques cliniques internationales (ICH-E6) et française (règles de bonnes pratiques cliniques pour les recherches biomédicales portant sur des médicaments à usage humain - décisions du 24 novembre 2006) ❖ la législation nationale et la réglementation relative aux essais cliniques, ❖ la conformité avec la Directive Essais Cliniques de l'UE [2001/20/CE] Je m'engage également à ce que les investigateurs et les autres membres qualifiés de mon équipe aient accès aux copies de ce protocole et des documents relatifs à la conduite de l'essai pour leur permettre de travailler dans le respect des dispositions figurant dans ces documents.			
Investigateur coordonnateur	Nom : Dr Alain Haloun Service de Pneumologie L'institut du thorax Centre National de Référence Mucoviscidose Hôpital Guillaume et René Laennec Boulevard Jacques Monod-St Herblain 44093 Nantes cedex 1	Date :	Signature :

	Tel : (33) 02 40 16 52 35 Fax : (33) 02 40 16 52 41		
Investigateur principal	Nom et établissement : Dr Claire DROMER Service de Chirurgie Thoracique Hôpital Haut-Levêque CHU de Bordeaux Av de Magellan 33604 PESSAC CEDEX	Date :	Signature :

LISTE DES ABREVIATIONS

AFSSaPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
AMPK	AMP-Kinase
ARC	Attaché de Recherche Clinique
BPC	Bonnes Pratiques Cliniques
BPCO	Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive
CPP	Comité de Protection des Personnes
CNIL	Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés
CRF	Case Report Form (cahier d'observation)
ECG	Electrocardiogramme
EFR	Epreuves Fonctionnelles Respiratoires
ETT	Echographie Transthoracique
EvIG	Evènement Indésirable Grave
EIG	Effet Indésirable Grave
EIGI	Effet Indésirable Grave Inattendu
GDS	Gaz du Sang
HDJ	Hôpital de Jour
HTAP	Hypertension Artérielle Ppulmonaire
ICH	International Conference on Harmonization (Conférence internationale pour l'harmonisation)
IDE	Infirmière Diplômée d'Etat
INSERM	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
MR	Méthodologie de Référence
MVO	Maladie Veino-Occlusive
NO	Monoxyde d'Azote
RCP	Résumé des Caractéristiques d'un Produit
SUSAR	Suspected Unexpected Serious Adverse Reaction
TEC	Technicien d'Etude Clinique

TABLE DES MATIERES

RESUME.....	63
PAGE DE SIGNATURE.....	68
LISTE DES ABREVIATIONS.....	69
TABLE DES MATIERES.....	70
INTRODUCTION.....	71
1. JUSTIFICATION DE L'ETUDE.....	72
1.1 Positionnement de la recherche.....	72
1.2 Bénéfices et risques pour les personnes se prêtant à la recherche.....	78
1.3 Description et justification du schéma thérapeutique.....	81
2. OBJECTIFS ET CRITERES DE JUGEMENT.....	82
2.1 Objectif et critère d'évaluation principal.....	82
2.2 Objectifs et critères d'évaluation secondaires.....	82
3. DESIGN DE LA RECHERCHE.....	84
3.1 Méthodologie générale de la recherche.....	84
3.2 Schéma de l'étude.....	84
4. POPULATION ETUDIEE.....	85
4.1 Description de la population.....	85
4.2 Critères de pré-inclusion (si applicable).....	85
4.3 Critères d'inclusion.....	85
4.4 Critères d'exclusion.....	86
5. TRAITEMENTS UTILISES PENDANT L'ETUDE.....	87
5.1 Description des traitements nécessaires et modalités d'administration.....	87
5.2 Médicaments et traitements autorisés et interdits.....	88
5.3 Méthodes de suivi de l'observance au traitement.....	89
5.4 Circuit des médicaments expérimentaux.....	89
6. DEROULEMENT DE L'ETUDE.....	91
6.1 Techniques d'études et d'analyses.....	91
6.2 Calendrier de l'étude.....	92
6.3 Identification des toutes les données sources ne figurant pas dans le dossier médical.....	95
6.4 Règles d'arrêt de la participation d'une personne.....	96
7. DATA MANAGEMENT ET STATISTIQUES.....	97
7.1 Recueil et traitement des données de l'étude.....	97
7.2 Statistiques.....	97
8. PHARMACOVIGILANCE ET GESTION DES EVENEMENTS INDESIRABLES.....	100
8.1 Définitions.....	100
8.2 Paramètres d'évaluation de la sécurité.....	102
8.3 Liste des effets indésirables attendus.....	102

8.4 Gestion des événements indésirables.....	106
8.5 Modalités et durée du suivi des personnes suite à la survenue d'événements indésirables	107
9. ASPECTS ADMINISTRATIFS ET REGLEMENTAIRES.....	108
9.1 Droit d'accès aux données et documents sources.....	108
9.2 Monitoring de l'essai.....	108
9.3 Inspection / Audit.....	109
9.4 Considérations éthiques.....	109
9.5 Amendements au protocole.....	109
9.6 Déclaration aux autorités compétentes.....	109
9.7 Financement et assurance.....	110
9.8 Règles relatives à la publication.....	110
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	110

INTRODUCTION

Malgré les avancées thérapeutiques, l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) reste actuellement une maladie rare et grave. De plus, l'ensemble des traitements disponibles à ce jour est coûteux et souvent d'utilisation difficile.

Des résultats encourageants obtenus dans des études chez l'animal, ont démontré l'efficacité de la metformine dans le traitement de l'HTAP.

L'étude présentée a pour but de tester ce nouveau traitement de l'HTAP, qui viendra s'ajouter au traitement actuel de l'HTAP et ne viendra en aucun cas le remplacer.

Cette étude pourrait conduire à terme à proposer un nouveau traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire.

1. JUSTIFICATION DE L'ETUDE

1.1 Positionnement de la recherche

1.1.1 L'hypertension artérielle pulmonaire [4]

1.1.1.1 Incidence et dépistage

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une maladie rare avec une incidence de 15 cas par million d'habitants en France. Cette affection reste actuellement incurable et de mauvais pronostic. Elle est caractérisée par l'augmentation progressive des résistances artérielles pulmonaires, aboutissant à une insuffisance cardiaque droite.

Malgré des progrès réalisés avec l'avènement de nouveaux traitements pharmacologiques, la mortalité des patients atteints d'HTAP reste en moyenne de l'ordre de 50 % à 5 ans et la qualité de la vie reste médiocre chez près de la moitié de ces patients en monothérapie.

L'HTAP est dépistée par la technique d'échographie transthoracique (ETT) qui estime la pression artérielle pulmonaire systolique par la mesure de la vitesse du flux de l'insuffisance tricuspide.

Le diagnostic d'HTAP est posé par le cathétérisme droit. L'atteinte précapillaire est définie par une pression artérielle moyenne supérieure à 25 mmHg au repos ou supérieure à 30 mmHg à l'effort en l'absence d'élévation de la pression artérielle pulmonaire d'occlusion, reflet de la pression capillaire (< 15 mmHg). Cette mesure peut être affinée par un test de remplissage qui permet de démasquer une dysfonction gauche diastolique. Cet examen fait partie du suivi habituel des patients atteints d'HTAP, il est recommandé trois mois après chaque modification de traitement.

1.1.1.2 Physiopathologie [5-7]

Les examens histologiques d'explants pulmonaires, de prélèvements post-mortem et parfois de biopsies pulmonaires chirurgicales nous ont permis de mieux comprendre la physiopathologie de cette maladie. Ainsi on observe des lésions caractéristiques retrouvées dans la majorité des pathologies engendrant une HTAP : l'artériopathie plexiforme qui associe une hypertrophie de la média (hyperplasie des fibres musculaires lisses, augmentation de la matrice conjonctive et des fibres élastiques), une fibrose de l'intima, des lésions plexiformes (prolifération focale de cellules endothéliales entourées de myofibroblastes) et des thromboses organisées et re-canalisées.

La physiopathologie de la maladie comprend une vasoconstriction précoce, suivie d'un remodelage vasculaire des artères pulmonaires de petit calibre ($< 500 \mu\text{m}$) et artéioles précapillaires. La dysfonction endothéliale se caractérise par un déséquilibre de production de médiateurs endothéliaux favorisant la vasoconstriction : surproduction de médiateurs vasoconstricteurs endothéliaux comme l'endothéline -1, surexpression médiale de la sérotonine ou 5-HT et de la phosphodiesterase de type 5 ou PDE-5 ; ainsi que par la diminution de production de médiateurs vasodilatateurs d'origine endothéliale comme le monoxyde d'azote (NO), la prostacycline et la sous-expression de canaux potassium voltage-dépendants (Kv).

1.1.1.3 Classification [7]

Si l'on se réfère à la nouvelle classification 2008 ainsi qu'aux conclusions du congrès mondial de Venise en 2003, l'HTAP peut être classée en 3 grandes catégories, en fonction des pathologies « associées » présentant des similitudes dans leur physiopathologie, leur présentation clinique et leur prise en charge. On distingue ainsi :

- **l'hypertension artérielle pulmonaire (simple)** : idiopathique ; familiale ; associée à des connectivites, cardiopathies congénitales avec shunt, hypertension portale, infection par le VIH, anorexigènes / médicaments ou toxiques ; associées à une atteinte veineuse ou capillaire (maladie veino-occlusive (MVO), hémangiomatose capillaire pulmonaire)
- **l'hypertension pulmonaire associée à une cardiopathie gauche** (auriculaire, ventriculaire gauche ou valvulaire)
- **l'hypertension pulmonaire associée aux pathologies respiratoires chroniques** (BPCO, maladies interstitielles chroniques, pathologies du sommeil, hypoventilation alvéolaire, exposition chronique à l'altitude, déformation thoracique) ; l'hypertension artérielle pulmonaire liée à une maladie thrombo-embolique chronique (occlusion thrombo-embolique proximale ou distale) ; obstruction non thrombotique (embolies métastatiques, parasites, matériel étranger) et l'HTAP liée à des maladies diverses (Sarcoïdose, Histiocytose X, lymphangiomatose, compression des vaisseaux pulmonaires, tumeur, fibrose médiastinale).

1.1.2 Traitements spécifiques actuellement disponibles [4-7]

Le traitement conventionnel repose sur des mesures simples (limitation des efforts) et des traitements non spécifiques (anticoagulant, diurétique, oxygénothérapie) :

Les inhibiteurs calciques (nifédépine/ diltiazem) : traitements utilisés en première intention lorsqu'on observe une réversibilité de l'HTAP au cathétérisme cardiaque droit après un test de vasodilatation par le monoxyde d'azote inhalé ou la prostacycline en intraveineux (la pression artérielle pulmonaire moyenne diminue de plus de 10 mmHg avec une PAP moyenne inférieure à 40 mmHg et un débit cardiaque normal ou élevé).

Si ce test est positif, les patients ont un meilleur pronostic, avec une espérance de vie de 95 % à 5 ans. Cependant, le nombre de patients répondeurs aux inhibiteurs calciques est faible (soit environ 15 %)

La Prostacycline (ou prostaglandine I₂) : l'époprosténol (Flolan®) en injection intraveineuse continue est indiqué en première intention dans les formes les plus sévères. C'est un puissant vasodilatateur systémique et artériel pulmonaire ainsi qu'un puissant inhibiteur de l'agrégation plaquettaire.

Les analogues de la prostacycline :

- L'Iloprost (Ventavis®), aérosol de courte durée d'action nécessitant 6 à 12 inhalations par jour.
- La Treprostinil (Remodulin®), qui s'administre par voie sous-cutanée mais génère des douleurs importantes au point de ponction.

Les antagonistes des récepteurs de l'endothéline :[8]

- Le Bosentan (Tracleer®) [9, 10], antagoniste non sélectif des récepteurs de l'endothéline (ET A et ET B réceptors), actif par voie orale, mais qui ne peut être utilisé chez les patients présentant des perturbations importantes du bilan hépatique.
- Le sitaxentan (Thélin®) est un antagoniste spécifique des récepteurs de l'endothéline (ET A récepteur)[11], utilisé par voie orale, en deuxième intention, après échec du bosentan.

Les inhibiteurs des phosphodiésterases de type 5 [12] :

- Le Sildénafil (Revatio®), ont ouvert de nouvelles perspectives dans la prise en charge de l'HTAP. Ce traitement, administré par voie orale, est bien toléré en règle générale mais contre-indiqué chez les patients présentant une cardiopathie ischémique.

Même si les récentes avancées thérapeutiques ont amélioré le pronostic de l'HTAP, l'ensemble des traitements présentés ci-dessus sont des traitements coûteux et souvent d'utilisation difficile pour les plus efficaces. De même, la survie des patients atteints d'HTAP, même avec les traitements actuels, doit être améliorée.

L'amélioration de la prise en charge de ces patients dépendra en grande partie des progrès dans la compréhension de la physiopathologie de la maladie et la recherche de nouveaux traitements apparaît donc comme indispensable.

1.1.3 Présentation des résultats pré-cliniques

1.1.3.1 Modèles d'HTAP chez le rongeur :

Le développement de nouvelles approches thérapeutiques dans l'HTAP ne peut se faire sans évaluation chez l'animal. Les modèles expérimentaux d'HTAP actuels recourent principalement à l'hypoxie chronique ou à l'administration de monocrotaline chez les petits rongeurs (rats, souris).

Chez le rat, l'hypertension pulmonaire hypoxique est induite au bout d'au moins 2 semaines d'hypoxie, en plaçant les animaux en caisson hypobare (pression=380 mmHg, équivalent à une FIO₂=10%). L'hypertension pulmonaire hypoxique est souvent modérée et principalement caractérisée par une hypertrophie médiale avec des degrés variables de prolifération adventitielle. Elle est réversible après retour en normoxie.

L'hypertension pulmonaire à la monocrotaline est quant à elle plus sévère. La monocrotaline est un alcaloïde de la famille de la pyrrolizidine qui se trouve dans les tiges, feuilles et graines de *Crotalaria spectabilis*, une plante à floraison annuelle distribuée dans les régions tropicales et sous tropicales et introduite aux Etats-Unis en 1924. La toxicité de la monocrotaline est essentiellement hépatique (hépatite nécrotique) et pulmonaire (œdème pulmonaire et fibrose). La monocrotaline engendre initialement une nécrose endothéliale avec un œdème pulmonaire de perméabilité, suivie d'un remodelage progressif des artérioles et des veines pulmonaires et d'une défaillance cardiaque droite. Il existe une hypertrophie médiale, un remodelage adventitial particulièrement inflammatoire. L'hypertension pulmonaire à la monocrotaline ressemble à l'HTAP humaine par sa gravité hémodynamique et histopathologique, et sa mortalité naturelle particulièrement élevée (décès habituel au bout de 40 jours).

Ces 2 modèles animaux d'hypertension pulmonaire (hypoxie chronique, monocrotaline) sont couramment utilisés, depuis plusieurs années, dans l'équipe de recherche du Professeur Pierre PACAUD (équipe Ila, Inserm, U915, institut du thorax).

1.1.3.2 Présentation générale de la metformine

La metformine est un antidiabétique oral de la classe des biguanides, disponible en France depuis 1959 chez les diabétiques de type 2 (non insulino-dépendant), approuvé aux USA en 1995 [1, 14, 15].

Ce produit, à la posologie de 500 mg à 3000 mg/j, a une efficacité démontrée chez le diabétique de type 2, dans le contrôle glycémique, dans la prévention de la microangiopathie et de la macroangiopathie diabétique (cardiopathie ischémique, artériopathie oblitérante des membres inférieurs) et la mortalité cardio-vasculaire [2, 15-20].

Les effets métaboliques de la metformine ont été largement étudiés. Dans le traitement du diabète, la metformine permet un contrôle de la glycémie par inhibition de la néoglucogenèse hépatique et par diminution de la résorption intestinale du glucose. Elle favorise également la pénétration intracellulaire du glucose notamment dans les cellules musculaires squelettiques. De plus, elle permet de potentialiser l'action de l'insuline et des sulfamides hypoglycémiantes lorsqu'elle est associée à ces traitements. Elle n'a pas d'effet hypoglycémiant chez le sujet normoglycémique.

Actuellement, le mode d'action moléculaire précis de la metformine n'est pas établi. De nombreuses études ont démontré que la metformine activait *in vitro* et *in vivo*, l'AMP-kinase intra-cellulaire (AMPK), qui est une enzyme ubiquitaire de la régulation du métabolisme énergétique. L'activation de l'AMPK par la metformine est nécessaire pour diminuer la glycémie, augmenter l'oxydation des graisses par les hépatocytes et augmenter la captation du glucose par le muscle strié squelettique. L'AMPK inhibe simultanément la lipogenèse hépatique, la synthèse du cholestérol et la production de glucose [16]. Ainsi, les effets métaboliques de la metformine et de l'activation de l'AMPK sont superposables. La metformine a également un effet anti-oxydant, car c'est un inhibiteur modéré du complexe I de la chaîne respiratoire de la mitochondrie [22].

1.1.3.3 Justification de l'évaluation de la metformine dans l'HTAP expérimentale chez le rat :

La metformine est maintenant bien connue pour ses effets de protection cardiovasculaire, notamment chez le diabétique non insulino-dépendant avec insulino-résistance. La metformine a un effet vaso-relaxant par diminution du taux de calcium

intracellulaire dans la cellule musculaire lisse vasculaire. Dans de nombreux modèles, la metformine a montré une amélioration de la fonction endothéliale, notamment par le biais de l'activation de la NO synthase endothéliale (NOS_e), favorisant la formation de NO vasodilatateur [20].

Elle a aussi un effet anti-hypertensif, ainsi qu'un effet de prévention de l'athérosclérose par inhibition de la prolifération des cellules musculaires vasculaires [16-21]. Par ce mécanisme anti-prolifératif, la metformine exerce un effet anti-inflammatoire au niveau de la paroi des vaisseaux artériels.

La metformine améliore enfin l'oxygénation tissulaire et l'angiogénèse, si bien qu'elle est désormais présentée comme une molécule pléiotrope, à l'image des statines.

Dans de nombreux modèles expérimentaux, les effets de protection vasculaire de la metformine ont pu être rapportés à l'activation de l'AMPK. L'activation de l'AMPK améliore directement la fonction endothéliale, car un des effecteurs de l'AMPK est la NOS endothéliale. Les effets mitochondriaux de la metformine sont également impliqués dans la protection vasculaire.

L'amélioration de la fonction endothéliale, l'inhibition de la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, la vasorelaxation sont des objectifs à atteindre dans le traitement de l'HTAP.

L'ensemble de ces données incite donc à évaluer la metformine, ou toute autre stratégie d'activation de l'AMPK, dans l'HTAP.

Une seconde raison nous a conduit à évaluer la metformine dans les modèles expérimentaux d'HTAP. Il s'agit du lien qui a été récemment décrit entre l'insulinorésistance et l'HTAP. En effet, l'insulinorésistance est plus fréquente chez les femmes avec HTAP par rapport à des femmes contrôles. Une des signatures de l'insulinorésistance, le déficit en PPAR γ , semble également être associée à l'HTAP chez l'homme. Il existe des modèles animaux où l'amélioration de l'insulinorésistance, par des activateurs de PPAR γ , a pu améliorer l'hypertension pulmonaire. Il était donc logique de se demander si la metformine, connue pour améliorer l'insulinorésistance, pouvait également avoir un effet favorable sur l'hypertension pulmonaire.

Au total, dans notre démarche d'identification de nouvelles approches pharmacologiques dans l'HTAP, la metformine nous est apparue comme un bon candidat à tester dans l'HTAP expérimentale.

1.1.3.4 Traitement de l'HTAP expérimentale par la metformine chez le rat : résultats

La metformine a été évaluée *in vivo* chez le rat (100 à 200 mg/kg/48h en intrapéritonéal, IP) dans les modèles d'hypertension pulmonaire en hypoxie chronique et à la monocrotaline, ainsi qu'*in vitro* sur des cultures de cellules musculaires lisses d'artère pulmonaire (CML-AP) du rat.

L'hypoxie chronique était obtenue en plaçant des rats Wistar en caisson hypobare (380 mmHg, FIO₂=10%) pendant 21 jours. Les animaux ont reçu soit du sérum physiologique, soit de la metformine en prévention (de J-6 avant mise en caisson à J21, ou à titre curatif (de J14 à J21). Des rats gardés en normoxie ont été utilisés comme contrôle. A J18, des rats ont été évalués en échocardiographie. A J21, les rats étaient anesthésiés, la veine jugulaire interne était mise à nu, ligaturée en amont, incisée pour y introduire un cathéter relié à un capteur de pression. Le

cathéter était introduit dans le ventricule droit (VD) puis dans l'artère pulmonaire (AP), pour une mesure de pression. Les rats étaient sacrifiés avec mesure systématique de l'indice de Fulton (rapport de la masse du VD sur celle du VG + septum), paramètre qui évalue le degré d'hypertrophie ventriculaire droite, et prélèvements tissulaires de poumon et d'artère pulmonaire pour analyses en Western Blot.

Concernant le modèle d'hypertension pulmonaire à la monocrotaline, nous avons effectué une injection unique en SC de 60 mg/kg de monocrotaline sur des rats Wistar répartis en 2 groupes recevant soit du sérum physiologique, soit de la metformine 100 mg/kg/j IP. Un premier lot était exploré à J30 sur le plan hémodynamique puis sacrifié. Un deuxième lot était utilisé pour une étude de survie.

En hypoxie chronique, la PAPm était à $30,2 \pm 2,6$ mmHg vs $10,2 \pm 1,2$ en normoxie, ($p < 0,001$), et l'indice de Fulton était à $0,44 \pm 0,03$ vs $0,20 \pm 0,01$ en normoxie ($p < 0,001$). Chez les rats recevant la metformine en prévention, la PAPm était proche de la normale à $16,4 \text{ mmHg} \pm 1,65$, avec un indice de Fulton à $0,27 \pm 0,02$ ($p < 0,001$ vs hypoxie). Chez les rats recevant la metformine en curatif, on observait également un effet thérapeutique sur ces 2 paramètres, avec une PAPm = $20,8 \pm 1,39$ et un indice de Fulton = $0,38 \pm 0,02$ ($p < 0,001$ vs hypoxie). Dans les 2 conditions (prévention, curatif), le traitement par metformine s'accompagnait également d'une amélioration, en échocardiographie, de l'épaisseur du ventricule droit et du temps d'accélération du flux pulmonaire.

Un effet hémodynamique, sur la PAPm et l'indice de Fulton, était également significativement obtenu avec la metformine dans le modèle de l'hypertension pulmonaire à la monocrotaline. Dans ce modèle, la survie à long terme était significativement améliorée par la metformine (61% de survie sous metformine à J30 vs 30% sans traitement).

L'analyse anatomopathologique des petits vaisseaux artériels pulmonaires de 20 à 60 μm de diamètre a montré que la metformine exerçait ses propriétés thérapeutiques en partie par un effet d'inhibition sur le remodelage vasculaire. Ainsi, l'épaisseur de la média de ces vaisseaux était proche de la normale chez les rats traités par metformine, dans les 2 conditions expérimentales.

Par Western Blot, nous avons montré que la metformine améliore la fonction endothéliale (augmentation de la phosphorylation activatrice de la NOS) dans les artères pulmonaires chez les rats Wistar en hypoxie chronique. Un effet d'inhibition de la vasoconstriction des artères pulmonaires a été également démontré par Western Blot, la metformine réduisant l'activation de la voie RhoA/Rho kinase, qui régule la contractilité des CML-AP [23, 24] dans ces artères.

A partir d'anneaux d'artères pulmonaires de rats, nous avons par ailleurs observé que la vasorelaxation, induite par un analogue de l'acétyl-choline, était plus marquée sur les anneaux provenant de rats hypoxiés traités par metformine par rapport aux anneaux provenant de rats hypoxiés non traités. De même, la metformine réduit la vasoconstriction induite par la phényléphrine sur des anneaux d'artère pulmonaire.

Enfin, nous avons montré que la metformine exerce un effet antiprolifératif qui pourrait être mis à profit dans le traitement de l'HTAP. In vivo, sur des coupes de poumon de rat, le marquage anti-PCNA, marqueur de prolifération cellulaire, était proche de la normale chez les animaux hypoxiés chroniques traités par metformine. En Western Blot sur des artères pulmonaires, l'activation induite par l'hypoxie chronique des protéines Erk et p38 était significativement diminuée chez les rats traités par metformine, suggérant un effet

antiprolifératif via l'inhibition de la voie des MAPkinases. Sur des cultures de CML-AP, la metformine exerce également un effet antiprolifératif.

Au total, ces travaux, récemment publiés [13], ont montré que la metformine a un effet thérapeutique préventif et curatif tout à fait intéressant dans 2 modèles différents d'hypertension pulmonaire chez le rat. Un effet favorable a ainsi pu être observé sur le niveau de pression artérielle pulmonaire, ainsi que sur l'hypertrophie ventriculaire droite. Dans ces modèles, la metformine inhibe le remodelage des petits vaisseaux artériels pulmonaires, en partie par un effet d'inhibition de la prolifération des CML-AP. La metformine améliore également la fonction endothéliale des artères pulmonaires, favorisant la vasorelaxation. De plus, elle inhibe la vasoconstriction artérielle pulmonaire.

Ces données précliniques incitent à évaluer la metformine dans l'HTAP chez l'homme.

1.1.4 But de l'étude

Aux vues des différentes données disponibles à la fois sur la nécessité de nouveaux traitements de l'HTAP et sur le rôle potentiel de la metformine dans le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire, nous avons donc décidé de mettre en place une étude pilote ayant pour but d'évaluer l'efficacité de la metformine dans le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire chez l'homme.

Cette étude pilote consiste à utiliser la metformine, traitement antidiabétique oral, chez des patients présentant une HTAP primitive afin de démontrer une efficacité thérapeutique de la molécule dans cette maladie.

1.2 Bénéfices et risques pour les personnes se prêtant à la recherche

1.2.1 Bénéfices

1.2.1.1 Bénéfice individuel

Outre le suivi rapproché des patients atteints d'HTAP pendant six mois, le bénéfice individuel apporté par cette étude repose sur la possibilité d'être traité par une molécule active sur leur maladie avec, si le traitement s'avère actif, une possibilité d'amélioration des symptômes (dyspnée, hypoxémie, régression des œdèmes).

L'amélioration de ces symptômes aura bien entendu un impact positif sur l'amélioration de la qualité de vie du patient.

1.2.1.2 Bénéfice collectif

L'étude de la metformine dans le traitement de l'HTAP permettra d'avoir une meilleure connaissance de la physiopathologie de la maladie.

De plus, ce médicament d'une autre classe thérapeutique que ceux déjà utilisés dans le traitement de cette pathologie, pourra ainsi être proposé aux malades en tant que recours thérapeutique complémentaire.

Enfin, ce médicament est un traitement ancien, qui a déjà largement été étudié et utilisé dans le traitement du diabète de type II. Les coûts de revient de la metformine sont donc moindres que les traitements de référence actuels dans l'HTAP, ce qui représente un bénéfice collectif supplémentaire dans le cas d'un effet positif de cette molécule sur l'HTAP.

1.2.2 Risques

1.2.2.1 Risque individuel

➤ Risques et contraintes physiques

a) Risques liés au produit de l'étude :

La metformine est un médicament bien connu et utilisé de longue date dans le traitement du diabète. Les EI sont largement détaillés dans le RCP et dans les publications. De part son mécanisme d'action, la metformine ne provoque pas d'hypoglycémie. Ses effets indésirables principaux sont d'ordre digestif, ils sont généralement modérés et surviennent essentiellement en début de traitement, nécessitant une adaptation posologique progressive et une administration pendant ou en fin de repas.

b) Risques liés aux examens complémentaires :

Les risques pour le patient sont outre celui de la prise de sang, celui du cathétérisme droit, qui est un examen invasif, réalisé sous anesthésie locale. Cet examen fait cependant partie du suivi classique des patients atteints d'HTAP et est recommandé 3 mois après chaque modification de traitement.

Le risque global d'infarctus du myocarde est de 0,07 à 0,6 % d'accident vasculaire cérébral de 0,03 à 0,2 % et d'arythmie sévère de 0,6 à 1,3 %.

La fréquence des complications vasculaires majeures (occlusion nécessitant la chirurgie pour réparer une plaie artérielle ou faire une thrombectomie, hématome, pseudoanévrisme, fistule artérioveineuse) est de 0,40 %. Ces complications locales sont plus fréquentes chez les sujets âgés, les insuffisants cardiaques et les obèses.

Les complications systémiques vont du simple malaise vagal à la réaction vagale sévère qui peut conduire à l'arrêt cardiaque. Cet accident est spécialement à redouter dans la sténose valvulaire aortique, l'hypertension artérielle pulmonaire primitive (ou par cardiopathie congénitale), la tamponnade.

D'autres complications graves peuvent s'observer : perforation, infarctus du myocarde, réaction anaphylactique au produit de contraste iodé.

Les complications mineures (4 %) sont l'hypotension transitoire vagale et la survenue d'une douleur angineuse de courte durée.

Le cathétérisme droit est précédé d'une anesthésie locale qui comporte des risques, qui sont heureusement très exceptionnels en pratique :

Syncope vagale : de loin la plus fréquente de toutes les complications possibles (sueurs, pâleur, sensation de malaise)

Allergie, avec des signes cutanés (rougeurs, démangeaisons, gonflements), respiratoires (gêne de type asthmatique) et cardiovasculaires (tachycardie, hypotension artérielle).

Troubles du rythme cardiaque : pouvant aller jusqu'à l'arrêt cardiaque

Accidents neurologiques à type de convulsions pouvant aboutir à une dépression cardiorespiratoire, voire à un coma.

➤ Risques liés à la maladie

Risque d'évolution naturelle de la maladie

➤ Risques liés aux traitements à l'essai et aux traitements associés (EI)

La liste exhaustive des EI figure dans la section pharmacovigilance (voir infra).

➤ Risques et contraintes psychologiques

Non applicable

➤ Risques socio-économiques

Non applicable

➤ Contraintes liées à la recherche

Les patients porteurs d'une HTAP sont en général suivis en consultation ou en hôpital de jour tous les deux à trois mois en fonction de la gravité de la pathologie et des signes cliniques qu'ils présentent. Les examens suivants sont donc réalisés régulièrement : échographie transthoracique, épreuves fonctionnelles respiratoires, test de marche de 6 minutes, électrocardiogramme (ECG) et bilan biologique.

La participation à notre étude implique pour le patient une visite tous les 15 jours pendant 1 mois, puis 1 visite par mois pendant 3 mois puis une visite de fin d'étude à 7 mois. Au cours de ces visites, 3 tests de marche, 3 bilans biologiques et un cathétérisme droit supplémentaires seront prévus par rapport au suivi classique du patient.

1.2.2.2 Risque collectif

Non applicable

1.2.3 Balance bénéfices / risques

La balance bénéfices/ risques est positive dans cette étude. En effet les patients ne subiront aucune modification de leur traitement habituel de l'HTAP et pourront bénéficier d'un suivi

médical rapproché. Ainsi, le traitement à l'étude sera donné en supplément du traitement habituel, et permettra aux patients de recevoir un médicament efficace sur leur pathologie. Le risque de nouvelles interactions et la fréquence de certains effets indésirables seront surveillés de façon attentive, car ceux-ci peuvent être différents dans la population cible versus la population de l'AMM.

1.3 Description et justification du schéma thérapeutique

1.3.1. Dénomination et description du ou des médicaments expérimentaux

Le médicament dont nous souhaitons évaluer l'efficacité dans cette étude est la metformine, traitement antidiabétique oral utilisé principalement dans le diabète de type II depuis de très nombreuses années, en particulier en cas de surcharge pondérale lorsque le régime alimentaire et l'exercice physique ne sont pas suffisants pour rétablir l'équilibre glycémique.[1, 2]

Ce traitement est largement utilisé chez l'homme dans cette indication, sous forme de comprimé, avec une posologie variant de 500 mg par jour à 1g trois fois par jour (la dose maximale recommandée par le RCP est de 3g / jour). Ainsi, dans cette étude, ce traitement sera utilisé sous la forme de comprimé, per os, à la dose initiale de 500 mg, celle-ci sera progressivement augmentée à 3 g/j sur un mois.

Le chlorhydrate de metformine se présente sous forme de comprimés pelliculés, avec comme excipients : povidone K 30, cellulose microcristalline, amidon de maïs modifié, saccharine sodique, sodium benzoate micronisé, citron arôme, (maltodextrine, dont glucose, soufre dioxyde).[3]

Dans cette étude, la metformine sera évaluée seule, elle ne sera pas comparée à un autre traitement ou placebo.

Les références bibliographiques figurent en annexe du document.

2. OBJECTIFS ET CRITERES DE JUGEMENT

2.1 Objectif et critère d'évaluation principal

2.1.1 Objectif principal

Démontrer une amélioration de la distance du test de marche chez des patients atteints d'HTAP traités par metformine.

2.1.2 Critère d'évaluation principal

Sur la base des études des traitements spécifiques de l'HTAP déjà publiées [9, 10, 12] le critère d'évaluation principal correspond à l'amélioration de la distance parcourue du test de marche de six minutes entre la visite V1 et V6.

2.2 Objectifs et critères d'évaluation secondaires

2.2.1 Objectifs secondaires

Rechercher si le traitement par metformine permet :

1. Une amélioration progressive dans le temps de la distance parcourue
2. Une amélioration des données hémodynamiques recueillies par cathétérisme droit représentée par une diminution des pressions artérielles pulmonaires et une amélioration de la fonction du ventricule droit
3. Une amélioration de la désaturation du patient à l'effort
4. Une amélioration de la fonction respiratoire
5. Une amélioration du degré de la dyspnée
6. Une amélioration des signes d'insuffisance cardiaque (clinique et biologique)
7. Une amélioration de l'hypoxémie

2.2.2 Critère(s) d'évaluation secondaire(s)

Les critères d'évaluation secondaires correspondent:

1. A l'étude de la cinétique d'évolution de la distance parcourue lors du test de marche de 6 minutes entre les visites V1 et V7.
2. Aux données hémodynamiques obtenues par cathétérisme droit : résistances vasculaires pulmonaires, index cardiaque, pression artérielle pulmonaire moyenne, et pression oreillette droite et comparées entre V1 et V6.

3. A l'étude de la cinétique d'évolution du pourcentage de désaturation du patient au test de marche de six minutes entre les visites V1 et V7.
4. A l'étude d'évolution des paramètres mesurés par les épreuves fonctionnelles respiratoires (EFR) dont l'étude de la diffusion du CO entre les visites V1 et V6.
5. A la diminution du degré de la dyspnée évaluée par la classe fonctionnelle de la NYHA entre V1 et V6.
6. A l'étude de la cinétique de la proBNP entre les visites V1 et V7.
7. A l'étude de la cinétique d'évolution des paramètres mesurés dans les gaz du sang (pH, pCO₂, PaO₂, bicarbonates) entre V1 et V7.

2.3 Objectif et critères d'évaluation des études ancillaires

Non applicable

3. DESIGN DE LA RECHERCHE

3.1 Méthodologie générale de la recherche

La recherche présente les caractéristiques suivantes :

- ❖ Etude **médicament de phase II**, de pharmacologique clinique
- ❖ Etude **bicentrique** nationale
- ❖ Etude **non contrôlée**,
- ❖ Etude **non randomisée**,
- ❖ Etude **ouverte**,
- ❖ Etude **prospective**,

3.2 Schéma de l'étude

La durée prévue de participation des personnes à l'étude est de 7 mois, dont 1 mois d'augmentation des posologies du traitement, 3 mois de traitement à dose optimale puis 3 mois de surveillance.

Au cours du suivi, trois hospitalisations de jours sont programmées et 4 consultations.

Durée de l'étude estimée à 2 ans, plus un an d'analyse et de publication.

Nombre de patients à inclure : 33

Date de début de l'étude: Novembre 2010

Durée d'inclusion : 17 mois

Date de fin (fin de suivi du dernier patient de l'étude) : Novembre 2012

Date de fin d'étude prévue : Novembre 2013

4. POPULATION ETUDIEE

4.1 Description de la population

Cette étude s'adresse aux patients présentant une HTAP d'origine idiopathique, ou liée à une connectivite, de classe fonctionnelle II ou III de la NYHA qui sont sous traitement par antagonistes des récepteurs de l'endothéline et/ou inhibiteurs de phosphodiesterase.

Les patients participant à cette recherche ne pourront pas participer à une autre recherche médicamenteuse simultanément. La durée d'exclusion sera de 1 mois après la fin de l'étude. Les recherches non interventionnelles seront autorisées.

4.2 Critères de préinclusion

Non applicable

4.3 Critères d'inclusion

Les patients inclus :

- seront âgés de 18 à 80 ans.
- seront de sexe indifférent.
- seront affiliés à un régime de sécurité sociale.
- auront donné leur consentement éclairé et écrit.
- seront porteurs d'une HTAP précapillaire diagnostiquée par un cathétérisme droit, de stade II ou III de la NYHA, d'origine idiopathique ou secondaire à des connectivites.

L'atteinte précapillaire est définie par une pression artérielle moyenne supérieure à 25 mmHg au repos ou supérieure à 30 mmHg à l'effort en l'absence d'élévation de la pression artérielle pulmonaire d'occlusion, reflet de la pression capillaire (< 15 mmHg).

- Seront stables selon les critères suivants :
 - Absence de modifications thérapeutiques de l'HTAP depuis au moins 3 mois
 - Patient cliniquement stable depuis au moins un mois sans signe de décompensation cardiaque droite : patient ne présentant pas de majoration de la dyspnée, ou l'apparition de douleurs thoraciques ou de malaises.
 - Examen clinique parfaitement stable (pas d'apparition ou de majoration des oedèmes des membres inférieurs, de turgescence jugulaire, reflux hépato-jugulaire, hépatalgie ou hépatomégalie, pas de modification de l'auscultation cardiaque).
 - Test de marche comparable sur les trois derniers mois avant l'inclusion.

4.4 Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion des personnes qui se prêtent à la recherche sont :

- Les mineurs.
- Les femmes enceintes ou en période d'allaitement.
- Les patients incapables de suivre le protocole ou de donner leur consentement.
- Les patients porteurs de pathologies inflammatoires chroniques non liées à l'HTAP.
- Les patients ayant des problèmes d'observance notoire constatés préalablement à l'étude.
- Les patients diabétiques.
- Test de marche de six minutes inférieur à 100 mètres ou supérieur à 400 mètres.
- Patient présentant une altération de la fraction d'éjection du ventricule gauche, avec une FEVG < 45 %.
- Patients HTAP stade IV et I.
- Patient présentant une HTAP postembolique.
- Insuffisance rénale modérée à sévère (clairance < 60 ml/min).
- Insuffisance hépatocellulaire (facteur V < 60 %).

5. TRAITEMENTS UTILISES PENDANT L'ETUDE

5.1 Description des traitements nécessaires et modalités d'administration

5.1.1 Médicament expérimental

5.1.1.1 Identification du traitement

Le traitement choisi dans notre étude est la METFORMINE MYLAN 500MG cp dispersible/orodispersible, conditionnée dans des boîtes de 30 comprimés, commercialisée en France par le laboratoire MYLAN et actuellement disponible au CHU de Nantes.

La metformine se présente sous forme de comprimé dispersibles/orodispersibles. Elle est composée de chlorhydrate de metformine. Ses excipients comprennent : povidone K 30, cellulose microcristalline, amidon de maïs modifié, saccharine sodique, sodium benzoate micronisé, citron arôme (maltodextrine, dont glucose, soufre dioxyde).

5.1.1.2 Administration

La première prise de traitement sera réalisée en HDJ sous surveillance tensionnelle et glycémique.

Le traitement est donc administré par voie orale à la dose de :

- 500 mg/jour pendant les 15 premiers jours à raison d'une prise par jour
- puis 1,5 g/jour de J15 à M1 en 3 prises de 500 mg (matin, midi, soir)
- puis 3 g/jour de M1 à M4 en 3 prises de 1g (matin, midi, soir)

Le patient prend donc ce médicament pendant une durée totale de 4 mois.

5.1.1.3 Adaptation de la posologie

En cas d'effet indésirable grave nécessitant l'hospitalisation du patient, le traitement est arrêté définitivement.

En cas d'effet indésirable non grave (intolérance digestive par exemple) la posologie du traitement est diminuée progressivement en fonction de la tolérance de celui-ci.

Les patients qui bénéficieront d'une dose comprise entre 500 et 3000 mg/jour de metformine ne seront pas sortis de l'étude. Les données de ces patients seront donc prises en compte dans l'analyse statistique finale.

5.1.2 Autres médicaments du protocole

Non applicable

5.2 Médicaments et traitements autorisés et interdits

5.2.1 Traitements autorisés

Les traitements autorisés comprennent :

- Les traitements de fond des patients : anticoagulants, inhibiteurs calciques, diurétiques, oxygène.
- Les traitements spécifiques de la maladie : antagonistes des récepteurs de l'endothéline (Bosentan ou Tracleer® / sitaxentan ou Thélin®), Inhibiteurs des phosphodiesterases de type 5 (Sildénafil ou Revatio®).

5.2.2 Traitements non autorisés

Les traitements non autorisés sont les traitements spécifiques de l'HTAP utilisés chez les patients présentant une HTAP sévère avec dyspnée de stade III ou IV de la NYHA :

- Prostacycline intraveineuse (époprosténol ou Flolan®).
- Les analogues de la prostacycline en aérosols (iloprost ou Ventavis®), par voie sous-cutanée (treprostinil ou Remodulin®).

Deux types de traitements sont également contre-indiqués en fonction de leur prescription :

- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) en utilisation prolongée, car il y a un risque de survenue d'insuffisance rénale plus important et donc d'acidose lactique avec la prise de metformine.
- Les corticoïdes à forte posologie au long cours ($> 0.5 \text{ mg/kg/j}$ pdt plus de 7 j), car il y a un risque de déséquilibre ionique, glycémique, avec un risque de survenue d'acidocétose par diminution de la tolérance aux glucides due aux corticoïdes. En cas de prise courte de corticoïdes, une surveillance glycémique rapprochée devra être réalisée.

5.2.3 Traitements d'urgence

Les traitements d'urgence peuvent être nécessaires en cas de décompensation cardiaque droite avec signes d'hypodébit :

- Oxygénothérapie à haut débit, délivrée au masque venturi ou haute concentration .
- Diurétiques en intraveineux à fortes doses.
- Dobutamine en intraveineux à la seringue électrique peut être instaurée (débutée à 2.5 gamma/Kg/min jusqu'à un maximum de 15 gamma/Kg/min) à adapter à la tolérance clinique et aux données de l'échographie cardiaque transthoracique.

La durée du traitement est fonction de la réponse du patient aux thérapeutiques instaurées.

5.3 Méthodes de suivi de l'observance au traitement

Un carnet d'observance sera délivré au patient à chaque visite, pour suivre la prise correcte du traitement. Il lui sera également demandé de rapporter à chaque visite les unités de traitement dispensées à la visite précédente.

Un comptage des unités entamées ou vides sera effectué afin de s'assurer de l'observance du patient.

5.4 Circuit des médicaments expérimentaux

5.4.1 Circuit général

La spécialité de Metformine 500mg, comprimé dispersible, boîte de 30 comprimés, sera prise sur le stock du CHU de Nantes.

La pharmacie à usage intérieur de l'Hôtel-Dieu, CHU de Nantes, possède l'autorisation de réaliser des préparations rendues nécessaires dans le cadre de la recherche biomédicale et, à ce titre, pourra réaliser les opérations d'étiquetage du produit, conformément à la législation en vigueur et aux bonnes pratiques cliniques.

Par ailleurs, s'agissant d'une étude multicentrique, une demande d'autorisation à distribuer des produits sera instruite auprès de l'AFSSAPS, de manière à ce que la pharmacie de l'Hôtel-Dieu puisse servir de pharmacie coordonnatrice. Les pharmacies des centres investigateurs seront alors approvisionnées par la pharmacie de l'Hôtel-Dieu, en fonction du nombre des inclusions sur le centre. Une « annexe pharmaceutique » reprenant le circuit du produit et les informations nécessaires à sa bonne gestion sur site sera réalisée et transmise aux pharmacies des centres concernés, après activation du centre investigateur.

S'agissant de produits conservés à température ambiante, les envois seront réalisés par transporteur rapide, sans système de suivi de température.

La conservation, le retour ou la destruction des unités thérapeutiques dans les pharmacies des centres investigateurs seront réalisés conformément à la convention établie entre le Promoteur et la Direction du centre investigateur ; ces informations seront précisées lors de la mise en place sur site et reprises dans le document dit « annexe pharmaceutique ».

La dispensation des produits pourra être réalisée sur site de manière globale, nominative ou sous forme de dotation à renouveler, en fonction des contraintes et procédures locales. Le choix de support de prescription (ordonnance papier ou électronique) est laissé à la discrétion du centre.

Enfin, en cas de rappel de lot, le laboratoire fabricant et le Promoteur se chargent de gérer les produits dans la pharmacie coordonnatrice et les pharmacies des centres investigateurs, conformément à la convention qui sera établie entre les deux parties.

5.4.2 Conditions de stockage des médicaments expérimentaux

5.4.2.1 Description du stockage à la pharmacie

La conservation de la Metformine 500mg sera assurée par une armoire fermée, dans un local à accès restreint (pharmacie de l'Hôtel-Dieu, CHU de Nantes). Les conditions de conservation à température ambiante seront garanties par un relevé manuel quotidien, permettant un contrôle régulier de la température, conformément aux dispositions et procédures internes à la pharmacie de l'Hôtel-Dieu.

5.4.2.2 Description du stockage dans le service

Non applicable

5.4.2.3 Description du stockage chez le patient

Le stockage chez le patient ne demande pas de conditions particulières.

6. DEROULEMENT DE L'ETUDE

6.1 Techniques d'étude et d'analyse

6.1.1 Description détaillée des paramètres d'évaluation de l'efficacité

Sur la base des études des traitements spécifiques de l'HTAP déjà publiées [9, 10, 12] l'évaluation de l'efficacité du traitement pour le critère principal de jugement, repose sur :

- l'amélioration de la distance parcourue du test de marche entre la visite V1 et V6

En ce qui concerne les critères secondaires, l'évaluation de l'efficacité repose sur :

- l'étude de la cinétique d'évolution de la distance parcourue lors du test de marche de 6 minutes entre les visites V1 et V7
- l'amélioration des données hémodynamiques obtenues par cathétérisme droit, entre V1 et V6:
 - diminution des résistances vasculaires périphériques
 - augmentation de l'index cardiaque
 - diminution de la Pression artérielle pulmonaire moyenne
 - diminution des pressions de l'oreillette droite
- l'étude de la cinétique d'évolution du pourcentage de désaturations du patient au test de marche de six minutes entre les visites V1 et V7.
- l'étude de la cinétique d'évolution des paramètres mesurés par les épreuves fonctionnelles respiratoires (EFR) dont l'étude de la diffusion du CO entre les visites V1 et V6.
- la diminution du degré de la dyspnée évaluée par la classe fonctionnelle de la NYHA entre V1 et V6
- l'étude de la cinétique de la proBNP entre les visites V1 et V7
- l'étude de la cinétique d'évolution des paramètres mesurés dans les gaz du sang (pH, pCO₂, PaO₂, bicarbonates) entre V1 et V7

6.1.2 Méthodes et calendrier prévus pour mesurer, recueillir et analyser les paramètres d'évaluation de l'efficacité.

L'efficacité du produit sera évaluée tous les mois après l'instauration du traitement par le suivi réalisé en consultation et en hôpital de jour.

6.2 Déroulement de l'étude

Phase 1 : sélection des patients :

Le recrutement des malades se fera à partir des patients suivis pour une HTAP à Nantes dans les services d'hospitalisation et de consultation du service de Pneumologie de l'institut du thorax, ainsi que dans le service de Médecine Interne et à Bordeaux dans le service de Pneumologie de l'Hôpital Haut-Lévêque.

Les patients seront vus au cours d'une visite de suivi classique pour leur pathologie et l'étude leur sera présentée puis proposée.

Dans le cas d'un accord pour participation, les patients seront alors programmés pour leur visite d'inclusion en hôpital de jour (HDJ) pour la visite V1.

Phase 2 : Inclusion des patients et dispensation du traitement à l'étude

V1 : Seuls les patients stables seront inclus dans l'étude, la stabilité des patients étant évaluée selon les critères suivants :

- Absence de modifications thérapeutiques depuis au moins trois mois.
- Patient cliniquement stable depuis au moins un mois sans signe de décompensation cardiaque droite : patient ne présentant pas de majoration de la dyspnée, ou l'apparition de douleurs thoraciques ou malaises.
- Test de marche comparable sur les trois derniers mois avant l'inclusion.

Les examens suivants seront réalisés en hôpital de jour pour déterminer l'état de base des patients et permettre leur suivi :

- Test de marche de 6 minutes.
- Echographie Trans-Thoracique.
- Cathétérisme cardiaque droit.
- Explorations fonctionnelles respiratoires.
- Prélèvements sanguins (glycémie, proBNP, GDS, ionogramme sanguin, fonction rénale, bilan hépatique).

Au cours de cette visite, le patient recevra le traitement par metformine sous forme de comprimés, pour une durée de 15 jours, jusqu'à sa prochaine visite, à raison de 500 mg/jour en 1 seule prise.

Il sera demandé au patient de rapporter ses unités de traitement lors de la prochaine visite à J15.

V2 : Les patients seront vus 15 jours après la première prise de traitement en consultation, afin de s'assurer de l'absence d'évènement indésirable (EI) ou d'évènement indésirable grave (EIG), ainsi que pour relever les traitements concomitants.

Les unités de traitement des 15 jours précédents seront comptées puis retournées à la pharmacie de l'hôpital. Ceci sera réalisé afin de vérifier l'observance du patient.

La metformine pour les 15 jours de traitement suivants sera délivrée à raison de 1500 mg/jour en 3 prises de 500 mg (matin, midi et soir). Une glycémie capillaire sera réalisée.

V3-V5 : Les patients seront ensuite revus tous les mois en consultation.

Il sera alors réalisé un test de marche de 6 minutes, ainsi qu'un prélèvement sanguin (glycémie, proBNP, GDS, fonction rénale, ionogramme sanguin, bilan hépatique).

Les EI et EIG seront relevés.

A chaque visite et afin de suivre l'observance du patient, les unités de traitement dispensées à la visite précédente seront rapportées par le patient, comptabilisées puis renvoyées à la pharmacie.

La metformine pour chaque mois de traitement sera délivrée à chaque visite à raison de 3000 mg/jour en 3 prises de 1000 mg (matin, midi et soir).

Il faut noter que les patients pour lesquels la dose de 3000 mg/jour de metformine n'aura pu être atteinte, quelle que soit la raison, et qui recevront une dose comprise entre 500 et 3000 mg/jour, ne seront pas sortis de l'étude. Les données de ces patients seront donc prises en compte dans l'analyse statistique finale.

Phase 3 : Arrêt du traitement par Metformine

V6 : Après 3 mois de traitement par metformine 3000 mg/jour, les patients seront vus en hôpital de jour (HDJ).

Les examens suivants seront réalisés pour déterminer l'évolution du patient :

- Test de marche de 6 minutes (T6M).
- Echographie trans-thoracique (ETT).
- Cathétérisme cardiaque droit.
- Explorations fonctionnelles respiratoires.
- Prélèvements sanguins (glycémie, proBNP, GDS, fonction rénale, ionogramme sanguin, bilan hépatique).

Au cours de cette visite, les unités de traitement dispensées à la visite précédente seront rapportées par le patient, comptabilisées puis renvoyées à la pharmacie.

Phase 4 : Réévaluation des patients à trois mois de l'arrêt du traitement par Metformine

V7 : Après trois mois d'arrêt du traitement, les patients seront convoqués en HDJ pour une nouvelle ETT, un test de marche de 6 minutes et des prélèvements sanguins.

Une fiche de fin d'étude sera remplie pour chaque patient.

CALENDRIER DE L'ETUDE

	V1 Visite d'inclusion	V2	V3	V4	V5	V6 arrêt traitement	V7 Fin d'étude
Actions	J 0 (500mg)	J15 (1500mg)	J 30 (3000 mg)	J 60 (3000 mg)	J 90 (3000 mg)	J 120	J 210
Consentement éclairé	X						
Fax d'inclusion	X						
Examen clinique (détermination de la valeur de la dyspnée par la classification de la NYHA)	X	X	X	X	X	X	X
Test de marche de 6 minutes	X	X	X	X	X	X	X
Examens paracliniques	X		X	X	X	X	X
Cathétérisme cardiaque droit	X					X	
EFR avec étude de la diffusion du CO	X					X	
ETT	X					X	X
Biologie sanguine/ biochimie	X	X	X	X	X	X	X
Glycémie capillaire	X	X	X	X	X	X	
Lactacidémie / GDS (pH, pCO ₂ , PO ₂ , bicarbonates)	X		X	X	X	X	X
Ionogramme sanguin, Fonction rénale	X		X	X	X	X	X
Bilan hépatique	X		X	X	X	X	X
Pro-BNP	X		X	X	X	X	X
Dispensation du traitement à l'étude	X	X	X	X	X	X	
Traitements concomitants	X	X	X	X	X	X	X
Observance		X	X	X	X	X	
Evénements indésirables		X	X	X	X	X	X

6.3 Identification de toutes les données sources ne figurant pas dans le dossier médical

Les données à recueillir directement dans les cahiers d'observation comprennent les examens réalisés en hôpital de jour, ainsi que les données démographiques du patient et l'historique de sa pathologie :

- Données démographiques du patient (âge, sexe, poids).
- Etiologie de l'HTAP, classe fonctionnelle NYHA de l'HTAP.
- Traitements concomitants.
- Posologie de la metformine.
- Les données des tests de marche de six minutes (distance parcourue, désaturations à l'effort, fréquence cardiaque, dyspnée ressentie par le patient).
- Les données échographiques (fraction d'éjection du ventricule gauche, pression artérielle systolique, débit cardiaque, diamètre de la veine cave inférieure, diamètre télédiastolique du ventricule droit, présence ou non d'un épanchement péricardique).
- Les données du cathétérisme cardiaque droit (index cardiaque, débit cardiaque, résistances vasculaires pulmonaires, pression artérielle pulmonaire systolique, diastolique et moyenne, pression moyenne dans l'oreillette droite, fréquence cardiaque).
- Les données des EFR (VEMS, rapport de Tiffeneau, diffusion du CO).
- Le suivi de la proBNP.

6.4 Règles d'arrêt de la participation d'une personne

6.4.1 Critères d'arrêt prématuré de la participation d'une personne à la recherche

L'arrêt de participation à l'étude est défini par :

- La volonté du patient de se retirer de l'étude (retrait de consentement).
- Le décès.
- La décompensation de l'HTAP, avec l'apparition de signe d'insuffisance cardiaque droite ou gauche (œdème des membres inférieurs, dyspnée) nécessitant une hospitalisation avec des traitements diurétiques intraveineux, de la dobutamine et/ou une majoration des besoins en oxygène...
- En cas de survenue d'une maladie intercurrente inflammatoire ou infectieuse.
- En cas de dégradation clinique nécessitant une prise en charge en milieu hospitalier.

Lorsqu'un patient sera sorti de l'étude, les données le concernant ne seront plus recueillies. Par contre, les patients sortis d'étude, reprendront le rythme habituel des consultations pour leur pathologie, soit tous les trois à quatre mois en état stable.

Les patients perdus de vue sont rares dans ce type de population, car leur survie nécessite un suivi et un traitement réguliers dans un centre de compétence de l'HTAP.

6.4.2 Procédures d'arrêt prématuré de la participation d'une personne à la recherche

Un patient sorti d'étude sera **revu systématiquement un mois** après sa sortie d'étude.

La raison de sa sortie d'étude sera précisée dans le suivi du patient.

En cas de sortie d'étude suite à un EI grave, le patient sera surveillé jusqu'à résolution.

Pour les modalités et la durée du suivi des personnes ayant arrêté prématurément l'étude, se reporter à la section statistique.

6.4.3 Critères d'arrêt d'une partie ou de la totalité de la recherche (hors considérations biostatistiques)

La durée de l'étude est estimée à 2 ans, plus un an d'analyse et de publication.

Sur décision de l'autorité compétente, du CPP, du promoteur ou de l'investigateur coordonnateur, l'étude peut être interrompue (faute de recrutement, question devenue obsolète...)

En cas d'arrêt prématuré de l'étude, l'information sera transmise dans un délai de 15 jours à l'autorité compétente et au CPP.

Pour compléter cette partie, se référer à la section « statistiques » qui présente les critères statistiques d'arrêt de la recherche.

7. DATA MANAGEMENT ET STATISTIQUES

7.1 Recueil et traitement des données de l'étude

7.1.1 Recueil des données

Un cahier d'observation (CRF) sera créé par patient. Toutes les informations requises par le protocole doivent être fournies dans le CRF. Il reprendra les différentes étapes de la prise en charge du patient dans le protocole. Il doit comprendre les données nécessaires pour confirmer le respect du protocole, déceler les écarts majeurs au protocole et toutes les données nécessaires aux analyses définies en 9.

7.1.2 Codage des données

En signant ce protocole, l'investigateur principal et l'ensemble des co-investigateurs s'engagent à maintenir confidentielles les identités des patients ou patientes qui ont participé à l'étude.

La première lettre du nom, la première lettre du prénom et la date de naissance seront les seules informations qui figureront sur le cahier d'observation (CRF) et qui permettront de rattacher à posteriori le CRF au patient.

Le promoteur est également tenu de rendre anonyme tous les documents qu'il pourrait avoir en sa possession (compte-rendus d'examens d'imagerie, de biologie, ...) qui seraient joints au CRF.

7.1.3 Traitement des données

La collecte des données cliniques reposera sur la mise en place d'une base de données cliniques et la création de masques de saisie à l'image du cahier d'observation en conformité avec le protocole et les réglementations actuellement en vigueur.

La Structure de la base de données et des écrans de saisie sera approuvée par le promoteur de l'essai.

7.2 Statistiques

La responsable des analyses statistiques sera Véronique Sébille (Plateforme de Biométrie - Cellule de Promotion de la Recherche Clinique, CHU de Nantes et EA 4275). Le logiciel SAS 9.1 sera utilisé pour l'ensemble des analyses.

7.2.1 Description des méthodes statistiques prévues, y compris du calendrier des analyses intermédiaires prévues

L'ensemble des analyses sera ajusté sur la dose de traitement réellement reçue.

Selon la normalité des distributions des variables quantitatives étudiées, attestée par un test de Kolmogorov-Smirnov, un test paramétrique ou non paramétrique apparié sera utilisé pour la comparaison entre deux temps donnés : V1 et V6 pour le critère de jugement principal et les données hémodynamiques.

La diminution du degré de la dyspnée évaluée par la classe fonctionnelle de la NYHA entre V1 et V6 sera évaluée par un test apparié de Mac Nemar.

Pour l'analyse des variables quantitatives recueillies au cours du temps (entre V1 et V7), des modèles à effets aléatoires seront utilisés afin de prendre en compte la variabilité inter-individuelle modélisée via les effets aléatoires (suivant l'idée que les patients représentent un échantillon aléatoire d'une population plus vaste) ainsi que la variabilité intra-individuelle modélisée à travers l'erreur de mesure ; l'effet temps sera testé.

7.2.2 Justification statistique du nombre d'inclusions

Chez des patients atteints d'HTAP traités par Metformine, une amélioration d'au moins 35 m de la distance parcourue lors du test de marche de 6 minutes est attendue entre la visite V1 et V6. D'après l'étude de la littérature [9, 10, 12], si l'on suppose un écart-type de cette différence de l'ordre de 60 m, il est nécessaire d'inclure 33 patients pour garantir au test apparié un risque α (bilatéral) à 5 % et une puissance de 95 %.

7.2.3 Degré de signification statistique prévu

Le degré de signification statistique sera fixé à 5%.

7.2.4 Critères statistiques d'arrêt de la recherche

Non applicable.

7.2.5 Méthode de prise en compte des données manquantes, inutilisées ou non valides

Les données manquantes seront décrites en termes d'effectifs et pourcentages correspondants à chaque temps d'étude.

Les patients qui auront arrêté l'étude prématurément (décompensation de l'HTAP, apparition d'une surcharge nécessitant une hospitalisation avec des traitements diurétiques intra-veineux), et pour lesquels il y aura des données manquantes ne seront pas remplacés. La gestion des données incomplètes se fera de la manière suivante à travers notamment des analyses de sensibilité permettant d'évaluer la robustesse des résultats en envisageant plusieurs stratégies d'imputation

des données manquantes : i) les données manquantes seront remplacées par la valeur la plus défavorable (par ex : 0 m dans le cas du test de marche de 6 minutes), ii) les données manquantes seront remplacées par la dernière valeur disponible, iii) des méthodes d'imputation multiple seront utilisées pour remplacer les données manquantes.

7.2.6 Gestion des modifications apportées au plan d'analyse de la stratégie initiale

Le plan d'analyse de la stratégie initiale ne devrait pas être modifié.

7.2.7 Choix des personnes à inclure dans les analyses

Les analyses portant sur le critère principal et les critères secondaires seront pratiquées en intention de traiter et en per-protocole afin d'évaluer la robustesse des résultats.

7.2.8 Randomisation

Non applicable.

8. PHARMACOVIGILANCE ET GESTION DES EVENEMENTS INDESIRABLES

8.1 Définitions

8.1.1 Evénements indésirables

Un évènement indésirable est défini par toute manifestation nocive chez un patient ou un participant à un essai clinique, et n'est pas nécessairement lié au traitement prévu dans l'essai clinique.

Tous les événements indésirables rencontrés au cours de l'étude, qui sont constatés par le médecin ou rapportés par le patient, seront consignés dans le cahier d'observation dans la section prévue à cet effet.

L'intensité des événements indésirables sera cotée selon les critères choisis lors de la rédaction du protocole. Pour tout événement non noté dans la classification choisie, la cotation sera la suivante :

- 1 = bénin
- 2 = modéré
- 3 = sévère
- 4 = mettant en jeu le pronostic vital

8.1.2 Effets indésirables

On considère qu'il y a suspicion d'effet indésirable pour tout événement indésirable pour lequel un lien de causalité, quelque soit son importance (douteux, plausible, possible, certains) peut être envisagé soit avec le traitement à l'étude soit avec le comparateur ou le protocole.

8.1.3 Evénements ou effets indésirables graves

Un EI est considéré comme un EIG dès lors qu'il:

- Entraîne le décès,
- Met en jeu le pronostic vital,
- Entraîne une incapacité ou une invalidité temporaire ou définitive,
- Nécessite ou prolonge une hospitalisation du patient,
- Entraîne une anomalie congénitale ou néonatale,
- Est médicalement important (ce qui signifie : nécessite une prise en charge pour éviter l'aggravation vers un des stades ci-dessus).

8.1.4 Effets ou évènements indésirables attendus

Un événement indésirable attendu (EI A) est un évènement déjà mentionné dans la version la plus récente de la brochure investigateur ou dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP) le plus récent pour les médicaments ayant déjà une autorisation de mise sur le marché.

Rappel : Les effets ou évènements indésirables graves attendus feront l'objet d'une déclaration différée par le promoteur auprès des autorités compétentes.

8.1.5 Effets indésirables inattendus

Un effet indésirable grave inattendu (EIG I) est un évènement dont la nature, la sévérité, la fréquence ou l'évolution ne concorde pas avec les informations de la brochure investigateur la plus récente ou du résumé des caractéristiques du produit le plus récent pour les médicaments ayant une autorisation de mise sur le marché. Ces effets indésirables graves inattendus feront l'objet d'une déclaration dans les 7 ou 15 jours suivant leur prise de connaissance par le promoteur auprès des autorités compétentes.

Ainsi, si plus de 2 épisodes d'acidose lactique sont observés chez le même patient au cours de l'étude, cet évènement sera considéré comme un évènement indésirable grave inattendu, à déclarer aux autorités compétentes.

En cas de problème, les patients disposeront du numéro de téléphone du service où ils peuvent joindre l'un des quatre médecins référents de l'HTAP (Dr Haloun, Dr Horeau-Langlard, Dr Nourry, Dr Danner-Boucher) à Nantes de 9 H à 18 H. De plus, un interne de garde pourra répondre à leurs questions la nuit et les week-ends en cas de problème.

8.2 Paramètres d'évaluation de la sécurité

8.2.1 Critères d'évaluation particuliers liés à la sécurité

Afin de prévenir les événements indésirables lors du cathétérisme droit, le patient est hospitalisé en HDJ de pneumologie, son bilan d'hémostase est vérifié avant le geste (l'INR doit être < 2.5). Il est installé dans une salle d'examen prévue à cet effet dans le service d'hémodynamique (avec un chariot de réanimation à proximité), en décubitus dorsal, il est scopé et perfusé. Le geste est réalisé dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Le point de ponction est comprimé pendant plusieurs minutes voire plusieurs heures avec un pansement compressif ; il est vérifié par un médecin avant la sortie du patient du service.

Une surveillance régulière du bilan hépatique, de la fonction rénale et de l'INR est prévue à chaque visite du patient en HDJ ou en consultation. Une prescription d'INR est également donnée au patient en fonction de l'équilibre de son traitement (INR à réaliser toutes les semaines, tous les 15 jours, toutes les trois semaines ou une fois par mois).

8.2.2 Méthodes et calendrier prévus pour mesurer, recueillir et analyser les paramètres d'évaluation de la sécurité

La durée prévue de participation des personnes à l'étude est de 7 mois, dont 1 mois d'augmentation des posologies du traitement, 3 mois de traitement à dose optimale puis 3 mois de surveillance.

Au cours du suivi, trois hospitalisations de jours sont programmées et 4 consultations (cf calendrier de l'étude)

A chaque visite du patient, une surveillance est réalisée et écrite dans le cahier d'observation:

- Interrogatoire du patient :
 - Tolérance du traitement, arrêt, prise d'autres médicaments.
 - Signes fonctionnels : évaluation de la classe fonctionnelle de la dyspnée selon la classification de la NYHA, recherche de signes de gravité de l'HTAP : syncope/lipothymies, douleurs thoraciques, palpitations, asthénie.
- Clinique :
 - prise des constantes par l'infirmière (pouls, tension, saturation en oxygène, poids)
 - test de marche de six minutes réalisé par le kiné (surveillance de la saturation, de la fréquence cardiaque, de la distance parcourue et de la dyspnée pendant une marche de six minutes au rythme du patient)
 - examen clinique par le médecin (auscultation cardio-pulmonaire, recherche de signes d'insuffisance cardiaque droite ou gauche, d'hypo débit...)
- Biologique : glycémie capillaire, proBNP, GDS avec lactates artériels, ionogramme sanguin, fonction rénale, bilan hépatique, INR

Nous rappelons que ces examens (clinique, test de marche, biologie) sont réalisés tous les 3 mois environ en hôpital de jour ou en consultation, de façon classique pour le suivi d'un patient atteint d'HTAP. Dans le cadre de notre étude, cette surveillance sera plus rapprochée qu'un suivi classique.

8.3 Liste des EI attendus

Dans le cadre du présent protocole, les EIG attendus sont :

- Concernant le traitement à l'étude / le comparateur : la metformine [1, 3, 4, 15, 25]

Les risques liés aux effets indésirables de la metformine sont :

- Affections du système nerveux (fréquentes) : dysgueusie.
- Affections gastro-intestinales (très fréquentes) : troubles gastro-intestinaux (nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales et pertes d'appétit) survenant le plus souvent lors de l'instauration du traitement et régressant spontanément dans la majorité des cas. Elles peuvent être prévenues ou atténuées par l'augmentation progressive de la posologie et par l'administration du médicament au cours ou en fin de repas

- Affections de la peau et du tissu sous-cutané: réactions cutanées comme érythème, prurit, urticaire.
- Troubles du métabolisme et de la nutrition (très rare) : acidose lactique ; cet effet peut être favorisé par l'hypoxémie, le jeûne, comme par l'insuffisance hépatique, rénale et l'éthylisme chronique ; diminution de l'absorption de la vitamine B12 lors d'un traitement de longue durée ;
- Affections hépatobiliaires : cas isolés d'anomalies des tests de la fonction hépatique ou d'hépatite.
- Effets indésirables liés aux interactions : inhibiteurs de l'enzyme de conversion, diurétiques ... favorisent le risque de survenue d'acidose lactique. Il faut conseiller au patient qui reçoit la metformine d'éviter toute consommation excessive d'alcool aiguë ou chronique, car sa prise entraîne la potentialisation des effets de la metformine sur le métabolisme du lactate.

Afin de limiter et contrôler ces effets indésirables potentiels de la metformine, les patients participant à l'étude bénéficieront d'un contrôle de leur glycémie capillaire à chaque visite. La bonne tolérance du traitement sera évaluée par un bilan sanguin de la fonction rénale, un bilan sanguin hépatique, des gaz du sang, et une glycémie capillaire.

L'efficacité clinique sera évaluée par un test de marche de six minutes.

L'événement indésirable grave attendu le plus sévère est l'acidose lactique.

L'acidose lactique [1, 14, 15, 25] est favorisée par la cétose, un diabète mal équilibré, une intoxication éthylique chronique, une hypoxémie, une insuffisance hépatocellulaire, une insuffisance rénale et un jeûne prolongé.

L'acidose lactique est caractérisée par une dyspnée acidotique, des douleurs abdominales, et une hypothermie suivie d'un coma. Le diagnostic biologique repose sur une diminution du pH sanguin, une lactacidémie supérieure à 5 mmol/l, et sur une augmentation du trou anionique et du rapport lactates/pyruvates. En cas de suspicion d'acidose métabolique, il convient d'arrêter le chlorhydrate de metformine et d'hospitaliser le malade d'urgence.

Afin de contrôler cet EIG, le patient bénéficiera d'un contrôle de sa glycémie capillaire, ainsi que d'un bilan sanguin (fonction rénale, bilan hépatique, GDS, lactates) à 15 jours après la première prise de traitement, puis tous les mois pendant 3 mois.

De plus en cas de signes évocateurs d'acidose lactique, un contrôle biologique sera réalisé (fonction rénale, bilan hépatique, GDS, lactates)

- Concernant le protocole :

Risques liés au cathétérisme droit :

Le risque global d'infarctus du myocarde est de 0,07 à 0,6 %, d'accident vasculaire cérébral de 0,03 à 0,2 % et d'arythmie sévère de 0,6 à 1,3 %.

La fréquence des complications vasculaires majeures (occlusion nécessitant la chirurgie pour réparer une plaie artérielle ou faire une thrombectomie, hématome, pseudoanévrisme, fistule artérioveineuse) est de 0,40 %. Ces complications locales sont plus fréquentes chez les sujets âgés, les insuffisants cardiaques et les obèses.

Les complications systémiques vont du simple malaise vagal à la réaction vagale sévère qui peut conduire à l'arrêt cardiaque. Cet accident est spécialement à redouter dans la sténose valvulaire

aortique, l'hypertension artérielle pulmonaire primitive (ou par cardiopathie congénitale), la tamponnade.

D'autres complications graves peuvent s'observer : perforation, infarctus du myocarde, réaction anaphylactique au produit de contraste iodé ou à l'anesthésie.

Les complications mineures (4 %) sont l'hypotension transitoire vagale et la survenue d'une douleur angineuse de courte durée.

Afin de prévenir ces événements indésirables lors du cathétérisme droit, le patient est hospitalisé en HDJ de pneumologie, son bilan d'hémostase est vérifié avant le geste (l'INR doit être < 2.5). Il est installé dans une salle d'examen prévue à cet effet dans le service d'hémodynamique (avec un chariot de réanimation à proximité), en décubitus dorsal, il est scopé et perfusé. Le geste est réalisé dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Le point de ponction est comprimé pendant plusieurs minutes voire plusieurs heures avec un pansement compressif, il est vérifié par un médecin avant la sortie du patient du service.

Risques liés à l'anesthésie locale réalisée lors du cathétérisme cardiaque droit :

Les risques de l'anesthésie locale sont essentiellement des manifestations liées à un surdosage réel ou relatif. Ils se traduisent par des EI neurologiques (nervosité, agitation, bâillements, tremblements, appréhension, nystagmus, logorrhée, céphalées, nausées, bourdonnements d'oreilles, exceptionnellement convulsions puis dépression du système nerveux central) et plus rarement cardiovasculaires (tachycardie, bradycardie, dépression cardiovasculaire avec hypotension artérielle pouvant aboutir à un collapsus, troubles du rythme ; tachypnée, apnée pouvant aboutir à un arrêt cardiaque).

Le risque de manifestations allergiques ou d'hypersensibilité est rare, souvent rattaché à la présence de conservateur, limité par l'utilisation de médicament sans conservateur

La survenue de méthémoglobinémie n'est observée qu'en cas d'usage prolongé et répété.

Risques liés à la ponction veineuse :

Les risques sont très faibles : hématome, saignement au point de ponction, malaise vagal.

- Concernant les traitements spécifiques de l'HTAP [4] (RCP des médicaments en annexe) :

Les risques liés aux effets indésirables des traitements spécifiques de l'HTAP sont :

- **Sildénafil** : [26]
 - Infections et infestations sont fréquentes : Cellulite, grippe, sinusite
 - Affections hématologiques et du système lymphatique : Anémie fréquente.
 - Troubles du métabolisme et de la nutrition : Rétention hydrique (fréquente)
 - Affections psychiatriques : Insomnie, anxiété (fréquents)
 - Affections du système nerveux : les céphalées sont très fréquentes de même que les migraines, les tremblements, paresthésie, sensations de brûlure, hypoesthésie sont moins fréquents
 - Les affections oculaires sont fréquentes telles que les hémorragies rétinienne, les troubles de la vision, la vision trouble, la photophobie, la chromatopsie, la cyanopsie, l'irritation oculaire, et les yeux injectés de sang ;
 - Les affections de l'oreille et du labyrinthe sont fréquentes avec les vertiges
 - Affections vasculaires : Très fréquentes comme les Rougeurs de la face
 - Les affections respiratoires, thoraciques et médiastinales sont fréquentes : Bronchite, épistaxis, rhinite, toux, congestion nasale

- Les affections gastro-intestinales sont très fréquentes : Diarrhée, dyspepsie, gastrite, gastro-entérite, reflux gastro-oesophagien, hémorroïdes, ballonnement abdominal, sécheresse buccale
- Affections de la peau et du tissu sous-cutané sont fréquentes : Alopécie, érythème, sueurs nocturnes.
- Affections musculo-squelettiques et systémiques sont très fréquentes : Douleur des membres, myalgie, douleurs dorsales

▪ **Sitaxentan:[27]**

- Troubles du métabolisme et de la nutrition : les oedèmes périphériques sont fréquents..
- Affections du système nerveux : les céphalées sont très fréquentes, de même que l'insomnie et les étourdissements sont fréquents.
- Affections vasculaires : hémorragie gingivale (fréquent).
- Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales : la congestion nasale et l'épistaxis sont fréquentes.
- Affections gastro-intestinales sont fréquentes : nausée, constipation, douleur au niveau de la partie supérieure de l'abdomen, vomissement, dyspepsie et diarrhée.
- Affections de la peau et du tissu sous-cutané : bouffées vasomotrices (fréquent).
- Affections musculo-squelettiques et systémiques : les crampes musculaires sont fréquentes.
- Les troubles généraux à type de fatigue sont fréquents.

▪ **Bosentan : [28]**

- Les troubles gastro-intestinaux à type de nausées sont fréquents, les vomissements, douleurs abdominales et diarrhées sont peu fréquentes.
- Les troubles hépatobiliaires sont peu fréquents : élévations des transaminases avec hépatite et/ou ictère. Rares cirrhoses et insuffisances hépatiques. C'est pourquoi une surveillance hépatique régulière de ce traitement est nécessaire au long cours.
- Les troubles cutanés et des tissus sous-cutanés sont peu fréquents : réactions d'hypersensibilité incluant dermatite, prurit et rash.
- Les troubles sanguins et du système lymphatique sont fréquents : anémies ou diminution de l'hémoglobine, nécessitant dans quelques cas une transfusion sanguine. Cependant, la thrombocytopénie est peu fréquente.

▪ **Anticoagulants** : risque hémorragique en cas de surdosage ou de manifestation thrombo-embolique en cas de sous-dosage.

▪ **Diurétiques** : Il existe un risque de troubles ioniques avec l'existence de troubles du rythme en cas de dyskaliémie, de déshydratation et de risques immuno-allergiques. Un risque de déséquilibre glycémique en cas d'utilisation du furosémide (Lasilix®) à forte posologie, en association à la metformine peut également être observé.

▪ **Oxygénothérapie :**

- Chez l'insuffisant respiratoire chronique en particulier, possibilité de survenue d'apnée par dépression respiratoire liée à la suppression soudaine du facteur stimulant hypoxique par la brusque augmentation de la pression partielle d'oxygène au niveau des chémorécepteurs carotidiens et aortiques.

- L'inhalation de fortes concentrations d'oxygène peut être à l'origine de microatélectasies résultant de la diminution d'azote dans les alvéoles et de l'effet de l'oxygène sur le surfactant. L'inhalation d'oxygène pur peut augmenter les shunts intrapulmonaires de 20 à 30 % par atélectasie secondaire à la dénitrogénéation des zones mal ventilées et par redistribution de la circulation pulmonaire par vasoconstriction secondaire à l'élévation de la PO₂.
- Des crises convulsives ont été rapportées à la suite d'une oxygénothérapie avec une concentration en oxygène (FiO₂) de 100 % pendant plus de 6 heures, en particulier en administration hyperbare. De plus, des lésions pulmonaires peuvent survenir à la suite d'une administration de concentrations d'oxygène (FiO₂) supérieures à 80 %.

Il existe également un risque d'assèchement des muqueuses parfois mal toléré par les patients.

On s'attache plus spécialement à surveiller les risques principaux de cytolyse et d'insuffisance rénale :

- Cytolyse notamment chez les patients traités par bosentan : le patient sera sorti de l'étude si la cytolyse est supérieure à 5 fois la normale (ASAT et ALAT)
- Insuffisance rénale : le patient sera sorti de l'étude si la créatinine double par rapport à son chiffre de base.
- Déséquilibre du traitement anticoagulant : surdosage en antivitamine K avec risque hémorragique, sous dosage avec risque de progression de l'HTAP ou récurrence embolique chez les patients porteurs d'une HTAP post embolique.

Ainsi, une surveillance régulière du bilan hépatique, de la fonction rénale et de l'INR est prévue à chaque visite.

- Concernant la pathologie :

Risque lié à l'HTAP et ses complications :

- Risque de malaise, syncope, mort subite.
- Risque de choc cardiogénique par hypodébit

8.4 Gestion des événements indésirables

8.4.1 Notification des EIG

Tout EIG (sauf exception spécifiée dans le paragraphe précédent) nécessite le remplissage d'un rapport de survenue d'EIG, qu'il soit attendu ou non attendu. L'investigateur doit vérifier que les informations renseignées sur ce feuillet sont précises et claires (ne pas mettre d'abréviation...).

L'EIG doit être rapporté immédiatement (dans les 24 heures qui suivent sa mise en évidence par l'investigateur) au promoteur par fax (Cellule de Promotion de la Recherche Clinique, CHU de Nantes Fax 02 53 48 28 36).

Après réception de la notification d'un EIG, le promoteur évalue le caractère attendu ou inattendu de l'EIG. Il s'engage à transmettre aux autorités (EMA, AFSSAPS, CPP...) les EIG I dans un délai de 7 jours pour les décès et les événements indésirables graves comportant une

menace vitale (avec un délai de 7 jours pour transmettre tout complément) et dans un délai de 15 jours pour les autres évènements indésirables graves inattendus selon le format en vigueur.

Un fait nouveau intéressant la recherche ou le produit faisant l'objet de la recherche est susceptible de modifier l'évaluation du rapport bénéfice/risque et d'avoir un impact sur la sécurité des sujets participant à l'essai.

Ces faits nouveaux doivent être notifiés au promoteur et feront l'objet d'une déclaration aux autorités compétentes dans les 15 jours calendaires suivant leur réception par le promoteur.

Le promoteur enverra un tableau récapitulatif des EIG à chaque semestre au CPP et aux investigateurs de l'essai.

Les EIG seront enregistrés et conservés par le promoteur pour faire l'objet d'une déclaration via le rapport annuel de sécurité.

Le protocole, la note d'information au patient ainsi que le consentement pourront être amendés si de nouvelles informations concernant la sécurité sont mises à jour.

8.4.2 Comité de surveillance indépendant

Composition du comité de surveillance indépendant :

- Bruno Giraudeau, Méthodologiste, Centre d'Investigation Clinique INSERM 0202, CHRU de Tours
- Marc Humbert, Pneumologue, Hôpital Antoine Bécère, Centre de Référence HTAP, Clamart
- Pr Kantelip, Pharmacovigilant, Besançon

Ce comité se réunit une fois par an (réunion téléphonique) et donne son avis sur l'état des lieux (Rapport de sécurité). Les membres signent un accord de participation / confidentialité pour la durée de l'étude.

8.5 Modalités et durée du suivi des personnes suite à la survenue d'évènements indésirables

En cas d'EIG le patient sera sorti d'étude, les données le concernant ne seront plus recueillies. Le patient sera suivi de façon rapprochée jusqu'à résolution de l'EIG. Il reprendra son rythme habituel des consultations pour leur pathologie, soit tous les trois à quatre mois en état stable.

9. ASPECTS ADMINISTRATIFS ET REGLEMENTAIRES

9.1 Droit d'accès aux données et documents sources

Les données médicales de chaque patient ne seront transmises qu'au promoteur ou à toute personne dûment habilitée par celui-ci, et, le cas échéant, aux autorités sanitaires habilitées, dans les conditions garantissant leur confidentialité.

Le promoteur et les autorités de tutelle pourront demander un accès direct au dossier médical pour vérification des procédures et/ou des données de l'essai clinique, sans violer la confidentialité et dans les limites autorisées par les lois et réglementations.

Les données recueillies lors de l'essai pourront faire l'objet d'un traitement informatique, en conformité avec les exigences de la CNIL (conformité à la méthodologie de référence MR001).

9.2 Monitoring de l'essai

Le monitoring sera assuré par la Cellule de Promotion à la Recherche Clinique. Un Attaché de Recherche Clinique (ARC) se rendra régulièrement sur chaque site afin de procéder au contrôle qualité des données rapportées dans les cahiers d'observations.

L'ARC s'assure que les cahiers contiennent toutes les informations demandées et vérifie la conformité du cahier d'observation par rapport au protocole et à la réglementation en vigueur.

Le cahier d'observation de chaque patient doit être en adéquation avec les documents sources (= dossier patient). L'accès de l'ARC à ces documents doit être facilité. L'ARC est tenu à la confidentialité quant aux informations auxquelles il accède.

La fréquence des visites dépendra du nombre de patients inclus, du rythme d'inclusions et des difficultés constatées lors de la réalisation de l'étude et sera définie par le promoteur de l'étude.

Les visites de monitoring sur site seront organisées après rendez-vous avec l'investigateur. Les ARC devront pouvoir consulter :

- les cahiers de recueil de données des patients inclus,
- les dossiers médicaux et infirmiers des patients,
- le classeur investigateur.

Le protocole a été classé selon le niveau risque estimé pour le patient se prêtant à la recherche. Il sera suivi de la manière suivante :

Risque D : risque prévisible très élevé

9.3 Inspection / Audit

Dans le cadre de la présente étude, une inspection ou un audit pourra avoir lieu.

9.4 Considérations éthiques

9.4.1 Consentement éclairé écrit

L'investigateur s'engage à informer le patient de façon claire et juste du protocole et à lui demander un consentement éclairé et écrit (note d'information et formulaire de recueil de consentement en annexe). Il remettra au patient un exemplaire de la note d'information et un formulaire de recueil de consentement. Le patient ne pourra être inclus dans l'étude qu'après avoir pris connaissance de la note d'information et avoir signé et daté le formulaire de recueil de consentement. L'investigateur doit également signer et dater le formulaire de recueil de consentement. Ces deux documents seront délivrés sur papier en 2 exemplaires minimum afin que le patient et l'investigateur puissent chacun en garder un exemplaire. L'original de l'investigateur sera classé dans le classeur investigateur.

9.4.2 Comité de Protection des Personnes

Le promoteur s'engage à soumettre le projet d'étude à l'autorisation préalable d'un Comité de Protection des Personnes (CPP). Les informations communiquées portent d'une part sur les modalités et la nature de la recherche et d'autre part, sur les garanties prévues pour les patients participant à cet essai.

9.5 Amendements au protocole

Les demandes de modifications substantielles seront adressées par le promoteur pour autorisation ou information auprès de l'Afssaps et /ou au comité de protection des personnes concernées conformément à la loi 2004-806 du 9 août 2004 et ses arrêtés d'application.

Le protocole modifié devra faire l'objet d'une version actualisée datée.
Les formulaires d'information et de recueil consentement du patient devront faire l'objet de modification si nécessaire.

9.6 Déclaration aux autorités compétentes

Le présent protocole fera l'objet d'une demande d'autorisation auprès de l'Afssaps.

9.7 Financement et assurance

Le promoteur assure le financement de l'étude et souscrit une police d'assurance garantissant les conséquences pécuniaires de sa responsabilité civile, conformément à la réglementation.

9.8 Règles relatives à la publication

Une copie de la publication sera remise au CHU de Nantes, promoteur de l'étude qui sera nécessairement cité. Les auteurs seront déterminés au prorata du nombre de patients inclus. L'investigateur coordonnateur établit la liste des auteurs.

Le protocole a été déclaré dans la base publique américaine : clinicaltrial.gov.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Fantus, I.G., *Metformin's contraindications: needed for now*. CMAJ, 2005. **173**(5): p. 505-7.
2. Consoli, A., et al., *Initiating oral glucose-lowering therapy with metformin in type 2 diabetic patients: an evidence-based strategy to reduce the burden of late-developing diabetes complications*. Diabetes Metab, 2004. **30**(6): p. 509-16.
3. NR, *Résumé des caractéristiques du produit: METFORMINE*. VIDAL, 2009.
4. HAS, *Hypertension artérielle pulmonaire; Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare*. guide ALD, novembre 2007.
5. Montani, D., et al., *[Treatments for pulmonary arterial hypertension.]*. Rev Med Interne, 2004. **25**(10): p. 720-31.
6. Humbert, M., *Update in pulmonary arterial hypertension 2007*. Am J Respir Crit Care Med, 2008. **177**(6): p. 574-9.
7. Humbert, M., O. Sitbon, and G. Simonneau, *Treatment of pulmonary arterial hypertension*. N Engl J Med, 2004. **351**(14): p. 1425-36.
8. Cacoub, P., Z. Amoura, and D. Langleben, *[Treatment of pulmonary arterial hypertension by endothelin receptor antagonists in 2008]*. Rev Med Interne, 2008. **29**(4): p. 283-9.
9. Rubin, L.J., et al., *Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension*. N Engl J Med, 2002. **346**(12): p. 896-903.
10. Channick, R.N., et al., *Effects of the dual endothelin-receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary hypertension: a randomised placebo-controlled study*. Lancet, 2001. **358**(9288): p. 1119-23.
11. Faruqi, S., H. Fathi, and A.H. Morice, *Combination of sitaxentan and tadalafil for idiopathic pulmonary arterial hypertension following relapse on bosentan*. Int J Cardiol, 2009.
12. Galie, N., et al., *Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension*. N Engl J Med, 2005. **353**(20): p. 2148-57.
13. C Agard, M. Rolli-Derkinderen, E Dumas-de-La-Roque, M Rio, C Sagan, JP Savineau, G Loirand and P Pacaud, *Protective role of the antidiabetic drug Metformin against chronic experimental pulmonary hypertension*. Br J Pharmacol 2009 ; 158 : 1285-94.

14. Tahrani, A.A., et al., *Metformin, heart failure, and lactic acidosis: is metformin absolutely contraindicated?* BMJ 2007. **335**(7618): p. 508-12.
15. Jones, G.C., J.P. Macklin, and W.D. Alexander, *Contraindications to the use of metformin.* BMJ, 2003. **326**(7379): p. 4-5.
16. Xie, Z., et al., *Phosphorylation of LKB1 at serine 428 by protein kinase C-zeta is required for metformin-enhanced activation of the AMP-activated protein kinase in endothelial cells.* Circulation, 2008. **117**(7): p. 952-62.
17. Wiernsperger, N.F. and E. Bouskela, *Microcirculation in insulin resistance and diabetes: more than just a complication.* Diabetes Metab, 2003. **29**(4 Pt 2): p. 6S77-87.
18. Leverve, X.M., et al., *Mitochondrial metabolism and type-2 diabetes: a specific target of metformin.* Diabetes Metab, 2003. **29**(4 Pt 2): p. 6S88-94.
19. Gundewar, S., et al., *Activation of AMP-activated protein kinase by metformin improves left ventricular function and survival in heart failure.* Circ Res, 2009. **104**(3): p. 403-11.
20. Calvert, J.W., et al., *Acute metformin therapy confers cardioprotection against myocardial infarction via AMPK-eNOS-mediated signaling.* Diabetes, 2008. **57**(3): p. 696-705.
21. Kukidome, D., et al., *Activation of AMP-activated protein kinase reduces hyperglycemia-induced mitochondrial reactive oxygen species production and promotes mitochondrial biogenesis in human umbilical vein endothelial cells.* Diabetes, 2006. **55**(1): p. 120-7.
22. Ouslimani, N., et al., *Metformin decreases intracellular production of reactive oxygen species in aortic endothelial cells.* Metabolism, 2005. **54**(6): p. 829-34.
23. Loirand, G., P. Guerin, and P. Pacaud, *Rho kinases in cardiovascular physiology and pathophysiology.* Circ Res, 2006. **98**(3): p. 322-34.
24. Guilluy, C., et al., *Inhibition of RhoA/Rho kinase pathway is involved in the beneficial effect of sildenafil on pulmonary hypertension.* Br J Pharmacol, 2005. **146**(7): p. 1010-8.
25. McCormack, J., K. Johns, and H. Tildesley, *Metformin's contraindications should be contraindicated.* CMAJ, 2005. **173**(5): p. 502-4.
26. NR, *Résumé des caractéristiques du produit: REVATIO.* VIDAL, 2009.
27. NR, *Résumé des caractéristiques du produit :THELIN.* VIDAL, 2009.
28. NR, *Résumé des caractéristiques du produit : TRACLEER.* VIDAL, 2009.

CONCLUSION

L'HTAP est une maladie rare, de mauvais pronostic et actuellement incurable. Malgré les traitements vasodilatateurs pulmonaires spécifiques, la mortalité est élevée (50 % à 5 ans en moyenne) et la qualité de vie reste médiocre. Le développement de nouvelles molécules dans cette maladie est donc nécessaire.

Ce manuscrit présente les traitements vasodilatateurs spécifiques actuellement disponibles sur le marché avec leurs études cliniques de référence (prostacycline, antagonistes des récepteurs de l'endothéline 1, inhibiteurs de la phosphodiesterase de type 5).

De nombreuses molécules utilisant différentes voies métaboliques sont en cours d'études expérimentales et cliniques dans le traitement de l'HTAP. Le modèle expérimental d'HTAP le plus souvent utilisé est celui du rat exposé à la monocrotaline, qui est considéré comme un modèle standard d'HTAP idiopathique d'un point de vue physiopathologique applicable chez l'homme. Cependant, les modèles d'HTAP du rongeur, par exposition à la monocrotaline ou à l'hypoxie chronique sont des modèles imparfaits, qui nécessitent d'être améliorés. Ainsi, ces modèles animaux de recherche fondamentale, possèdent leurs limites. Une application des traitements chez l'homme est donc nécessaire. Il faut cependant noter que des résultats positifs chez l'animal sont loin de présager d'un résultat positif chez l'homme.

Les essais cliniques contrôlés randomisés sont de plus en plus difficiles à conduire dans des maladies rares au pronostic sévère telles que l'HTAP. Les protocoles de recherche clinique chez l'homme sont ainsi menés sous thérapeutique de référence, le traitement de fond ne doit pas être modifié afin de ne pas avoir de perte de chance pour le patient. Les patients bénéficient souvent de plusieurs thérapeutiques de référence. Ils sont polymédiqués afin d'optimiser l'effet synergique de ces traitements vasodilatateurs. On parvient donc à mettre en place des essais cliniques aboutissant à une escalade thérapeutique avec l'espoir d'avoir une molécule efficace sous traitement de référence optimal.

La metformine est utilisée chez les patients diabétiques de type 2, avec un bon profil de tolérance. Son mode d'action moléculaire précis reste incertain, mais elle est connue pour activer l'AMPkinase intracellulaire, enzyme de la régulation du métabolisme énergétique. Des effets de protection vasculaire, médiés par l'activation de l'AMPkinase, ont été décrits depuis 10 ans.

L'équipe nantaise du Professeur Pacaud a récemment décrit, sur 2 modèles d'HTAP chez le rat, un effet préventif et curatif avec la metformine. Il a été notamment montré que dans les artérioles pulmonaires du rat, la metformine améliore la fonction endothéliale, a un effet vasorelaxant et inhibe la vasoconstriction et la prolifération des cellules musculaires lisses.

Ce travail avait pour but de présenter le projet d'une étude pilote, originale, visant à identifier une nouvelle classe thérapeutique, bien tolérée et peu coûteuse pour le traitement de l'HTAP. Il s'agit d'une étude prospective ouverte non randomisée bicentrique durant 2 ans, qui devrait débuter fin 2010.

Selon les résultats de ce travail préliminaire, une étude contrôlée randomisée en double aveugle sera envisagée.

BIBLIOGRAPHIE

1. McLaughlin, V.V. and M.D. McGoon, *Pulmonary arterial hypertension*. Circulation, 2006. **114**(13): p. 1417-31.
2. Agard, C., et al., *Protective role of the antidiabetic drug metformin against chronic experimental pulmonary hypertension*. Br J Pharmacol, 2009. **158**(5): p. 1285-94.
3. Badesch, D.B., et al., *Medical therapy for pulmonary arterial hypertension: updated ACCP evidence-based clinical practice guidelines*. Chest, 2007. **131**(6): p. 1917-28.
4. McLaughlin, V.V., et al., *ACCF/AHA 2009 expert consensus document on pulmonary hypertension a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Expert Consensus Documents and the American Heart Association developed in collaboration with the American College of Chest Physicians; American Thoracic Society, Inc.; and the Pulmonary Hypertension Association*. J Am Coll Cardiol, 2009. **53**(17): p. 1573-619.
5. Humbert, M., et al., *Pulmonary arterial hypertension in France: results from a national registry*. Am J Respir Crit Care Med, 2006. **173**(9): p. 1023-30.
6. McLaughlin, V.V., et al., *Prognosis of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines*. Chest, 2004. **126**(1 Suppl): p. 78S-92S.
7. Provencher, S., et al., *Long-term outcome with first-line bosentan therapy in idiopathic pulmonary arterial hypertension*. Eur Heart J, 2006. **27**(5): p. 589-95.
8. Benza, R.L., et al., *Predicting survival in pulmonary arterial hypertension: insights from the Registry to Evaluate Early and Long-Term Pulmonary Arterial Hypertension Disease Management (REVEAL)*. Circulation, 2010. **122**(2): p. 164-72.
9. Kawut, S.M., et al., *Hemodynamics and survival in patients with pulmonary arterial hypertension related to systemic sclerosis*. Chest, 2003. **123**(2): p. 344-50.
10. Agard, C., A. Haloun, and M.A. Hamidou, *[Pulmonary arterial hypertension related to systemic sclerosis in 2008]*. J Mal Vasc, 2009. **34**(1): p. 7-15.
11. Simonneau, G., et al., *Updated clinical classification of pulmonary hypertension*. J Am Coll Cardiol, 2009. **54**(1 Suppl): p. S43-54.
12. Montani, D., et al., *[Pulmonary arterial hypertension]*. Rev Mal Respir, 2005. **22**(4): p. 651-66.
13. Humbert, M., et al., *Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension*. J Am Coll Cardiol, 2004. **43**(12 Suppl S): p. 13S-24S.

14. Humbert, M., *Update in pulmonary arterial hypertension 2007*. Am J Respir Crit Care Med, 2008. **177**(6): p. 574-9.
15. Fukata, Y., M. Amano, and K. Kaibuchi, *Rho-Rho-kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non-muscle cells*. Trends Pharmacol Sci, 2001. **22**(1): p. 32-9.
16. Takemoto, M., et al., *Rho-kinase mediates hypoxia-induced downregulation of endothelial nitric oxide synthase*. Circulation, 2002. **106**(1): p. 57-62.
17. Fagan, K.A., et al., *Attenuation of acute hypoxic pulmonary vasoconstriction and hypoxic pulmonary hypertension in mice by inhibition of Rho-kinase*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2004. **287**(4): p. L656-64.
18. Barst, R.J. and D. Stewart, *Conventional and targeted medical therapies*. Cardiol Young, 2009. **19 Suppl 1**: p. 28-34.
19. Barst, R.J., et al., *Updated evidence-based treatment algorithm in pulmonary arterial hypertension*. J Am Coll Cardiol, 2009. **54**(1 Suppl): p. S78-84.
20. Galie, N., et al., *Guidelines on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension. The Task Force on Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology*. Eur Heart J, 2004. **25**(24): p. 2243-78.
21. Vane, J. and R.E. Corin, *Prostacyclin: a vascular mediator*. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2003. **26**(6): p. 571-8.
22. Barst, R.J., et al., *A comparison of continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin) with conventional therapy for primary pulmonary hypertension. The Primary Pulmonary Hypertension Study Group*. N Engl J Med, 1996. **334**(5): p. 296-302.
23. Kuhn, K.P., et al., *Outcome in 91 consecutive patients with pulmonary arterial hypertension receiving epoprostenol*. Am J Respir Crit Care Med, 2003. **167**(4): p. 580-6.
24. Sitbon, O., et al., *Long-term intravenous epoprostenol infusion in primary pulmonary hypertension: prognostic factors and survival*. J Am Coll Cardiol, 2002. **40**(4): p. 780-8.
25. Sakuma, M., et al., *Long-term epoprostenol therapy in pulmonary artery hypertension*. Circ J, 2009. **73**(3): p. 523-9.
26. Badesch, D.B., et al., *Longterm survival among patients with scleroderma-associated pulmonary arterial hypertension treated with intravenous epoprostenol*. J Rheumatol, 2009. **36**(10): p. 2244-9.
27. Mubarak, K.K., *A review of prostaglandin analogs in the management of patients with pulmonary arterial hypertension*. Respir Med, 2010. **104**(1): p. 9-21.

28. Olschewski, H., et al., *Inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension*. N Engl J Med, 2002. **347**(5): p. 322-9.
29. Olschewski, H., et al., *Long-term therapy with inhaled iloprost in patients with pulmonary hypertension*. Respir Med, 2010.
30. Simonneau, G., et al., *Continuous subcutaneous infusion of treprostinil, a prostacyclin analogue, in patients with pulmonary arterial hypertension: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial*. Am J Respir Crit Care Med, 2002. **165**(6): p. 800-4.
31. Oudiz, R.J., et al., *Treprostinil, a prostacyclin analogue, in pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue disease*. Chest, 2004. **126**(2): p. 420-7.
32. Galie, N., et al., *Effects of beraprost sodium, an oral prostacyclin analogue, in patients with pulmonary arterial hypertension: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. J Am Coll Cardiol, 2002. **39**(9): p. 1496-502.
33. Barst, R.J., et al., *Beraprost therapy for pulmonary arterial hypertension*. J Am Coll Cardiol, 2003. **41**(12): p. 2119-25.
34. Roberts, K.E. and I.R. Preston, *Safety and tolerability of bosentan in the management of pulmonary arterial hypertension*. Drug Des Devel Ther, 2009. **3**: p. 111-8.
35. Humbert, M., et al., *Results of European post-marketing surveillance of bosentan in pulmonary hypertension*. Eur Respir J, 2007. **30**(2): p. 338-44.
36. Ulrich, S., et al., *Bosentan therapy for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. A national open label study assessing the effect of Bosentan on haemodynamics, exercise capacity, quality of life, safety and tolerability in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension (BOCTEPH-Study)*. Swiss Med Wkly, 2007. **137**(41-42): p. 573-80.
37. Bonderman, D., et al., *Bosentan therapy for inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension*. Chest, 2005. **128**(4): p. 2599-603.
38. Hoeper, M.M., et al., *Bosentan therapy for inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension*. Chest, 2005. **128**(4): p. 2363-7.
39. Channick, R.N., et al., *Effects of the dual endothelin-receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary hypertension: a randomised placebo-controlled study*. Lancet, 2001. **358**(9288): p. 1119-23.
40. Rubin, L.J., et al., *Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension*. N Engl J Med, 2002. **346**(12): p. 896-903.

41. Galie, N., et al., *Treatment of patients with mildly symptomatic pulmonary arterial hypertension with bosentan (EARLY study): a double-blind, randomised controlled trial*. Lancet, 2008. **371**(9630): p. 2093-100.
42. Dhillon, S. and G.M. Keating, *Bosentan: a review of its use in the management of mildly symptomatic pulmonary arterial hypertension*. Am J Cardiovasc Drugs, 2009. **9**(5): p. 331-50.
43. Barst, R.J., et al., *Sitaxsentan therapy for pulmonary arterial hypertension*. Am J Respir Crit Care Med, 2004. **169**(4): p. 441-7.
44. Barst, R.J., et al., *Treatment of pulmonary arterial hypertension with the selective endothelin-A receptor antagonist sitaxsentan*. J Am Coll Cardiol, 2006. **47**(10): p. 2049-56.
45. Langleben, D. and P. Cacoub, *A review of STRIDE-2 and STRIDE-2X: the case for selective endothelin receptor blockade*. Eur J Clin Invest, 2009. **39 Suppl 2**: p. 27-31.
46. Girgis, R.E., et al., *Selective endothelin A receptor antagonism with sitaxsentan for pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue disease*. Ann Rheum Dis, 2007. **66**(11): p. 1467-72.
47. Galie, N., et al., *Ambrisentan for the treatment of pulmonary arterial hypertension: results of the ambrisentan in pulmonary arterial hypertension, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter, efficacy (ARIES) study 1 and 2*. Circulation, 2008. **117**(23): p. 3010-9.
48. Blalock, S.E., et al., *Long-Term Outcomes With Ambrisentan Monotherapy in Pulmonary Arterial Hypertension*. J Card Fail, 2010. **16**(2): p. 121-127.
49. Oudiz, R.J., et al., *Long-term ambrisentan therapy for the treatment of pulmonary arterial hypertension*. J Am Coll Cardiol, 2009. **54**(21): p. 1971-81.
50. Galie, N., et al., *Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension*. N Engl J Med, 2005. **353**(20): p. 2148-57.
51. Galie, N., et al., *Tadalafil therapy for pulmonary arterial hypertension*. Circulation, 2009. **119**(22): p. 2894-903.
52. Humbert, M., et al., *Combination of bosentan with epoprostenol in pulmonary arterial hypertension: BREATHE-2*. Eur Respir J, 2004. **24**(3): p. 353-9.
53. McLaughlin, V.V., et al., *Randomized study of adding inhaled iloprost to existing bosentan in pulmonary arterial hypertension*. Am J Respir Crit Care Med, 2006. **174**(11): p. 1257-63.
54. Simonneau, G., et al., *Addition of sildenafil to long-term intravenous epoprostenol therapy in patients with pulmonary arterial hypertension: a randomized trial*. Ann Intern Med, 2008. **149**(8): p. 521-30.

55. Mathai, S.C., et al., *Addition of sildenafil to bosentan monotherapy in pulmonary arterial hypertension*. Eur Respir J, 2007. **29**(3): p. 469-75.
56. Keogh, A.M., et al., *Interventional and surgical modalities of treatment in pulmonary hypertension*. J Am Coll Cardiol, 2009. **54**(1 Suppl): p. S67-77.
57. Trulock, E.P., et al., *Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-third official adult lung and heart-lung transplantation report--2006*. J Heart Lung Transplant, 2006. **25**(8): p. 880-92.
58. McLaughlin, V.V., et al., *Addition of inhaled treprostinil to oral therapy for pulmonary arterial hypertension: a randomized controlled clinical trial*. J Am Coll Cardiol, 2010. **55**(18): p. 1915-22.
59. Kunieda, T., et al., *Effects of long-acting beraprost sodium (TRK-100STP) in Japanese patients with pulmonary arterial hypertension*. Int Heart J, 2009. **50**(4): p. 513-29.
60. Asaki, T., et al., *Structure-activity studies on diphenylpyrazine derivatives: a novel class of prostacyclin receptor agonists*. Bioorg Med Chem, 2007. **15**(21): p. 6692-704.
61. Kuwano, K., et al., *2-[4-[(5,6-diphenylpyrazin-2-yl)(isopropyl)amino]butoxy]-N-(methylsulfonyl)acetamide (NS-304), an orally available and long-acting prostacyclin receptor agonist prodrug*. J Pharmacol Exp Ther, 2007. **322**(3): p. 1181-8.
62. Kuwano, K., et al., *A long-acting and highly selective prostacyclin receptor agonist prodrug, 2-[4-[(5,6-diphenylpyrazin-2-yl)(isopropyl)amino]butoxy]-N-(methylsulfonyl)acetamide (NS-304), ameliorates rat pulmonary hypertension with unique relaxant responses of its active form, {4-[(5,6-diphenylpyrazin-2-yl)(isopropyl)amino]butoxy}acetic acid (MRE-269), on rat pulmonary artery*. J Pharmacol Exp Ther, 2008. **326**(3): p. 691-9.
63. Iglarz, M., et al., *Pharmacology of macitentan, an orally active tissue-targeting dual endothelin receptor antagonist*. J Pharmacol Exp Ther, 2008. **327**(3): p. 736-45.
64. Petersen, B., et al., *Inhalation of the ETA receptor antagonist LU-135252 selectively attenuates hypoxic pulmonary vasoconstriction*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2008. **294**(2): p. R601-5.
65. Uchino, T., et al., *Rescue of pulmonary hypertension with an oral sulfonamide antibiotic sulfoxazole by endothelin receptor antagonistic actions*. Hypertens Res, 2008. **31**(9): p. 1781-90.
66. Jing, Z.C., et al., *Vardenafil treatment for patients with pulmonary arterial hypertension: a multicentre, open-label study*. Heart, 2009. **95**(18): p. 1531-6.

67. Schermuly, R.T., et al., *Phosphodiesterase 1 upregulation in pulmonary arterial hypertension: target for reverse-remodeling therapy*. Circulation, 2007. **115**(17): p. 2331-9.
68. Dony, E., et al., *Partial reversal of experimental pulmonary hypertension by phosphodiesterase-3/4 inhibition*. Eur Respir J, 2008. **31**(3): p. 599-610.
69. Izikki, M., et al., *Effects of roflumilast, a phosphodiesterase-4 inhibitor, on hypoxia- and monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats*. J Pharmacol Exp Ther, 2009. **330**(1): p. 54-62.
70. Michelakis, E.D., *Soluble guanylate cyclase stimulators as a potential therapy for PAH: enthusiasm, pragmatism and concern*. Eur Respir J, 2009. **33**(4): p. 717-21.
71. Mittendorf, J., et al., *Discovery of riociguat (BAY 63-2521): a potent, oral stimulator of soluble guanylate cyclase for the treatment of pulmonary hypertension*. ChemMedChem, 2009. **4**(5): p. 853-65.
72. Ghofrani, H.A., et al., *Riociguat for chronic thromboembolic pulmonary hypertension and pulmonary arterial hypertension: a phase II study*. Eur Respir J, 2010.
73. Khoo, J.P., et al., *Pivotal role for endothelial tetrahydrobiopterin in pulmonary hypertension*. Circulation, 2005. **111**(16): p. 2126-33.
74. Francis, B.N., M.R. Wilkins, and L. Zhao, *Tetrahydrobiopterin (BH4) and the regulation of hypoxic pulmonary vasoconstriction*. Eur Respir J, 2010.
75. Chhina, M.K., et al., *Evaluation of imatinib mesylate in the treatment of pulmonary arterial hypertension*. Future Cardiol, 2010. **6**(1): p. 19-35.
76. Ghofrani, H.A., et al., *Imatinib in Pulmonary Arterial Hypertension Patients with Inadequate Response to Established Therapy*. Am J Respir Crit Care Med, 2010.
77. Klein, M., et al., *Combined tyrosine and serine/threonine kinase inhibition by sorafenib prevents progression of experimental pulmonary hypertension and myocardial remodeling*. Circulation, 2008. **118**(20): p. 2081-90.
78. Taraseviciene-Stewart, L., et al., *Simvastatin causes endothelial cell apoptosis and attenuates severe pulmonary hypertension*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2006. **291**(4): p. L668-76.
79. Wilkins, M.R., et al., *Simvastatin as a Treatment for Pulmonary Hypertension Trial (SiPHT)*. Am J Respir Crit Care Med, 2010.
80. Laudi, S., et al., *Serotonin transporter protein in pulmonary hypertensive rats treated with atorvastatin*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007. **293**(3): p. L630-8.

81. McMurtry, M.S., et al., *Statin therapy, alone or with rapamycin, does not reverse monocrotaline pulmonary arterial hypertension: the rapamycin-atorvastatin-simvastatin study*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007. **293**(4): p. L933-40.
82. Guerard, P., et al., *The HMG-CoA reductase inhibitor, pravastatin, prevents the development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension in the rat through reduction of endothelial cell apoptosis and overexpression of eNOS*. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2006. **373**(6): p. 401-14.
83. Wojciak-Stothard, B., *New drug targets for pulmonary hypertension: Rho GTPases in pulmonary vascular remodelling*. Postgrad Med J, 2008. **84**(993): p. 348-53.
84. Guilluy, C., et al., *RhoA and Rho kinase activation in human pulmonary hypertension: role of 5-HT signaling*. Am J Respir Crit Care Med, 2009. **179**(12): p. 1151-8.
85. Casey, D.B., et al., *Analysis of responses to the Rho-kinase inhibitor Y-27632 in the pulmonary and systemic vascular bed of the rat*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010. **299**(1): p. H184-92.
86. Jiang, B.H., et al., *Acute vasodilator effect of fasudil, a Rho-kinase inhibitor, in monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats*. J Cardiovasc Pharmacol, 2007. **49**(2): p. 85-9.
87. Mouchaers, K.T., et al., *Effective reduction of MCT-PAH by Fasudil. Comparison with Bosentan and Sildenafil*. Eur Respir J, 2010.
88. Fukumoto, Y., et al., *Acute vasodilator effects of a Rho-kinase inhibitor, fasudil, in patients with severe pulmonary hypertension*. Heart, 2005. **91**(3): p. 391-2.
89. Nagaoka, T., et al., *Inhaled Rho kinase inhibitors are potent and selective vasodilators in rat pulmonary hypertension*. Am J Respir Crit Care Med, 2005. **171**(5): p. 494-9.
90. Fukumoto, Y., S. Tawara, and H. Shimokawa, *Recent progress in the treatment of pulmonary arterial hypertension: expectation for rho-kinase inhibitors*. Tohoku J Exp Med, 2007. **211**(4): p. 309-20.
91. McNamara, P.J., et al., *Acute vasodilator effects of Rho-kinase inhibitors in neonatal rats with pulmonary hypertension unresponsive to nitric oxide*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2008. **294**(2): p. L205-13.
92. Dhaliwal, J.S., et al., *Analysis of pulmonary vasodilator responses to SB-772077-B [4-(7-((3-amino-1-pyrrolidinyl)carbonyl)-1-ethyl-1H-imidazo(4,5-c)pyridin-2-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-amine], a novel aminofurazan-based Rho kinase inhibitor*. J Pharmacol Exp Ther, 2009. **330**(1): p. 334-41.

93. Dumas de la Roque, E., J.P. Savineau, and S. Bonnet, *Dehydroepiandrosterone: A new treatment for vascular remodeling diseases including pulmonary arterial hypertension*. Pharmacol Ther, 2010. **126**(2): p. 186-99.
94. Jiang, Y., et al., *Apoptosis and inhibition of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway in the anti-proliferative actions of dehydroepiandrosterone*. J Gastroenterol, 2005. **40**(5): p. 490-7.
95. Jiang, Y.Z., et al., *[Dehydroepiandrosterone sulfate and insulin of prepubertal girls born small for gestational age]*. Zhonghua Er Ke Za Zhi, 2006. **44**(1): p. 37-40.
96. Dessouroux, A., Y. Akwa, and E.E. Baulieu, *DHEA decreases HIF-1alpha accumulation under hypoxia in human pulmonary artery cells: potential role in the treatment of pulmonary arterial hypertension*. J Steroid Biochem Mol Biol, 2008. **109**(1-2): p. 81-9.
97. Oka, M., et al., *Dehydroepiandrosterone upregulates soluble guanylate cyclase and inhibits hypoxic pulmonary hypertension*. Cardiovasc Res, 2007. **74**(3): p. 377-87.
98. Homma, N., et al., *Involvement of RhoA/Rho kinase signaling in protection against monocrotaline-induced pulmonary hypertension in pneumonectomized rats by dehydroepiandrosterone*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2008. **295**(1): p. L71-8.
99. Bonnet, S., et al., *Dehydroepiandrosterone (DHEA) prevents and reverses chronic hypoxic pulmonary hypertension*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(16): p. 9488-93.
100. Bonnet, S., et al., *An abnormal mitochondrial-hypoxia inducible factor-1alpha-Kv channel pathway disrupts oxygen sensing and triggers pulmonary arterial hypertension in fawn hooded rats: similarities to human pulmonary arterial hypertension*. Circulation, 2006. **113**(22): p. 2630-41.
101. Bonnet, S., et al., *A mitochondria-K⁺ channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer growth*. Cancer Cell, 2007. **11**(1): p. 37-51.
102. McMurtry, M.S., et al., *Dichloroacetate prevents and reverses pulmonary hypertension by inducing pulmonary artery smooth muscle cell apoptosis*. Circ Res, 2004. **95**(8): p. 830-40.
103. Michelakis, E.D., et al., *Dichloroacetate, a metabolic modulator, prevents and reverses chronic hypoxic pulmonary hypertension in rats: role of increased expression and activity of voltage-gated potassium channels*. Circulation, 2002. **105**(2): p. 244-50.
104. Piao, L., et al., *The inhibition of pyruvate dehydrogenase kinase improves impaired cardiac function and electrical remodeling in two models of right ventricular hypertrophy: resuscitating the hibernating right ventricle*. J Mol Med, 2010. **88**(1): p. 47-60.

105. Nagendran, J., et al., *A dynamic and chamber-specific mitochondrial remodeling in right ventricular hypertrophy can be therapeutically targeted*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2008. **136**(1): p. 168-78, 178 e1-3.
106. Schweizer, W., *[Obstructive pulmonary arterial hypertension and Menocil]*. Praxis, 1969. **58**(22): p. 701-2.
107. Eddahibi, S. and S. Adnot, *[Serotonin and pulmonary arterial hypertension]*. Rev Mal Respir, 2006. **23 Suppl 2**: p. 4S45-4S51.
108. Eddahibi, S., et al., *Serotonin transporter overexpression is responsible for pulmonary artery smooth muscle hyperplasia in primary pulmonary hypertension*. J Clin Invest, 2001. **108**(8): p. 1141-50.
109. Marcos, E., et al., *Serotonin-induced smooth muscle hyperplasia in various forms of human pulmonary hypertension*. Circ Res, 2004. **94**(9): p. 1263-70.
110. Weir, E.K., Z. Hong, and A. Varghese, *The serotonin transporter: a vehicle to elucidate pulmonary hypertension?* Circ Res, 2004. **94**(9): p. 1152-4.
111. Launay, J.M., et al., *Function of the serotonin 5-hydroxytryptamine 2B receptor in pulmonary hypertension*. Nat Med, 2002. **8**(10): p. 1129-35.
112. MacLean, M.R., et al., *5-hydroxytryptamine and the pulmonary circulation: receptors, transporters and relevance to pulmonary arterial hypertension*. Br J Pharmacol, 2000. **131**(2): p. 161-8.
113. Porvasnik, S.L., et al., *PRX-08066, a novel 5-hydroxytryptamine receptor 2B antagonist, reduces monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension and right ventricular hypertrophy in rats*. J Pharmacol Exp Ther, 2010. **334**(2): p. 364-72.
114. Eddahibi, S., et al., *Attenuated hypoxic pulmonary hypertension in mice lacking the 5-hydroxytryptamine transporter gene*. J Clin Invest, 2000. **105**(11): p. 1555-62.
115. Marcos, E., et al., *Serotonin transporter inhibitors protect against hypoxic pulmonary hypertension*. Am J Respir Crit Care Med, 2003. **168**(4): p. 487-93.
116. Guignabert, C., et al., *Serotonin transporter inhibition prevents and reverses monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats*. Circulation, 2005. **111**(21): p. 2812-9.
117. Kawut, S.M., et al., *Selective serotonin reuptake inhibitor use and outcomes in pulmonary arterial hypertension*. Pulm Pharmacol Ther, 2006. **19**(5): p. 370-4.
118. Golda, V., et al., *Terguride attenuates prolactin levels and ameliorates insulin sensitivity and insulin binding in obese spontaneously hypertensive rats*. Physiol Res, 2001. **50**(2): p. 175-82.

119. Kato, J., et al., *Adrenomedullin: a protective factor for blood vessels*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005. **25**(12): p. 2480-7.
120. Vizza, C.D., et al., *Increased plasma levels of adrenomedullin, a vasoactive peptide, in patients with end-stage pulmonary disease*. Regul Pept, 2005. **124**(1-3): p. 187-93.
121. Nagaya, N., et al., *Repeated inhalation of adrenomedullin ameliorates pulmonary hypertension and survival in monocrotaline rats*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003. **285**(5): p. H2125-31.
122. Qi, J.G., et al., *Chronic administration of adrenomedullin attenuates hypoxic pulmonary vascular structural remodeling and inhibits proadrenomedullin N-terminal 20-peptide production in rats*. Peptides, 2007. **28**(4): p. 910-9.
123. Nagaya, N., et al., *Haemodynamic and hormonal effects of adrenomedullin in patients with pulmonary hypertension*. Heart, 2000. **84**(6): p. 653-8.
124. Nagaya, N., et al., *Effects of adrenomedullin inhalation on hemodynamics and exercise capacity in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension*. Circulation, 2004. **109**(3): p. 351-6.
125. Harada-Shiba, M., et al., *Intratracheal gene transfer of adrenomedullin using polyplex nanomicelles attenuates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats*. Mol Ther, 2009. **17**(7): p. 1180-6.
126. Newman, J.H., J.A. Phillips, 3rd, and J.E. Loyd, *Narrative review: the enigma of pulmonary arterial hypertension: new insights from genetic studies*. Ann Intern Med, 2008. **148**(4): p. 278-83.
127. Reynolds, A.M., et al., *Bone morphogenetic protein type 2 receptor gene therapy attenuates hypoxic pulmonary hypertension*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007. **292**(5): p. L1182-92.
128. Hansmann, G., et al., *Pulmonary arterial hypertension is linked to insulin resistance and reversed by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation*. Circulation, 2007. **115**(10): p. 1275-84.
129. Hansmann, G., et al., *An antiproliferative BMP-2/PPARgamma/apoE axis in human and murine SMCs and its role in pulmonary hypertension*. J Clin Invest, 2008. **118**(5): p. 1846-57.
130. Matsuda, Y., et al., *[Effects of peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands on monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats]*. Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi, 2005. **43**(5): p. 283-8.

131. Crossno, J.T., Jr., et al., *Rosiglitazone attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial remodeling*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007. **292**(4): p. L885-97.
132. Bruemmer, D., et al., *Regulation of the growth arrest and DNA damage-inducible gene 45 (GADD45) by peroxisome proliferator-activated receptor gamma in vascular smooth muscle cells*. Circ Res, 2003. **93**(4): p. e38-47.
133. Bonnet, S., et al., *The nuclear factor of activated T cells in pulmonary arterial hypertension can be therapeutically targeted*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(27): p. 11418-23.
134. de Frutos, S., et al., *NFATc3 mediates chronic hypoxia-induced pulmonary arterial remodeling with alpha-actin up-regulation*. J Biol Chem, 2007. **282**(20): p. 15081-9.
135. Long, L., et al., *Altered bone morphogenetic protein and transforming growth factor-beta signaling in rat models of pulmonary hypertension: potential for activin receptor-like kinase-5 inhibition in prevention and progression of disease*. Circulation, 2009. **119**(4): p. 566-76.
136. Rabinovitch, M., *Elastase and the pathobiology of unexplained pulmonary hypertension*. Chest, 1998. **114**(3 Suppl): p. 213S-224S.
137. Todorovich-Hunter, L., et al., *Increased pulmonary artery elastolytic activity in adult rats with monocrotaline-induced progressive hypertensive pulmonary vascular disease compared with infant rats with nonprogressive disease*. Am Rev Respir Dis, 1992. **146**(1): p. 213-23.
138. Cowan, K.N., et al., *Complete reversal of fatal pulmonary hypertension in rats by a serine elastase inhibitor*. Nat Med, 2000. **6**(6): p. 698-702.
139. Vieillard-Baron, A., et al., *Inhibition of matrix metalloproteinases by lung TIMP-1 gene transfer or doxycycline aggravates pulmonary hypertension in rats*. Circ Res, 2000. **87**(5): p. 418-25.
140. Zaidi, S.H., et al., *Overexpression of the serine elastase inhibitor elafin protects transgenic mice from hypoxic pulmonary hypertension*. Circulation, 2002. **105**(4): p. 516-21.
141. McMurtry, M.S., et al., *Gene therapy targeting survivin selectively induces pulmonary vascular apoptosis and reverses pulmonary arterial hypertension*. J Clin Invest, 2005. **115**(6): p. 1479-91.
142. Morrell, N.W., et al., *Cellular and molecular basis of pulmonary arterial hypertension*. J Am Coll Cardiol, 2009. **54**(1 Suppl): p. S20-31.
143. Xia, L., et al., *Endothelial progenitor cells may inhibit apoptosis of pulmonary microvascular endothelial cells: new insights into cell therapy for pulmonary arterial hypertension*. Cytotherapy, 2009. **11**(4): p. 492-502.

144. Yip, H.K., et al., *Autologous transplantation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells attenuates monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats*. Crit Care Med, 2008. **36**(3): p. 873-80.
145. Umar, S., et al., *Allogenic stem cell therapy improves right ventricular function by improving lung pathology in rats with pulmonary hypertension*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009. **297**(5): p. H1606-16.
146. Wang, X.X., et al., *Transplantation of autologous endothelial progenitor cells may be beneficial in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension: a pilot randomized controlled trial*. J Am Coll Cardiol, 2007. **49**(14): p. 1566-71.
147. Thistlethwaite, P.A., X. Li, and X. Zhang, *Notch signaling in pulmonary hypertension*. Adv Exp Med Biol, 2010. **661**: p. 279-98.
148. Li, X., et al., *Notch3 signaling promotes the development of pulmonary arterial hypertension*. Nat Med, 2009. **15**(11): p. 1289-97.
149. Bailey, C.J. and R.C. Turner, *Metformin*. N Engl J Med, 1996. **334**(9): p. 574-9.
150. Scarpello, J.H. and H.C. Howlett, *Metformin therapy and clinical uses*. Diab Vasc Dis Res, 2008. **5**(3): p. 157-67.
151. Consoli, A., et al., *Initiating oral glucose-lowering therapy with metformin in type 2 diabetic patients: an evidence-based strategy to reduce the burden of late-developing diabetes complications*. Diabetes Metab, 2004. **30**(6): p. 509-16.
152. Jones, G.C., J.P. Macklin, and W.D. Alexander, *Contraindications to the use of metformin*. Bmj, 2003. **326**(7379): p. 4-5.
153. Salpeter, S.R., et al., *Meta-analysis: metformin treatment in persons at risk for diabetes mellitus*. Am J Med, 2008. **121**(2): p. 149-157 e2.
154. Abbasi, F., et al., *Effect of metformin treatment on multiple cardiovascular disease risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus*. Metabolism, 2004. **53**(2): p. 159-64.
155. Gundewar, S., et al., *Activation of AMP-activated protein kinase by metformin improves left ventricular function and survival in heart failure*. Circ Res, 2009. **104**(3): p. 403-11.
156. Leverve, X.M., et al., *Mitochondrial metabolism and type-2 diabetes: a specific target of metformin*. Diabetes Metab, 2003. **29**(4 Pt 2): p. 6S88-94.
157. Calvert, J.W., et al., *Acute metformin therapy confers cardioprotection against myocardial infarction via AMPK-eNOS-mediated signaling*. Diabetes, 2008. **57**(3): p. 696-705.
158. Kirpichnikov, D., S.I. McFarlane, and J.R. Sowers, *Metformin: an update*. Ann Intern Med, 2002. **137**(1): p. 25-33.

159. Demaille, D., et al., *Metformin prevents high-glucose-induced endothelial cell death through a mitochondrial permeability transition-dependent process*. Diabetes, 2005. **54**(7): p. 2179-87.
160. Xie, Z., et al., *Phosphorylation of LKB1 at serine 428 by protein kinase C-zeta is required for metformin-enhanced activation of the AMP-activated protein kinase in endothelial cells*. Circulation, 2008. **117**(7): p. 952-62.
161. Ouslimani, N., et al., *Metformin decreases intracellular production of reactive oxygen species in aortic endothelial cells*. Metabolism, 2005. **54**(6): p. 829-34.
162. Fantus, I.G., *Metformin's contraindications: needed for now*. Cmaj, 2005. **173**(5): p. 505-7.
163. Tahrani, A.A., et al., *Metformin, heart failure, and lactic acidosis: is metformin absolutely contraindicated?* Bmj, 2007. **335**(7618): p. 508-12.
164. Humbert, M., O. Sitbon, and G. Simonneau, *Treatment of pulmonary arterial hypertension*. N Engl J Med, 2004. **351**(14): p. 1425-36.
165. Badesch, D.B., et al., *Diagnosis and assessment of pulmonary arterial hypertension*. J Am Coll Cardiol, 2009. **54**(1 Suppl): p. S55-66.
166. Fleg, J.L., et al., *Assessment of functional capacity in clinical and research applications: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association*. Circulation, 2000. **102**(13): p. 1591-7.
167. Degano, B., et al., *Characterization of pulmonary arterial hypertension patients walking more than 450 m in 6 min at diagnosis*. Chest, 2010. **137**(6): p. 1297-303.
168. HAS, *Hypertension artérielle pulmonaire, protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare*. Haute autorité de santé, 2007.

ANNEXES

Annexe 1: Formulaire d'information destiné au patient

Evaluation de l'efficacité thérapeutique de la Metformine dans le traitement de l'HTAP

Madame, Monsieur,

Vous êtes atteint(e) d'une Hypertension Artérielle Pulmonaire et votre médecin vous a proposé de participer à la recherche biomédicale sus-citée.

But de l'étude

Malgré les avancées thérapeutiques, l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) reste actuellement une maladie rare et grave. De plus, l'ensemble des traitements disponibles à ce jour est coûteux et souvent d'utilisation difficile.

Des résultats encourageants obtenus par des études chez l'animal, ont démontré l'efficacité de la metformine dans le traitement de l'HTAP.

L'étude à laquelle nous vous proposons de participer a donc pour but de tester ce nouveau traitement, qui viendra s'ajouter à votre traitement actuel de l'HTAP mais ne viendra en aucun cas le remplacer.

Cette étude permettrait à terme de proposer un nouveau traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire.

Elle est réalisée dans le CHU de Nantes et de Bordeaux , sous la promotion du CHU de Nantes.

Déroulement et modalités pratiques de la recherche

L'étude à laquelle nous vous proposons de participer consiste en un suivi sur 7 mois, avec une visite tous les 15 jours pendant 1 mois, puis 1 visite par mois pendant 6 mois.

Si vous acceptez d'y participer, vous serez suivi(e) selon le calendrier suivant :

- Au cours de la première visite (V1), les examens suivants vous seront dispensés en hôpital de jour pour déterminer votre état de base et permettre votre suivi : Test de marche de 6 minutes, Echographie Trans-Thoracique, Cathétérisme droit, Explorations fonctionnelles respiratoires, Prélèvement sanguin (glycémie, proBNP, GDS, fonction rénale, bilan hépatique).

Vous recevrez le traitement par Metformine sous forme de comprimés, pour une durée de 15 jours, jusqu'à votre prochaine visite.

- Une visite de contrôle aura lieu 15 jours après la première prise de traitement (V2), afin de s'assurer que vous tolérez bien ce traitement. La Metformine pour les 15 jours de traitement suivants, vous sera alors délivrée.

- Vous serez ensuite revu(e) en consultation tous les mois.

Au cours de chaque visite (V3, V4, V5), un test de marche de 6 minutes, et un prélèvement sanguin vous seront effectués.

La Metformine pour chaque mois de traitement vous sera délivrée à chaque visite.

Il vous sera demandé de rapporter à chaque visite, les unités de traitement qui vous auront été distribuées lors de la visite précédente, même si elles sont vides.

- Après 3 mois de traitement stable par Metformine vous serez revu(e) en hôpital de jour (V6).

Les mêmes examens qu'à la première visite vous seront réalisés pour déterminer l'évolution de votre pathologie : Test de marche de 6 minutes, Echographie Trans-Thoracique, Cathétérisme droit, Explorations fonctionnelles respiratoires, Prélèvements sanguins.

- Enfin, après trois mois d'arrêt du traitement vous serez rappelé(e) en consultation (V7) pour une nouvelle Echographie Trans-Thoracique et un prélèvement sanguin, afin de contrôler votre état général.

Prélèvement sanguin : Une prise de sang classique sera réalisée en plus de celle habituellement pratiquée lors de votre suivi. A chaque visite, 5 tubes de sang (25 ml) seront prélevés.

Echographie cardiaque Transthoracique : Une échographie classique sera effectuée. Vous serez installé(e) torse nu, allongé(e) sur le côté. L'examineur, appliquera la sonde d'échographie recouverte d'un gel sur votre peau, suivant différentes positions. L'examen dure de dix minutes à une demi-heure. Il est totalement indolore et sans danger.

Cathétérisme cardiaque droit : une grosse veine sera ponctionnée pour permettre la montée d'un cathéter directement dans l'artère pulmonaire sous contrôle radiographique. Le cathéter est connecté à un capteur de pression permettant de visualiser en temps réel l'évolution de la pression selon le cycle cardiaque. Cet examen est très fiable, mais nécessite une hospitalisation et des conditions d'asepsie chirurgicale. Il permet la mesure des résistances pulmonaires, des pressions artérielles pulmonaires et du débit cardiaque dans le même temps.

Bien évidemment, aucun des frais liés à cette étude ne sera à votre charge.

Aucune indemnisation n'est envisagée pour vous en cas de participation à cette étude.

Les résultats des recherches n'étant pas interprétables au niveau individuel, ils ne vous seront pas communiqués. Vous pourrez par contre demander à ce que les résultats globaux de l'étude vous soient expliqués.

Cette recherche sera menée conformément aux bonnes pratiques de recherche clinique, aux principes éthiques de la déclaration d'Helsinki et en conformité avec le Code de la Santé Publique (Titre II du livre premier relatif aux recherches biomédicales).

Durée de l'étude

La durée de votre participation à l'étude est de 7 mois. La durée totale de l'étude pour l'ensemble des patients est estimée à 2 ans, plus un an d'analyse et de publication.

Votre participation à cette étude vous empêche de participer à une autre étude de manière simultanée.

Bénéfices et contraintes :

Dans le cadre de votre maladie, vous êtes déjà suivi régulièrement avec une mesure de spirométrie, une prise de sang, un test de marche de six minutes et une échographie cardiaque.

Votre participation à cette étude ne changera en rien votre suivi. Les visites seront plus rapprochées (tous les mois au lieu de tous les 3 à 4 mois), avec un prélèvement sanguin à chaque visite et un test de marche de six minutes. Un cathétérisme cardiaque droit sera réalisé au début et à la fin de l'étude, afin d'évaluer précisément les pressions dans l'artère pulmonaire et la fonction cardiaque. Cet examen est réalisé systématiquement dans le cadre de votre suivi, avant l'initiation d'un traitement spécifique de l'HTAP et souvent avant une modification thérapeutique ou pour une réévaluation précise de votre HTAP.

Bénéfice individuel :

Outre votre suivi rapproché pendant sept mois, cette étude vous donne la possibilité d'être traité par une molécule active sur votre maladie avec, si les résultats sont positifs, une possibilité d'amélioration des symptômes (dyspnée, hypoxémie, régression des oedèmes). L'amélioration de ces symptômes aura bien entendu un impact positif sur l'amélioration de votre qualité de vie.

Bénéfice collectif

L'étude de la Metformine dans le traitement de l'HTAP permettra d'avoir une meilleure connaissance de la physiopathologie de la maladie.

De plus, un autre médicament d'une autre classe thérapeutique que ceux déjà utilisés dans le traitement de cette pathologie pourra ainsi vous être proposé en supplément de votre prise en charge habituelle.

Enfin, ce médicament est un traitement ancien, qui a déjà largement été étudié et utilisé dans le traitement du diabète de type II. Le coût de la Metformine est donc assez faible par rapport aux traitements de référence actuels dans l'HTAP, ce qui représente un bénéfice supplémentaire, dans le cas d'un effet positif de cette molécule sur l'HTAP.

Risque et contraintes :

Les risques liés aux effets secondaires de la Metformine sont déjà connus et décrits. Ils sont, du plus fréquent au plus rare : anomalie du goût, malabsorption de la vitamine B12, acidose lactique, troubles digestifs, urticaire, prurit, érythème cutané, anomalies du bilan hépatique (Cas isolés), hépatite (Cas isolés).

Afin de limiter et contrôler ces effets indésirables potentiels de la Metformine, vous bénéficierez d'une mesure de votre glycémie à chaque visite.

La bonne tolérance du traitement sera évaluée par un bilan sanguin de la fonction rénale, un bilan sanguin hépatique, des gaz du sang, et une glycémie capillaire.

Les risques supplémentaires attendus sont ceux liés aux examens réalisés au cours de votre suivi.

On s'attend ainsi :

- A des hospitalisations pour aggravation de votre état général
- Lors de la prise de sang, les risques liés à la ponction veineuse sont très faibles (hématome, saignement au point de ponction, malaise vagal).
- Lors du cathétérisme droit : il peut survenir dans des cas très rares, un malaise vagal, une douleur angineuse, un infarctus du myocarde (0.3%), un accident vasculaire cérébral, une arythmie sévère.

Les mesures de précautions ainsi que les traitements d'urgence habituels seront donc pris pour pallier toute complication.

Consentement de participation et possible retrait de l'étude

Vous êtes libre de participer ou non à cette étude. Si vous deviez changer d'avis ultérieurement, vous pourriez interrompre votre participation sans aucun préjudice quant à la qualité de votre prise en charge médicale. De même, le cas échéant les organisateurs pourraient être amenés à interrompre l'étude de leur propre initiative. En cas de retrait de l'étude, votre consentement ne déchargera en rien l'investigateur et le CHU de Nantes de leurs responsabilités.

De même, toute connaissance médicale ou information nouvelle qui pourrait survenir au cours de la recherche et de nature à remettre en question votre participation vous sera communiquée.

Protection des Personnes :

Le CHU de Nantes, promoteur de cette étude, a pris toutes les dispositions prévues par la loi pour la protection des personnes se prêtant à la recherche biomédicale (loi de santé publique du 09 août 2004) et a souscrit une assurance pour cette étude auprès de la SHAM.

Les modalités de ce protocole ont été soumises à autorisation de 2 instances lesquelles ont pour mission de vérifier la pertinence scientifique de l'essai, les conditions requises pour votre protection et le respect de vos droits :

- 1) l'autorité compétente (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé- AFSSAPS) a autorisé cet essai le
- 2) le Comité de Protection des Personnes (CPP) siégeant à a donné son avis favorable le

Les données recueillies au cours de l'étude seront conservées dans un fichier informatique respectant la loi « Informatique et Libertés » du 6 janvier 1978 modifiée en 2004. Les données médicales vous concernant ne seront transmises qu'au promoteur, et le cas échéant aux autorités sanitaires habilitées, dans des conditions garantissant leur confidentialité. Vous pouvez exercer vos droits d'accès à ces données et de rectification par l'intermédiaire du médecin de votre choix dans le respect des dispositions de l'article L.1111-7 du code de la santé publique.

Conformément à la loi n° 2004-806 du 09 août 2004 relative à la politique de santé publique, nous vous demandons votre consentement pour participer à ce protocole. Il vous est rappelé que vous n'êtes pas obligé(e) d'accepter cette étude, et que vous pouvez à tout moment décider de retirer votre consentement, sans nuire bien entendu à la qualité de vos soins.

En signant le formulaire de consentement, vous confirmez que vous avez lu et compris l'information contenue dans cette lettre et que vous acceptez de participer à cette étude conformément aux renseignements fournis.

Personne à contacter pour toute information relative à l'étude :

Médecin (nom, adresse, tél) :

Annexe 2 : Décision de promotion du CPP

PÔLE DIRECTION GÉNÉRALE ET STRATÉGIE

5, allée de l'Île Glorieuse
44063 Nantes cedex 1

T. 02 40 08 72 42
F. 02 40 08 71 57
direction.generale@chu-nantes.fr

DIRECTEUR GÉNÉRAL
Christiane Coudria

DIRECTEUR GÉNÉRAL ADJOINT
Hubert Jaspard

**COMMUNICATION ET
AFFAIRES GÉNÉRALES**
Sandrine Delage
DIRECTRICE

T. 02 40 08 72 42
F. 02 40 08 71 57

**AFFAIRES MÉDICALES ET
RECHERCHE**
Thierry Bois
DIRECTEUR

T. 02 40 08 72 45
F. 02 40 08 71 58

PLAN
Cécile Jaglin-Grimoupez
DIRECTRICE

T. 02 40 08 72 28
F. 02 40 08 72 33

USAGERS, RISQUES ET QUALITÉ
Nathalie Hobin-Sanchez
DIRECTRICE

T. 02 40 08 70 90
F. 02 40 08 70 64



Docteur HALOUN
Pneumologie
Hôpital G&R Laënnec
CHU de Nantes

Affaire suivie par

Christelle DIBON

Direction des Affaires Médicales et de la Recherche

Bureau Recherche

Tél. 02.53.48.28. 48

Fax. 02.53.48.28.36

BRD 10/6-V

Réf. CD – 10/1126

Nantes, le 03/09/2010

Objet : Décision de promotion

Vu les lois 2004-806 du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique et 2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique,

Vu le décret 2006-477 du 26 avril 2006,

Vu l'avis rendu par la Délégation Régionale à la Recherche Clinique et à l'innovation de Nantes,

le Centre Hospitalier Universitaire de Nantes accepte de se porter promoteur, conformément aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur, du protocole de recherche biomédicale intitulé :

« Evaluation de l'efficacité thérapeutique de la metformine dans le traitement de l'HTAP »

dont l'investigateur coordonnateur est le Docteur HALOUN, service de Pneumologie, CHU de Nantes.

Le dossier doit être soumis au CPP ainsi qu'à l'autorité compétente (Afssaps) dans les meilleurs délais.

Après autorisations et avant le début de la recherche, une visite de mise en place sera organisée par le Département promotion – accompagnement des projets du bureau recherche.

Lorsque toutes les démarches administratives auront été accomplies, le **promoteur informera** par courrier l'investigateur de la **possibilité de débiter les inclusions**.

Tout au long de l'étude, l'investigateur coordonnateur s'engage à répondre aux demandes du promoteur, notamment à adresser tout rapport intermédiaire qui lui serait demandé.

A la **fin de l'étude**, il conviendra d'adresser le **rapport final** au Département promotion – accompagnement des projets du bureau recherche.

Pour le Directeur Général
et par délégation,
le Directeur des Affaires Médicales
et de la Recherche
T. BIAIS *ps*

**INTERET DE LA METFORMINE DANS L'HYPERTENSION ARTERIELLE
PULMONAIRE : MISE EN PLACE D'UN ESSAI THERAPEUTIQUE**

RESUME

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une maladie rare, de mauvais pronostic et actuellement incurable malgré les traitements vasodilatateurs pulmonaires spécifiques. De nouvelles molécules présentées dans ce manuscrit sont en cours de développement à un niveau expérimental et clinique.

La metformine est utilisée chez les patients diabétiques de type 2, avec un bon profil de tolérance. Son mode d'action moléculaire précis reste incertain, mais elle est connue pour activer l'AMPkinase intracellulaire, enzyme de la régulation du métabolisme énergétique. L'équipe nantaise du Pr Pacaud a récemment décrit, sur 2 modèles d'HTAP chez le rat, un effet préventif et curatif avec la metformine. Ce travail a pour but de présenter une étude pilote prospective, ouverte, non randomisée, bicentrique, durant 2 ans ayant pour objectif d'évaluer l'efficacité de la metformine dans le traitement de l'HTAP chez l'homme.

Il est prévu d'inclure 33 patients atteints d'HTAP. Les critères d'inclusion sont : HTAP idiopathique ou secondaire à une connectivite, stable depuis au moins trois mois, en stade II ou III de la NYHA, en cours de traitement par anti-ET-1 et/ou sildénafil.

La metformine sera introduite progressivement sur 1 mois jusqu'à la dose de 3000 mg/j pendant 3 mois. Le critère de jugement principal de cette étude est l'évolution de la distance parcourue au T6M entre J0 et M4.

Il s'agit d'une étude pilote originale, qui devrait débuter fin 2010, visant à identifier une nouvelle classe thérapeutique, bien tolérée et peu coûteuse, pour le traitement de l'HTAP. Selon les résultats de ce travail préliminaire, une étude contrôlée randomisée en double aveugle sera envisagée.

MOTS- CLES

Hypertension artérielle pulmonaire, metformine, AMPkinase, protocole hospitalier de recherche clinique