

(*) 16 October 2018 - EMA/818158/2018 - Assessment report -Referral under Article 31 of Directive 2001/83/EC resulting from pharmacovigilance data Quinolone and fluoroquinolone medicinal products for systemic and inhalation use Procedure number : EMEA/H/A-31/1452

1. Information on the procedure

(...)

2. Discussion scientifique

2.1. Introduction

Les fluoroquinolones et les quinolones (ci-après, « (fluoro)quinolones ») sont une classe d'agents antibactériens de synthèse utilisés en pratique clinique depuis 1961. Les premières substances utilisées de cette classe (à commencer par l'acide nalidixique) sont non fluorées, ne possèdent qu'un spectre d'activité étroit sur des bactéries à Gram négatif et ont pour la plupart été remplacées en pratique clinique par des antibiotiques plus récents. Les substances les plus récentes (à commencer par la norfloxacine) possèdent un spectre d'activité de plus en plus large et ont un atome de fluor lié à l'atome de carbone C-6 de leur structure annulaire de base, d'où le nom fluoroquinolones. Ces substances inhibent la synthèse de l'ADN bactérien en le liant aux enzymes topo-isomérases intracellulaires et en formant ainsi des complexes médicament-enzyme-ADN.

Les fluoroquinolones ont été sujettes à plusieurs procédures d'arbitrage de la part l'Union européenne (UE). Après une réévaluation au niveau européen, les indications pour la ciprofloxacine, la moxifloxacine et la levofloxacine ont été restreintes (respectivement en 2008, 2007-2009 et 2012).

Cette procédure d'arbitrage liée à des problématiques de sécurité (pharmacovigilance) a pour objectif d'étudier en détail l'impact des effets indésirables durables, invalidants et potentiellement irréversibles à ces médicaments sur la balance bénéfice-risque des quinolones et fluoroquinolones utilisées par voie systémique ou par inhalation.

Bien que les effets indésirables soient mentionnés dans les notices d'information européennes des (fluoro)quinolones, le degré de sévérité et la persistance de ces effets connus n'ont encore fait l'objet d'une évaluation systématique au niveau de l'UE.

Cette réévaluation conduite par l'UE a analysé les niveaux de sévérité et de persistance de ces réactions indésirables durables, invalidantes et potentiellement irréversibles ainsi que leur impact sur la balance bénéfice-risque globale des quinolones et fluoroquinolones à utilisation systémique ou par inhalation et le besoin de mesures adaptées de réduction des risques.

2.2. Aspects non cliniques

L'examen des données non cliniques disponibles a pour objectif d'évaluer l'éventuelle relation de cause à effet entre l'utilisation de ces substances et les effets indésirables durables, invalidants et potentiellement irréversibles constatés lors de l'évaluation de sécurité menée par le Comité pour l'évaluation du risque en matière de Pharmacovigilance (PRAC), à savoir les atteintes tendineuses, les troubles du système nerveux, les neuropathies, les phototoxicité et des atteintes vasculaires. Elle prend également en compte les données fournies par les titulaires des autorisations de mise sur le marché (AMM) au cours de la procédure.

La majorité des publications scientifiques portaient sur la ciprofloxacine, la levofloxacine et l'ofloxacine, qui sont les fluoroquinolones majoritairement utilisées en clinique. En se basant sur les données disponibles, le PRAC a estimé que les mécanismes potentiels des troubles mentionnés ci-dessus pouvaient concerner toutes les (fluoro)quinolones (effet de classe).

Atteintes des tendons

Les mécanismes suivants peuvent soutenir une relation de cause à effet entre les (fluoro)quinolones et les lésions aux tendons :

- Stress oxydatif (surproduction de ROS)

On pense que les atteintes tendineuses qui surviennent au cours de traitements par les quinolones proviennent principalement d'un stress oxydatif (Lowes et coll., 2009). De nombreuses études non cliniques ont montré que les quinolones entraînaient une augmentation de la production de ROS, ce qui conduisait à des dommages cellulaires. La surproduction et l'accumulation de ROS provoquent des dommages au niveau de l'ADN mitochondrial, ce qui libère les protéines chargées de l'activation des caspases dans le cytosol, ce qui conduit à une apoptose et par conséquent à un affaiblissement des tissus tendineux. Les ROS ont également des effets cytotoxiques sur les composants de la matrice extracellulaire (MEC) ; ils peuvent donc provoquer une oxydation des acides aminés dans le collagène, ce qui a pour conséquence de modifier la conformation des protéines, et augmenter les métalloprotéinases matricielles (MMP) qui, par synergie, peuvent augmenter le niveau de toxicité. Les MMP ont des propriétés de dégradation critiques dans les mécanismes d'homéostasie et de réponse aux lésions des tissus tendineux (Pouzaud et coll., 2004). En outre, on pense que les tendons âgés ont un métabolisme ralenti et des systèmes d'élimination des ROS moins efficaces, ce qui compromet la guérison (Kaleagasioglu and Olcay, 2012).

Il a été émis comme hypothèse que les effets cytotoxiques directs de la surproduction de ROS sur les composants de la MEC et les cellules cibles, ainsi que les effets cytotoxiques indirects induits par l'augmentation des MMP et le dysfonctionnement mitochondrial, agissent en synergie comme facteur causal des effets indésirables durables, invalidants et potentiellement irréversibles des quinolones.

- Dommages mitochondriaux

Les dommages au niveau des mitochondries survenant lors d'un traitement par des quinolones peuvent provoquer des lésions tendineuses, cartilagineuses ou osseuses (Stahlmann et coll., 2013 ; Lowes et coll., 2009 ; Barnhill et coll., 2012). Les (fluoro)quinolones inhibent les activités des complexes formant la chaîne de transport des électrons mitochondriaux qui conduisent à l'inhibition de la respiration des mitochondries et à la réduction de la production d'ATP (Song et coll., 2016). Les mitochondries étant la cible principale du stress oxydant, la surproduction de ROS induite par les quinolones peut en outre provoquer des dommages oxydants à l'ADNmt chez les mammifères (Kalghatgi et coll., 2013). De plus, les mitochondries participent à l'apoptose en libérant du cytochrome c qui sert à recruter et activer les caspases, ce qui conduit à l'apoptose, et par conséquent aux lésions des tissus affectés (Kaleagasioglu et Olcay, 2012).

- Inhibition de la prolifération des ténocytes

Des études *in vitro* ont montré que la ciprofloxacine intervient dans l'inhibition de la prolifération cellulaire (Williams et coll., 2000) et interrompt le cycle cellulaire G2/M des ténocytes. On a également observé une interruption de la mitose avec chromosomes mal alignés (Tsai et coll., 2009a).

- Inhibition de la migration des ténocytes

La ciprofloxacine inhibe également la migration des ténocytes lors d'un processus probablement régi par l'inhibition de la phosphorylation de la Focal-Adhesion Kinase (FAK) (Tsai et coll., 2009a). Dans ce contexte, on a suggéré que les quinolones nuisent également au processus de guérison en raison de ces deux mécanismes, à savoir l'inhibition de la prolifération et de la migration des ténocytes au niveau du site de la lésion (Kaleagasioglu et Olcay, 2012).

- Augmentation de l'expression des métalloprotéinases matricielles (MMP)

En général, les MMP sont des enzymes présentant des propriétés de dégradation qui jouent un rôle important dans l'homéostasie et la réponse aux lésions des tissus tendineux. Il a été démontré que ce groupe d'enzymes participe au remodelage tendineux. Les chercheurs ont procédé à des cultures cellulaires *in vitro* pour mettre en avant le mécanisme permettant aux quinolones d'augmenter l'expression de certaines MMP (par ex. MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-13) dans les tissus tendineux, ce qui peut conduire à une dégradation de la MEC tendineuse et la réduction de l'homéostasie tendineuse (Lewis et coll., 2014 ; Corps et coll., 2003 ; Tsai et coll., 2011), ce qui pourrait augmenter la susceptibilité du tendon à se rompre. Des études animales ont également montré que les (fluoro)quinolones affectent le métabolisme du collagène de type I, ce qui conduit à la dégradation du collagène en raison de l'augmentation de l'activité enzymatique des MMP dans les cellules tendineuses, au niveau de l'ARNm et des protéines (Tsai et coll., 2011).

- Apoptose induite

Il a également été montré que les niveaux des marqueurs de l'apoptose, tels que la caspase 3 activée, augmentent après administration de doses thérapeutiques de fluoroquinolones (ciprofloxacine et levofloxacine), en fonction de la concentration et la durée de l'administration. On a cependant observé une apoptose même avec la concentration la plus faible de levofloxacine. Ces modifications de l'apoptose ont ensuite été confirmés par microscopie électronique, et on a déterminé que les fluoroquinolones provoquaient des altérations typiques, comme la condensation de matériel génétique dans le noyau cellulaire, le gonflement des organites cellulaires, la présence de corps apoptotiques et la formation de bulles au niveau des membranes cellulaires (Sendzik et coll., 2005). On a remarqué une augmentation du nombre de marqueurs apoptotiques, par exemple dans le ménisque du lapin (Wang et coll., 2014), les cellules de l'anulus fibrosus du rat (Bai et coll., 2014) et les cellules tendineuses ou les cellules cancéreuses de la vessie chez l'homme (Aranha et coll., 2002). Les effets indésirables peuvent provoquer une dégradation de la MEC et des lésions au niveau des tissus affectés.

Un autre mécanisme pourrait conduire à l'apoptose : le stress oxydatif induit par les (fluoro)quinolones, qui correspond à une surproduction de ROS entraînant certains dysfonctionnements au niveau mitochondrial (Kaleagasioglu et Olcay, 2012).

- Chélation des ions métalliques par les quinolones

On peut mettre en parallèle les mécanismes chondrotoxiques et la toxicité tendineuse des (fluoro)quinolones, puisqu'il existe de grandes similitudes entre le tendon et le cartilage. Les deux se caractérisent par une faible vascularisation et composants matriciels similaires, des protéines transmembranaires (par ex. les récepteurs intégrine bêta-(1)) et intracellulaires similaires. Ces effets toxiques liés à un traitement par quinolones pourraient être dus aux propriétés de chélation des (fluoro)quinolones vis-à-vis des ions métalliques (Khaliq et coll., 2005 ; Stahlmann et coll., 1995 ; Goldie et coll., 2016). Ainsi, les (fluoro)quinolones peuvent provoquer une tendinopathie, car elles interagissent avec le magnésium, qui est considéré comme un régulateur de l'intégrité de la MEC. La chélation de cet ion peut donc conduire à une carence de cet élément important. De plus, les modifications épigénétiques médiées par la chélation du fer et la répression de la prolyle-4-hydroxylase (P4HA1), et la transcription de la lysine hydroxylase (LH1) ainsi que l'inhibition de la traduction de l'ARNm de la dioxygénase (HIF -1 α) peuvent résulter en une toxicité tendineuse. Les (fluoro)quinolones se sont avérées être de puissants agents chélateurs, au moins aussi efficaces que la déféroxamine, qui est utilisée en clinique pour traiter la surcharge de fer dans le sang, l'hémochromatose et la toxicité aluminique. La chélation du fer par les (fluoro)quinolones (par ex. ciprofloxacine) a résulté en une hyperméthylation de l'ADN et des histones ainsi qu'en une interruption de l'hydroxylation du collagène-proline en raison de l'inhibition des histones déméthylases à domaine Jumonji (JMHD), des déméthylases TET DNA et des hydroxylases collagène-proline-4 (Badal et coll., 2015).

- Ischémie et rôle d'une mauvaise vascularisation des tissus tendineux

Il a été suggéré que la rupture tendineuse pouvait également être due à une ischémie vasculaire.

Neurotoxicité

Plusieurs études *in vivo* ont déjà montré le potentiel des (fluoro)quinolones à provoquer des troubles psychotiques et à affecter le système nerveux en altérant ce dernier. Ces effets pourraient être dus à l'aggravation du stress oxydant associé à une altération des niveaux de neurotransmetteurs.

Certains des effets neurotoxiques des (fluoro)quinolones peuvent être attribués à leur liaison avec les récepteurs GABA du cerveau. Ainsi, les (fluoro)quinolones sont à l'origine d'une stimulation du SNC en raison de l'incapacité des GABA à se lier correctement à leurs récepteurs, associée à la réduction du niveau de sérotonine dans le cerveau et l'activation des voies excitatrices par les récepteurs NMDA et de l'adénosine dans le cerveau (Mandell et coll., 2002 ; Kandasamy et coll., 2012). Ces modifications des niveaux de neurotransmetteurs peuvent provoquer des troubles psychiatriques, comme de l'anxiété, une dépression, de l'insomnie, une psychose, des convulsions, etc. (Ilgin et coll., 2015 ; Kaur et coll., 2016 ; Abdel-Zaher et coll., 2012).

Les troubles psychiatriques liés aux (fluoro)quinolones ont également pu être liés au stress oxydatif, mis en évidence par une augmentation considérable de l'état oxydatif du cerveau chez les animaux affectés (Kalghatgi et coll., 2013 ; Duewelhenke et coll., 2007). On a observé un nombre plus élevé de marqueurs du stress oxydant, tels que le MDA ou le NO, ainsi qu'une réduction du niveau de glutathion intracellulaire et de l'activité de la peroxydase de glutathion dans le cerveau animal (Abdel-Zaher et coll., 2012), dont on a déduit qu'il s'agissait d'effets neurotoxiques liés aux (fluoro)quinolones, et indiquant un stress oxydant plus important et un affaiblissement du système de défense antioxydant, pouvant conduire à des troubles psychiatriques.

Les effets neurotoxiques des (fluoro)quinolones peuvent également augmenter considérablement le risque d'apoptose dans les tissus du cortex cérébral, comme l'ont récemment observé Ilgin et coll. (2015). Il a également été mentionné que les neurones, de manière générale, sont plus sujets à des dysfonctionnements mitochondriaux en raison de leur grande dépendance au métabolisme énergétique, et notamment l'approvisionnement en ATP issue des mitochondries, et de l'augmentation de la demande en oxygène (Pareyson et coll., 2013 ; Cogliati et coll., 2016). Un dysfonctionnement au niveau mitochondrial peut conduire à une surproduction de ROS, et ces radicaux libres peuvent provoquer des dommages au niveau des mitochondries qui peuvent résulter en des troubles neuropsychiatriques.

Neuropathies

Les atteintes liées aux (fluoro)quinolones ont été liées à différentes pathologies mitochondriales (Kalghatgi et coll., 2013 ; Duewelhenke et coll., 2007). En raison de leurs besoins métaboliques, les neurones sont plus sujets à des dysfonctionnements mitochondriaux (Pareyson et coll. 2013 ; Cogliati et coll., 2016). Ainsi, les pathologies mitochondriales avec dysfonctionnement des mitochondries, défauts dans les complexes formant la chaîne respiratoire des mitochondries et anomalies dans la réplication et la maintenance de l'ADNmt, peuvent entraîner des neuropathies périphériques (Pareyson et coll. 2013).

La neuropathie sensorielle, qu'il s'agisse d'une manifestation isolée ou faisant partie d'un trouble neurologique, peut également être un signe de pathologies mitochondriales.

Phototoxicité

Les réactions phototoxiques liées aux (fluoro)quinolones sont considérées comme des effets de classe. Il a été montré que la photoactivation des (fluoro)quinolones sous une lumière UVA pouvait provoquer une formation et une accumulation de ROS intracellulaires, qui peuvent affecter la membrane cellulaire lipidique, ce qui peut résulter en une inflammation (Domagala, 1994). On peut également considérer la perturbation des fonctions mitochondriales comme un mécanisme à part entière conduisant à une apoptose, mais elle est toujours extrêmement liée à une surproduction de ROS (Kalegasioglu et Olcay, 2012, Rawi et coll., 2011).

Atteinte vasculaire

L'atteinte vasculaire induite par les (fluoro)quinolones pourrait être due à une réaction hypersensibilité de type III avec dépôt de complexes immuns et les dommages conséquents aux vaisseaux sanguins par les neutrophiles (van Rossum et coll., 2006). Ce type de réaction immunitaire retardée semble être déclenché par les mécanismes cytotoxiques médiés par les IgG et est liée aux lymphocytes T. L'observation des infiltrats de lymphocytes T présents dans les réactions allergiques liées aux médicaments et qui touchent la peau, le foie et les reins, ainsi que dans les réactions spécifiques aux médicaments observées *in vitro* ou par tests cutanés, suggèrent fortement une pathogenèse à médiation cellulaire (Schmid et coll., 2006). Les autres mécanismes pathophysiologiques suggérés de des atteintes vasculaires induites par les (fluoro)quinolones sont des réactions non immunitaires (Tsai et Yang, 2011) et impliquent un stress oxydant.

Conclusion sur les aspects non cliniques

Plusieurs études non cliniques ont montré qu'il existait plusieurs mécanismes toxiques potentiels sous-jacents aux symptômes décrits ci-dessus. Parmi eux, le stress oxydant et la toxicité mitochondriale ont été les plus fréquemment rencontrés au cours des études et dans les réponses des titulaires d'AMM. Toutefois, d'autres mécanismes, mentionnés ci-dessus, tels que l'inhibition de la prolifération et de la migration cellulaire, la réduction de la matrice extracellulaire, l'expression accrue des MMP, l'apoptose, l'ischémie et les propriétés chélatiques des (fluoro)quinolones, peuvent être mis en cause.