

Thérapie génique et dopage

Michel AUDRAN

**Professeur des universités, Directeur du laboratoire de biophysique et de bioanalyse,
Faculté de Pharmacie de Montpellier**

I. Définitions

Au sens premier, la thérapie génique est le remplacement d'un gène défectueux par un gène normal et fonctionnel qui sera à l'origine de la synthèse de la protéine manquante ou défectueuse.

Cette définition s'est élargie et l'on entend aujourd'hui par thérapie génique toute introduction dans une cellule de matériel génétique comme moyen thérapeutique, qu'il s'agisse d'un gène, d'une portion de gène, de DNA, de RNA, d'oligo-nucléotides.

Il existe deux types de thérapie génique : la thérapie génique somatique et la thérapie génique germinale. Seule la thérapie somatique, consistant à introduire des gènes exclusivement dans des cellules somatiques, c'est-à-dire non sexuelles, est autorisée.

On peut opérer de trois façons :

- la thérapie ex-vivo : consiste à prélever des cellules (cellules sanguines, de la moelle osseuse, des cellules hépatiques ou des cellules cutanées) et à les modifier ex-vivo avant de les réintroduire dans l'organisme.
- la thérapie locale : administration locale du transgène : au niveau des muscles, des yeux, des articulations, voire des tumeurs.
- la thérapie systémique, plus rare : il s'agit d'administrations intraveineuses, intra-artérielles ou intra-péritoniales du transgène.

II. Procédés de thérapie génique

Nous nous intéresserons particulièrement au muscle, dans la mesure où la cellule musculaire se prête facilement à la thérapie génique. Comment introduire le gène dans le muscle squelettique ? Il est possible d'introduire le gène nu, mais le plus souvent, on l'introduit au moyen de vecteurs : les vecteurs actuellement utilisés sont des vecteurs viraux peut être dans un proche avenir seront-ils synthétiques. On peut également retirer des cellules musculaires et les modifier ex-vivo avant de les réintroduire. Bref quelle que soit la méthode, il est possible de transformer le muscle en glande endocrine.

Introduction du gène dans le muscle squelettique

• plasmide

• vecteur viral débarrassé des séquences codant pour les protéines virales

• myoblastes ou fibroblastes génétiquement modifiés

Il existe d'autres procédés de thérapie génique, en particulier celui utilisant des cellules encapsulées : il s'agit de petites capsules en céramique, poreuses, placées sous la peau, qui contiennent des cellules génétiquement modifiées. Elles sont perméables, et peuvent donc recevoir les nutriments ; elles peuvent libérer dans l'organisme les molécules d'intérêt thérapeutique pour lesquelles elles ont été créées. L'avantage de ce système est que ces cellules sont à l'abri du système immunitaire : il y aura donc production de la protéine d'intérêt aussi longtemps que la capsule restera sous la peau.

Les cellules encapsulées

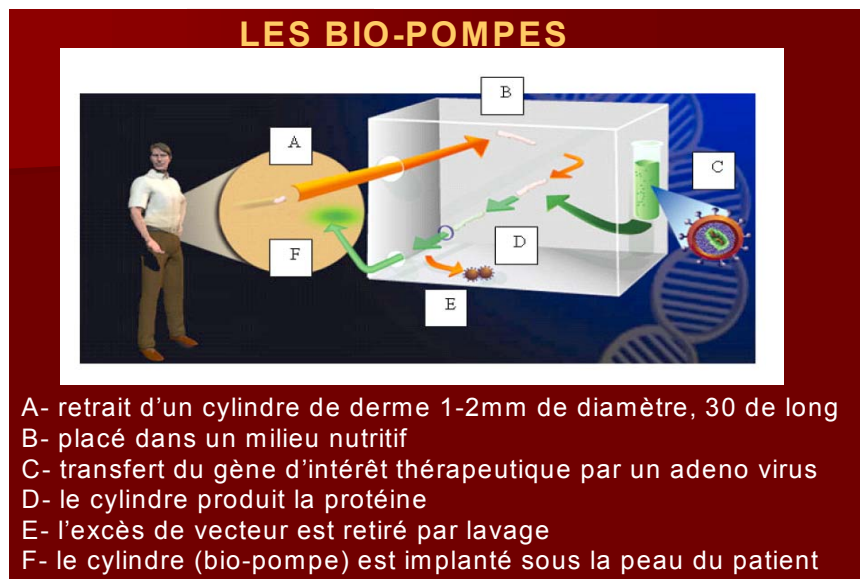
Immune System Molecules

Semipermeable Membrane

Oxygen & Nutrients

Therapeutic Molecules

Un autre procédé est celui des bio-pompes. Il s'agit de thérapie génique ex-vivo. On retire des petits cylindres de derme, on les place dans un milieu nutritif, on leur injecte le gène par l'intermédiaire de virus. On s'assure que le cylindre produit la protéine et on dosera la quantité de protéine produite par cylindre en retirant par lavage l'excès de vecteur viral. Ce cylindre est alors réimplanté, le plus souvent dans l'abdomen du patient.



III. Détournements possibles de la thérapie génique à des fins de dopage

La thérapie génique peut être utilisée à des fins de dopage par les procédés suivants :

- stimulation (ou blocage) de la production endogène d'une hormone ;
- production d'une hormone spécifique par une cellule non programmée en modifiant son génome ;
- renforcement tissulaire tendineux ou des os grâce aux cultures de cellules ;
- sélection génétique

1. L'EPO

Une des substances les plus intéressantes, en termes de dopage est l'érythropoïétine (EPO). C'est un facteur de croissance impliqué dans la production des globules rouges et dont l'administration permet d'augmenter le transport de l'oxygène par le sang.

Le gène codant pour l'EPO a été injecté avec succès dans le muscle squelettique chez la souris, chez le singe et même chez l'homme. Cependant, afin d'éviter une augmentation excessive de l'hématocrite, il faut réguler l'expression du transgène. Ceci peut être fait par l'un des procédés suivants :

- **des agents pharmacologiques : tétracyclines (et dérivés), rapamycine (et analogues), anti-progestérone (mefepristone et analogues), ecdysone et muristéronne**

On associe au transgène un système de régulation qui est placé sous le contrôle d'une molécule exogène appelée inducteur. Cet inducteur joue le rôle d'un interrupteur. En sa présence il y a production de la protéine, en son absence il y a arrêt de la production (le système peut également fonctionner en sens inverse). En outre, la quantité de protéine produite est proportionnelle à la quantité d'inducteur administrée. La production peut donc être maîtrisée, comme le montrent les expérimentations sur des souris. Dans le cadre d'une expérience réalisée sur des singes, on fait produire et on régule la production de l'EPO par les cellules musculaires depuis six ans !

- **des molécules physiologiques : glucose, oxygène**

Une société a mis au point en 2000-2002 un médicament de thérapie génique le RepoxygenTM. Il s'agit du gène de l'EPO associé à un inducteur qui est un élément sensible à l'hypoxie. Ainsi, en injectant du RepoxygenTM dans le muscle, celui-ci se met à produire de l'EPO quand la pression partielle de l'oxygène dans le sang diminue ; dès que l'hématocrite atteint une valeur normale, la production cesse. Le laboratoire n'est jamais allé au-delà des essais pré-cliniques ; il n'y a jamais eu d'essais cliniques sur l'Homme. Mais on voit bien l'intérêt de ce système notamment s'il était utilisé conjointement avec les chambres hypobares ou hypoxiques : augmentation de la production d'EPO pendant la nuit en chambre hypoxique, arrêt de la production d'EPO le jour en normoxie !

Parmi les autres procédés on peut citer celui qui consiste à injecter en intradermique des lentivirus modifiés, portant le gène de l'EPO et dont on peut activer la production d'EPO grâce à un corticoïde sous forme de pommade.

J'ouvre, au passage, une petite parenthèse pour signaler qu'aujourd'hui, grâce à la thérapie cellulaire, il est possible de faire de l'autotransfusion. Il suffit d'isoler quelques cellules souches dans le sang d'un patient, de les transformer in vitro en globules rouges et puis de les transfuser chez le même patient. Notez bien qu'un tel procédé est détectable.

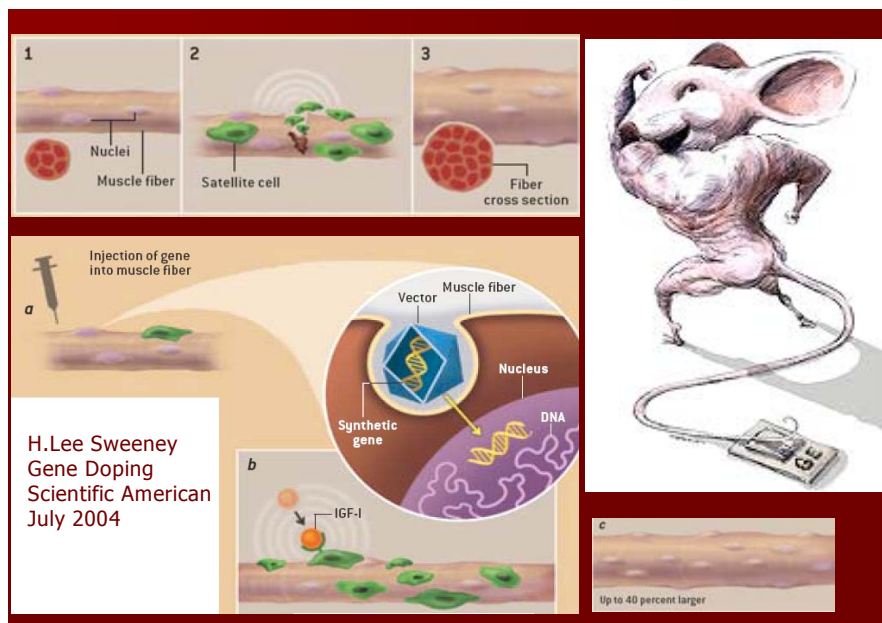
1. L'IGF1 et la myostatine

Grâce à la thérapie génique, on va pouvoir faire produire par le muscle squelettique des facteurs de croissance musculaires et augmenter ainsi la croissance et la différenciation cellulaire. Le facteur de croissance le plus connu est l'IGF1. Très grossièrement lors d'une blessure musculaire, il y a production locale d'IGF1. Sous l'influence de ce facteur de croissance des cellules satellites sont

recrutées et vont se transformer et produire de nouvelles myofibrilles et de nouveaux noyaux. Après l'accident musculaire, la fibre musculaire est plus grande et plus solide.

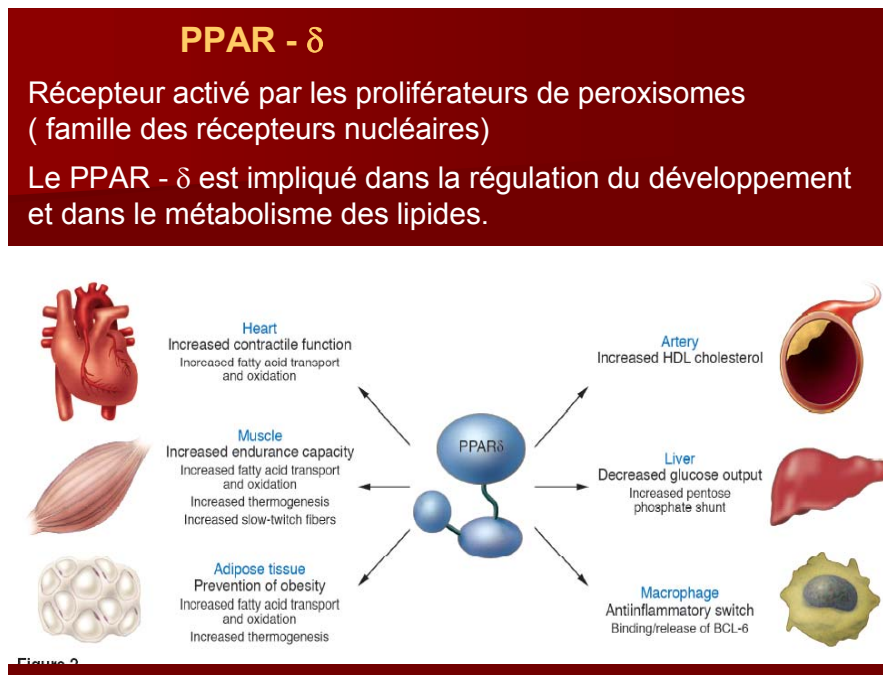
On peut obtenir le même résultat en injectant directement dans la cellule musculaire le gène codant pour l'IGF1 ; le même mécanisme de recrutement des cellules satellites se produit alors et on peut obtenir un gain de la fibre musculaire de l'ordre de 40%.

Le facteur qui régule et qui empêche la croissance exagérée du muscle est la myostatine. On peut ainsi envisager de modifier le gène qui produit la myostatine et rendre ainsi inefficace la protéine produite (de telles mutations naturelles existent chez l'animal et chez l'Homme). On peut également administrer des anticorps anti-myostatine, ou encore de bloquer le récepteur à la myostatine pour obtenir un gain de masse musculaire.



2. Le PPAR- δ

Il est également possible, grâce à la thérapie génique, de modifier l'utilisation de l'énergie en agissant au niveau des mitochondries, en particulier sur la protéine PPAR- δ . Le PPAR- δ intéresse beaucoup l'industrie pharmaceutique dans la mesure où il pourrait être utilisé dans le traitement de l'obésité, un marché prometteur. Une augmentation de la production de cette protéine au niveau musculaire entraîne une augmentation du nombre de fibres musculaires de type 1 et permet ainsi d'améliorer la performance physique en endurance (souris marathoniennes).



3. Autres possibilités

Une autre possibilité consisterait à utiliser le VEGF, facteur de croissance vasculaire. On pourrait alors augmenter la vascularisation du muscle et ainsi lui fournir davantage d'oxygène.

On pourrait aussi envisager d'augmenter le seuil de résistance à la douleur en faisant produire à l'organisme davantage d'endorphines.

On pourrait également essayer de transformer les fibres de type 1 en type 2 en activant un gène dormant, le gène de la myosine 2B, dans le muscle squelettique et fabriquer ainsi des sprinters.

Enfin on peut utiliser la thérapie génique pour le traitement des sportifs, notamment pour accélérer la guérison du muscle squelettique, du cartilage articulaire, des os ou des tendons et des ligaments. Tant qu'il s'agit de traiter des sujets, il n'y a pas de dopage. Mais il est possible d'imaginer que des athlètes ayant développé leurs muscles au moyen des méthodes précédemment citées auront besoin de tendons ou d'os plus solides pour les supporter. On peut se demander, à l'instar de Patrick Laure, où se situera la limite entre la réparation d'un tendon blessé et l'amélioration de sa résistance en prévision d'une compétition ?

4. Les risques

Le détournement de la thérapie génique à des fins de dopage n'est pas sans présenter certains risques, au nombre desquels :

- les chocs dus au virus (un décès au cours d'essais cliniques)
- les risques immunogènes par rapport à la protéine produite (cas d'anémie chez des primates ayant reçu le gène de l'EPO)
- les risques liés au contrôle de l'expression du transgène ;
- les risques mutagènes (cas de leucémies chez les « enfants bulle »)

5. Le dépistage

La question qui se pose en termes de dépistage est la suivante : sera-t-il possible de différencier la protéine physiologique de celle produite par le transgène ? Pour l'EPO, et chez le singe la réponse est positive. On ne sait pas en revanche s'il en sera de même pour l'IGF1 ou d'autres protéines.

On peut suggérer différentes possibilités de dépistage :

- **la recherche d'une réponse immunitaire au vecteur viral**
La différenciation est pourtant peu aisée dans la mesure où ce sont des virus courants qui sont utilisés.
- **recherche du transgène**
Pour rechercher le transgène lui-même, il faudrait effectuer une biopsie ; il semble délicat d'imposer aux athlètes un tel prélèvement !
- **le marquage du transgène par codage du DNA**
Il faut souligner que l'industrie pharmaceutique n'a jamais été favorable au marquage de ses médicaments. En outre, de tels transgènes peuvent aisément être produits par un étudiant de maîtrise dans un laboratoire universitaire (sûrement sans les qualités requises pour une administration à l'Homme).
- **la modification de l'expression de certains gènes**
Plusieurs équipes travaillent aujourd'hui sur ce sujet. Il s'agit de mettre en évidence la modification de l'expression de certains gènes induite par l'administration ou à la production in vivo d'une substance médicamenteuse.

En conclusion, il est difficile de dire aujourd'hui si la thérapie génique est déjà utilisée dans le sport ou si elle le sera dans un futur proche ou plus lointain. La technique n'est certes pas au point, mais nous savons tous qu'un certain nombre de sportifs sont prêts à prendre des risques pour augmenter leur performance. Cependant, s'il faut suivre de près les possibilités offertes par cette nouvelle thérapie, je ne suis pas convaincu qu'il faille s'alarmer. Qu'apporte-t-elle de plus que les autres techniques ? Comparé à une médication classique, l'effet est assez lent, la réversibilité de l'effet en cas de surdosage difficile ; le dosage est délicat à ajuster et le traitement est relativement complexe pour des risques extrêmement élevés.

Questions-réponses avec l'amphithéâtre

Docteur Eric JOUSSELLIN, chef du Département médical à l'INSEP

En matière d'applications quotidiennes, les facteurs de croissance sont déjà utilisés, notamment dans certains traitements tendino-ligamentaires dans le secteur orthopédique. Il ne s'agit pas de thérapie génique, dans la mesure où les facteurs de croissance sont prélevés quelques heures avant sur le même sujet.

Toujours est-il que la question se pose aujourd'hui dans le domaine du sport : aux Etats-Unis, des équipes ont utilisé ce procédé pour renforcer des tendons de bodybuilders. Cela pose un véritable problème en matière de dépistage des facteurs de croissance propres de l'individu.

Docteur Martine DUCLOS, Maître de conférence universitaire, Praticien hospitalier, INRA – UMR 1243 – Université Bordeaux 2

Je voudrais faire une simple remarque. Vous avez montré la photographie de l'enfant né à Berlin qui a présenté une mutation de la myostatine. Cet enfant est celui d'une athlète de haut niveau. A sa naissance, sa masse musculaire n'a donc pas été une grande surprise. En revanche, il a présenté de petites myoclonies néonatales qui ont alerté les observateurs.

En outre, par rapport à la conclusion, plutôt rassurante, de cette présentation, il me semble que les nouvelles techniques comme l'encapsulation sont quelque peu inquiétantes.

Professeur Michel AUDRAN

Sans doute faudra-t-il surveiller les évolutions de ces techniques. Elles sont toutefois bien moins pratiques à ce jour que l'administration de médicaments...