

Augmentation du transport de l'Oxygène par le sang:

agents actifs sur l'érythropoïèse & transporteurs d'oxygène

M. AUDRAN ; E. VARLET-MARIE

La consommation maximale d'oxygène est le principal facteur limitant la performance dans les sports d'endurance. Différentes techniques d'entraînement, souvent sophistiquées, ont été développées pour améliorer ce paramètre. Mais il peut également être augmenté de façon artificielle, par la transfusion sanguine, un traitement à l'érythropoïétine et, théoriquement, par l'administration d'une nouvelle classe d'agents thérapeutiques : les transporteurs d'oxygène. Le but de cet exposé est de faire le point sur les substances et méthodes existantes qui sont ou pourront être détournées afin d'augmenter le transport de l'oxygène par le sang

L'érythropoïétine

L'érythropoïétine (Epo) est un facteur de croissance hématopoïétique agissant spécifiquement sur la lignée érythrocytaire. Produite par génie génétique depuis 1998, l'érythropoïétine recombinante humaine (rHu-Epo) connaît un énorme succès dans le traitement des anémies d'origines diverses (IRC, chimiothérapie, SIDA). Outre son action sur l'érythropoïèse, l'Epo a une action neuroprotectrice et agit également sur le muscle dont elle stimulerait l'angiogénèse et certains processus de réparation.

On trouve sur le marché 2 formes de rHu-Epo, les formes α (Procrit®, Epogen®, Eprex®, Erypo®) et β (Neo-Recormont®) ainsi qu'une Epo hyperglycosylée (5 chaînes glycosylées au lieu de 3), la Darbepoietine α ou Aranesp®. L'Epo ω produite par Elanex a disparu depuis le rachat de la société par Baxter.

Le brevet couvrant sa fabrication tombera dans le domaine public en 2006 (hors US), d'autres rHu-Epo sont aujourd'hui produites dans différents pays (Russie, Cuba, Chine...).

Du fait de son intérêt dans le traitement des anémies et de la possibilité d'autres applications (attaque cérébrale, infarctus du myocarde), de nombreux efforts sont réalisés pour améliorer ses propriétés pharmaceutiques (voie d'administration, demi-vie) ainsi que pour trouver de nouvelles molécules pour traiter l'anémie.

Les nouvelles formes d'Epo.

Transkaryonic Therapies (TKT) a mis au point une érythropoïétine, l'Epo δ ou Dynepo™, produite par génie génétique à partir d'une lignée cellulaire humaine. Cette Epo qui est une Epo α , devrait être structurellement plus proche de l'Epo humaine que les rHu-Epo actuelles produites à partir de cellules de hamsters.

Mais généralement, le but recherché est d'obtenir une molécule de demi-vie plus longue de sorte à diminuer la fréquence des administrations.

Plusieurs composés sont en étude pré clinique ou clinique :

- l'Epo Glycosylée (PEG-Epo) développée par les laboratoires Prolong Pharmaceutical, et SunBio
- la CERA™ (Continuous Erythropoietic Activator Stimulator) développée par Hoffman-LaRoche, une Epo non glycosylée à laquelle est greffé un polymère de 30 kDa.
- la SEP (Synthetic Erythropoiesis Protein), composée d'une chaîne peptidique de 166 acides aminés et de 2 chaînes d'un polymère. Sa masse est de 51 kDa. Elle serait développée comme la précédente par Hoffman-La Roche.

- des oligomères d'Epo et en particulier un dimère (crosslinked-Epo)
- des protéines de fusion :
 - l'Epo-Epo de masse moléculaire 76 kDa
 - l'Epo-Fc, Epo fusionnée avec une portion d'immunoglobuline, développée par les laboratoires Syntonix et qui présente la propriété d'être administrée par inhalation.

Les nouvelles molécules : mimétiques de l'Epo, inhibiteurs de l'«Hypoxia Inducible Facteur – Prolif Hydroxylase».

Trouver des molécules moins chères à produire et pouvant éventuellement être administrées par voie orale est un autre challenge dans la recherche du traitement de l'anémie.

La dimérisation des récepteurs de l'Epo à la surface des progéniteurs des globules rouges, mécanisme qui déclenche leur survie et leur prolifération, peut être assurée par des molécules n'ayant aucune relation structurale avec l'Epo. Ces mimétiques de l'Epo sont soit des petits peptides de moins de 20 acides aminés, soit des petites molécules non peptidiques.

La compagnie Affimax a créé un tel peptide, l'Hematide™ qui entre en phase 2 d'essais cliniques.

Une autre possibilité dans le traitement de l'anémie est de stimuler la production d'Epo par l'organisme. Ceci vient d'être réalisé par la compagnie FibroGen qui a créé un composé le FG-2216. En inhibant l'«Hypoxia Inducible Facteur – Prolif Hydroxylase», une enzyme qui régule la stabilité et l'activité de l'«Hypoxia Inducible Factor», le FG-2216 induit la production d'Epo endogène. Ce composé est en phase 1 d'étude clinique.

La thérapie génique.

La thérapie génique constitue une autre approche pour remplacer les administrations régulières d'Epo. Différentes méthodes ont été proposées : allant de l'introduction du gène codant pour l'Epo dans les muscles squelettiques au moyen de plasmides ou de différents vecteurs viraux, aux capsules implantables contenant des cellules exprimant le gène de l'Epo. Dans tous les cas l'expression de l'Epo est continue et doit être régulée. Certaines approches utilisent la tétracycline, la méfipristone, la doxycycline ou la rapamicyne pour la régulation. Oxford BioMedica annonçait en 2002 le développement d'un nouveau produit le Repoxygen™, vecteur délivrant le gène de l'Epo, ce gène étant sous le contrôle d'un élément («Hypoxia Responsive Element») sensible à la pression partielle en oxygène.

Mais la thérapie génique progresse lentement et il n'y a pas encore d'essai clinique en cours concernant l'Epo.

Autres composés pouvant augmenter le transport de l'oxygène par le sang

Il s'agit des émulsions de perfluorocarbures (PFCs) et des solutions d'hémoglobine. Le développement des émulsions de PFCs a été abandonné, quand aux solutions d'hémoglobines existantes, même si elles augmentent le transport de l'oxygène par le sang, elles n'améliorent pas la délivrance de l'oxygène aux muscles chez le sujet sain et sont donc d'aucun intérêt pour l'amélioration de la performance.

Dépistage du dopage à l'Epo et autres agents ou méthodes stimulant l'érythropoïèse.

Le dépistage du dopage est relativement aisé si : (i) on connaît la substance à détecter, (ii) le produit n'est pas un composé endogène, (iii) sa demi-vie n'est pas trop brève en comparaison de l'apparition de ses effets.

Hélas, l'Epo est loin de satisfaire à ces 3 critères : c'est un composé endogène, sa demi-vie est de quelques heures et ses effets se manifestent environ 5 jours après administration! Mais il s'agit d'une molécule glycosylée et la glycosylation est dépendante de la nature de la cellule

qui la produit. Il est donc possible, à partir de la charge électrique de séparer les différentes isoformes et de distinguer l'Epo endogène de l'Epo recombinante. Seule donc l'Epo δ d'origine humaine pourrait poser un problème de détection, mais le fait que les cellules qui la produisent ne sont pas des cellules rénales et sont cultivées en milieu artificiel devrait suffisamment modifier la glycosilation pour la rendre détectable.

De même, comme il l'a été montré chez le singe, l'Epo produite par thérapie génique présente une glycosilation suffisamment différente de l'Epo endogène pour pouvoir être mise en évidence.

Quant aux autres molécules, n'étant pas des molécules exogènes elles seront aisément détectables soit dans le sang, soit dans l'urine.

En matière de dopage sanguin, il ne faut pas penser que les tricheurs utilisent de nouvelles molécules inconnues et indétectables, ni s'effrayer des possibilités qu'offrira un jour la thérapie génique. Le problème aujourd'hui est double : l'usage de la transfusion sanguine autologue, toujours indétectable et l'utilisation de faibles doses Epo, efficaces et permettant d'échapper au test urinaire.

Traitement à l'EPO par thérapie génique chez l'homme.

La revue scientifique BLOOD a publié dans son numéro d'octobre 2005 les résultats de la première expérimentation de traitement à l'EPO par thérapie génique (ex-vivo) chez l'homme. Très succinctement, des petits cylindres de peau ont été prélevés sur des sujets insuffisants rénaux, placés dans un milieu de culture; le transgène codant pour l'EPO a été introduit dans ces cellules grâce à un vecteur viral, et ces petits éléments de peau ont ensuite été placés dans l'abdomen des patients. La production de la protéine n'a duré que 14 jours et, hors mis une augmentation de la concentration plasmatique de l'EPO et du nombre de réticulocytes, aucun autre paramètre hématologique n'a été modifié.