

Appel A Projets III : formulaire de candidature

Nom du correspondant : [Isabelle Seyssiecq](#)

Nom du projet : [Mucus Flow For Life \(MF2L\)](#)

Résumé du projet (5 lignes en anglais): The aim of this project is to determine the rheological properties of real mucus. Using a new transportable rheometer working on sample volumes as low as 70 μ L, we propose an exhaustive experimental characterization and a modelling of real mucus rheology in the context of improving the clearance process of patients, either suffering from chronic pathologies (Severe Asthma, COPD or Cystic Fibrosis) or acute ones (such as COVID-19) that can lead to Severe Acute Respiratory Syndrom.

Volet(s) complémentaires demandé(s) : Non

Contenu scientifique (3 pages maxi)

Contexte scientifique :

Au sein de la population mondiale, il existe un taux d'incidence conséquent de pathologies respiratoires sévères qui peuvent être soit aiguës (comme le syndrome respiratoire aigu SARS-Cov-2 dû au virus Coronavirus 2), soit chroniques (liée à l'Asthme sévère, la Broncho Pneumopathie Chronique Obstructive (BPCO) ou la mucoviscidose). La prise en charge de ces pathologies respiratoires sévères soulève de nombreuses questions auxquelles les pouvoirs publics se doivent de répondre au mieux, en raison des forts enjeux sanitaires et économiques qui y sont associés [1].

La sensibilisation du grand public vis-à-vis de ces problématiques s'est largement développée avec la crise sanitaire que nous traversons depuis début 2020 suite à la pandémie de COVID 19. Dans ce contexte précis, environ 1/3 des patients admis en réanimation finissent par décéder pour des raisons majoritairement liées à un encombrement bronchique. En dehors des détresses respiratoires induites par des maladies virales ou infectieuses, il existe en outre un nombre non négligeable de patients souffrants de pathologies chroniques d'origine parfois génétique mais également liées, ou en tout cas largement exacerbées, par les problèmes de pollution de l'air.

Or, il est de fait que, dans les années à venir, en raison de l'effet synergique de l'augmentation de la population mondiale (notamment en zone urbaine) et de la pollution de l'air, l'ensemble de ces pathologies prendra encore davantage d'ampleur.

Tout cela fait du développement de traitements de ces maladies respiratoires sévères un enjeu majeur de santé publique et justifie l'intensification de la recherche dans ces domaines là.

Parmi les traitements possibles de ces maladies, nombre d'entre eux portent sur l'optimisation du désencombrement bronchique soit par des moyens « chimiques », lié à l'administration de principes actifs qui interagissent directement avec les propriétés rhéologiques du mucus

(réduction du réseau de mucines ou du réseau d'ADN notamment), ou encore « physiques », (solicitation mécanique du mucus pour faciliter son écoulement) en particulier grâce à des appareils d'assistance mécanique à la clairance [2].

En effet, d'un point de vue physiologique, au niveau de l'arbre bronchique, nombre de ces pathologies sont associées à un défaut de clairance qui provoque l'encombrement, lui-même lié à une modification rhéologique du mucus bronchique [3].

Comme il a été mis en évidence par Chanez [4] qui a contribué de manière extensive à une meilleure compréhension de la pathophysiologie de l'asthme sévère et des BPCO, ces maladies respiratoires sont avant tout liées à des dysfonctionnements de l'épithélium respiratoire, associés à des inflammations persistantes, des anomalies morphologiques de l'épithélium, et / ou une hypersécrétion de mucus ainsi qu'à une modification de ses propriétés rhéologiques [5]. Des études récentes ont montré des modifications physiologiques significatives et qualitativement équivalentes dans le cas de patients COVID sévères sous assistance respiratoire [6].

La fonction naturelle de clairance du mucus, gel biologique tapissant les voies respiratoires, est de capturer des particules étrangères pénétrant les voies aériennes, afin qu'enzymes et anticorps dégradent ces particules. Le mucus est ensuite transporté des poumons vers le pharynx via un « escalator » muco-ciliaire, pour être digéré ou expectoré. Dans des conditions pathologiques, les propriétés physiques, notamment rhéologiques, permettant d'assurer la fonction vitale de clairance sont entravées par des modifications de composition du mucus qui induisent une évolution défavorable de ses propriétés (augmentation de la viscosité apparente par exemple) [3, 5].

Ce travail s'inscrit dans le contexte général d'études menées depuis plusieurs années au sein d'un consortium de laboratoires d'Aix-Marseille Université parmi lesquels le M2P2 comme laboratoire membre de l'Institut, et le laboratoire C2VN (Centre de Recherche en CardioVasculaire et Nutrition) visant notamment à caractériser de manière extensive les propriétés physiques (en particulier rhéologiques) du mucus en lien avec le phénomène de clairance.

Ces études ont conduit les équipes d'Aix-Marseille Université à publier des résultats novateurs sur :

- la rhéologie et les propriétés thermo-physiques de simulants de mucus ([7] [8] [9] [14])
- L'émergence d'ondes métachronales sur les cils bronchiques et l'effet de l'hydrodynamique sur le transport muco-ciliaire ([10] [11] [12] [15]).

Dans le cadre d'une première thèse expérimentale soutenue au M2P2 en 2018, afin de s'affranchir des difficultés liées aux quantités disponibles, à la collecte ou à la contamination avec les mucus réels, le choix a été fait d'utiliser des simulants synthétiques préparés à partir de gels aqueux de glycoprotéines à différentes concentrations reproduisant la variété naturelle du mucus.

Une caractérisation rhéologique complète des simulants de mucus à différentes concentrations (mimant les différentes consistances de mucus réels, sains ou pathologiques) a été réalisée et a permis de proposer un modèle d'écoulement de Herschel-Bulkley, modifié

pour tenir compte de la déstructuration thixotrope (dépendant du temps et réversible) de tels gels [14].

Programme :

Etant donné le contexte qui vient d'être décrit, sur le plan expérimental, il est à présent indispensable de **valider la base de données obtenue sur fluides synthétiques (simulants de mucus) à l'aide d'expérimentations sur mucus réels visant à déterminer de manière exhaustive l'ensemble des propriétés rhéologiques de ces fluides (Viscoélasticité, Viscoplasticité, Thixotropie)**

En outre, il apparaît très intéressant de déterminer dans un mucus réel quelle est l'importance des principaux constituants sur la rhéologie finale mesurée.

Ainsi, le programme de cette étude peut être synthétisé en 3 tâches parallèles schématisées sur la figure (1).

A cette fin, un nouveau rhéomètre a été acquis par le laboratoire M2P2 en janvier 2020 grâce au financement de la région Sud et du LABEX MEC de Aix-Marseille Université. Ce rhéomètre Anton Paar MCR 302 équipé de géométries de petites tailles permet de réaliser des mesures sur des gels à partir de volumes d'environ 70µL ce qui est essentiel pour travailler avec des mucus réels. Il est de plus transportable (acquisition d'un compresseur mobile et d'une « flight-case » pour le rhéomètre) ce qui rend possible la réalisation de campagnes de mesures au « chevet » du patient à l'hôpital.

3 types de nouvelles expérimentations ont ainsi débuté en septembre 2021 suite au recrutement d'un ATER (Thomas Charpin) rattaché au M2P2 et affecté sur cette thématique de recherche.

- (1) Des mesures sur *mucus réel reconstitué* (réalisées au M2P2) afin de déterminer le rôle qualitatif et quantitatif des principaux constituants en caractérisant le mucus reconstitué à chaque nouvel ajout de constituant (Mucines / ADN / débris cellulaires...)
- (2) Des mesures sur *mucus réel produit In Vitro* (réalisées au M2P2) à partir de cultures cellulaires réalisées au C2VN issues de tissus prélevés sur des patients sains (donneur de greffe) ou atteints de maladie chronique (receveur de greffe).
- (3) Des mesures sur *mucus réel récolté In Vivo* lors de consultations et mesuré immédiatement sur site (déplacement du rhéomètre et du manipulateur à l'AP-HM).

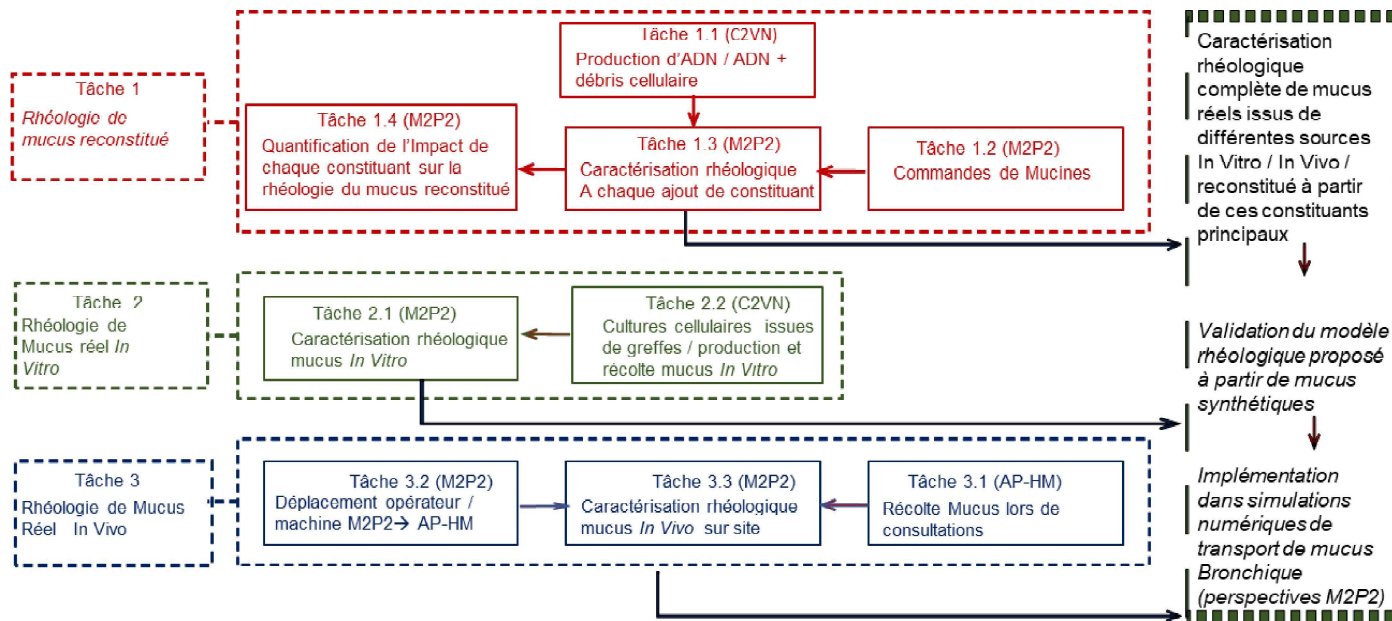


Figure 1 : Déroulement parallèle des 3 tâches de cette étude

Retombées attendues

Les mesures préliminaires réalisées au M2P2 sur du mucus réel produit *in vitro* par des cultures cellulaires issues de morceaux de greffes de trachées au laboratoire C2VN par Delphine Gras sont plus qu'encourageantes et montrent globalement un comportement qualitativement similaire par rapport à celui mesuré avec les simulants synthétiques lors de la thèse expérimentale de 2018.

Cette étude doit permettre de valider le modèle rhéologique (Herschel-Bulkley dépendant du temps) publié en 2020 grâce aux mesures sur mucus synthétiques, pour des mucus réels qu'ils soient issus de cultures *In Vitro* produits par des tissus de donneurs sains ou porteur de pathologies chroniques, ou directement prélevés *In Vivo* et dans ce cas généralement pathologiques.

Par la suite des simulations numériques de clairance bronchique conduites au M2P2 par Julien Favier et son équipe pourront intégrer un tel modèle rhéologique validé à partir de mesures exhaustives sur fluides réels.

Par ailleurs, notre approche de reconstitution d'un mucus à partir de ces constituants principaux (Mucines, ADN, débris cellulaires) doit permettre de définir de manière quantitative la part de chaque constituant dans la rhéologie globale du mucus. Cela est d'autant plus intéressant que cela pourrait dans le futur être corrélé avec l'efficacité de certains traitements « chimiques » pour l'aide au désencombrement qui permettent de dégrader soit le réseau de mucines (principes actifs à base d'acétylcystéine) soit le réseau d'ADN comme les traitements à base de DNase.

Une demande d'ANR est envisagée pour l'année prochaine avec d'autres équipes nationales, notamment les équipes de l'Inserm de Marseille et de l'AP-HM et l'Inserm de Lille

(équipe de Jean-Luc Desseyn) qui travaille sur le lien entre structuration des mucines et propriétés viscoélastiques du mucus.

Références

- [1] Bartolome R. Celli, *Pharmacological Therapy of COPD: Reasons for Optimism*, Chest, Volume 154, Issue 6, (December 2018), Pages 1404-1415
- [2] Tambascio, J and de Souza, LT and Lisboa, RM and Passarelli, RdCV and de Souza, HCD and Gastaldi, AC. *The influence of Flutter VPR1 components on mucus transport of patients with bronchiectasis*, Respiratory Medicine, (2011), 105:1316 - 1321.
- [3] Thornton, DJ and Sheehan, JK. *From mucins to mucus: toward a more coherent understanding of this essential barrier*. Proceedings Of The American Thoracic Society, (2004), 1(1):54 - 61.
- [4] Chanez P, *Severe asthma is an epithelial disease*. European Respiratory Journal, (2005), 25:945-946.
- [5] Fahy JV, Dickey BF, *Airway mucus function and dysfunction*. The New England journal of medicine; (2010), 363(23):2233-2247.
- [6] J Given, C Steele, *Inclusion of steps to enhance mucus clearance may provide benefit for symptomatic COVID patients by reducing total viral load, time to recovery, risk of complications and transmission risk*. Open Journal of Asthma. (07.2021). p.101 -DOI: 106. 10.17352/oja.000014
- [7] O Lafforgue, I Seyssiecq*, S Poncet, J Favier, *Rheological properties of synthetic mucus for airway clearance*, Journal of Biomedical Materials Research Part A, (2018), 106A, 386-396.
- [8] O Lafforgue, N Bouguerra, S Poncet*, I Seyssiecq, J Favier, S Elkoun, *Thermo-physical properties of synthetic mucus for the study of airway clearance*, Journal of Biomedical Materials Research Part A, (2017), 105A:3025-3033
- [9] Benkoussas H., and Seyssiecq-Guarente I., and Poncet S. *Étude expérimentale de l'influence de la dépression mécanique sur le transport et le comportement rhéologique du mucus bronchique synthétique dans une trachée artificielle*. (2015) Proceedings of the 2nd Conf. Int. Mécanique, Constantine, Algeria.
- [10] Khelloufi, M, Loiseau, E. Jaeger, M, Molinari, N, Chanez, P, Gras, D, Viallat, A *Spatiotemporal organization of cilia drives multiscale mucus swirls in model human bronchial epithelium*, Scientific Reports, Nature Publishing Group, (2018), 8, pp.2447.
- [11] Chateau, S., Favier, J., D'Ortona, U. & Poncet, S., *Transport efficiency of metachronal waves in 3D cilia arrays immersed in a two-phase flow* Journal of Fluid Mechanics, (2017), Vol. 824, pp. 931-961.
- [12] Chateau, S., D'Ortona, U., Poncet, S. & Favier, *Transport and mixing induced by beating cilia in human airways* J. Frontiers in Physiology, (2018), Vol. 9, 161, pp. 1-16.
- [13] Lafforgue Olivier, *Rheology of bronchial mucus: characterization and modeling for clearance helping by a medical device*, Aix-Marseille Univ, thesis, 5 juin 2018.
- [14] O Lafforgue, I Seyssiecq, S Poncet, J Favier, L Morin, *A Time-dependent Herschel-Bulkley Model for Synthetic Bronchial Mucus*. Progress in Canadian Mechanical Engineering. Volume 3. DOI: 10.32393/csme.2020.1253.
- [15] E Loiseau, S Gsell, A Nommick, C Jomard, D Gras, P Chanez, U D'Ortona, L Kodjabachian, J Favier & A Viallat. *Active mucus-cilia hydrodynamic coupling drives self-organization of human bronchial epithelium*. Nat. Phys. **16**, 1158-1164 (2020)