

Activateurs tissulaires du plasminogène (tPA)

Leur avenir dans le traitement de l'infarctus du myocarde

L'activateur tissulaire du plasminogène (tPA), maintenant obtenu par génie génétique, a l'avantage sur les thrombolytiques du type streptokinase et urokinase d'être assez spécifique de la fibrine et de peu dégrader le fibrinogène, réduisant ainsi le risque d'accidents hémorragiques. Les premiers résultats des essais thérapeutiques indiquent qu'il serait, par voie intraveineuse, plus efficace que la streptokinase sur la repermeabilisation des artères coronaires thrombosées.

Pierre Desnoyers
Pierre-Louis Michel
Alex Vahanian
Meyer Samama

L'existence d'activateurs tissulaires du plasminogène a été supposée depuis une cinquantaine d'années, mais en raison des difficultés d'isolement et de purification, les chercheurs et les cliniciens n'ont pu disposer de quantités suffisantes pour permettre les premières études structurales, pharmacologiques et cliniques, que dans les années 1980.

Ces activateurs sont présents dans de nombreux tissus, humains et animaux, tels que l'endothélium vasculaire, le tissu utérin, le cœur et l'ovaire du porc, et également dans le surnageant de milieux de culture de cellules normales ou tumorales, et en particulier dans celui des cellules du mélanome de Bowes. Grâce aux techniques de génie génétique, le clonage et l'expression d'un activateur tissulaire humain ont pu être réalisés, d'abord dans des cellules procaryotes [1] puis dans des cellules eucaryotes (cellules de l'ovaire du hamster chinois) conduisant ainsi à un activateur tissulaire glycosylé, copie de l'ac-

tivateur physiologique, et qui est appelé *recombinant tissue-plasminogen activator* ou rtPA.

tPA et thrombolyse physiologique

Les activateurs tissulaires du plasminogène sont des sérine-protéases, qui, selon leur origine, animale ou humaine, possèdent des poids moléculaires pouvant varier de 38 000 à 115 000. A l'état natif, l'activateur humain est une glycoprotéine monochaîne, de poids moléculaire voisin de 72 000, existant sous forme de deux variants, appelés S et L, comprenant respectivement 527 et 530 acides aminés, et dont la structure primaire est représentée sur la *figure 1* (page 223).

L'intérêt pratique majeur du tPA par rapport aux enzymes thrombolytiques actuellement utilisées, streptokinase (SK) et urokinase (UK), réside dans sa grande affinité pour la fibrine, due à la présence, au sein de sa molécule, de sites de liaison sélectifs.

Les sites de liaison. La sélectivité d'action du tPA vis-à-vis de la

ADRESSES

P. Desnoyers, M. Samama : laboratoire central d'hématologie, hôpital de l'Hôtel-Dieu, 1, place du Parvis-Notre-Dame, 75181 Paris Cedex 04, France.

P.-L. Michel, A. Vahanian : service de cardiologie (Pr J. Acar), hôpital Tenon, 4, rue de la Chine, 75970 Paris Cedex 20, France.

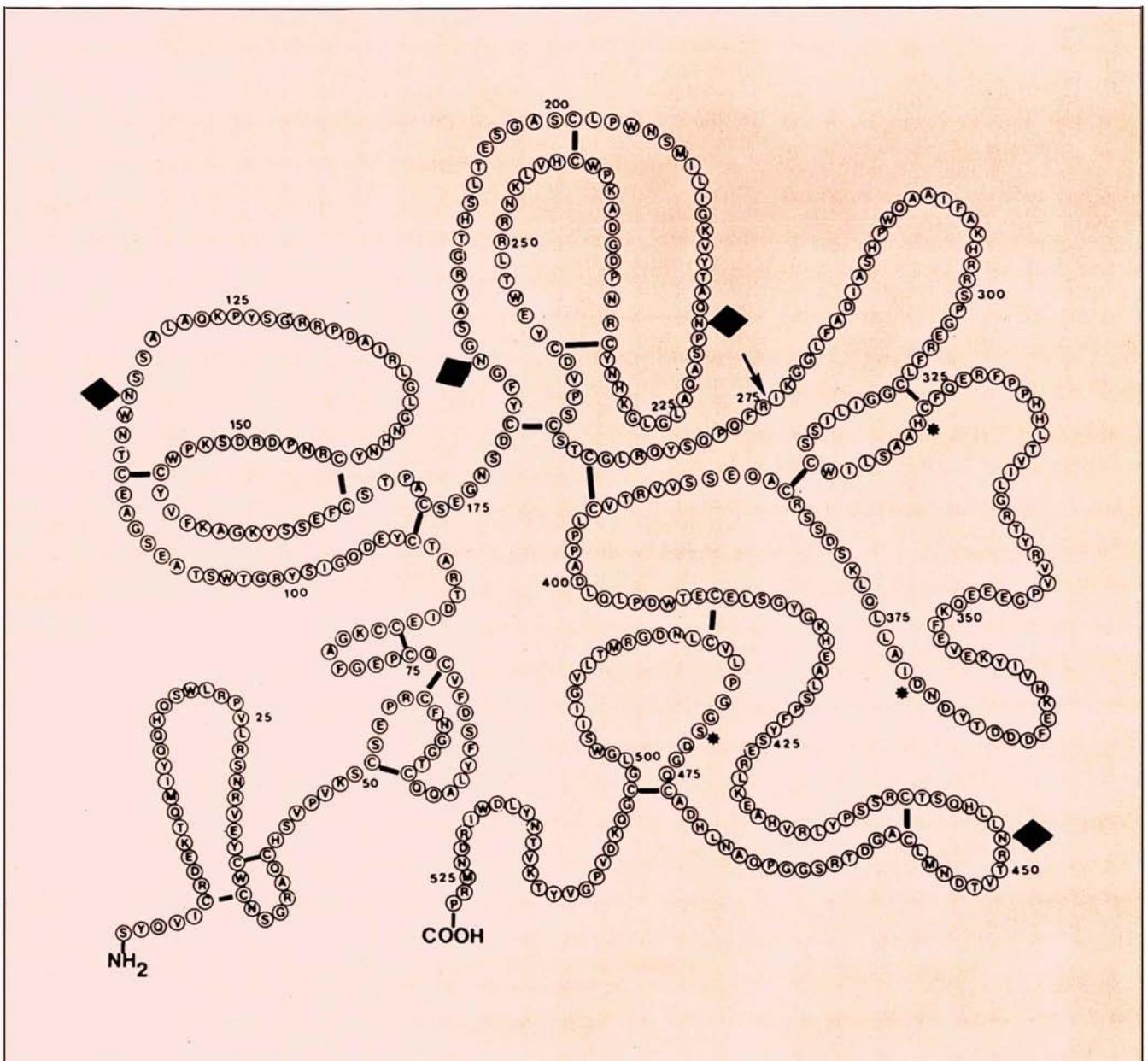


Figure 1. **Structure primaire du tPA humain.** * = sites actifs de la molécule; ◆ = sites potentiels de glycosylation; → = coupure de la liaison Asp 275-Ile 276 par hydrolyse ménagée par la plasmine, donnant ainsi deux chaînes reliées par un pont disulfure : une chaîne lourde A, de 39 000 daltons, portant l'extrémité N-terminale, et dont la conformation spatiale porte deux boucles, ou kringles, analogues à celles trouvées dans d'autres sérines protéases telles que l'urokinase ou la prothrombine. Cette région amino-terminale est composée de plusieurs domaines possédant une homologie avec d'autres protéines connues. Les résidus 1 à 43 sont analogues à ceux du « domaine en doigt » de la fibronectine et les résidus 44 à 91, à ceux du facteur de croissance épidermique (EGF). La chaîne lourde contient également quatre sites potentiels de glycosylation, dont l'un, Asn 218 ne semble pas utilisé. De plus, Asn 184 serait absent lors de l'élution d'un des deux variants obtenus après passage sur colonne d'arginine-sépharose, ce qui expliquerait la différence de poids moléculaire observée entre les deux formes de tPA isolées à partir du milieu de culture de cellules de mélanome et séparées par électrophorèse en gel de polyacrylamide-SDS [37]. Une chaîne légère B, d'un poids moléculaire de 33 000 possédant l'extrémité C-terminale, et portant l'unique site catalytique de la molécule. Schématiquement, la chaîne lourde permet la fixation du tPA à la fibrine, et la chaîne légère, l'activation du plasminogène, donc la fibrinolyse. (D'après [1] et [3].)

fibrine peut être expliquée de la façon suivante. D'une part, par la présence de sites de liaison localisés dans la deuxième boucle (*kringle 2*) de la molécule du tPA[2] et dans le domaine distal de la molécule de fibrinogène, ce dernier site étant apparemment masqué, même dans les produits de dégradation précoces. Des changements de conformation de la molécule de tPA au sein d'un complexe ternaire impliquant le plasminogène et la fibrine semblent nécessaires pour démasquer ces sites récepteurs au tPA (*figure 2*). D'autre part, par la présence, à l'extrémité N-terminale de la molécule du tPA, d'une succession de 43 acides aminés, qui est retrouvée dans la molécule de fibronectine mais absente dans celle de l'urokinase [3]. De plus, au cours du processus de purification du tPA à partir de tissu cardiaque frais de porc, il a été montré [4] que le tPA porcin était réversiblement lié à la fibronectine cellulaire et pouvait conserver sa capacité d'activation du plasminogène, ce qui semble indiquer que ces deux protéines pourraient exister sous forme de complexes dans les tissus *in vivo*. Enfin, il a été récemment suggéré que la liaison de la forme monocaténaire du tPA à la fibrine, était significativement plus importante que celle de la forme bicaaténaire [5].

L'activation du plasminogène par le tPA. La plasmine est l'enzyme responsable de la lyse des caillots chez les mammifères. Elle circule dans le sang sous forme d'un zymogène inactif, le plasminogène, qui peut être converti en plasmine en empruntant deux voies principales (*figure 3*). (a) Une voie plasmatique, qui fait intervenir soit la pro-urokinase (*single chain urokinase plasminogen activator*, scuPA), molécule monocaténaire, convertie ensuite en urokinase de haut, puis de faible poids moléculaire, soit les facteurs de la phase contact de la coagulation, c'est-à-dire: facteur Hageman, kininogène de haut poids moléculaire, prékallistéine et facteur XI (ou facteur

Rosenthal). Ces deux mécanismes de l'activation du plasminogène ne seraient d'ailleurs pas indépendants l'un de l'autre. (b) Une voie vasculaire, qui est celle des activateurs tissulaires, libérés à partir des cellules endothéliales des parois vasculaires, par des stimuli variés. Des traces de tPA sont trouvées dans le sang circulant, mais l'activité fibrinolytique n'est cependant détectable dans le plasma qu'après la formation de fibrine. Ce phénomène est en accord avec le fait que l'activité enzymatique du tPA est grandement augmentée lorsqu'il hydrolyse le plasminogène en présence de fibrine.

En raison de la faible affinité du tPA pour le plasminogène libre, celui-ci n'est pas activé dans le torrent circulatoire. En revanche, la présence de fibrine augmente considérablement le taux d'activation du plasminogène par le tPA. Ceci a été vérifié par la mesure de la constante de Michaelis de la réaction tPA + plasminogène → plasmine, qui est très élevée si la réaction a lieu en milieu plasmatique, et très abaissée en présence de fibrine*, et a été expliqué par une augmentation de l'affinité du tPA lié à la fibrine

pour le plasminogène, sans influence significative sur le pouvoir catalytique de l'enzyme. Toutefois, en présence d'une très forte concentration de tPA, l'activation du plasminogène peut avoir lieu en phase liquide en l'absence de fibrine. L'étude de la cinétique de l'activation du plasminogène par le tPA permet ainsi de comprendre la «relative» spécificité de cette réaction.

Les inhibiteurs du tPA. Le tPA, comme de nombreuses protéases, peut être inhibé réversiblement par un certain nombre d'inhibiteurs naturels ou synthétiques.

Parmi les inhibiteurs naturels, l' α -2-antiplasminine peut être considérée comme un inhibiteur rapide, alors que l' α -2-macroglobuline, l'anti-C1-estérase, et l' α -1-antitrypsine sont des inhibiteurs plus lents. Mais le tPA possède un inhibiteur spécifique, PAI 1, ou *plasminogen activator inhibitor 1*.

* Rappelons que la constante de Michaelis (K_m) est la concentration d'un substrat d'une enzyme à laquelle la vitesse réactionnelle est la moitié de la vitesse maximale. Plus elle est élevée, moins l'affinité est haute, et inversement.

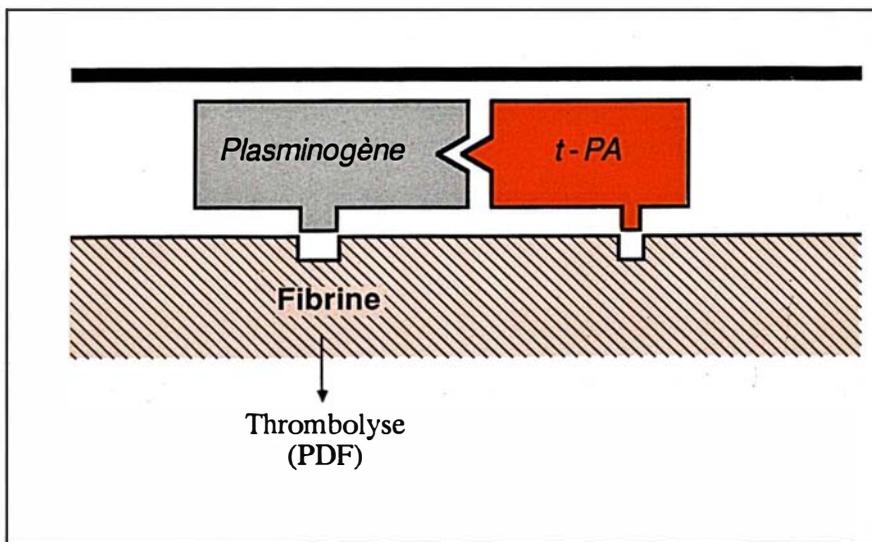


Figure 2. **Complexe ternaire plasminogène-tPA-fibrine permettant une thromolyse localisée à la fibrine et à l'abri de l'action de l' α -2 antiplasminine.** PDF = produits de dégradation de la fibrine.

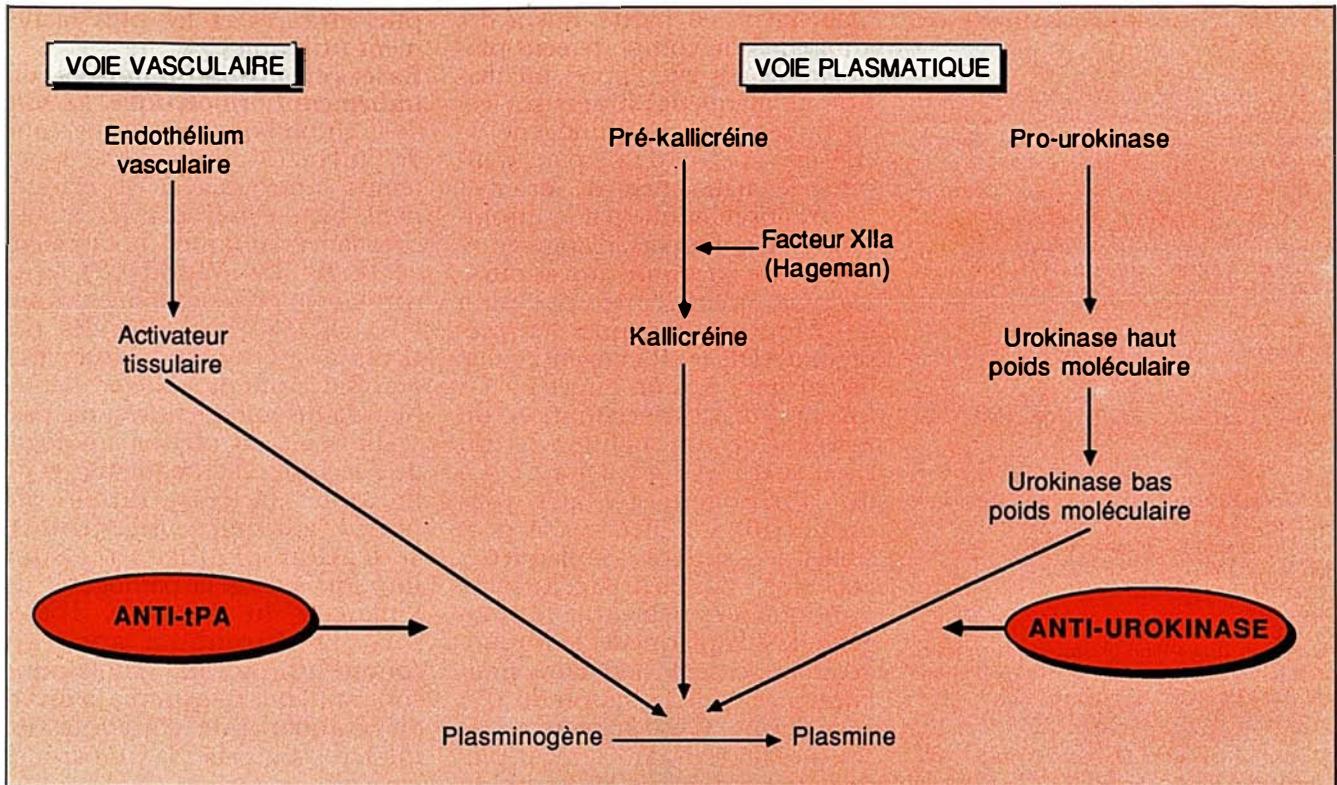


Figure 3. **Voies d'activation du plasminogène.**

Cet inhibiteur spécifique peut également réagir avec l'urokinase. Il est labile en milieu acide, ne se lie pas à la fibrine et n'est pas retrouvé dans le précipité des euglobulines, mais dans le surnageant. Cette glycoprotéine, dont le poids moléculaire est voisin de 50 000, a également été isolée dans le surnageant de culture de cellules endothéliales humaines, et est présente dans les plaquettes sanguines. Après injection de tPA chez le rat, 60 % environ de la dose sont neutralisés rapidement par cet inhibiteur pour donner un complexe d'environ 200 000 daltons dont la fonction principale pourrait être l'élimination du tPA de la circulation sanguine [6].

Pharmacologie du tPA

In vitro, sur des caillots plasmatiques humains suspendus dans une solution tampon ou dans du

plasma homologue contenant des concentrations variées de tPA, l'activité thrombolytique du tPA est environ dix fois plus importante que celle des urokinases de haut ou de bas poids moléculaire (UK). La spécificité relative du tPA vis-à-vis de la fibrine, et son action fibrinogénolytique, ont été vérifiées par incubation de quantités croissantes de tPA dans du plasma citraté déplaqueté pendant une durée de 90 minutes à 37° C, et dosage du taux de fibrinogène avant et après incubation. Au contraire de la streptokinase (SK) ou des deux types d'UK qui engendrent une dégradation rapide et progressive du taux de fibrinogène (50 % à une concentration voisine de 125 U/ml) le tPA n'entraîne une dégradation identique qu'à partir de 200 unités de type UK/ml [7] (soit 1 000 U du nouveau standard international tPA) [8].

In vivo, sur des modèles expéri-

mentaux de thromboses veineuses ou artérielles, le tPA s'est avéré plus actif que l'urokinase et son administration paraît aussi efficace par voie intraveineuse que par voie intracoronaire.

La demi-vie très courte du tPA, qui est éliminé du plasma de manière bi-exponentielle, avec une phase α brève, de l'ordre de trois à quatre minutes, et une phase β de 12 à 15 minutes, nécessite une utilisation en perfusion continue. Le catabolisme est principalement hépatique, intracellulaire au sein des lysosomes. La captation du tPA par les hépatocytes, implique, tout au moins chez le rat, la présence d'un récepteur spécifique, différent de celui des hydrates de carbone [9].

tPA et plaquettes. L'administration prolongée de tPA a causé, en clinique humaine, quelques incidents hémorragiques, non nécessairement liés à une déplétion du fibrinogène circulant, et vraisem-

RÉFÉRENCES

1. Pennica D, Holmes WE, Kohr WJ, et al. Cloning and expression of human tissue-type plasminogen activator cDNA in *E. coli*. *Nature* 1983 ; 301 : 214-21.
2. Ichinose A, Takio K, Fujikawa K. Localization of the binding site of tissue-type plasminogen activator to fibrin. *J Clin Invest* 1986 ; 78 : 163-9.
3. Banyai L, Varadi A, Pathy L. Common evolutionary origin of the fibrin-binding structures of fibronectin and tissue-type plasminogen activator. *FEBS Letter* 1983 ; 163 : 37-41.
4. Xiong Y, Wang Z, Xu Y, Chi C. Reversible binding of the tissue plasminogen activator with fibronectin. *Thromb Haemost* 1987 ; 58 : 436 (abstr 1605).
5. Higgins DL. The interaction of one and two chain tissue-type plasminogen activator with intact and degraded fibrinogen. *Thromb Haemost* 1987 ; 58 : 435 (abstr 1602).
6. Harris R, Garcia Frade L, Poole S, Mahmoud M, Curtis AD, Gaffney PJ. Catabolic behaviour of recombinant tissue-type plasminogen activator (rtPA) in the rat. *Thromb Haemost* 1987 ; 58 : 107 (abstr 376).
7. Samama M, Nguyen G, Desnoyers P, et al. Comparison of thrombolytic, fibrinolytic and fibrinogenolytic properties of tissue plasminogen activator, single chain urokinase, high molecular weight and low molecular weight urokinase in human plasma in vitro. *Fundam Clin Pharmacol* (accepté pour publication).
8. Gaffney PJ, Curtis AD. A collaborative study for a proposed international standard for tissue-type plasminogen activator. *Thromb Haemost* 1985 ; 53 : 134-6.
9. Bakht C, Lewis D, Billings R, Malfroy B. Cellular catabolism of recombinant tissue-type plasminogen activator: identification and characterization of a novel high affinity uptake system on rat hepatocytes. *Thromb Haemost* 1987 ; 58 : 435 (abstr 1601).
10. Vaughan DE, Loscalzo J. Platelet disaggregation in plasma. A novel effect of tissue plasminogen activator. *Thromb Haemost* 1987 ; 58 : 431 (abstr 1586).
11. Multicenter Post-Infarction Research Group. Risk, stratification and survival after myocardial infarction. *N Engl J Med* 1983 ; 331 : 331-6.
12. De Wood MA, Spores J, Hensley GR, et al. Coronary arteriographic findings in acute transmural myocardial infarction. *Circulation* 1983 ; 68 : 39-49.

blement, en partie, dus à des anomalies du comportement plaquettaire. En effet, après incubation de plaquettes filtrées sur gel en présence de plasminogène, le tPA est capable, d'une part, d'inhiber le changement de forme et l'agrégation induite par la thrombine et, d'autre part, d'augmenter la réponse sécrétoire aux stimuli. De plus, ajouté à une suspension de plaquettes humaines, en présence d'ADP, le tPA engendre une désagrégation, dont l'intensité est fonction de sa concentration, du moment de son addition, et du t a u x d e d é g r a d a t i o n du fibrinogène lié aux plaquettes [10]. En effet, le tPA peut se lier à la surface des plaquettes activées, par un mécanisme impliquant également le fibrinogène lié à la plaquette, le fibrinogène présentant des sites similaires à ceux de la liaison du tPA à la fibrine. C'est la présence de ces sites au sein de l'agrégat plaquettaire qui assure la liaison du tPA à la membrane plaquettaire, et facilite ainsi l'activation du plasminogène.

tPA dans l'infarctus du myocarde

Malgré l'introduction, dans les années 1960, des unités de soins intensifs coronariens, dans le but de traiter les arythmies ventriculaires sévères, la mortalité hospitalière de l'infarctus du myocarde au stade aigu, reste élevée (entre 10 et 15 % suivant les séries). La défaillance cardiaque constitue la cause principale de cette mortalité et apparaît directement liée à l'importance de la masse myocardique nécrosée. De plus, l'étendue de l'infarctus et l'importance de l'altération de la fonction systolique ventriculaire gauche sont des facteurs pronostiques essentiels, les nécroses étendues étant responsables de la majorité des morts secondaires [11].

La limitation de la taille de l'infarctus est donc devenue un axe thérapeutique majeur. Pour atteindre ce but, le traitement thrombolytique paraît être actuellement l'une des méthodes les

plus efficaces et les plus facilement utilisables.

Base physio-pathologique du traitement fibrinolytique. Le rôle de la thrombose dans la survenue de l'infarctus du myocarde, longtemps controversé, a été maintenant bien établi par les études coronarographiques, notamment celle de De Wood [12], qui constate la présence d'une thrombose chez 80 % environ des patients ayant subi une coronarographie avant la sixième heure. Mais la thrombose ne résume pas, à elle seule, la physiopathologie de l'occlusion coronarienne, et de multiples facteurs (rupture de plaque athéromateuse, spasmes, activation plaquettaire) sont impliqués dans la pathogénie de l'infarctus du myocarde. Toutefois, la thrombose apparaît comme le processus pathologique commun, qui transforme la maladie coronarienne chronique en infarctus aigu chez la plupart des patients.

L'étude des effets de l'occlusion, puis de la reperfusion coronaire expérimentale, a permis de comprendre les effets de la reperfusion thérapeutique.

Des études expérimentales chez le chien ont montré que la reperfusion d'une artère occluse permettait une réduction de la taille de l'infarctus, proportionnelle à la durée d'occlusion. Une reperfusion effectuée 40 minutes après l'occlusion initiale permettait de sauvegarder 60 à 70 % de la zone à risque. Ce bénéfice n'était plus que de 10 à 20 % après trois heures d'occlusion, et devenait pratiquement nul après six heures.

Ces données expérimentales et coronarographiques ont très légitimement conduit à la mise en œuvre d'un traitement thrombolytique à fortes doses, le plus précocement possible, au cours de l'infarctus du myocarde.

Résultats actuels du traitement thrombolytique. La thrombolyse au stade aigu de l'infarctus du myocarde a trois buts principaux : (a) assurer la reperméabilisation de l'artère coronaire occluse ; (b) limiter la taille de l'infarctus afin de préserver la

fonction ventriculaire gauche ; (c) réduire la mortalité immédiate et à long terme.

La plupart des études menées au début des années 1980 ont été conduites en utilisant la streptokinase, par voie intraveineuse ou intracoronarienne. Leur connaissance est utile à l'analyse des études effectuées avec le tPA, et leurs résultats peuvent être brièvement résumés.

• **Action sur la perméabilité coronaire.** La streptokinase administrée par voie intracoronaire permet d'obtenir une repermeabilisation d'environ 70 à 75 % des cas [13, 14], tandis que par voie intraveineuse, ce taux n'est que de 30 à 50 % [15, 16]. L'obtention d'une reperfusion s'accompagne habituellement d'une diminution rapide de la douleur avec un retour concomitant du segment ST à la ligne iso-électrique, de l'apparition de troubles du rythme ventriculaire (rythme idio-ventriculaire actif notamment) et de la survenue précoce (avant la 16^e heure) du pic de créatine kinase (CK).

• **Action sur la taille de l'infarctus et la préservation de la fonction ventriculaire gauche.** Trois études récemment publiées ont permis d'affirmer l'efficacité de la thrombolyse dans la limitation de la taille de l'infarctus. Elles ont porté sur un total de 2 493 patients, ayant reçu soit une thérapeutique conventionnelle ou un placebo, soit de la streptokinase par voie intraveineuse ou intracoronarienne. La taille de l'infarctus, appréciée à partir des taux de la fraction MB de la CK*, ou de la fraction H de la fraction de la lactate déshydrogénase (LDH), a été significativement réduite dans le groupe des malades traités par thrombolyse. Mais le gain a tou-

jours été proportionnel à la précocité de la mise en œuvre du traitement, de même que l'augmentation de la fraction d'éjection globale, et ceci quel que soit le siège de la nécrose [17-19].

• **Résultats sur la mortalité.** L'importante étude italienne GISSI (*gruppo italiano per lo studio della streptochinasi nell'infarto*) [20], incluant près de 12 000 malades, et opposant le traitement médical conventionnel à une thrombolyse intraveineuse par la streptokinase, a démontré que le traitement fibrinolytique réduisait la mortalité hospitalière de façon significative, si la thérapeutique était débutée avant la sixième heure. Le gain était d'autant plus important que le traitement était commencé plus précocement, avec une réduction de 47 % chez les patients traités dans la première heure de leur infarctus, pourcentage retrouvé dans l'une des études précédemment citées [18]. Dans ces deux études, la diminution de la mortalité était encore constatée au bout d'un an.

• **Risques hémorragiques du traitement.** Le traitement par la streptokinase, s'accompagne, dans la quasi-totalité des cas, d'une fibrinogénolyse importante, avec un effondrement du taux de fibrinogène. Toutes les séries rapportent un certain nombre de complications hémorragiques dont les plus graves sont naturellement cérébrales, avec un taux de létalité lié au traitement, estimé aux alentours de 0,3 %.

Essais thérapeutiques du tPA dans l'infarctus du myocarde. Parmi les nouveaux thrombolytiques, l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA) est celui qui a été, actuellement, le plus largement étudié dans l'infarctus myocardique. Il a été utilisé chez plusieurs centaines de malades, depuis la première publication de Van De Werf en 1984 [21].

A côté de quelques séries non contrôlées [22, 23], les principaux résultats sont issus de quatre grandes études prospectives contrôlées : celle de Collen [24] et la phase II de l'étude coopérative européenne [25] ont comparé l'ac-

tivité du tPA à celle d'un placebo, alors que la première phase de l'étude coopérative européenne [26] et la première phase de l'étude américaine du TIMI (*thrombolysis in myocardial infarction*) [27] ont comparé le tPA à la streptokinase. Toutes ces études ont utilisé un tPA essentiellement bicaténaire, produit par la firme Genentech (Code G 11021).

Nous insisterons essentiellement sur les résultats de l'étude TIMI, et sur ceux des études européennes, qui ont comporté les plus grands effectifs numériques. Leur méthodologie, légèrement différente, a présenté néanmoins de nombreux points communs : les patients étaient atteints d'un infarctus datant de moins de six ou sept heures, et après une héparinothérapie initiale, le tPA était administré par voie veineuse à des doses variant de 55 à 80 mg pendant une période de 90 minutes (étude européenne) ou de trois heures (TIMI). Une coronarographie initiale en pré-traitement a été effectuée dans l'étude TIMI, mais pas dans le cas des études européennes, ceci afin de ne pas retarder la mise en œuvre de la thrombolyse. L'activité du tPA est apparue non seulement supérieure à celle du placebo (61 % contre 21 % d'artères perméables dans l'étude européenne, avec $p < 0,001$), mais également à celle de la streptokinase (70 % contre 55 % d'artères perméables, avec $p = 0,054$) et 62 % de reperfusion de l'artère initialement occluse contre 31 % ($p < 0,01$) dans l'étude TIMI. La lyse du caillot a été rapide, avec une reperfusion obtenue entre la 20^e et la 50^e minute, le plus souvent avant la 45^e minute [23, 24].

A partir de 1985, une modification des méthodes de production a entraîné l'apparition sur le marché d'un tPA essentiellement monocaténaire (G 11035). Une étude dose-réponse menée par le *National Heart Lung and Blood Institute* (NHLBI) américain, a montré une efficacité comparable de cette nouvelle forme de tPA, avec un pourcentage de 76 % d'ar-

* La créatine kinase possède une isoenzyme spécifique du cerveau (B) et une autre, spécifique du muscle (M). L'enzyme est un dimère, les formes BB et MM étant détectées respectivement dans le cerveau et le muscle. Les sous-unités M et B sont toutes deux synthétisées dans le cœur où l'on trouve les dimères MM, MB et BB. Les hétérodimères MB sont donc assez caractéristiques du cœur.

RÉFÉRENCES

13. Anerson JL, Marshall HW, Bray BE, *et al.* A randomized trial of intracoronary streptokinase in the treatment of acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1983 ; 308 : 1312-8.
 14. Rentrop KP, Feit F, Blanke H, *et al.* Effects of intracoronary streptokinase and intracoronary nitroglycerin infusion on coronary angiographic patterns and mortality in patients with acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1984 ; 311 : 1457-63.
 15. Ganz W, Geft I, Shah PK, *et al.* Intravenous streptokinase in evolving acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1984 ; 53 : 1209-16.
 16. Spann JF, Sherry S, Carabello BA, *et al.* Coronary thrombolysis by intravenous streptokinase in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1984 ; 53 : 655-61.
 17. Serruys PW, Simoons ML, Suryapranata H, *et al.* Preservation of global and regional left ventricular function after early thrombolysis in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 1986 ; 7 : 729-42.
 18. Simoons ML, Serruys PW, Van Den Brand M, *et al.* Early thrombolysis in acute myocardial infarction : limitation of infarct size and improved survival. *J Am Coll Cardiol*, 1986 ; 7 : 717-28.
 19. White HD, Norris RM, Brown MA, *et al.* Effect of intravenous streptokinase on left ventricular function and early survival after acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1987 ; 317 : 850-5.
 20. GISSI. Effectiveness of intravenous thrombolytic treatment in acute myocardial infarction. *Lancet* 1986 ; i : 397-401.
 21. Van De Werf F, Ludbrook PA, Bergmann SR, *et al.* Coronary thrombolysis with tissue-type plasminogen activator in patients with evolving myocardial infarction. *N Engl J Med* 1984 ; 310 : 609-13.
 22. Gold HK, Fallon JT, Yasuda T, *et al.* Coronary thrombolysis with recombinant human tissue-type plasminogen activator. *Circulation* 1984 ; 70 : 700-7.
 23. Williams DO, Borer J, Braunwald E, *et al.* Intravenous recombinant tissue-type plasminogen activator in patients with acute myocardial infarction : a report from the NHLBI thrombolysis in myocardial infarction trial. *Circulation* 1986 ; 73 : 338-46.
 24. Collen D, Topol EJ, Tiefenbrunn AJ, *et al.* Coronary thrombolysis with recombinant human tissue-type plasminogen activator : a prospective, randomized, placebo-controlled trial. *Circulation* 1984 ; 70 : 1012-7.
 25. Verstraete M, Bleifeld W, Brower RW, *et al.* Double-blind randomized trial of intravenous tissue-type plasminogen activator versus placebo in acute myocardial infarction. *Lancet* 1985 ; ii : 965-9.
- tères repermeabilisées à la 90^e minute lors de l'emploi d'une dose de 150 mg administrée en six heures (90 mg la première heure, 20 mg la deuxième, puis 10 mg les quatre heures suivantes), cette posologie ayant été choisie pour la deuxième phase de l'étude TIMI.
- Au cours de l'étude TAMI (*thrombolysis and angioplasty in myocardial infarction, study group*) [28], étude où les patients ont reçu 150 mg de tPA monocaténaire, la perméabilité artérielle, estimée à la 90^e minute, a été de 75 %.
- La demi-vie du tPA, extrêmement courte, pourrait être à l'origine de réocclusions plus fréquentes. Cependant, les quelques études s'étant intéressées à ce point, montrent que les taux de réocclusion prouvée angiographiquement, sont extrêmement variables (6 à 37 %). Ces réocclusions peuvent être précoces, dans l'heure suivant la fin de la perfusion du tPA ; elles sont, comme pour tous les agents thrombolytiques, favorisées par la sévérité de la sténose résiduelle sous-jacente et par la lyse incomplète de la thrombose. La poursuite d'une perfusion à petite dose (10 mg/heure) après l'injection initiale, diminuerait, pour Gold [29], ce taux de réocclusion, mais ce fait n'a toutefois pas été retrouvé au cours de l'étude récente du groupe européen [30].
- Dans les différentes études, l'administration de tPA s'est accompagnée d'une activation de la fibrinolyse systémique, objectivée par une baisse des taux du plasminogène et de l' α -2-antiplasminine. La diminution moyenne du taux de fibrinogène a été variable suivant les études, l'intensité de la fibrinogénolyse augmentant avec les doses injectées (10 % de diminution avec une dose de 0,5 mg/kg, 40 à 50 % avec une dose de 0,75 mg/kg).
- Chez certains malades, toutefois, le taux de fibrinogène était inférieur à 1g/l en fin de perfusion de tPA, et est resté bas pendant plusieurs heures après l'arrêt du traitement [31]. Bien que la fibrinolyse systémique induite par le tPA ait été moindre que celle entraî-

née par la streptokinase, la nature et la fréquence des saignements n'ont pas été statistiquement différentes. Il faut toutefois signaler que le nombre de patients étudiés n'est pas encore très grand, si l'on tient compte de la rareté des accidents hémorragiques graves, ce qui rend la comparaison difficile. Il semble toutefois légitime de penser que l'altération de la coagulation induite par le traitement joue un rôle important dans la survenue et la gravité des accidents hémorragiques, ce qui laisse espérer une meilleure tolérance du tPA.

Les résultats des importantes études contrôlées européennes et américaines (phase II du TIMI) n'étant pas encore publiés, nous ne possédons pas de données solides sur l'efficacité du tPA en terme de limitation de la taille de l'infarctus du myocarde, et de la réduction éventuelle de la mortalité. De très courtes séries non contrôlées ont fait état d'une amélioration du métabolisme myocardique et de la fonction régionale ventriculaire gauche après thrombolyse par le tPA.

Enfin, il reste à signaler les résultats préliminaires, mais encourageants, obtenus par l'association de faibles doses de tPA, dans un rapport molaire de 1 à 4 ou de 4 à 1, à de faibles doses d'urokinase monocaténaire (pro-urokinase ou *single chain urokinase plasminogen activator*, scuPA) ou d'urokinase bicaténaire. Ces résultats ont montré l'existence d'une potentialisation entre ces composés, dans le traitement de l'infarctus du myocarde, permettant ainsi de réduire le coût du traitement et l'apparition d'effets secondaires, en particulier fibrinogénolytiques.

Perspectives d'avenir et nouvelles molécules

En administration intraveineuse, l'efficacité du tPA apparaît ainsi supérieure à celle de la streptokinase, en terme de perméabilité artérielle. En revanche, aucune donnée actuellement publiée ne permet de conclure dans le

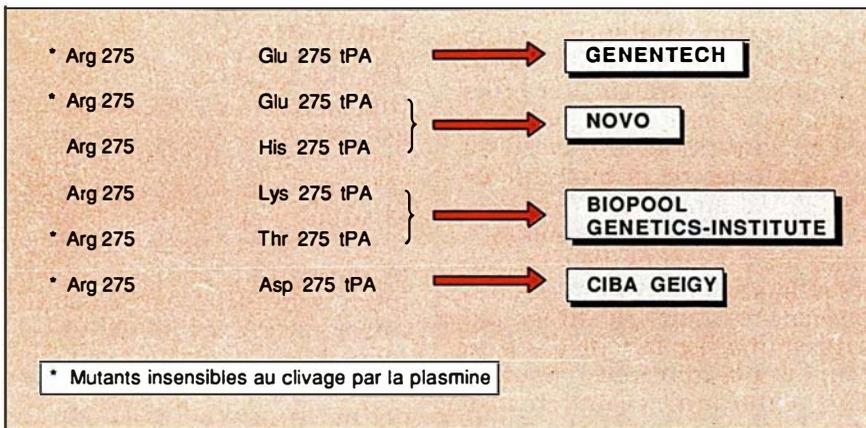


Figure 4. **Acides aminés substitués à l'arginine 275 au niveau du site de clivage de la molécule.**

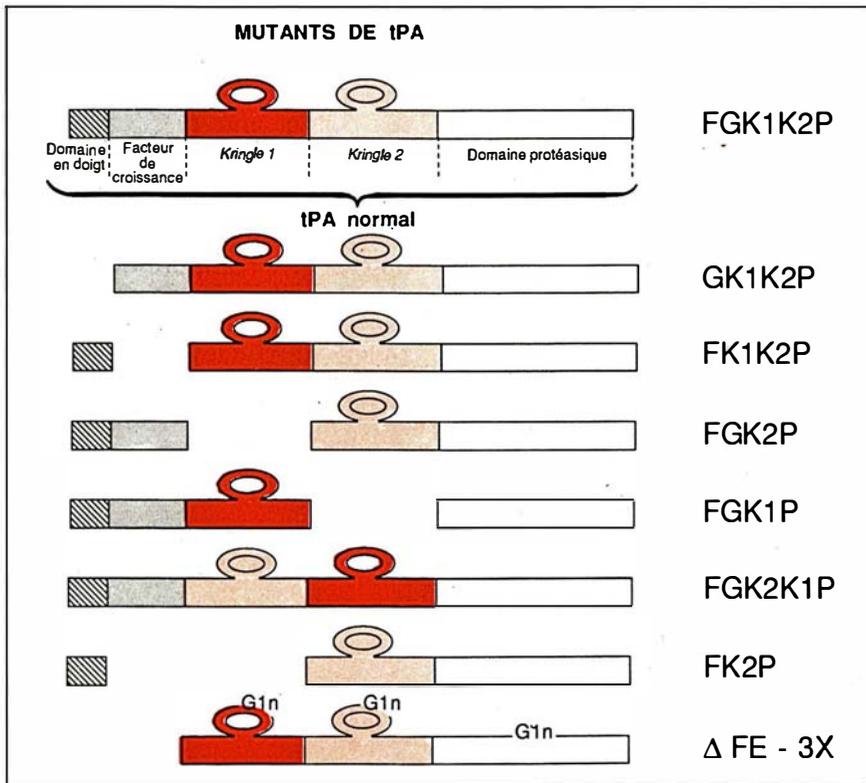


Figure 5. **Mutants du tPA obtenus par délétion de certaines parties de la molécule.**

domaine de la limitation de la taille de l'infarctus ou de la réduction de la mortalité. L'effet fibrinolytique systémique du tPA, moins marqué qu'avec les thrombolytiques classiques, rend compte de la bonne tolérance clinique du produit et laisse espérer une réduction du risque hémorra-

gique, même si celui-ci n'a pas encore été statistiquement démontré.

Actuellement, les activateurs du plasminogène, tPA et scuPA, font l'objet d'un enjeu économique et biotechnologique considérable [32]. Si, avec ces composés, une plus grande activité throm-

bolytique et un pouvoir fibrinolytique moindre ont pu être mis en évidence, l'agent thrombolytique idéal, celui qui respecterait le caillot fibrino-plaquettaire de l'hémostase et n'attaquerait que le thrombus occlusif, reste encore à découvrir. En vue d'obtenir une spécificité encore meilleure vis-à-vis de la fibrine et une plus longue durée de vie, les chercheurs s'orientent vers différentes possibilités.

- Création de molécules complexes au moyen de groupements chimiques pouvant être progressivement hydrolysés. Des blocages par acylation du site actif du complexe streptokinase-plasminogène ont déjà été réalisés, mais si la demi-vie biologique a pu être multipliée par 50 ou par 100, avec l'avantage d'une administration intraveineuse en bolus, les effets secondaires de ce complexe paraissent voisins de ceux de la streptokinase seule.

- L'augmentation de la spécificité vis-à-vis de la fibrine a été obtenue par conjugaison chimique de la molécule de tPA avec des anticorps monoclonaux spécifiques, (en particulier 59D8) dirigés contre la fraction aminotermine de la chaîne β de la fibrine. A activité amidolytique égale, le pouvoir thrombolytique de ces complexes est environ 25 fois plus important que celui du tPA seul, et sur des modèles expérimentaux de thrombolyse chez le lapin, le tPA-59D8 s'est avéré 3 à 10 fois plus puissant. De plus, à concentrations thrombolytiques équivalentes, la diminution des taux de fibrinogène et d'α-2-antiplasmine est beaucoup moins importante.

La fusion d'un anticorps monoclonal dirigé contre la fibrine, avec la chaîne β du tPA, de même que des conjugués entre des anticorps spécifiques de la fibrine et des anticorps spécifiques du tPA, ont également été réalisés. Les essais effectués sur la lyse de caillots standard ont montré que la combinaison de ces anticorps spécifiques était capable d'engendrer

RÉFÉRENCES

26. Verstraete M, Bernard R, Bory M, *et al.* Randomized trial of intravenous recombinant tissue-type plasminogen activator versus intravenous streptokinase in acute myocardial infarction. *Lancet* 1985 ; i : 842-7.
27. Chesebro JH, Knatterud G, Robert R, *et al.* Coronary thrombolysis with recombinant human tissue-type plasminogen activator: a prospective, randomized, placebo-controlled trial. *Circulation* 1987 ; 76 : 142-54.
28. Topol EJ, Califf RM, George BS, *et al.* A randomized trial of immediate versus delayed elective angioplasty after intravenous tissue plasminogen activator in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1987 ; 317 : 581-8.
29. Gold HK, Leinbach RC, Garabedian HD, *et al.* Acute coronary reocclusion after thrombolysis with recombinant human tissue type plasminogen activator: prevention by a maintenance infusion. *Circulation* 1986 ; 73 : 347-52.
30. Verstraete M, Arnold AE, Brower RW, *et al.* Acute coronary thrombolysis with recombinant human tissue type plasminogen activator: initial patency and influence of maintained infusion on reocclusion rate. *Am J Cardiol* 1987 ; 60 : 231-7.
31. Samama M, Verdy E, Conard J, *et al.* Activateur tissulaire du plasminogène (tPA) dans l'infarctus du myocarde: aspects biologiques. *Arch Mal Cœur* 1986 ; 79 : 1618-24.
32. Caillaud F. Thrombolytiques: la génération des chimères. *médecine/sciences* 1986 ; 2 : 568-72.
33. Haber E, Runge M, Bode C, *et al.* Antibody targeted fibrinolysis. *Thromb Haemost* 1987 ; 58 : 253 (abstr 924).
34. Collen D. Synergism, mutants and hybrids of tissue-type plasminogen activator (tPA) and single chain urokinase-type plasminogen activator (scuPA): potential for thrombolytic therapy. *Thromb Haemost* 1987 ; 58 : 254 (abstr 926).
35. Erickson LA, Bergum PW, Hubert EV, *et al.* Enhancement and inhibition of the activity of recombinant analogs of tissue plasminogen activator. *Thromb Haemost* 1987 ; 58 : 287 (abstr 1045).
36. Cambier P, Van De Werf F, Larsen GR, Collen D. Coronary thrombolysis in dogs with a nonglycosylated variant of human tissue-type plasminogen activator lacking the finger and growth factor domains. *Thromb Haemost* 1987 ; 58 : 271 (abstr 995).
37. Reboud-Ravaud M. Les activateurs du plasminogène: aspects généraux et développements récents. *Biochimie* 1985 ; 67 : 1197-216.

une activité thrombolytique beaucoup plus grande, mais l'activité fibrinogénolytique et la diminution du taux de l' α -2-antiplasmine sont similaires à celles induites par le tPA seul [33].

• La substitution, au niveau du site de clivage de la molécule de tPA, de l'arginine 275 (*figure 4, p. 229*) par divers acides aminés, a conduit à des analogues recombinés monocaténaires, dont certains s'avèrent résistants au clivage par la plasmine. Le facteur d'activation du plasminogène, pour le mutant thréonine, serait environ deux fois plus élevé que pour le tPA natif. Le remplacement de l'arginine 275 par l'acide glutamique conduit à un composé plus efficace, dont la clairance, chez le lapin ou le primate, est environ deux fois plus lente que celle du tPA normal [34].

• Des molécules hybrides ont été obtenues par fusion de la région N-terminale du tPA avec la chaîne C-terminale de la scuPA; elles possèdent en général les propriétés enzymatiques de la scuPA, mais peuvent présenter ou ne pas présenter l'affinité spécifique pour la fibrine [35].

• Enfin, des mutants de tPA ont pu être réalisés par délétion de certaines parties de la molécule (*figure 5, p. 229*). La présence de la boucle 2 (*kringle 2*) adjacente au domaine protéasique est nécessaire pour l'obtention d'une activité thrombolytique identique à celle du tPA normal. La délétion du domaine en doigt, ajoutée à celle du domaine du facteur de croissance épidermique et à la substitution de l'asparagine (Asn) par la glutamine (Glu) au niveau des sites communs de glycosylation, conduit à un variant appelé Δ FE-3X. Celui-ci possède, chez le chien porteur d'un caillot coronaire, une demi-vie beaucoup plus longue, et une activité thrombolytique beaucoup plus importante et plus rapide, que celles du tPA normal à dose identique [36]. Il faudra évidemment s'assurer que ces molécules hybrides n'acquerront pas une antigénicité dont la molécule de tPA est dépourvue ■

Summary

Thanks to genetical engineering, human tissue-plasminogen activator (tPA) has been obtained in sufficient amounts in order to perform analytical pharmacological and clinical studies, particularly in the treatment of acute myocardial infarction. After intravenous infusion, tPA was found to be more potent than streptokinase as regards to the incidence of coronary arterial recanalization. In contrast, additional studies will be required to demonstrate its superiority regarding the infarct size limitation and the mortality reduction. The systemic fibrinolytic effect is less potent than that induced by streptokinase or urokinase, and therefore suggests that the bleeding risk could be reduced. Structural modifications of the molecule, like mutants and hybrids, were able to give compounds with a longer half-life connected with an enhanced thrombolytic potential which permit a more rapid recanalization.

TIRÉS A PART

M. Samama : laboratoire central d'hématologie, hôpital de l'Hôtel-Dieu, 1, place du Parvis-Notre-Dame, 75181 Paris Cedex 04, France.