

CARDIOLOGIE

Conférences scientifiques

COMPTE RENDU DES CONFÉRENCES

SCIENTIFIQUES DE LA DIVISION DE

CARDIOLOGIE, ST. MICHAEL'S HOSPITAL,

UNIVERSITÉ DE TORONTO

L'angiogenèse : une nouvelle technologie pour le traitement de la coronaropathie

MICHAEL J.B. KUTRYK, MD, PHD; SALEEM A. KASSAM, MD, MCE; AND DUNCAN J. STEWART, MD.

La cardiopathie ischémique est la principale cause de mortalité chez les adultes dans les pays développés et dans de nombreux pays en voie de développement; elle est actuellement la cause la plus fréquente de mortalité dans le monde. Les traitements efficaces de la cardiopathie ischémique comprennent les techniques de revascularisation percutanée telles que l'angioplastie par ballonnet et la pose de tuteurs coronariens ou le pontage aorto-coronarien (PAC). Le succès à long terme de ces modalités est limité par l'apparition avec le temps d'une resténose des vaisseaux natifs et de l'occlusion du greffon. En outre, malgré les progrès continus effectués dans la prévention et le traitement de la coronaropathie, il existe encore un grand nombre de patients qui ne sont pas candidats aux traitements conventionnels.

La vasculogénèse, l'angiogénèse et l'artériogénèse sont des processus qui permettent le développement et le maintien du système circulatoire. La croissance de nouveaux vaisseaux durant la phase post-embryologique est appelée « l'angiogénèse ». L'angiogénèse est d'une très grande importance, non seulement durant la croissance normale, mais également dans les situations pathologiques. Certaines affections, comme les maladies néoplasiques, sont favorisées par la croissance vasculaire excessive, alors que dans d'autres affections comme la cardiopathie ischémique, la croissance vasculaire inadéquate contribue à la morbidité et à la mortalité. L'angiogénèse thérapeutique, par l'administration de facteurs de croissance (protéines) ou par la thérapie génique, est une nouvelle méthode de traitement prometteuse pour les patients atteints de coronaropathie.

Angiogenèse

Le terme d'angiogénèse, utilisé pour la première fois par Hertig en 1935 pour décrire la croissance des vaisseaux sanguins dans le placenta, a été réutilisé par Folkman en 1972 pour décrire une néovascularisation associée à la croissance d'une tumeur solide¹. L'angiogénèse est le processus par lequel de nouveaux capillaires apparaissent et se différencient des réseaux microvasculaires préexistants. Ce processus entraîne la formation de nouveaux microvaisseaux, ressemblant aux capillaires (diamètre de 5 à 8 µm). Bien que les mécanismes précis de l'angiogénèse ne soient pas bien compris, il semble que ce processus fasse intervenir une série d'événements :

- L'activation des cellules endothéliales dans un vaisseau préexistant et la vasodilatation du vaisseau parent;
- La dégradation de la membrane basale et de la matrice extracellulaire;
- La migration des cellules endothéliales activées du vaisseau parent vers le site où l'angiogénèse est nécessaire par le biais de facteurs chimiotactiques libérés des fibroblastes, des monocytes, des plaquettes, des mastocytes et des neutrophiles;
- La prolifération des cellules endothéliales dans les vaisseaux nouvellement formés;
- La différenciation de ces cellules endothéliales en un phénotype inactif avec la formation de la lumière;
- Le recrutement de péricytes le long des structures vasculaires nouvellement formées;
- La formation d'une nouvelle membrane basale par les cellules endothéliales nouvellement organisées et les péricytes.
- Le remodelage du réseau néovasculaire avec la maturation et la stabilisation des vaisseaux sanguins.

L'angiogénèse est rapidement initiée en réponse à l'hypoxie ou à l'ischémie et l'activation des cellules endothéliales est le premier processus qui intervient dans l'angiogénèse physiologique et physiopathologique. L'hypoxie entraîne une augmentation des taux d'une famille de facteurs de transcription induite par l'hypoxie (HIFs) comprenant HIF-1β (ou le translocateur nucléaire du récepteur aryl-hydro-carbone, ARNT), HIF-1α et HIF-2α. Ces facteurs sont à l'origine de la réponse à l'hypoxie en se liant à des séquences spécifiques d'ADN – les éléments promoteurs de la réponse à l'hypoxie – qui régulent la tran-

Division de cardiologie

Beth L. Abramson, MD
Wayne Batchelor, MD
Warren Cantor, MD
Luigi Casella, MD
Robert J. Chisholm, MD
Chi-Ming Chow, MD
Paul Dorian, MD
David Fitchett, MD
Michael R. Freeman, MD
Shaun Goodman, MD
Anthony F. Graham, MD
Robert J. Howard, MD
Stuart J. Hutchison, MD
Victoria Korley, MD
Anatoly Langer, MD (rédacteur)
Gordon W. Moe, MD
Juan Carlos Monge, MD
David Newman, MD
Trevor I. Robinson, MD
Duncan J. Stewart, MD (chef)
Bradley H. Strauss, MD

St. Michael's Hospital
30 Bond St.,
Suite 9-004, Queen Wing
Toronto, Ont. M5B 1W8
Télécopieur: (416) 864-5330

Les opinions exprimées sont exclusivement celles des membres de la division. Publié grâce à des subventions sans restrictions.

 SMH
ST. MICHAEL'S HOSPITAL



scription d'une gamme de gènes qui jouent un rôle important dans la réponse cellulaire à l'hypoxie, incluant plusieurs gènes qui régulent l'angiogenèse².

Les leucocytes et les plaquettes sont des producteurs puissants de facteurs de croissance angiogéniques et plusieurs molécules d'adhésion, chimioattractives et activatrices régissent leur émigration à partir du flux sanguin. Les protéines membranaires intégrales, comprenant les intégrines, jouent un rôle important dans le processus de l'angiogenèse. Les intégrines sont des récepteurs présents à la surface des cellules hétérodimériques composés de deux glycoprotéines transmembranaires non liées par covalence (α et β) qui entraînent la fixation des cellules à leur fondement, mais interviennent également dans la transduction de signaux intracellulaires³⁻⁵. Les cellules endothéliales expriment un certain nombre d'intégrines différentes, et parmi celles-ci, $\alpha_v\beta_3$ et $\alpha_v\beta_5$ se sont révélées particulièrement importantes pendant l'angiogenèse⁶. $\alpha_v\beta_3$ est un récepteur pour de nombreuses protéines possédant un élément tripeptide Arg-Gly-Asp (RGD) exposé, comprenant la vitronectine, la fibronectine, le fibrinogène, la laminine, le collagène, la thrombospondine, l'ostéopontine et le facteur de von Willebrand. Bien que le récepteur $\alpha_v\beta_3$ ne soit pas largement exprimé, il est présent sur les cellules endothéliales activées par les cytokines ou sur les cellules musculaires lisses, ce qui suggère son importance dans l'angiogenèse⁷. Un certain nombre de cytokines angiogéniques ont augmenté l'expression des sous-unités α_v et β_3 sur les cellules endothéliales⁸⁻¹¹, et on a démontré que les antagonistes de $\alpha_v\beta_3$ (anticorps et peptides RGD cycliques) inhibent l'angiogenèse¹²⁻¹⁵. De récentes données suggèrent que la survie et la prolifération des cellules endothéliales en réponse au facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires (VEGF) peuvent nécessiter l'association de l'un de ses récepteurs avec $\alpha_v\beta_3$.

La dégradation de la membrane basale, l'invasion de la matrice extracellulaire et la formation de la lumière capillaire sont également des éléments essentiels du processus d'angiogenèse. Ils sont tous dépendants d'une cohorte de protéases et d'inhibiteurs de protéases. Bien qu'un certain nombre de systèmes enzymatiques aient été impliqués dans la protéolyse extracellulaire, de nombreuses enzymes appartiennent à l'une des deux familles : les sérine protéases, en particulier l'activateur du plasminogène (AP)/le système plasmine, ou les métalloprotéases de la matrice (MMP).

Les activateurs du plasminogène u-PA et t-PA transforment le plasminogène (protéine plasmatique) très répandu en plasmine. La plasmine active certains MMP, a une large activité comparable à celle de la trypsine et dégrade les protéines telles que la fibronectine, la laminine et le noyau protéinique des protéoglycanes¹⁶⁻¹⁸.

Les étapes subséquentes de l'angiogenèse – comprenant la migration et la prolifération des cellules endothéliales ainsi que la formation et la maturation de nouveaux vaisseaux – entraînent un réseau vasculaire fonctionnel^{14,19-21}. Le monoxyde d'azote (NO) s'avère jouer un rôle essentiel dans divers processus, comprenant l'inhibition de la prolifération des facteurs de croissance et la promotion de la formation de tubes vasculaires²¹⁻²³. Dans le contexte de l'ischémie coronarienne, le NO est nécessaire pour que le facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires (VEGF) soit fonctionnel²⁴, ce bon fonctionnement pouvant à son tour être favorisé par la libération d'endothéline²⁵. La libération du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF) contribue à attirer d'autres éléments vers la plateforme néovasculaire. On estime que le contact cellulaire et la présence du facteur transformant de croissance- β (TGF- β) contribuent à la différenciation et à la maturation des péricytes et des cellules musculaires lisses²¹. La glycoprotéine angiopoïétine-1 (Ang-1) et son récepteur de la

tyrosine, la kinase Tie2, stabilisent le réseau de cellules endothéliales immatures, attirent les péricytes et maintiennent les interactions biochimiques et l'intégrité des vaisseaux²¹ (figure 1).

La vasculogenèse

Le processus de la vasculogenèse est distinct de celui de l'angiogenèse. Le terme vasculogenèse est strictement réservé à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins durant l'embryogenèse. Initialement, les cellules mésenchymateuses se différencient *in situ* en hémangioblastes précoces qui forment des agrégats cellulaires (îlots sanguins), dans lesquels la population cellulaire intérieure se différencie en précurseurs hématopoïétiques et la population cellulaire extérieure donne naissance aux cellules endothéliales primitives qui génèrent un réseau vasculaire fonctionnel²⁶⁻²⁸. Ce plexus vasculaire primitif devient ultérieurement un réseau complexe de vaisseaux sanguins matures s'interconnectant.

L'artériogenèse

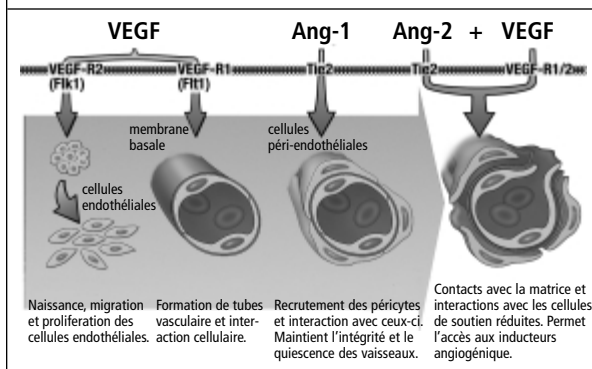
L'importance de la circulation coronarienne collatérale est connue depuis longtemps^{19,29-34} et les mécanismes régissant le recrutement, la croissance et la prolifération des vaisseaux collatéraux diffèrent de ceux régissant l'angiogenèse et la vasculogenèse. L'occlusion aiguë d'une artère de grande ou de moyenne taille entraîne le recrutement des connexions des artères préexistantes pouvant contourner le site de l'occlusion. Bien que ce processus ne nécessite pas la formation de nouveaux vaisseaux, la croissance et la prolifération subséquentes de ces vaisseaux collatéraux résultent d'un processus appelé l'artériogenèse. Les artères collatérales peuvent proliférer en de grandes artères de conductance qui peuvent rétablir efficacement le flux sanguin vers les territoires ischémiques. Des jours, voire des semaines, peuvent être nécessaires pour que ces artères collatérales puissent compenser les sténoses critiques des artères nourricières du tronc coronaire. Des facteurs génétiques sont responsables du nombre variable de connexions intracoronariennes préexistantes et de leur capacité à se développer et à entraîner une variabilité marquée inter et intra-espèces^{35,36}.

Un élément important stimulant l'artériogenèse est la contrainte de cisaillement accrue qui entraîne des changements dans l'artère nouvellement recrutée. Le changement le plus important est l'activation de l'endothélium. Celle-ci entraîne l'expression accrue d'un certain nombre de gènes, partiellement par l'intermédiaire d'une protéine qui se lie à l'élément répondant à la contrainte de cisaillement (SSRE) présent dans le promoteur de nombreux de ces gènes, comprenant le monoxyde d'azote synthase [NOS], le facteur de croissance dérivé des plaquettes [PDGF] et la protéine qui exerce une chimioattraction des monocytes [MCP-1]. Les molécules d'adhésion sont également plus nombreuses, permettant l'adhésion et l'invasion des monocytes et des plaquettes qui sont également des producteurs puissants de facteurs de croissance. Dans le processus de l'artériogenèse, il n'est pas nécessaire que l'hypoxie soit un stimulus physique.

La néovascularisation

La néovascularisation dépend de deux processus distincts : la prolifération cellulaire et la différenciation des vaisseaux. Ces processus doivent être en harmonie pour que des vaisseaux fonctionnels se forment. Il est probable que la prolifération et la différenciation cellulaires surviennent de concert et les modulateurs de la croissance peuvent favoriser plutôt un processus que l'autre en réponse à des mécanismes de transmission des signaux spécifiques. De fait, la plupart des facteurs actifs sur le plan angiogénique sont présents dans des conditions de repos nor-

Figure 1 : Maturation d'un vaisseau



(D'après Hanahan)⁹⁰

males et l'augmentation et la réduction du taux de ces substances sont déterminées par des modérateurs physiologiques et physiopathologiques^{22-37,38}. Des facteurs de croissance sont produits et sont actifs selon divers degrés en réponse à l'environnement local et, selon l'environnement local, ils peuvent promouvoir la néo-vascularisation. Bien que le VEGF et le facteur de croissance des fibroblastes (FGF) puissent réguler la désintégration de la membrane basale, le recrutement, la prolifération et l'adhésion des leucocytes et des précurseurs, et la présence d'Ang-1 peuvent être nécessaires pour la différenciation et la maturation cellulaires ainsi que l'établissement d'un vaisseau mûr (figure 1). Le FGF et le NO nous donnent un exemple de l'interdépendance des facteurs angiogéniques. En présence de NO, l'action du FGF peut consister en l'activation des cellules endothéliales ou en la différenciation de celles-ci²³. Enfin, un tel paradigme suggère que l'angiogenèse thérapeutique nécessiterait la présence de plusieurs facteurs à des moments appropriés du processus pour obtenir le produit désiré³⁹. De nombreux facteurs angiogéniques ont été identifiés (tableau 1)⁸⁹.

Études de l'angiogenèse myocardique induite par un facteur de croissance

Études précliniques

De nombreuses expériences chez l'animal ont démontré le lien entre les facteurs de croissance et la formation de nouveaux vaisseaux. Des études initiales sur le FGF ont démontré une guérison accélérée des lésions chez des souris diabétiques, menant à la première indication des facteurs de croissance topiques pour les ulcères diabétiques débridés⁴⁰⁻⁴². Les études chez l'animal sur l'angiogenèse thérapeutique étaient axées sur deux modèles : le modèle d'ischémie périphérique au niveau des pattes postérieures chez le lapin et le modèle porcin d'ischémie myocardique⁴³⁻⁴⁷.

Le VEGF et le FGF, administrés par injection intra-artérielle ou intra-musculaire, peuvent favoriser le développement de vaisseaux sanguins collatéraux après ligature de l'artère fémorale chez le lapin. Dans ces études, les animaux traités présentaient un plus grand nombre de vaisseaux collatéraux visibles angiographiquement et histologiquement, un flux sanguin supérieur dans les membres inférieurs, une pression de perfusion distale plus élevée et une meilleure performance musculaire.

Des modèles porcins d'ischémie du myocarde, causée par le placement d'une constriction améroïde sur une artère coronaire, ont également démontré une augmentation de la vascularisation myocardique après un traitement protéinique et génique administré par injection intracoronaire ou périvasculaire⁴⁸⁻⁵². Ces études précliniques appuient le principe selon lequel les facteurs

Tableau 1 : Liste des protéines angiogéniques⁸⁹

Protéines angiogéniques	Spécifique aux cellules endothéliales
Facteur de croissance fibroblastique acide (aFGF)	Non
Facteur de croissance fibroblastique de base	Non
Facteur de croissance fibroblastique-3 (FGF-3)	Non
Facteur de croissance fibroblastique-4 (FGF-4)	Non
Facteur de croissance fibroblastique-5 (FGF-5)	Non
Facteur de croissance fibroblastique-6 (FGF-6)	Non
Facteur de croissance fibroblastique-7 (FGF-7)	Non
Facteur de croissance fibroblastique-8 (FGF-8)	Non
Facteur de croissance fibroblastique-9 (FGF-9)	Non
Angiogénine 1	Oui
Angiogénine 2	Oui
Facteur de croissance des hépatocytes / facteur de diffusion (HGF/SF)	Non
Facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDE-CGF)	Oui
Facteur de croissance transformant- α (TGF- α)	Non
Facteur de croissance transformant- β (TGF- β)	Non
Facteur nécrosant des tumeurs- α (TNF- α)	Non
Facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires 121 (VEGF 121)	Oui
Facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires 145 (VEGF 145)	Oui
Facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires 165 (VEGF 165)	Oui
Facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires 189 (VEGF 189)	Oui
Facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires 206 (VEGF 206)	Oui
Facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires B (VEGF-B)	Oui
Facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires C (VEGF-C)	Oui
Facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires D (VEGF-D)	Oui
Facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires E (VEGF-E)	Oui
Facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires F (VEGF-F)	Oui
Facteur de croissance placentaire	Oui
Angiopoïétine-1	Non
Angiopoïétine-2	Non
Thrombospondine (TSP)	Non
Proliférine	Oui
Éphrine-A1 (B61)	Oui
E-sélectine	Oui
Facteur chimiotactique et angiogénique du poulet (CAF)	Non
Leptine	Oui
Peptide HARP	Non
Héparine	Non
Facteur stimulant la formation de colonies de granulocytes	Non
Facteur de croissance analogue à l'insuline	Non
Interleukine 8	Non
Thyroxine	Non

de croissance vasculaire peuvent favoriser l'angiogenèse pour améliorer le flux sanguin vers le muscle ischémique.

Essais cliniques

Jusqu'à récemment, les expériences angiogéniques chez l'être humain étaient principalement limitées à de petites séries d'études dans lesquelles le VEGF ou le FGF, des protéines ou des gènes étaient administrés⁵³⁻⁷⁰. Les stratégies concernant la voie d'admini-

Paramètre	Schumacher et coll. (1998) ⁵³	Laham et coll. (1999) ⁵⁶	Unger et coll. (2000) ⁵⁷	Laham et coll. (2000) ⁵⁹	Sellke et coll. (1998) ⁵⁵	FIRST
N	40	24	25	66	8	337
Plan	RDI	RDI	RDI	observation	observation	RDI
Contrôlée avec placebo	Oui	Non	Oui	Non	Non	Oui
Thoracotomie	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Non
Agent	Protéine aFGF	Protéine bFGF	Protéine bFGF	Protéine bFGF	Protéine bFGF	Protéine bFGF
Vecteur	Aucun	Microcapsules d'éparine/alginate	Aucun	Aucun	Microcapsules d'éparine/alginate	Aucun
Dose	70 mg	10/100 µg	3-100 µg/kg	0,33-48 µg/kg	10/100 µg	200 µg
Mode d'administration	intramyocardique	Implantation dans la graisse épicaudique	Intra-coronarienne	IC/IV	Implantation dans la graisse épicaudique	intra-coronarienne
Paramètre	ANS	Clinique/IPM	EEP	IPM	IPM	EEP/IPM/QV
Résultat	Positif	Positif	Bonne innocuité	Positif	Bonne innocuité	Négatif

EEP : Épreuve d'effort progressive; RDI = randomisée, double insu; IPM = Imagerie de perfusion myocardique; IC = intracoronarienne; IV = intravasculaire; ANS = angiographie numérique avec soustraction; QV = qualité de vie

stration comprenaient l'injection intracoronarienne, épicaudique ou directement dans le myocarde de VEGF ou de la protéine bFGF ou de matériel génétique. Ce dernier peut être administré sous la forme d'ADN plasmidique nu ou dans un vecteur viral.

Schumacher et ses collègues ont été les premiers à rapporter l'angiogenèse thérapeutique dans le myocarde humain. Dans cette étude de phase I, randomisée et à l'insu, on a recruté 40 patients subissant un PAC avec une greffe de l'artère mammaire interne gauche et présentant une sténose de l'artère interventriculaire antérieure gauche à la partie distale du site de l'anastomose. Les patients ont été assignés au hasard à une injection intramyocardique directe d'aFGF ou à un contrôle des protéines dénaturées près du segment distal non greffé⁵³. À trois mois, ils ont observé un « coronary blush » (une mesure de substitution (non validée) de la formation de vaisseaux collatéraux) parmi les patients ayant reçu une injection de FGF comparativement à ceux ayant reçu un placebo. Cet effet a persisté jusqu'à trois ans et était associé à une amélioration échocardiographique de la fraction d'éjection et de la classe fonctionnelle⁵⁴. Des résultats positifs similaires ont été observés dans des études de petite envergure rapportées par Sellke et coll.⁵⁵, Laham et coll.^{56,58,59} et Unger et coll.⁵⁷ (tableau 2).

Six études de petite envergure ont évalué l'administration de VEGF dans le myocarde ischémique (tableau 3). Henry et coll.⁶⁰ et Hendel et coll.⁶¹ ont évalué le traitement protéinique à l'aide de VEGF humain recombinant intracoronarien administré à diverses doses. L'ADN codant pour le VEGF a été administré sous forme d'ADN plasmidique nu (Losordo et coll.⁶², Vale et coll.^{63,66}, Hendel et coll.⁶⁴ et Symes et coll.⁶⁷) ou au moyen d'un vecteur adénoviral (Rosengart et coll.^{68,69}). Les résultats de ces études de petite envergure étaient prometteurs et suggéraient que la protéine VEGF et l'ADN étaient efficaces pour produire de nouveaux vaisseaux sanguins.

Collectivement, ces études de phase I et II ont décrit l'expérience de 298 patients sans évaluation des résultats à l'insu. Bien que les données obtenues de ces études ne puissent pas être utilisées pour tirer des conclusions concernant l'efficacité, elles établissent fermement la faisabilité de différentes méthodes de transfert de gènes et ont préparé la voie pour des études randomisées de plus grande envergure.

Seulement deux études relativement importantes, randomisées, à double insu et contrôlées avec placebo, ont été effectuées chez l'être humain.

L'étude FIRST (FGF-2 Initiating Revascularization Support Trial) a recruté 337 patients souffrant d'angor qui étaient considérés comme des candidats sous-optimaux à la revascularisation traditionnelle. Dans cette étude à double insu et contrôlée avec placebo, les patients ont été randomisés à trois doses de protéine bFGF recombinante intracoronarienne (0,3, 3,0 et 30 µg/kg). À 90 jours, on n'a noté aucune différence entre les groupes dans le paramètre primaire suivant : durée de l'épreuve sur tapis roulant ou dans les paramètres secondaires suivants : perfusion nucléaire ($p = 0,64$) et indices de la qualité de vie (Seattle Angina Questionnaire [SAQ] ou forme abrégée [SF-36]). Lors de l'analyse ultérieure, on a noté un avantage chez les patients âgés (> 63 ans), qui était statistiquement significatif ($p = 0,025$) comparativement aux patients plus jeunes.

L'étude VIVA (VEGF in Ischemia for Vascular Angiogenesis) a été menée auprès d'une cohorte de patients similaire à celle de l'étude FIRST présentant des signes d'altération réversible de la perfusion sur les images nucléaires. Les patients ($n = 178$) ont été assignés au hasard à deux doses de VEGF (17 ou 50 ng/kg) ou à un placebo. La protéine VEGF a été administrée en perfusion intracoronarienne de 20 minutes durant une angiographie coronarienne, puis trois perfusions intraveineuses de quatre heures ont été administrées les jours 3, 6 et 9. Bien que l'on n'ait noté aucune amélioration dans le paramètre primaire (durée de l'épreuve sur tapis roulant) à 60 jours, la classe moyenne d'angine de la SCC (Société canadienne de cardiologie) était significativement moins élevée pour le groupe ayant reçu la dose élevée que pour celui ayant reçu le placebo à 120 jours ($1,6 \pm 0,1$ c. $2,1 \pm 0,1$, $p = 0,04$).

Aucune crainte sur le plan de l'innocuité n'a été émise dans ces deux études de référence. Bien qu'elles n'aient pas pu démontrer l'efficacité du traitement à l'aide de leur paramètre primaire, plusieurs facteurs peuvent expliquer cette absence d'effet. Dans les deux études randomisées chez l'être humain, l'administration des facteurs de croissance a été effectuée par la voie intracoronarienne ou intraveineuse. On ne sait pas précisément si cette méthode permet d'obtenir des concentrations tissulaires suffi-

Paramètre	Hendel et coll. (2000) ⁶⁴	Henry et coll. (1998) ⁶⁰	Vale et coll. (2001) ⁶³	Symes et coll. (2001) ⁶⁷	Hendel et coll. (2000) ⁶¹	Rosengart et coll. (1999) ^{68,69}	Losordo et coll. (1998) ⁶²	VIVA
N	30	15	30	20	14	21	5	178
Plan	observation	observation	observation	observation	observation	observation	observation	RDB
Contrôlée avec placebo	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Oui
Thoracotomie	Non	Non	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Non
Agent	VEGF-C ADN	Protéine rhVEGF	VEGF ₁₆₅ ADN	VEGF ₁₆₅ ADN	Protéine rhVEGF	VEGF ₁₂₁ ADN	VEGF ₁₆₅ ADN	Protéine rhVEGF
Vecteur	Plasmide	Aucun	Plasmide	Plasmide	Aucun	adenovirus	Plasmide	Aucun
Dose	0,2/0,8/2,0 mg	0,005/0,017/0,05/0,167 µg/kg	125/250/500 µg	125 µg	0,005/0,017/0,05/0,167 µg/kg	1000 µg	125 µg	17/50 ng/kg/min
Mode d'administration	Intra-myocardiaque	Intra-coronarienne	Intra-myocardiaque	Intra-myocardiaque	Intra-coronarienne	Intra-myocardiaque	Intra-myocardiaque	IC/IV
Paramètre	Clinique/EEP/IPM/NOGA	IMP	Clinique/EEP/IMP	Clinique/IMP/angiographie	MPI	Clinique/IMP/angiographie/EEP	Clinique/IMP/angiographie	Clinique/EEP/angiographie
Résultat	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Innocuité	Négatif

EEP = Épreuve d'effort progressive; RDI = randomisée, double insu; IPM = Imagerie de perfusion myocardique; NOGA = cartographie électromécanique NOGA; IC = intracoronarien; IV = intravasculaire

santes pour favoriser et maintenir l'angiogenèse. Cela est particulièrement vrai pour le bFGF, étant donné sa faible spécificité pour l'endothélium cible. En fait, des études de détermination des doses sur le FGF et le VEGF suggèrent un effet progressif à des doses plus élevées^{59,61}. Il est possible que l'injection dans le myocarde ou dans la graisse péricardique soit nécessaire pour l'administration cliniquement significative d'une dose⁵⁶.

Questions relatives à la méthodologie de l'étude

Pour planifier des études contrôlées en vue d'évaluer l'efficacité des traitements génétiques, les investigateurs doivent prendre en considération les éléments suivants :

- Sélection des voies appropriées d'administration du matériel thérapeutique
- Détermination des paramètres appropriés à étudier
- Quantification et présentation des arguments contre les résultats
- Assurance de contrôles adéquats
- Sélection des patients
- Détermination des mécanismes des effets cliniques observés le cas échéant
- Évaluation des complications – potentielles, réelles, locales, systémiques, immédiates et à long terme.

Modalités et stratégies d'administration

L'administration de facteurs de croissance a été effectuée au moyen de deux méthodes : l'usage de doses uniques ou multiples de protéines recombinantes ou le transfert de gènes. Chaque stratégie a ses limites. Les avantages potentiels de l'usage de protéines sont la possibilité d'ajuster la dose et ainsi d'établir une fenêtre thérapeutique entre l'efficacité et la toxicité. Cela permettrait d'arrêter le traitement si et quand cela est nécessaire. Les facteurs contre l'usage de protéines pour l'angiogenèse thérapeutique sont le coût considérable associé à la production de matériel non pyrogène, l'apparition d'effets secondaires (l'administration prolongée de bFGF est associée à une baisse de la tension artérielle, une thrombocytopenie modérée et à une anémie

modérée) et la nécessité d'une administration répétée et prolongée de protéines. On a eu recours à l'administration péricardique locale par une injection myocardique, à l'implantation dans la graisse péricardique de microsphères enrobées ou à l'instillation péricardique pour contrer ces dernières limites^{56,70-72}.

Les stratégies d'administration des protéines ont récemment été étudiées de façon plus approfondie dans des modèles expérimentaux. Dans un modèle de cochon, la distribution tissulaire et myocardique de bFGF radiomarqué a été déterminée une heure et 24 heures après l'administration intracoronarienne ou intraveineuse du médicament en mesurant l'activité spécifique de ¹²⁵I-bFGF^{73,74}. Au bout d'une heure, l'activité cardiaque totale était de 0,88 et l'administration intracoronarienne avait baissé significativement à 0,05 au bout de 24 heures. Avec l'administration intraveineuse, l'activité cardiaque était inférieure au bout d'une heure (0,26), mais a également baissé significativement à 0,04 au bout de 24 heures. L'administration intrapéricardique a entraîné une activité cardiaque de 1,45 après une heure qui a augmenté à 2,98 au bout de 24 heures⁷⁴. L'activité cardiaque au bout d'une heure était maximale lors de l'administration intramyocardique et atteignait 4,31, puis a baissé à 2,30 au bout de 24 heures. L'étude montre que l'administration intrapéricardique et intramyocardique entraîne une distribution myocardique plus favorable des facteurs de croissance que l'administration intracoronarienne ou intraveineuse. D'autres données obtenues de ces études indiquent que l'administration intrapéricardique était limitée aux couches épicaudales et nécessitait un péricarde normal.

Par opposition à l'administration de protéines, la thérapie génique entraîne la libération prolongée de produits de croissance par les cellules hôtes, assurant des taux de protéines soutenus avec une seule administration. Cependant, la possibilité de capture extra-lésionnelle du gène ou du vecteur et d'effets distants indésirables dans les tissus non ciblés, liés soit au vecteur soit au produit génique qu'il encode suscite des préoccupations.

Il existe de nombreux moyens d'administrer des gènes codant pour des produits angiogéniques. Le plus simple est l'administration d'ADN plasmidique nu. L'injection d'ADN nu dans

le myocarde entraîne l'expression des facteurs de croissance pendant une période considérable, sans leur incorporation dans l'ADN de l'hôte^{69,75}. De nombreux moyens d'administration ont été étudiés. L'encapsulation dans des liposomes a été testée. Cependant, les techniques actuelles sont associées à une transfection peu efficace. L'encapsulation et l'administration de rétrovirus permettent l'expression des gènes de façon efficace et à long terme par l'incorporation de l'ADN dans le génome. Cependant, la possibilité d'activation des gènes rétroviraux dans l'ADN de l'hôte suscite des préoccupations. L'usage de vecteurs adénoviraux est un moyen d'administration efficace. Cependant, il est associé à une réponse immunitaire qui peut entraîner la destruction du vecteur ou une réponse inflammatoire systémique importante⁷⁶.

Paramètres d'efficacité

Le choix de paramètres d'efficacité pour les études cliniques est encore controversé. Le paramètre idéal pour les études sur l'angiogenèse doit avoir les caractéristiques suivantes :

- Il doit répondre à l'hypothèse principale et représenter un marqueur direct d'efficacité.
- Il doit être cliniquement significatif.
- Il doit être facilement mesuré et ne pas entraîner des coûts prohibitifs pour son application ou son analyse.
- Il doit fournir des renseignements sur les mécanismes en jeu.
- Il doit pouvoir faire l'objet d'une analyse statistique.

Les paramètres des études sur l'angiogenèse peuvent être considérés comme cliniques (statut concernant l'angor, capacité fonctionnelle ou qualité de vie) ou physiologiques (amélioration de la perfusion myocardique, amélioration de la collatéralisation des vaisseaux, amélioration de la contraction globale ou régionale de la paroi).

Des paramètres objectifs tels que la mort, l'infarctus du myocarde et la revascularisation répétée peuvent fournir d'importantes données. Cependant, les résultats de plusieurs études chez des patients n'ayant pas d'option thérapeutique indiquent un taux de mortalité de 5 % au cours d'un suivi de deux ans. Une population extrêmement importante serait donc nécessaire pour montrer une réduction de la mortalité. L'épreuve d'effort est l'une des évaluations cliniques de substitution que l'on a envisagée comme paramètre pour les études sur l'angiogenèse. Les avantages sont que l'épreuve d'effort est souvent utilisée dans des études de phase I et II, les résultats sont quantitatifs, semi-objectifs (produit de la tension systolique par la fréquence des contractions cardiaques, temps écoulé jusqu'au sous-décalage du segment ST) et les résultats sont assez reproductibles. Les désavantages sont que les comorbidités (maladie vasculaire périphérique, maladie pulmonaire obstructive chronique, arthrite) peuvent limiter la performance à l'effort; il existe une variabilité des résultats d'un jour à l'autre et les raisons de l'arrêt de l'épreuve peuvent être subjectives.

Les changements dans la cote de la Société canadienne de cardiologie (SCC) ou dans la réponse au Seattle Angina Questionnaire (SAQ) ont également été utilisés comme paramètres cliniques dans les études sur l'angiogenèse. Les avantages sont qu'ils sont très pertinents pour les patients et faciles à interpréter (SCC). Ils sont sensibles au changement; ils sont assez reproductibles (en particulier le SAQ) et la plupart des cliniciens les connaissent. Les désavantages sont qu'ils sont plus subjectifs que l'épreuve d'effort (méthodologie à double insu nécessaire), la cote SCC nécessite la contribution d'un observateur (et pas le SAQ), les changements dans les résultats obtenus au SAQ ne sont pas facilement interprétés (les cliniciens ne sont pas habitués à ce questionnaire) et les effets placebo sont importants (env. 40 % dans l'étude DIRECT DMR).

Les avantages d'utiliser la Medical Outcome Study (forme abrégée, 36 items) (MOS SF-36) ou le Health Utility Index (HUI) sont qu'ils sont tous deux largement applicables, sensibles au changement, et des valeurs normales ont été établies pour diverses maladies. Les désavantages de ces types d'analyses sont qu'elles sont considérées comme des paramètres moins rigoureux, plus subjectifs et les changements ne sont pas facilement interprétés (les cliniciens ne sont pas habitués à ces mesures).

L'un des problèmes communs à tous les paramètres cliniques est qu'ils ont tendance à entraîner un effet placebo. Une solution est de chercher des paramètres objectifs qui peuvent expliquer les résultats subjectifs tels que la réduction de la classe SCC. À cet égard, des outils d'évaluation de la qualité de vie ou des symptômes spécifiques à l'angiogenèse peuvent être nécessaires. Un autre problème associé aux paramètres cliniques est que les légers changements peuvent ne pas être détectés, mais ils peuvent être cependant cliniquement significatifs (effet de base).

Bien que les paramètres cliniques soient utilisés dans des études sur l'angiogenèse myocardique, on préfère utiliser les évaluations physiologiques comme paramètres primaires. Plusieurs ont été envisagés, comprenant la visualisation de la perfusion myocardique à l'aide de la tomographie monophotonique d'émission, l'IRM et la tomographie par émission de positrons. Les avantages de la scintigraphie nucléaire sont qu'elle est sensible aux changements après la revascularisation; elle est reproductible et la contraction de la paroi peut être évaluée. Cependant, des préoccupations ont été émises concernant l'utilité de la résolution spatiale obtenue avec l'imagerie nucléaire. L'IRM a un immense potentiel. Elle permet d'obtenir une excellente résolution spatiale et des informations sur la structure, le fonctionnement et le flux. Cependant, bien qu'elle soit de plus en plus acceptée, son coût prohibitif et son accessibilité restreinte limitent son utilisation. La tomographie par émission de positrons est plus sensible que la tomographie monophotonique d'émission pour mesurer la réserve coronarienne. Elle demeure la seule méthode pour mesurer le flux sanguin absolu. Les limites de la tomographie par émission de positrons sont la résolution spatiale médiocre, l'absence d'accessibilité et son coût élevé.

Complications potentielles

On estime que les agents angiogéniques ont la capacité de provoquer une néovascularisation non intentionnelle dans les tissus non ciblés. Cette possibilité est atténuée par des données qui suggèrent que l'angiogenèse survient en réponse à une cytokine uniquement dans des conditions appropriées. Les récepteurs du FGF et du VEGF augmentent lorsque les tissus deviennent ischémiques⁷⁷⁻⁸⁰, et par conséquent on s'attend à ce que les tissus ischémiques répondent avec une plus grande sensibilité aux effets biologiques du FGF et du VEGF que les tissus normaux. Ce concept a été appuyé par une étude dans laquelle un myocarde canin normal et un myocarde canin ischémique ont été exposés à des taux locaux élevés de protéine aFGF administrée avec une éponge épicaudique pendant une période prolongée⁸¹. Dans cette étude, seul le myocarde ischémique a présenté une réponse angiogénique. Bien que le seuil élevé de néovascularisation dans les tissus normaux soit rassurant, il existe néanmoins des préoccupations concernant les patients qui souffrent d'affections concomitantes qui causent une augmentation anormale des récepteurs des cytokines, telles que les tumeurs malignes ou la rétinopathie diabétique.

Il est possible que l'angiogenèse thérapeutique puisse déclencher la croissance de tumeurs existantes, mais non reconnues. Le FGF est un agent mitogène qui stimule une grande variété de types de cellules et par conséquent, peut stimuler la croissance

des tumeurs. Bien que le VEGF agisse principalement sur l'endothélium vasculaire, un certain nombre de cellules tumorales non endothéliales possèdent de faibles taux de récepteurs fonctionnels du VEGF⁸². En plus des effets directs des agents angiogéniques sur la prolifération des cellules tumorales, il existe des données indiquant qu'il est nécessaire qu'un stimulus angiogénique fournissent des nutriments aux tumeurs solides pour qu'elles se développent au-delà d'une taille critique. L'induction de l'angiogenèse peut donc contribuer indirectement à la croissance de tumeurs dormantes. Les facteurs angiogéniques peuvent également contribuer au développement de nouvelles tumeurs. En outre, les mécanismes par lesquels le FGF et le VEGF peuvent stimuler la croissance néoplasique concordent avec leurs effets proathérogènes signalés.

L'effet puissant du VEGF sur la perméabilité vasculaire peut également avoir des conséquences indésirables. On a souvent observé un œdème périphérique transitoire dans des études sur le VEGF administré à des patients souffrant d'ischémie des membres inférieurs.

La diversité des résultats des études cliniques sur l'angiogenèse et les résultats des modèles animaux peuvent s'expliquer par plusieurs raisons. En plus du problème des doses, le mode d'administration, les paramètres et le choix de la cohorte de patients peuvent être des facteurs confusionnels dans les études cliniques et empêcher l'obtention de résultats positifs. Contrairement aux populations animales, la formation ou le recrutement de vaisseaux collatéraux adéquats a été impossible dans la population de patients qui nous intéresse avant leur inclusion dans les études. En outre, la réponse à la simple administration des facteurs de croissance peut différer en présence d'athérosclérose diffuse et de dysfonction endothéliale, comparativement à la réponse dans les modèles ischémiques expérimentaux⁸³. Également, divers médicaments cardioactifs (aspirine, captopril, lovastatine et furosémide) et l'état de santé (hypercholestérolémie, tabagisme, diabète et âge) ont un impact négatif sur la réponse angiogénique^{33,71,84-89}. Le fait de reconnaître que les patients recrutés dans les études cliniques sur l'angiogenèse sont rigoureusement sélectionnés sur la base de l'anatomie, des symptômes, de la fonction du VG, des maladies concomitantes et de la motivation, influe également sur la généralisation des résultats des études cliniques.

Recherches futures

Les études actuelles chez l'animal sont axées sur les mécanismes de l'angiogenèse, et examinent en particulier les rôles des divers composés et les facteurs locaux et de l'hôte qui régissent leur efficacité. L'action des facteurs angiogéniques dans le contexte de la coronaropathie est également un domaine de recherche active. Les résultats des études chez l'animal et les résultats préliminaires des études cliniques suggèrent que l'administration d'un cocktail de facteurs angiogéniques peut être plus efficace que l'administration d'un seul agent, et peut imiter plus étroitement la réponse angiogénique physiologique. Enfin, la transplantation de cellules souches peut permettre le développement de tous les composants requis pour un nouveau myocarde et un réseau vasculaire fonctionnel, et peut représenter un traitement possible dans l'avenir.

Les D^r Michael Kutryk, M.D., Ph.D. et Saleem Kassam, M.D., MCE sont des médecins en formation à la Division de cardiologie, Terrence Donnelly Heart Centre, St. Michael's Hospital, Université de Toronto, Toronto. Le D^r Duncan J. Stewart est Chef de la Division de cardiologie au St. Michael's Hospital.

Références

1. Folkman J. Anti-angiogenesis: new concept for therapy of solid tumors. *Ann Surg* 1972;175:409-416.
2. Wang GL, Semonza GI. Purification and characterization of hypoxia inducible factor 1. *J Biol Chem* 1995;270:1230-1237.
3. Brooks PC, Montgomery AM, Rosenfeld M, et al. Integrin alpha v beta 3 antagonists promote tumor regression by inducing apoptosis of angiogenic blood vessels. *Cell* 1994;79:1157-1164.
4. Tomanek RJ, Schattman GC. Angiogenesis: new insights and therapeutic potential. *Anat Rec* 2000;261:126-135.
5. Hynes RO, Bader BL, Hodivala-Dilke K. Integrins in vascular development. *Braz J Med Biol Res* 1999;32(5):501-510.
6. Eliceiri BP, Cheresh DA. The role of alpha_v integrins during angiogenesis: insights into potential mechanisms of action and clinical development. *J Clin Invest* 1999;103:1227-1230.
7. Varner JA, Brooks PC, Cheresh DA. The integrin alpha_vbeta₃: angiogenesis and apoptosis. *Cell Adhes Commun* 1995;3:367-374.
8. Basson CT, Kocher O, Basson MD, Asis A, Madri JA. Differential modulation of vascular cell integrin and extracellular matrix expression in vitro by TGF-beta 1 correlates with reciprocal effects on cell migration. *J Cell Physiol* 1992;153:118-128.
9. Swerlick RA, Brown EJ, Xu Y, Lee KH, Manos S, Lawley TJ. Expression and modulation of the vitronectin receptor on human dermal microvascular endothelial cells. *J Invest Dermatol* 1992;99:715-722.
10. Sepp NT, Li L-J, Lee KH, et al. Basic fibroblast growth factor increases expression of the alpha_vbeta₃ integrin complex on human microvascular endothelial cells. *J Invest Dermatol* 1994;103:295-299.
11. Senger DR, Ledbetter SR, Claffey KP, Papadopoulos-Sergiou A, Perruzzi CA, Detmar M. Stimulation of endothelial cell migration by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor through cooperative mechanisms involving the alpha_vbeta₃ integrin, osteopontin, and thrombin. *Am J Pathol* 1996; 149:293-305.
12. Brooks PC, Clark RAF, Cheresh DA. Requirement of vascular integrin alpha_vbeta₃ for angiogenesis. *Science* 1994;264:569-571.
13. Brooks PC, Strömblad S, Klemke R, Sarkar FH, Cheresh DA. Antiintegrin alpha_vbeta₃ blocks human breast cancer growth and angiogenesis in human skin. *J Clin Invest* 1995;96:1815-1822.
14. Drake CJ, Cheresh DA, Little CD. An antagonist of integrin alpha_vbeta₃ prevents maturation of blood vessels during embryonic neovascularization. *J Cell Sci* 1995; 108:2655-2661.
15. Hammes H-P, Brownlee M, Jonczyk A, Sutter A, Preissner KT. Subcutaneous injection of a cyclic peptide antagonist of vitronectin receptor-type integrins inhibits retinal neovascularization. *Nat Med* 1996;2:529-533.
16. Dvorak HF. Tumours: wounds that do not heal. Similarities between tumour stroma generation and wound healing. *N Engl J Med* 1986; 315:1650-1659.
17. Haas TL, Madri JA. Extracellular matrix-driven matrix metalloproteinase production in endothelial cells: implications for angiogenesis. *Trends Cardiovasc Med* 1999;9:70-77.
18. Mignatti P, Rifkin DB. Plasminogen activators and matrix metallo-proteinases in angiogenesis. *Enzyme Protein* 1996;49:117-137.
19. Buschmann I, Schaper W. The pathophysiology of the collateral circulation. *J Pathol* 2000;190:338-342.
20. Henry TD. Therapeutic angiogenesis. *BMJ* 1999;318:1536-1539.
21. Griffitho A, Molema G. Angiogenesis: potentials for pharmacologic intervention in the treatment of cancer, cardiovascular diseases, and chronic inflammation. *Pharm Rev* 2000;52:237-268.
22. Jang J, Ho HV, Kwan H, Fakardo L, Cooke JP. Angiogenesis is impaired by hypercholesterolemia: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2000;102:1414-1419.
23. Babaei S, Teichert-Kuliszewska K, Monge JC, Mohamed F, Bendeck MP, Stewart DJ. Role of nitric oxide in the angiogenic response in vitro to basic fibroblast growth factor. *Circ Res* 1998;82:1007-1015.
24. Matsunaga T, Warltire DC, Weirauch DW, Moniz M, Tessmer J, Chilian WM. Ischemia-induced coronary collateral growth is dependent on vascular endothelial growth factor and nitric oxide. *Circulation* 2000;102:3098-3103.
25. Goligorsky MS, Budzikowski AS, Tsukahara H, Noiri E. Co-operation between endothelin and nitric oxide in promoting endothelial cell migration and angiogenesis. *Clin Experiment Pharm Physiology* 1999; 26:269-271.
26. Flamme I, Frolich T, Risau W. Molecular mechanisms of vasculogenesis and embryonic angiogenesis. *J Cell Physiol* 1997;173:206-210.
27. Risau W, Sariola H, Zerwes HG, et al. Vasculogenesis and angiogenesis in embryonic-stem-cell-derived embryoid bodies. *Development* 1988;102:471-478.
28. Nicosia RF, Villaschi S. Autoregulation of angiogenesis by cells of the vessel wall. *Int Rev Cytol* 1999;185:1-43.
29. Fleisch M, Billinger M, Eberli FR, Garachemani AR, Meier B, Seiler C. Physiologically assessed coronary collateral flow and intracoronary growth factor concentrations in patients with 1- to 3- vessel coronary artery disease. *Circulation* 1999;100:1945-1950.
30. Sasayama S, Fujita M. Recent insights into coronary collateral circulation. *Circulation* 1992;85:1197-1204.
31. Charney R, Cohen M. The role of the coronary collateral circulation in limiting myocardial ischemia and infarct size. *Circulation* 1993;126:937-945.
32. Ito W, Arras M, Scholz D. Angiogenesis but not collateral growth is associated with ischemia after femoral artery occlusion. *Am J Physiol* 1997; 273:H2155-H2165.
33. Jones MK, Wang H, Peskar BM. Inhibition of angiogenesis by non-steroidal anti-inflammatory drugs: insight into mechanisms and implications for cancer growth and ulcer healing. *Nat Med* 1999;5:1418-1423.
34. Cohen M, Rentrop KP. Limitations of myocardial ischemia by collateral circulation during sudden controlled coronary artery occlusion in human subjects: a prospective study. *Circulation* 1986;74:469.
35. Marcus ML, Chilian WM, Kanatsuka H, Dellsperger KC, Eastham CL, Lamping KG. Understanding the coronary circulation through studies at the microvascular level. *Circulation* 1990;82:1-7.
36. Schaper W. Control of coronary angiogenesis. *Eur Heart J* 1995;16 (Suppl C):66-68.

37. Nugent MA, Iozzo RV. Fibroblast growth factor-2. *Int J Biochem Cell Biol* 2000;32:115-120.
38. Nakagawa K, Chen YX, Ishibashi H, et al. Angiogenesis and its regulation: roles of vascular endothelial cell growth factor. *Semin Thromb Hemost* 2000;26:61-66.
39. Asahara T, Balthers C, Zheng LP. Synergistic effect of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on angiogenesis in vivo. *Circulation* 1995;92:635-371.
40. Broadley KN, Aquino AM, Hicks B, et al. Growth factors bFGF and TGF beta accelerate the rate of wound repair in normal and in diabetic rats. *Int J Tissue React* 1988;10:345-353.
41. Greenhalgh DG, Sprugel KH, Murray MJ, Ross R. PDGF and FGF stimulate wound healing in the genetically diabetic mouse. *Am J Pathol* 1990;136:1235-1246.
42. Thompson DW, Li WW, Maragoudakis M. The clinical manipulation of angiogenesis: pathology, side-effects, surprises, and opportunities with novel therapies. *J Pathol* 2000;190:330-337.
43. Baffour R, Berman J, Garb JL, Rhee SW, Kaufman J, Friedmann P. Enhanced angiogenesis and growth of collaterals by in vivo administration of recombinant basic fibroblast growth factor in a rabbit model of acute lower limb ischemia: dose-response effect of basic fibroblast growth factor. *J Vasc Med Biol* 1992;4(2):181-191.
44. Isner JM, Kaufman J, Rosenfield K, et al. Combined physiologic and anatomic assessment of percutaneous revascularization using a Doppler guidewire and ultrasound catheter. *Am J Cardiol* 1993;71:70D-86D.
45. Pu LQ, Sniderman AD, Brassard R, et al. Enhanced revascularization of the ischemic limb by angiogenic therapy. *Circulation* 1993;88:208-215.
46. Takeshita S, Pu LQ, Stein LA, et al. Intramuscular administration of vascular endothelial growth factor induces dose-dependent collateral artery augmentation in a rabbit model of chronic limb ischemia. *Circulation* 1994;90:II228-II234.
47. Takeshita S, Zheng LP, Brogi E, et al. Therapeutic angiogenesis. A single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. *J Clin Invest* 1994;93:662-670.
48. Harada K, Friedman M, Lopez JJ, et al. Vascular endothelial growth factor administration in chronic myocardial ischemia. *Am J Physiol* 1996;270:H1791-H1802.
49. Lazarous DF, Shou M, Striber JA, et al. Adenoviral-mediated gene transfer induces sustained pericardial VEGF expression in dogs: effect on myocardial angiogenesis. *Cardiovasc Res* 1999;44:294-302.
50. Lopez JJ, Edelman ER, Stamler A, et al. Basic fibroblast growth factor in a porcine model of chronic myocardial ischemia: a comparison of angiographic, echocardiographic and coronary flow parameters. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;282:385-390.
51. Lopez JJ, Edelman ER, Stamler A, et al. Angiogenic potential of perivascularly delivered aFGF in a porcine model of chronic myocardial ischemia. *Am J Physiol* 1998;274:H930-H936.
52. Shou M, Thirumurti V, Rajanayagam S, et al. Effect of basic fibroblast growth factor on myocardial angiogenesis in dogs with mature collateral vessels. *J Am Coll Cardiol* 1997;29:1102-1106.
53. Schumacher B, Pecher P, von Specht BU, Stegmann T. Induction of neoangiogenesis in ischemic myocardium by human growth factors. First clinical results of a new treatment for coronary heart disease. *Circulation* 1998;97:645-650.
54. Pecher P, Schumacher BA. Angiogenesis in ischemic human myocardium: clinical results after 3 years. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1414-1419.
55. Sellke FW, Laham RJ, Edelman ER, Pearlman JD, Simons M. Therapeutic angiogenesis with basic fibroblast growth factor: technique and early results. *Ann Thorac Surg* 1998;65:1540-1544.
56. Laham RJ, Sellke FW, Edelman ER, et al. Local perivascular delivery of basic fibroblast growth factor in patients undergoing coronary bypass surgery: results of a phase I randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Circulation* 1999;100:1865-1871.
57. Unger EF, Goncalves L, Epstein SE, et al. Effects of a single intracoronary injection of basic fibroblast growth factor in stable angina pectoris. *Am J Cardiol* 2000;85:1414-1419.
58. Udelson JE, Dilisizian V, Laham RJ, et al. Therapeutic angiogenesis with recombinant fibroblast growth factor-2 improves stress and rest myocardial perfusion abnormalities in patients with severe symptomatic chronic coronary artery disease. *Circulation* 2000;102:1605-1610.
59. Laham RJ, Chronos NA, Leimbach M, et al. Results of a phase I open label dose escalation study of intracoronary and intravenous basic fibroblast growth factor (rFGF-2) in patients (pts) with severe ischemic heart disease: 6 months follow-up [abstract]. *J Am Coll Cardiol* 2000;35(suppl A):73.
60. Henry TD, Rocha-Singh K, Isner JM, et al. Results of intracoronary recombinant human vascular endothelial growth factor (rhVEGF) administration trial (abstract). *J Am Coll Cardiol* 1998;31(Suppl A):65A.
61. Hendel RC, Henry TD, Rocha-Singh K, et al. Effect of intracoronary recombinant human vascular endothelial growth factor on myocardial perfusion: evidence for a dose-dependent effect. *Circulation* 2000;101:118-121.
62. Losordo DW, Vale PR, Symes JF, et al. Gene therapy for myocardial angiogenesis: initial clinical results with direct myocardial injection of phVEGF165 as sole therapy for myocardial ischemia. *Circulation* 1998;98:2800-2804.
63. Vale PR, Symes JF, Esakof DD, et al. Direct myocardial gene transfer of VEGF165 in patients with end-stage coronary artery disease: 12-month results of a phase I/II clinical trial (abstract). *J Am Coll Cardiol* 2001;37(Suppl A):285A.
64. Hendel RC, Vale PR, Losordo DW, et al. The effects of VEGF-2 gene therapy on rest and stress myocardial perfusion: results of serial SPECT imaging (abstract). *Circulation* 2000;102(Suppl):II-769.
65. Fortuin FD Jr., Vale P, Losordo DW, et al. Direct myocardial gene transfer of vascular endothelial growth factor-2 (VEGF-2) naked DNA via thoracotomy relieves angina pectoris and increases exercise time: one-year follow-up of a completed dose-escalating phase 1 study (abstract). *J Am Coll Cardiol* 2001;37(Suppl A):285A-286A.
66. Vale PR, Milliken CE, Fortuin D, et al. Correlation of NOGATM left ventricular electromechanical mapping and radionuclide perfusion imaging demonstrating augmented perfusion of ischemic myocardium in patients undergoing direct myocardial VEGF-2 gene transfer (abstract). *J Am Coll Cardiol* 2001;37(Suppl A):370A.
67. Symes JF, Losordo DW, Vale PR, et al. Gene therapy with vascular endothelial growth factor for inoperable coronary artery disease. *Ann Thorac Surg* 1999;68:830-836.
68. Rosengart TK, Lee LY, Patel SR, et al. Crystal RG. Six-month assessment of a phase I trial of angiogenic gene therapy for the treatment of coronary artery disease using direct intramyocardial administration of an adenovirus vector expressing the VEGF121 cDNA. *Ann Surg* 1999;230:466-470.
69. Rosengart TK, Lee LY, Patel SR, Sanborn TA, Parikh M, Bergman GW, Hachamovitch R, Szulc M, Kligfield PD, et al. Angiogenesis gene therapy: phase I assessment of direct intramyocardial administration of an adenovirus vector expressing VEGF121 cDNA to individuals with clinically significant severe coronary artery disease. *Circulation* 1999;100:468-474.
70. Rosengart TK, Patel SR, Crystal RG. Therapeutic angiogenesis: protein and gene therapy delivery strategies. *J Cardiovasc Risk* 1999;6:29-40.
71. Simons M, Bonow RO, Chronos NA, et al. Clinical trials in coronary angiogenesis: issues, problems, consensus: An expert panel summary. *Circulation* 2000;102:E73-E86.
72. Laham RJ, Garcia L, Baim DS, Post M, Simons M. Therapeutic angiogenesis using basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor using various delivery strategies. *Curr Interv Cardiol Rep* 1999;1:228-233.
73. Laham RJ, Rezaee M, Post M, et al. Intracoronary and intravenous administration of basic fibroblast growth factor: myocardial and tissue distribution. *Drug Metab Dispos* 1999;27:821-6.
74. Laham RJ, Rezaee M, Garcia L, et al. Tissue and myocardial distribution of intracoronary, intravenous, intrapericardial and intramyocardial 125-I-labeled basic fibroblast growth factor (bFGF) favor intramyocardial delivery (abstract). *J Am Coll Cardiol* 2000;35(Suppl A):10A.
75. Anderson ED, Mourich DV, Leong JA. Gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following intramuscular injection of DNA. *Mol Mar Biol Biotechnol* 1996;5:105-113.
76. McElvaney NG. Is gene therapy in cystic fibrosis a realistic expectation? *Curr Opin Pulmonary Med* 1996;2:466-471.
77. Brown LF, Detmar M, Claffey K, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a multifunctional angiogenic cytokine. *EXS* 1997;79:233-269.
78. Masumura M, Murayama N, Inoue T, Ohno T. Selective induction of fibroblast growth factor receptor-1 mRNA after transient focal ischemia in the cerebral cortex of rats. *Neurosci Lett* 1996;213:119-122.
79. Detmar M, Brown LF, Berse B, et al. Hypoxia regulates the expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/VEGF) and its receptors in human skin. *J Invest Dermatol* 1997;108:263-268.
80. Takami K, Kiyota Y, Iwane M, et al. Upregulation of fibroblast growth factor-receptor messenger RNA expression in rat brain following transient forebrain ischemia. *Exp Brain Res* 1993;97:185-194.
81. Banai S, Jaklitsch MT, Casscells W, et al. Effects of acidic fibroblast growth factor on normal and ischemic myocardium. *Circ Res* 1991;69:76-85.
82. Herold-Mende C, Steiner HH, Andl T, et al. Expression and functional significance of vascular endothelial growth factor receptors in human tumor cells. *Lab Invest* 1999;79:1573-1582.
83. Schultz A, Lavie L, Hochberg I, et al. Interindividual heterogeneity in the hypoxic regulation of VEGF: significance for the development of the coronary artery collateral circulation. *Circulation* 1999;100:547-552.
84. Volpert OV, Ward WF, Lingen MW. Captopril inhibits angiogenesis and slows the growth of experimental tumours in rats. *J Clin Invest* 1996;98:671-679.
85. Felesko W, Balkowicz E.Z., Sieberth E. Lovastatin and tumour necrosis factor-alpha exhibit potentiated antitumour effects against Ha-ras-transformed murine tumour via inhibition of tumour-induced angiogenesis. *Int J Cancer* 1999;81:560-567.
86. Panet R, Markus M, Atlan H. Bumetanide and furosemide inhibited vascular endothelial cell proliferation. *J Cell Physiol* 1994;158:121-127.
87. Van Belle E, Batters C, Bertrand ME. From the angiogenic response to ischemia to the validation of the concept of "therapeutic angiogenesis". *Arch Mal Coeur Vaiss* 1998;91:1159-1170.
88. Rivard A, Silver M, Chen D, et al. Rescue of diabetes-related impairment of angiogenesis by intramuscular gene therapy with adeno-VEGF. *Am J Pathol* 1999;154:355-363.
89. Hamawy AH, Lee LY, Crystal RG, Rosengart TK. Cardiac angiogenesis and gene therapy: a strategy for myocardial revascularization. *Curr Opin Cardiol* 1999;14:515-522.
90. Hanahan D. Signaling vascular morphogenesis and maintenance. *Science* 1997;277:48-50.

Réunions scientifiques à venir

6 - 9 octobre 2001

1^{re} conférence européenne interdisciplinaire sur l'angiogénèse
Paris, France

Personne ressource :

Tél : 33 1 42 06 6540

Fax : 33 1 42 06 0587

Courriel : ghysslain@esh.org

21 - 24 octobre 2001

Congrès canadien sur les maladies cardio-vasculaires
Halifax, N.-É.

Personne ressource :

Tél : 800 363-9130 ou (613) 569-3407

Fax : (613) 569-6574

Courriel : meetings@ccs.ca ou ccsinfo@ccs.ca

La version française a été révisée par le Dr George Honos, Montréal.

L'élaboration de cette publication a bénéficié d'une subvention à l'éducation de

Novartis Pharma Canada Inc.