

Accident vasculaire cérébral Protection de l'intégrité vasculaire lors de la reperfusion

Claire Bouleti^{1,2,3}, Thomas Mathivet¹, Bertrand Lapergue⁴,
Catherine Monnot^{1,3}, Stéphane Germain^{1,3,5}

¹ UMRS Inserm U1050 CNRS 7241, Collège de France, Center for Interdisciplinary Research in Biology (CIRB), 11 place Marcelin Berthelot, 75005 Paris, France ;

² service de cardiologie, AP-HP, hôpital Bichat, Paris, France ;

³ équipe labellisée Ligue contre le cancer ;

⁴ service de neurologie et unité de neurovasculaire, hôpital Foch, Suresnes, France ;

⁵ service de pathologie, AP-HP, hôpital Saint-Louis, Paris, France.

stephane.germain@college-de-france.fr

Accidents vasculaires cérébraux : des progrès dans la prise en charge mais peu de solutions thérapeutiques

L'accident vasculaire cérébral (AVC) est une cause majeure de morbi-mortalité dans le monde : 15 millions de personnes souffrent d'AVC chaque année, cinq millions en meurent et cinq millions en gardent des séquelles handicapantes. Dans les pays civilisés, malgré une nette amélioration de la santé générale de la population, observée aussi bien chez les hommes que les femmes, ayant permis de réduire de 35,8 % le taux relatif de mortalité suite à un accident vasculaire cérébral et de 22,8 % le nombre total de morts, environ 795 000 personnes souffrent d'un AVC ischémique (occlusion d'une artère cérébrale) ou hémorragique chaque année aux États-Unis, soit un AVC toutes les 40 secondes et un mort toutes les 4 minutes [1]. Chez 610 000 de ces patients, il s'agit d'un premier événement, mais chez 185 000 d'un événement récurrent. Toujours aux États-Unis, l'AVC est la 4^e cause de mortalité, responsable d'un décès sur 19 en 2013 [1].

Malgré (1) des progrès considérables dans le contrôle des facteurs de risque vasculaire (hypertension artérielle principalement mais aussi diabète, taux élevé de cholestérol et tabac [2]) et la prise en charge des patients, et (2) les efforts pour développer de nouveaux agents pharmacologiques pour le traitement de l'AVC ischémique, la seule thérapeutique actuelle est la thrombolyse par voie intraveineuse [22, 23]. Son efficacité est démontrée depuis 1976,

date des premiers essais de l'urokinase [3]. Le premier essai randomisé positif de thrombolyse utilisant l'activateur tissulaire du plasminogène (*tissue plasminogen activator recombinant*, rtPA) a été publié en 1995 ; l'analyse des résultats montrait une augmentation de 12 % en valeur absolue (32 % en valeur relative) du nombre de patients n'ayant que peu ou pas de séquelles neurologiques dans le groupe rtPA par rapport au groupe ayant reçu un placebo [4, 5]. Depuis 2006, le rtPA est toujours la seule molécule approuvée par la *food and drug administration* (FDA) pour le traitement de l'AVC ischémique. Idéalement, il doit être administré dans les trois heures suivant l'apparition des symptômes, avec une extension possible jusqu'à quatre heures et demie [6, 7]. Cependant, l'accès au rtPA est limité par de nombreuses contre-indications – peu de patients peuvent en bénéficier –, et par le risque de complications hémorragiques [8].

En dépit d'essais cliniques encourageants, les dernières études ne montrent pas de bénéfices à administrer de manière concomitante plusieurs agents anti-thrombotiques, ni à coupler la thrombolyse à une procédure de reperfusion mécanique [9]. En effet, malgré l'accord exceptionnel de la FDA pour l'utilisation de dispositifs de thrombectomie, il n'existe pas à l'heure actuelle suffisamment d'arguments pour modifier les recommandations officielles, ce qui nécessiterait des résultats positifs dans deux essais cliniques randomisés. De nouvelles stratégies de prévention

et de traitement sont donc essentielles [5].

L'effet protecteur de l'angiopoïétine-like 4 sur l'intégrité vasculaire lors de la reperfusion

Au cours de l'AVC, l'occlusion d'une artère cérébrale conduit, *via* la réduction du flux artériel qui en résulte, à l'ischémie du territoire cérébral vascularisé par cette artère et à la nécrose de ce territoire si la reperfusion vasculaire (et donc le flux) n'est pas rapidement restaurée. Si l'ischémie cérébrale conduit à la rupture de la barrière hémato-encéphalique (BHE), la reperfusion brutale entraîne elle aussi des lésions (dites lésions d'ischémie-reperfusion) dont l'une des conséquences est la perte d'intégrité de cette BHE. L'altération de la BHE favorise l'infiltration de cellules pro-inflammatoires délétères, l'afflux d'espèces réactives de l'oxygène et la survenue d'un œdème cérébral et de complications hémorragiques cérébrales secondaires, causes majeures de morbi-mortalité. La préservation de la BHE est donc un enjeu médical important qui doit inciter au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. Dans ce contexte, nous avons récemment montré que l'angiopoïétine-like 4 (ANGPTL4) module la perméabilité endothéliale après ischémie-reperfusion myocardique ou cérébrale [10, 11] et représente donc une nouvelle cible thérapeutique pour le traitement de l'AVC. L'ANGPTL4 appartient à la superfamille des angiopoïétines et



son récepteur est à ce jour toujours inconnu. Son expression est induite par l'hypoxie lors des accidents vasculaires ischémiques [10, 11] et en pathologie tumorale [12-14]. C'est une protéine de 55 kDa contenant un domaine *coiled-coil* amino-terminal (CCD) et un domaine fibrinogène-like (FLD) carboxy-terminal. ANGPTL4 interagit avec la matrice extracellulaire [15] et est protéolysée par des enzymes de type furine, ce qui génère deux fragments de 20 kDa et 35 kDa contenant le CCD et le FLD respectivement [16]. Son rôle dans la modulation de la perméabilité vasculaire semble dépendre du contexte [17, 18]. ANGPTL4 joue aussi un rôle important de régulation du métabolisme par inhibition de la lipoprotéine lipase ancrée à la surface des cellules endothéliales, selon un mécanisme lui aussi débattu [19, 20, 24] (→).

Mécanismes d'action de ANGPTL4

(→) Voir la Nouvelle de C. Macé et L. Clément, page 605 de ce numéro

Chez la souris, dans un modèle d'ischémie transitoire (une heure) de l'artère cérébrale moyenne suivie de 24 heures de reperfusion, nous avons récemment montré un effet protecteur d'ANGPTL4. Le maintien de l'intégrité vasculaire, régulée par les protéines des jonctions serrées (Claudine-5) et adhérentes (VE-cadhérine), est en effet un enjeu majeur au cours des pathologies ischémiques car elle prévient la fuite vasculaire, l'oedème et les dommages tissulaires [21]. L'injection de la protéine recombinante ANGPTL4 à la phase aiguë de l'AVC inhibe l'atteinte de ces jonctions et diminue la formation d'oedème. Cette protection s'accompagne d'une diminution de la taille de l'infarctus cérébral et du déficit neurologique à 24 h [11].

Sur le plan mécanistique, ANGPTL4 agit comme un frein sur la signalisation de la kinase Src en aval du récepteur de type 2 du VEGF (*vascular endothelial growth factor*). Le VEGF est le facteur de croissance principal du réseau vasculaire, mais aussi un fort agent perméabilisant :

il participe en effet à la désorganisation des jonctions endothéliales, *via* la cascade de signalisation Src kinase. Or, le VEGF est produit à la phase aiguë de l'AVC et induit la fuite vasculaire et ses conséquences néfastes. Nous montrons que le traitement par ANGPTL4 permet de séquestrer la kinase Src, d'inhiber la signalisation VEGFR2 et ainsi de prévenir la déstructuration des jonctions inter-endothéliales et la formation d'oedème [11].

Par ailleurs, la migration de cellules inflammatoires du compartiment sanguin vers le tissu ischémié, contrôlée par l'expression de molécules d'adhésion endothéliales telles que ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*) est aussi une étape fondamentale conduisant aux dommages tissulaires. Notre étude montre qu'ANGPTL4 réduit l'expression d'ICAM-1 dans la région lésée et inhibe ainsi l'afflux de cellules inflammatoires [11].

ANGPTL4 : quelle perspective pharmacologique ?

Ainsi, ANGPTL4 aurait un potentiel thérapeutique original au cours de l'AVC par protection de l'intégrité vasculaire au cours de la reperfusion. Cette étude a néanmoins des limites : (1) ces résultats ont été obtenus chez la souris saine, alors que l'AVC se produit essentiellement dans le contexte de différents facteurs de risque, et donc de pathologies et traitements complexes ; (2) la taille de l'infarctus cérébral et les déficits neurologiques n'ont été évalués qu'après 24h de reperfusion.

Néanmoins, ANGPTL4 constitue la première cible pharmacologique intervenant dans la protection de l'intégrité vasculaire lors de la reperfusion au cours de l'AVC. Rappelons que le coût total (direct et indirect) des maladies cardiovasculaires et de l'AVC aux États-Unis a été estimé à 315,4 milliards US\$ pour l'année 2010. Ce chiffre comprend les dépenses de santé (coûts directs : médecins et autres professionnels, les services hospitaliers, les médicaments

prescrits, les soins de santé à domicile) et la perte de productivité qui résulte de la mortalité prématurée (coûts indirects). Par comparaison, le coût estimé de tous les cancers et tumeurs bénignes était de 201,5 milliards US\$ (77,4 milliards US\$ en coûts directs, et 124 milliards US\$ en coûts indirects) [1]. Ces chiffres soulignent que nous avons désespérément besoin de nouvelles thérapies pour combattre l'AVC, dont la prévalence pourrait augmenter à nouveau avec le vieillissement de la population. ♦

Protection of vascular integrity in reperfusion during stroke

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, et al. Heart disease and stroke statistics--2014 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2014 ; 129 : e28-e292.
2. Lackland DT, Roccella EJ, Deutsch AF, et al. Factors influencing the decline in stroke mortality: a statement from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2014 ; 45 : 315-53.
3. Fletcher AP, Alkjaersig N, Lewis M, et al. A pilot study of urokinase therapy in cerebral infarction. *Stroke* 1976 ; 7 : 135-42.
4. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. *N Engl J Med* 1995 ; 333 : 1581-7.
5. Jauch EC, Saver JL, Adams HP, Jr, et al. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2013 ; 44 : 870-947.
6. Wahlgren N, Ahmed N, Davalos A, et al. Thrombolysis with alteplase 3-4.5 h after acute ischaemic stroke (SITS-ISTR): an observational study. *Lancet* 2008 ; 372 : 1303-9.
7. Hacke W, Kaste M, Bluhmki E, et al. Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 hours after acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 2008 ; 359 : 1317-29.
8. Wahlgren N, Ahmed N, Davalos A, et al. Thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke in the Safe Implementation of Thrombolysis in Stroke-Monitoring Study (SITS-MOST): an observational study. *Lancet* 2007 ; 369 : 275-82.
9. Broderick JP, Palesch YY, Demchuk AM, et al. Endovascular therapy after intravenous t-PA versus t-PA alone for stroke. *N Engl J Med* 2013 ; 368 : 893-903.
10. Galaup A, Gomez E, Soukanti R, et al. Protection against myocardial infarction and no-reflow through preservation of vascular integrity by angiotensin-like 4. *Circulation* 2012 ; 125 : 140-9.

RÉFÉRENCES

11. Bouleti C, Mathivet T, Coqueran B, et al. Protective effects of angiopoietin-like 4 on cerebrovascular and functional damages in ischaemic stroke. *Eur Heart J* 2013 ; 34 : 3657-68.
12. 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.
13. Galaup A, Cazes A, Le Jan S, et al. Angiopoietin-like 4 prevents metastasis through inhibition of vascular permeability and tumor cell motility and invasiveness. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 18721-6.
14. Padua D, Zhang XH, Wang Q, et al. TGFbeta primes breast tumors for lung metastasis seeding through angiopoietin-like 4. *Cell* 2008 ; 133 : 66-77.
15. 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.
16. Chomel C, Cazes A, Faye C, et al. Interaction of the coiled-coil domain with glycosaminoglycans protects angiopoietin-like 4 from proteolysis and regulates its antiangiogenic activity. *Faseb J* 2009 ; 23 : 940-9.
17. Zhu P, Goh YY, Chin HF, et al. Angiopoietin-like 4: a decade of research. *Bioscience reports* 2012 ; 32 : 211-9.
18. Galaup A, Germain S. Protéger l'intégrité du réseau vasculaire coronaire. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 133-5.
19. Sukonina V, Lookene A, Olivecrona T, Olivecrona G. Angiopoietin-like protein 4 converts lipoprotein lipase to inactive monomers and modulates lipase activity in adipose tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 17450-5.
20. Lafferty MJ, Bradford KC, Erie DA, Neher SB. Angiopoietin-like protein 4 inhibition of lipoprotein lipase: evidence for reversible complex formation. *J Biol Chem* 2013 ; 288 : 28524-34.
21. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion: from mechanism to translation. *Nat Med* 2011 ; 17 : 1391-401.
22. Leys D, Cordonnier C. Traitements des accidents vasculaires cérébraux en phase aiguë et prévention secondaire. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 733-8.
23. Bordet R, Ouk T, Onténiente B, et al. Ischémie cérébrale. Les pistes thérapeutiques de demain. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 847-54.
24. Macé C, Clément LC. Implication d'Angptl4 dans le syndrome néphrotique : une protéine à deux visages. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 605-7.

NOUVELLE

Le VIH-2 révèle un mécanisme antiviral de détection par l'immunité innée

Xavier Lahaye, Nicolas Manel

Institut Curie, Inserm U932, 12, rue Lhomond, 75005 Paris, France.

nicolas.manel@curie.fr

Le VIH-2, un virus naturellement contrôlé

Lors d'une infection par le lentivirus VIH-1 (virus de l'immunodéficience humaine 1), une réponse immunitaire est induite, mais celle-ci n'est pas suffisamment protectrice chez la plupart des individus infectés [11, 12]. La progression vers le stade Sida (syndrome d'immunodéficience acquise) est généralement inévitable en l'absence d'un traitement antirétroviral. En revanche, le lentivirus apparenté VIH-2 est moins pathogène que le VIH-1. Il est admis que les trois quarts des patients infectés par le VIH-2 ne progresseront pas vers le stade Sida au cours de leur vie. De plus, le foyer principal d'infection VIH-2 est restreint à l'Afrique de l'Ouest, alors que le VIH-1 est pandémique. La transmission du VIH-2 entre individus semble donc moins efficace que celle du VIH-1. Comment expliquer ces différences ? *In vitro*, le VIH-1 ne se multiplie pas plus efficacement que le VIH-2. Le VIH-2 est même capable d'utiliser davantage de récepteurs

d'entrée cellulaire que le VIH-1. *In vivo*, le contrôle de la réplication du VIH-2 est associé à une réponse immunitaire adaptative accrue comparée à celle qu'induit le VIH-1 [1]. De plus, chez les individus co-infectés par le VIH-1 et le VIH-2, la présence du VIH-2 procure un bénéfice qui retarde la progression vers le stade Sida en comparaison des patients infectés par le VIH-1 seul. Ceci suggère qu'il existerait une meilleure réponse immunitaire dirigée contre le VIH-2. Un objectif majeur du combat contre le VIH est donc de comprendre comment le VIH-1 et le VIH-2 diffèrent dans leur capacité à induire des réponses immunitaires.

Au sein du système immunitaire, les cellules dendritiques (DC) jouent un rôle essentiel d'orchestrateur. En effet, elles associent la détection des pathogènes par les mécanismes de l'immunité innée à l'amorçage du système immunitaire adaptatif. Cette détection requiert la reconnaissance d'entités moléculaires associées aux pathogènes et conduit à l'activation

des cellules dendritiques. Dans le cas du VIH-1 et du VIH-2, il était connu que les cellules dendritiques sont des cibles de l'infection par le virus, au même titre que les lymphocytes T CD4⁺ et les macrophages. Nous avons donc cherché à comprendre si les cellules dendritiques pouvaient détecter le VIH-1 et le VIH-2.

Détection du VIH-1 et du VIH-2 par les cellules dendritiques

Nous savions que le VIH-1 et le VIH-2 diffèrent dans leur capacité à infecter les cellules dendritiques efficacement. En effet, l'infection VIH-1 des cellules dendritiques est peu efficace du fait de l'activité d'une protéine cellulaire, SAMHD1 (*SAM [sterile alpha motif] domain and HD domain-containing protein 1*), qui inhibe l'étape de transcription inverse du génome du VIH-1 [2, 3, 13, 14] (Figure 1A). Le VIH-2 code pour la protéine accessoire Vpx, absente du VIH-1, qui possède la faculté d'induire la dégradation de SAMHD1. Ceci permet une transcription inverse efficace