



## REMERCIEMENTS

Nous remercions chaleureusement les familles qui ont contribué à cette étude. Ce travail a été financé par la Fondation Yves Cotrel-Institut de France, les Hospices civils de Lyon, le ministère de la Santé et des Solidarités (Direction de l'hospitalisation et de l'organisation des soins, plan maladies rares 2004-2008), l'université Lyon 1, l'Inserm et l'association GEN'HOM.

## RÉFÉRENCES

1. Edery P, Marcaillou C, Sahbatou M, *et al.* Association of TALS developmental disorder with defect in minor splicing component U4atac snRNA. *Science* 2011 ; 332 : 240-3.
2. Taybi H, Linder D. Congenital familial dwarfism with cephaloskeletal dysplasia. *Radiology* 1967 ; 89 : 275-81.
3. Leutenegger AL, Labalme A, Genin E, *et al.* Using genomic inbreeding coefficient estimates for homozygosity mapping of rare recessive traits: application to Taybi-Linder syndrome. *Am J Hum Genet* 2006 ; 79 : 62-6.
4. Tarn WY, Steitz JA. Highly diverged U4 and U6 small nuclear RNAs required for splicing rare AT-AC introns. *Science* 1996 ; 273 : 1824-32.
5. Tarn WY, Steitz JA. A novel spliceosome containing U11, U12, and U5 snRNPs excises a minor class (AT-AC) intron *in vitro*. *Cell* 1996 ; 84 : 801-11.
6. Alioto TS. U12DB: a database of orthologous U12-type spliceosomal introns. *Nucleic Acids Res* 2007 ; 35 : D110-5.
7. Sharp PA, Burge CB. Classification of introns: U2-type or U12-type. *Cell* 1997 ; 91 : 875-9.
8. Pessa HK, Greco D, Kvist J, *et al.* Gene expression profiling of U12-type spliceosome mutant *Drosophila* reveals widespread changes in metabolic pathways. *PLoS One* 2010 ; 5 : e13215.
9. He H, Liyanarachchi S, Akagi K, *et al.* Mutations in U4atac snRNA, a component of the minor spliceosome, in the developmental disorder MOPD 1. *Science* 2011 ; 332 : 238-40.
10. Padgett RA, Shukla GC. A revised model for U4atac/U6atac snRNA base pairing. *RNA* 2002 ; 8 : 125-8.
11. Liu S, Li P, Dybkov O, *et al.* Binding of the human Prp31 Nop domain to a composite RNA-protein platform in U4 snRNP. *Science* 2007 ; 316 : 115-20.
12. Pessa HKJ, Frilander MJ. Genetics. Minor splicing, disrupted. *Science* 2011 ; 332 : 184-5.

## NOUVELLE

### Protéger l'intégrité du réseau vasculaire coronaire Une stratégie efficace pour limiter le no-reflow et la taille de l'infarctus du myocarde

Ariane Galaup<sup>1-4</sup>, Stéphane Germain<sup>1-5</sup>

<sup>1</sup> Collège de France, centre interdisciplinaire de recherche en biologie (CIRB), 11, place Marcelin Berthelot, Paris, F-75005, France ;  
<sup>2</sup> CNRS UMR 7241, Paris, F-75005, France ;  
<sup>3</sup> Inserm U 1050, Paris, F-75005, France ;  
<sup>4</sup> MemoLife laboratoire d'excellence Paris Science Lettre, France ;  
<sup>5</sup> AP-HP-hôpital Saint-Louis, laboratoire de pathologie, Paris, F-75010 France.  
[ariane.galaup@college-de-france.fr](mailto:ariane.galaup@college-de-france.fr)  
[stephane.germain@college-de-france.fr](mailto:stephane.germain@college-de-france.fr)

> D'après l'OMS, les maladies cardiovasculaires demeurent la première cause de décès dans le monde. En 2008, 7,3 millions des 57 millions de personnes décédées ont succombé des suites d'une cardiopathie ischémique et 6,2 millions de celles d'un accident vasculaire cérébral ou d'une autre maladie cérébrovasculaire. En France, l'infarctus du myocarde (IDM) est responsable d'une morbidité importante et de 10 à 12 % de la totalité des décès.

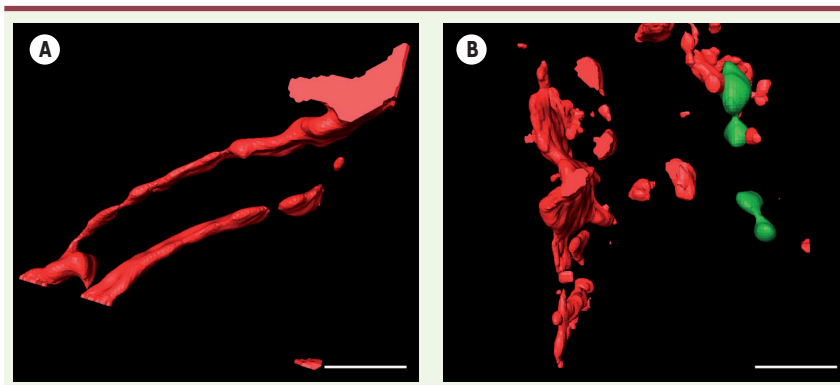
#### Le phénomène de *no-reflow* lors de la repermeabilisation d'une occlusion vasculaire

L'IDM est une nécrose du muscle cardiaque consécutive à une ischémie due le plus souvent à une thrombose occlusive située au niveau d'une artère coronaire. Cette occlusion résulte dans la majorité des cas d'une fissuration ou d'une rupture d'une plaque d'athérome. Lorsque l'ischémie se prolonge au-delà de 30 min, la nécrose myocardique devient irréversible.

La stratégie thérapeutique de choix dans l'IDM est la reperfusion coronaire, qui doit être la plus précoce possible, réalisée soit par thrombolyse intraveineuse, soit par angioplastie coronaire primaire. Si l'ischémie en aval de l'occlusion est la principale responsable des lésions, il ne faut pas négliger celles qu'entraîne la reperfusion qui suit l'intervention thérapeutique. En effet, la destruction du thrombus génère des débris qui peuvent occlure la microcirculation coronaire. De plus, la reperfusion induit un stress oxydatif, une inflammation et une altération de l'intégrité vasculaire responsables de dégâts cellulaires. Tous ces phénomènes participent au phénomène de non-reperfusion (*no-reflow*) qui survient dans 20 à 40 % des cas et qui est associé à un mauvais pronostic clinique ainsi qu'à une mortalité accrue à 5 ans (pour revue [1-3]). L'étiologie du *no-reflow* est complexe et multifactorielle, mais une de ses caractéristiques est le

développement d'un œdème compressif consécutif à l'augmentation de la perméabilité capillaire et aux lésions vasculaires.

L'expression de nombreux facteurs de croissance, dont le VEGF (*vascular endothelial growth factor*), est induite par l'hypoxie au cours de l'IDM. En plus de son effet proangiogénique que l'on pense bénéfique à long terme, le VEGF, initialement baptisé VPF (*vascular permeability factor*), possède un effet délétère via l'augmentation de la perméabilité vasculaire dans les premières heures post-ischémie. La détérioration de l'intégrité vasculaire contribue aux dégâts vasculaires, aux hémorragies, à l'œdème, à l'inflammation, qui, tous, participent au *no-reflow*. Il n'existe à ce jour aucun traitement pharmacologique du *no-reflow*. Disposer d'un antagoniste du VEGF spécifiquement actif sur la phase précoce (bloquant l'effet propermeabilisation) pourrait vraisemblablement permettre



**Figure 1. Analyse de l'intégrité vasculaire cardiaque après ischémie-reperfusion.** Reconstruction en trois dimensions d'images de microscopie confocale sur cryocoupes de cœur après révélation de la VE-cadhérine (rouge) par immunomarquage. Ces coupes ont été obtenues à partir de souris contrôle (A) ou invalidée pour *angptl4* (B) et soumises à une ischémie (45 min)-reperfusion (4 h) puis perfusées avec des billes fluorescentes (vert) permettant l'observation et l'analyse du phénomène de perte d'intégrité vasculaire et d'extravasation (barre d'échelle = 20  $\mu$ m).

de limiter ce phénomène et ainsi améliorer la reperfusion du tissu cardiaque ischémié. Une autre stratégie consiste à identifier des modulateurs de la perméabilité vasculaire qui pourraient s'opposer aux effets précoces du VEGF. À ce titre, l'angiopoïétine-like 4 (ANGPTL4), dont l'expression est induite par l'hypoxie au cours des pathologies ischémiques [4, 5], est un candidat intéressant dont les propriétés ont récemment été mises en évidence dans des modèles précliniques d'ischémie-reperfusion myocardique.

#### Modulation des effets délétères de l'ischémie-reperfusion par ANGPTL4

Afin d'évaluer les propriétés de modulation de la perméabilité vasculaire par ANGPTL4 au cours de l'infarctus du myocarde, nous avons soumis des souris contrôles et des souris dont le gène *angptl4* a été invalidé, à un protocole d'ischémie-reperfusion

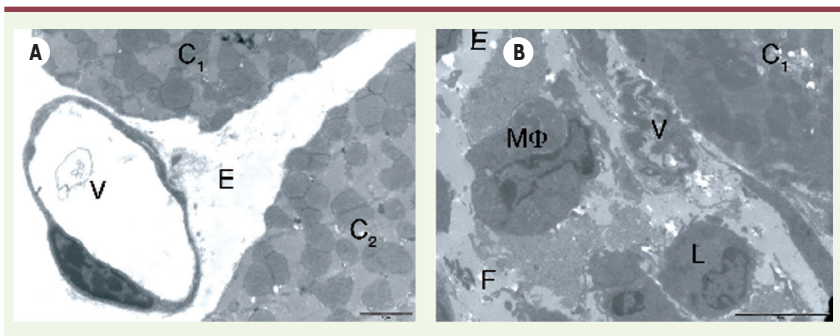
myocardique [6]. Une augmentation de l'extravasation plasmatique est observée chez les souris invalidées pour *angptl4* en comparaison aux souris contrôles. Elle est corrélée à une désorganisation des jonctions adhérentes endothéliales objectivée par la distribution de la VE-cadhérine (composant majeur de ces jonctions adhérentes endothéliales) identifiée par marquage immunohistochimique. Cette perte de l'intégrité vasculaire est très précoce puisqu'elle est observée dès quatre heures après la reperfusion (Figure 1). Sur le plan mécanistique, nous montrons que cette perméabilité vasculaire est provoquée par la dissociation accrue du complexe formé par le récepteur du VEGF (VEGFR2) et la VE-cadhérine à la surface des cellules endothéliales. Il s'ensuit une amplification de la voie de signalisation de la kinase Src chez les souris déficientes pour *angptl4* par rapport aux souris contrôles [6].

Cette perméabilité vasculaire massive se traduit par une augmentation de la taille de l'aire infarctée et l'importance du *no-reflow* chez les souris invalidées pour *angptl4*. La nécrose, une suffusion hémorragique et un infiltrat inflammatoire plus importants sont observés chez ces souris. Au niveau ultrastructural, l'œdème est à la fois plus étendu et plus riche en débris cellulaires et en cellules immunitaires (Figure 2).

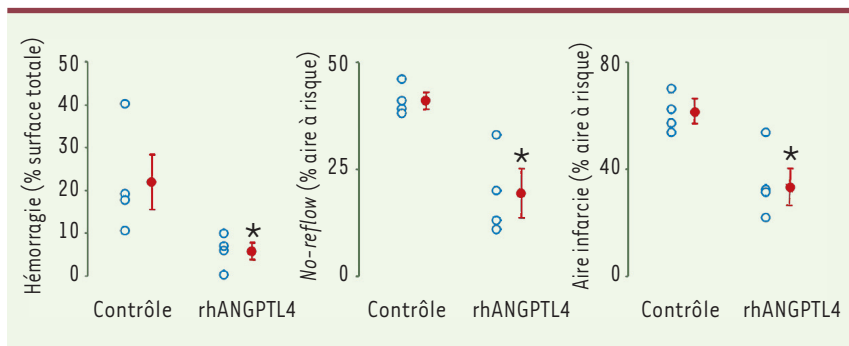
A contrario, les études *in vitro* réalisées sur des cardiomyocytes isolés de souris contrôles ou invalidées pour *angptl4* semblent montrer qu'ANGPTL4 n'agit pas directement sur ces cellules. De même, l'angiogenèse réactionnelle est identique en présence ou en absence d'ANGPTL4.

#### Potentiel thérapeutique de la protéine recombinante humaine ANGPTL4 au cours de l'ischémie-reperfusion

La perte d'intégrité vasculaire et une taille d'infarctus augmentée chez les souris déficientes pour *angptl4* nous ont incités à évaluer l'efficacité de la protéine ANGPTL4 recombinante dont la forme humaine est produite et purifiée au laboratoire (rhANGPTL4). De fait, la protéine recombinante humaine inhibe le phénomène de *no-reflow* et réduit la taille de l'infarctus, chez les souris invalidées pour *angptl4* soumises à un processus d'ischémie-reperfusion [6]. Le mécanisme d'action a été décrypté *in vitro* sur des cellules endothéliales primaires : rhANGPTL4 bloque les effets



**Figure 2. Étude ultrastructurale du tissu cardiaque après ischémie-reperfusion.** Images en microscopie électronique à transmission réalisées sur des coupes de cœur de souris contrôle (A) ou invalidée pour *angptl4* (B) soumises à une ischémie (45 min)-reperfusion (48 h). Observation de la zone infarctée montrant des cardiomyocytes (C), des vaisseaux sanguins (V), de l'œdème (E), des dépôts de fibrinogène (F), des macrophages (M $\Phi$ ) et des lymphocytes (L). Barre d'échelle : 2  $\mu$ m pour la souris contrôle et 5  $\mu$ m pour la souris invalidée pour l'*angptl4*.



**Figure 3. Modulation de la taille de l'infarctus par l'ANGPTL4.** Quantification de la zone hémorragique (gauche), du *no-reflow* (milieu) et de la taille de l'infarctus (droite) chez des lapins contrôles ou injectés avec rhANGPTL4 (10 µg/kg) soumis à une ischémie (30 min)-reperfusion (4 h). L'astérisque indique une différence statistique significative.

du VEGF en inhibant la signalisation de la kinase Src en aval du VEGFR2 et la dissociation du complexe VEGFR2/VE-cadhérine, ce qui aboutit à la stabilisation des jonctions adhérentes.

Le potentiel thérapeutique de la protéine recombinante a été testé et confirmé chez une seconde espèce (non rongeur). L'intégrité vasculaire de lapins traités par rhANGPTL4 et soumis à une ischémie-reperfusion est mieux conservée que celle des lapins contrôles, ce dont témoigne une diminution de la suffusion hémorragique. La préservation de l'intégrité de l'endothélium permet une meilleure reperfusion coronarienne avec une diminution du phénomène de *no-reflow*. Enfin, cet effet protecteur se traduit également par une réduction de la taille de l'infarctus chez les lapins traités par rhANGPTL4 (Figure 3).

### Conclusion et perspectives

Ce travail démontre que la préservation de l'intégrité vasculaire au cours

de l'ischémie-reperfusion induit une cardioprotection secondaire en limitant les effets délétères provoqués par la reperfusion : inflammation, œdème, hémorragie, phénomène de *no-reflow* et augmentation de la taille de l'infarctus. Dans ce contexte, nous avons montré qu'ANGPTL4 agit en inhibant la voie d'activation de la kinase Src et en stabilisant le complexe VEGFR2/VE-cadhérine dans les cellules endothéliales, et s'oppose donc aux effets pro-perméabilisants du VEGF. Ceci suggère qu'une stratégie thérapeutique fondée sur l'utilisation de l'ANGPTL4, seule ou combinée à une thrombolyse intraveineuse ou à une angioplastie coronaire primaire, pourrait représenter une approche pharmacologique et thérapeutique dans le traitement de l'infarctus du myocarde chez l'homme. ♦

**Protecting vascular integrity in acute myocardial ischemia-reperfusion**

### CONFLIT D'INTERÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

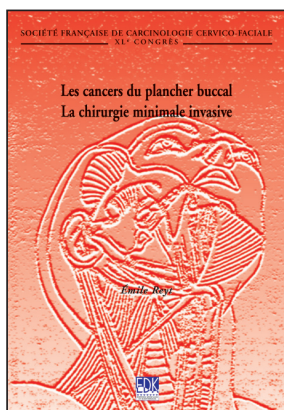
### REMERCIEMENTS

Ce travail a fait l'objet d'un soutien de l'Agence nationale de la recherche (ANR-06-JJC-0160), la Fondation de France (R09045JJ-FDF, la fédération française de cardiologie, la Fondation pour la recherche médicale et la Ligue nationale contre le cancer.

### RÉFÉRENCES

- Perlemuter K, Montalescot G. *Infarctus du myocarde*. www.e-campus.fr
- Mercadier JJ, Gaertner R, Logeart D, Michel JB. Remodelage précoce du ventricule gauche après un accident coronarien aigu. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 643-50.
- Niccoli G, Burzotta F, Galiuto L, Crea F. Myocardial no-reflow in humans. *J Am Coll Cardiol* 2009 ; 54 : 281-92.
- Le Jan S, Amy C, Cazes A, et al. Angiopoietin-like 4 is a proangiogenic factor produced during ischemia and in conventional renal cell carcinoma. *Am J Pathol* 2003 ; 162 : 1521-8.
- Cazes A, Galaup A, Chomel C, et al. Extracellular matrix-bound angiopoietin-like 4 inhibits endothelial cell adhesion, migration, and sprouting and alters actin cytoskeleton. *Circ Res* 2006 ; 99 : 1207-15.
- Galaup A, Gomez E, Souktani R, et al. Protection against myocardial infarction and no-reflow through preservation of vascular integrity by angiopoietin-like 4. *Circulation* 2012 ; 125 : 140-9.

## Bon de commande



ISBN : 978-2-8425-4127-9 212 pages

À retourner à EDK, 25, rue Daviel - 75013 Paris  
Tél. : 01 58 10 19 05 - Fax : 01 43 29 32 62 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : ..... Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal : ..... Ville : .....

Pays : .....

Fonction : .....

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Les cancers du plancher buccal** : 35 € + 3 € de port = **38 € TTC**

en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

Par chèque, à l'ordre de EDK

Par carte bancaire :  Visa  Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |