

# Actualités des marqueurs du risque cardiovasculaire

5<sup>èmes</sup> Journées Nationales de Biologie  
Praticienne de Biologie Médicale

4-5 Avril 2014  
Mazagan

Pr. Ahmed ADLOUNI

Président SMEL

Laboratoire de Biologie et Santé

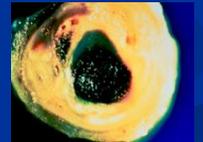
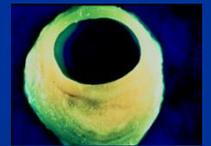
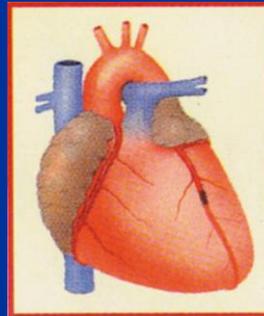
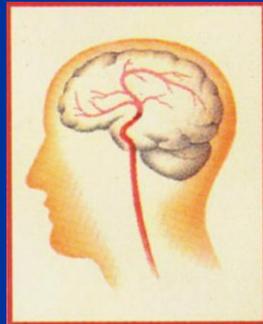
Unité de Pathologie Métabolique et Immunitaire

Faculté des Sciences Ben Msik, Université Hassan II

Casablanca

*1<sup>ère</sup>* CAUSE DE MORTALITE  
DANS LE MONDE

MALADIES  
CARDIOVASCULAIRES



**ATHEROSCLEROSE**

## LEADING CAUSES OF DEATH, 2004 AND 2030 COMPARED

2004			2030		
Disease or injury	Deaths (%)	Rank	Rank	Deaths (%)	Disease or injury
Ischaemic heart disease	12.2	1	1	14.2	Ischaemic heart disease
Cerebrovascular disease	9.7	2	2	12.1	Cerebrovascular disease
Lower respiratory infections	7.0	3	3	8.6	Chronic obstructive pulmonary disease
Chronic obstructive pulmonary disease	5.1	4	4	3.8	Lower respiratory infections
Diarrhoeal diseases	3.6	5	5	3.6	Road traffic accidents
HIV/AIDS	3.5	6	6	3.4	Trachea, bronchus, lung cancers
Tuberculosis	2.5	7	7	3.3	Diabetes mellitus
Trachea, bronchus, lung cancers	2.3	8	8	2.1	Hypertensive heart disease
Road traffic accidents	2.2	9	9	1.9	Stomach cancer
Prematurity and low birth weight	2.0	10	10	1.8	HIV/AIDS
Neonatal infections and other*	1.9	11	11	1.6	Nephritis and nephrosis
Diabetes mellitus	1.9	12	12	1.5	Self-inflicted injuries
Malaria	1.7	13	13	1.4	Liver cancer
Hypertensive heart disease	1.7	14	14	1.4	Colon and rectum cancers
Birth asphyxia and birth trauma	1.5	15	15	1.3	Oesophagus cancer
Self-inflicted injuries	1.4	16	16	1.2	Violence
Stomach cancer	1.4	17	17	1.2	Alzheimer and other dementias
Cirrhosis of the liver	1.3	18	18	1.2	Cirrhosis of the liver
Nephritis and nephrosis	1.3	19	19	1.1	Breast cancer
Colon and rectum cancers	1.1	20	20	1.0	Tuberculosis
Violence	1.0	22	21	1.0	Neonatal infections and other*
Breast cancer	0.9	23	22	0.9	Prematurity and low birth weight
Oesophagus cancer	0.9	24	23	0.9	Diarrhoeal diseases
Alzheimer and other dementias	0.8	25	29	0.7	Birth asphyxia and birth trauma
			41	0.4	Malaria

\* Comprises severe neonatal infections and other, noninfectious causes arising in the perinatal period.

Mauvaise alimentation

Manque d'activité physique

Tabagisme

# Prédiction du risque cardiovasculaire

## Enjeux Actuels

### **Nouveau marqueur biologique = Utilité clinique**

- ✓ Evaluation des paramètres pré et post-analytiques affectant la mesure du biomarqueur
- ✓ Apport de nouvelles informations physiopathologiques provenant du biomarqueur
- ✓ Capacité du biomarqueur à améliorer la prise en charge et le pronostic du patient

# Aujourd'hui:

Etudes portant sur **un nouveau marqueur biologique**

éléments permettant d'évaluer dans quelle mesure il ajoute à l'information pronostique fournie par des marqueurs de risque standard

**Marqueurs actuels du risque cardiovasculaire**

Niveaux de preuves d'utilité clinique suffisants

**Biomarqueurs**

**Pratique courante**

# Aujourd'hui:

Nouveaux marqueurs biologiques prometteurs



mieux identifier les patients à risque  
en prévention primaire et secondaire

## Mais:

Leur validation doit remplir différentes conditions:

**NMRCV**



- simple à mesurer
- non invasif
- rentable
- reproductible
- valeur prédictive et discriminante

## 1. Preuve du concept

Ses niveaux circulants différent-ils entre sujets avec et sans évènements ?

## 2. Validation prospective

Peut-il prédire le pronostic dans une cohorte prospective ou une étude cas-témoin ?

## 3. Valeur incrémentale

Ajoute-t il une information pronostique aux marqueurs de risque standard ?

## 4. Utilité clinique

Change-t-il la prédiction du risque suffisamment pour modifier la thérapie recommandée ?

## 5. Evénements cliniques

Son utilisation améliore-t-elle les évènements cliniques (essai clinique randomisé) ?

## 6. Rapport coût-efficacité

Son utilisation améliore t-elle suffisamment les évènements cliniques pour justifier les coûts supplémentaires ?

# Marqueurs actuels du RCV

Niveaux de preuves d'utilité clinique suffisantes

utilisés en pratique  
de routine

# Troponin I et T (us)

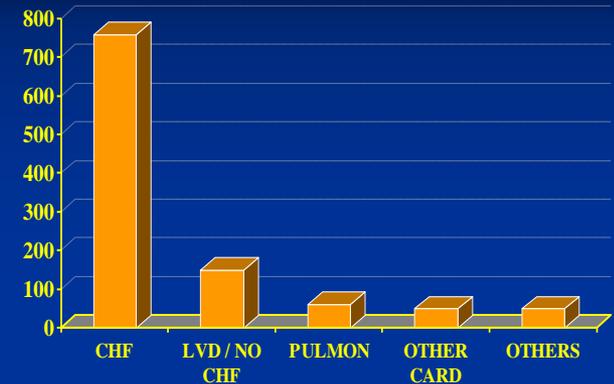
- Diagnostic du SCA
- Stratification du risque chez patients atteints de SCA
- **2012: cTn-T** : biomarqueur 1<sup>ère</sup> intention
  - → utilisation du 99<sup>e</sup> percentile d'une population de référence avec précision acceptable
- **2013: cTn-I** > 7,4 pg/ml → informations pronostiques supplémentaires par rapport aux marqueurs conventionnels y compris Tn-T

La troponine *us* occupe une place importante:

- la dernière définition de l'IDM
- l'algorithme de l'exploration de la douleur thoracique

# BNP/ Nt-proBNP

## Niveaux de BNP Patients avec dyspnée



- Diagnostic et suivi de l'**Insuffisance Cardiaque**
- Optimisation de la thérapeutique
- Indice de mortalité précoce et tardive du post-IDM
- **Utilité pronostique** de l'IC et identification des patients à risque de ré-hospitalisation
- Amélioration de la stratification du risque chez les individus à risque intermédiaire

# CRPus

- Marqueur de référence en pratique clinique courante dans les pathologies CV et AVCI
- Etudes dans le cadre du dépistage, de la stratification du risque comme **facteur prédictif de la réponse** au traitement par statine
- Corrélation entre CRP us et risque absolu de morbi-mortalité avec LDL-cholestérol normal en Prévention I. (*analyse post-hoc de l'étude JUPITER*)
- **CRP us : identifier les patients à haut risque d'évènements CV**

# **Nouveaux marqueurs du RCV**

# Galectine- 3

- Famille des lectines
- Cellules épithéliales, fibroblastes, cellules dendritiques
  
- Marqueur de l'activation de la fibrose myocardique à l'origine du dysfonctionnement ventriculaire chez 30 à 50% des patients **IC** chroniques.
  
- Intérêt clinique important, en reflétant l'évolution du mécanisme profond et à long terme de l'IC et complète les informations plus instantanées données par les BNP.

**Galectine-3**  **Nouveau marqueur de l'insuffisance cardiaque**

- **Approuvé par la FDA en pratique aux USA et Europe**
- **Meilleur pronostic dans l'insuffisance cardiaque**

## Micro RNA MiRNA

- Augmentation des taux circulants de miARN spécifiques du myocarde (ex: miR-1, miR-133, miR-499, miR-208) → lésion myocardique (après IDM)
- Diminution des taux de miARN spécifiques des cellules endothéliales (ex miR-126) → patients coronariens ou diabétiques
- Patients SCA → valeur pronostique reste à démontrer

**Avantages: libération précoce après une lésion myocardique ou une stimulation de l'endothélium**

**Asymmetric  
Dimethylarginine  
ADMA**

- Marqueur de la dysfonction endothéliale lié avec le risque de développer une pathologie CV
- Taux élevés d'ADMA sont fortement corrélés aux niveaux bas de HDL chez les patients à haut risque CV
- Taux élevés d'ADMA dans l'hypercholestérolémie, l'HTA, diabète, obésité
- Taux élevés d'ADMA suggérés comme facteur pronostique post-IDM

utilité pronostique ?? dans le cadre du risque CV et des anomalies métaboliques associées à une dysfonction endothéliale

**Growth  
Differentiation  
Factor  
GDF 15**

- Taux élevés de GDF-15 (> 1800 ng/l) associés à une mortalité accrue chez les patients avec un SCA et les patients coronariens  
*(indépendamment du niveau de BNP ou de la troponine)*
- GDF-15 n'est pas spécifique des maladies CV (tumeurs malignes)  
Données encore insuffisantes pour évaluer complètement son utilité clinique dans l'amélioration des algorithmes de prédiction du RCV

# Marqueurs génétiques

- Ne permettent pas d'améliorer de façon significative la prédiction du risque
- Ne sont pas actuellement recommandés (**ESC 2012**)
- Valeur ajoutée du génotypage pour une meilleure gestion du risque n'est pas actuellement conseillée

**Cas de la Lp-PLA2**  
**Nouveau marqueur du risque CV ?**

# La Lp-PLA<sub>2</sub>

- protéine 45 kD appartenant à la superfamille des phospholipases A<sub>2</sub>
- enzyme capable d'hydrolyser des phospholipides
- enzyme Ca<sup>2+</sup>-indépendante
- distincte de la PLA<sub>2</sub> sécrétoire (sPLA<sub>2</sub>), Ca<sup>2+</sup>-dépendante de 14 kDa
- principalement produite: macrophages, lymphocytes T, monocytes, mastocytes

# La Lp-PLA<sub>2</sub>

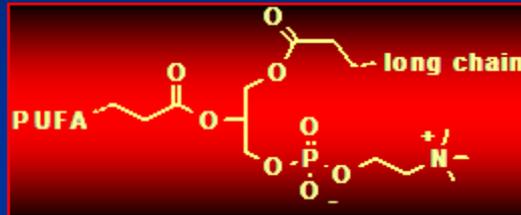
- Majoritairement liée aux lipoprotéines à apo B, LDL
- Faiblement liée aux HDL
- **En masse, la concentration de Lp-PLA<sub>2</sub>**    **En activité, l'activité de Lp-PLA<sub>2</sub>**

- 75 % LDL
- 25 % HDL

- 90 % LDL
- 10 % HDL

- Interaction entre la partie N-terminale de la LpPLA<sub>2</sub> et la partie C-terminale des **LDL petites et denses**
- Suite à l'oxydation des LDL  activation de la Lp-PLA<sub>2</sub>

# Lp-PLA2 et Oxydation des LDL



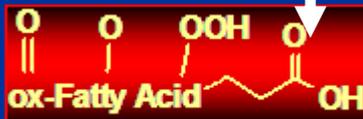
Phosphatidylcholine (PC)

Oxidation



Oxidatively-Modified PC

**Lp-PLA2**



Oxidized Fatty Acid

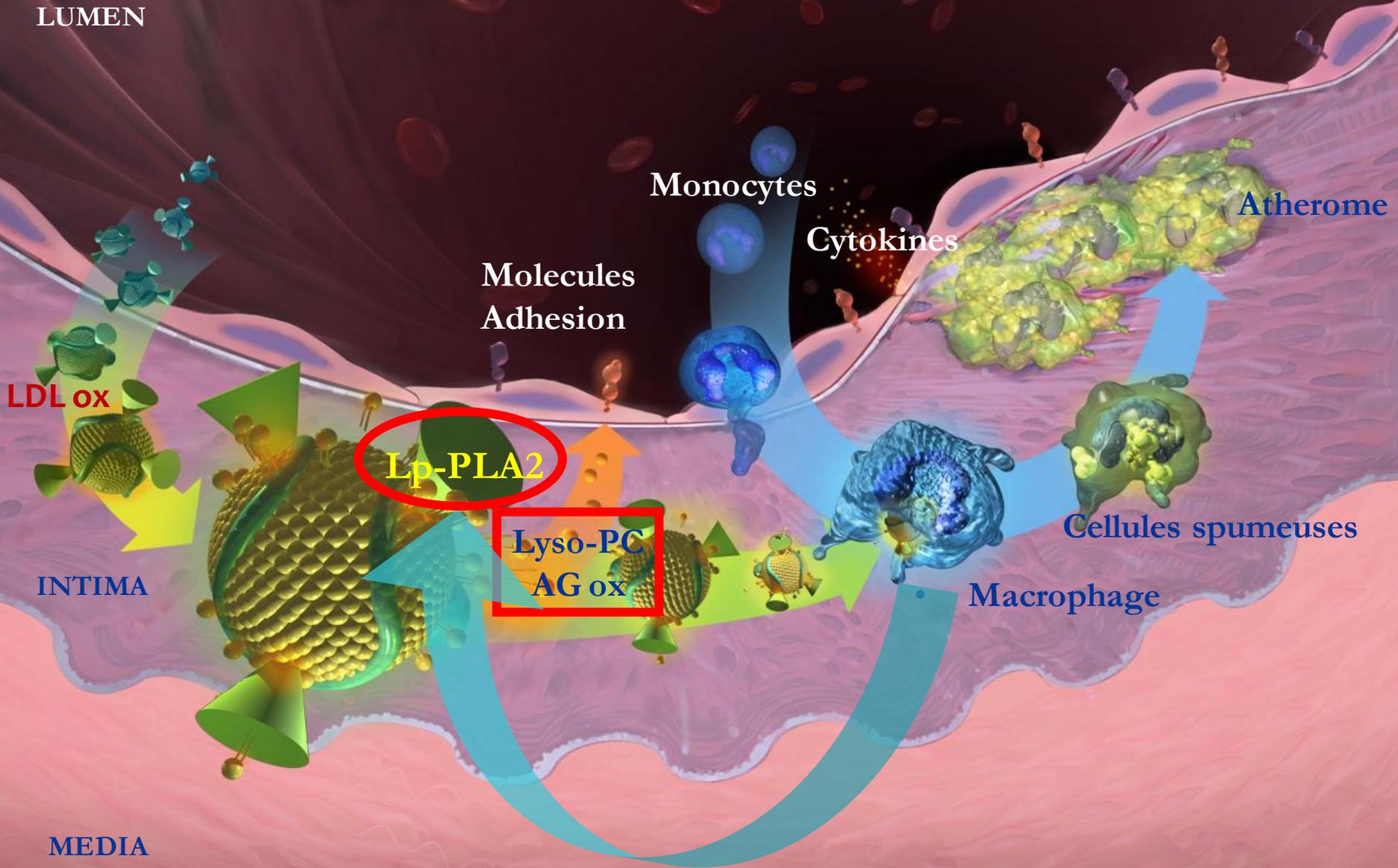
+



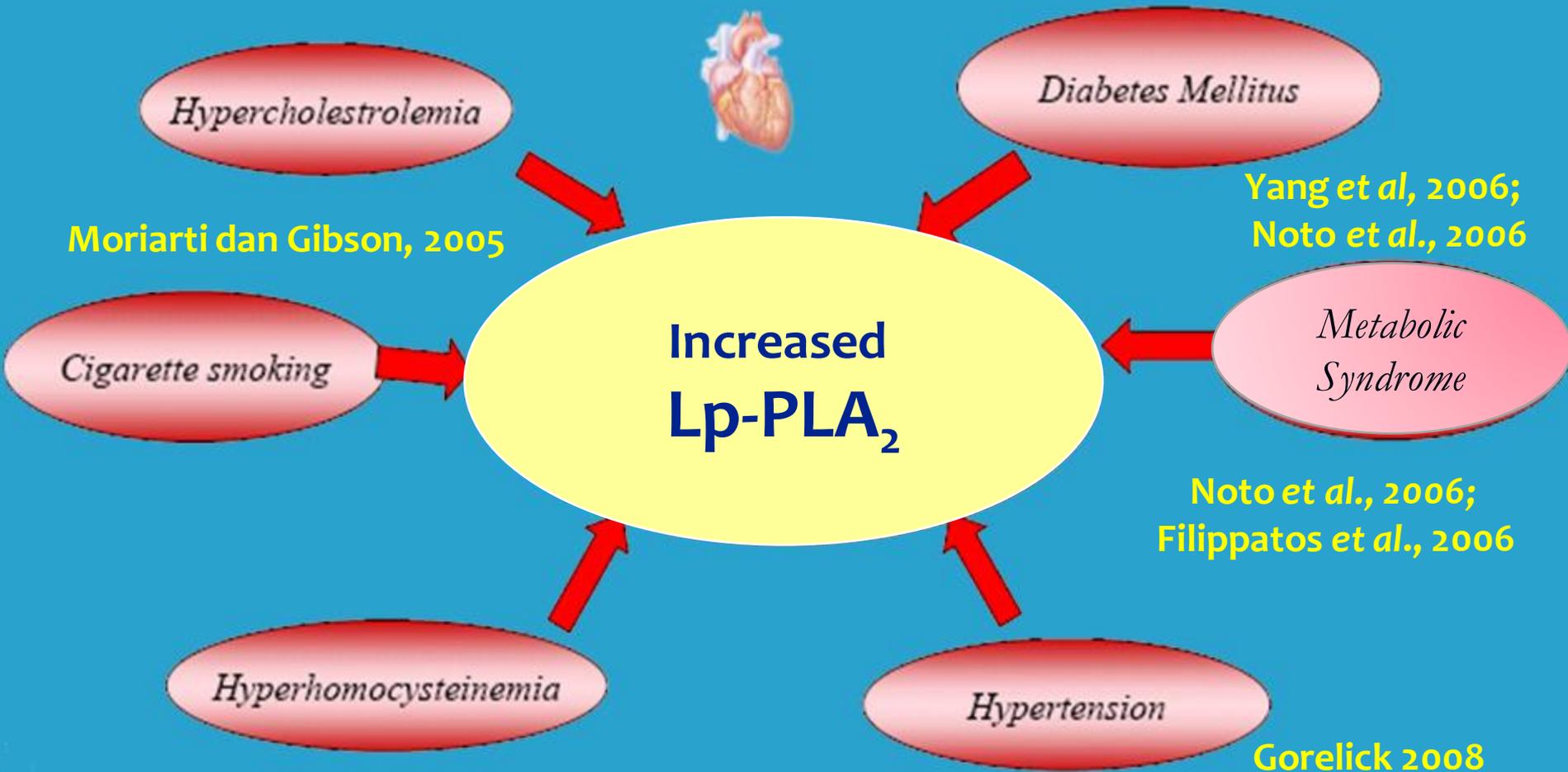
Lyso-PC

Putative  
Inflammatory  
Mediators

# Lp-PLA2 et Athérogénèse



# Lp-PLA<sub>2</sub> et facteurs de risque Cardiovasculaire



# Aujourd'hui

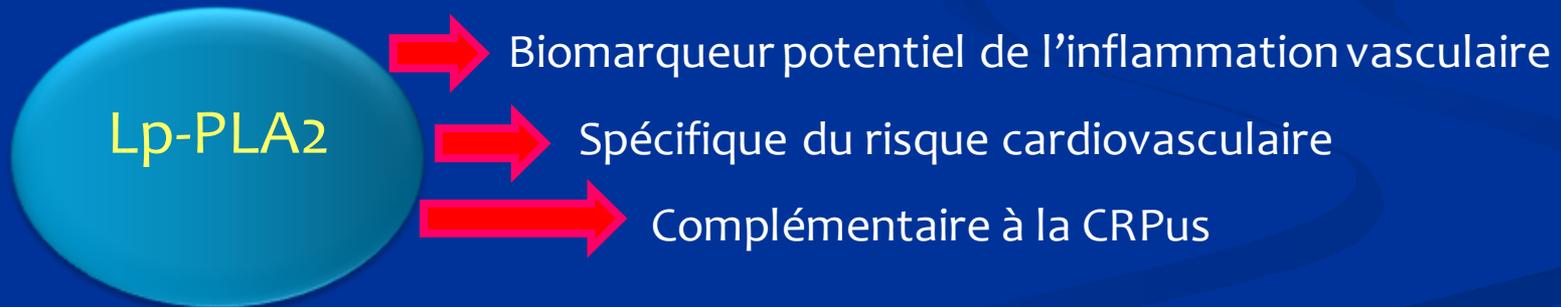
## Etudes : la Lp-PLA2 facteur prédictif indépendant d'événements cardiovasculaires

### Cohorte prospective de patients ayant bénéficié de coronarographie

Lp-PLA2 associé à un risque accru de pathologie coronaire

### Coronariens stables

niveau élevé de Lp-PLA2 puissant facteur prédictif du pronostic cardiovasculaire, indépendamment de facteurs de risque cliniques traditionnels, de la CRP us



**Association entre l'activité de la Lp-PLA2  
et la progression de  
l'athérosclérose infraclinique**

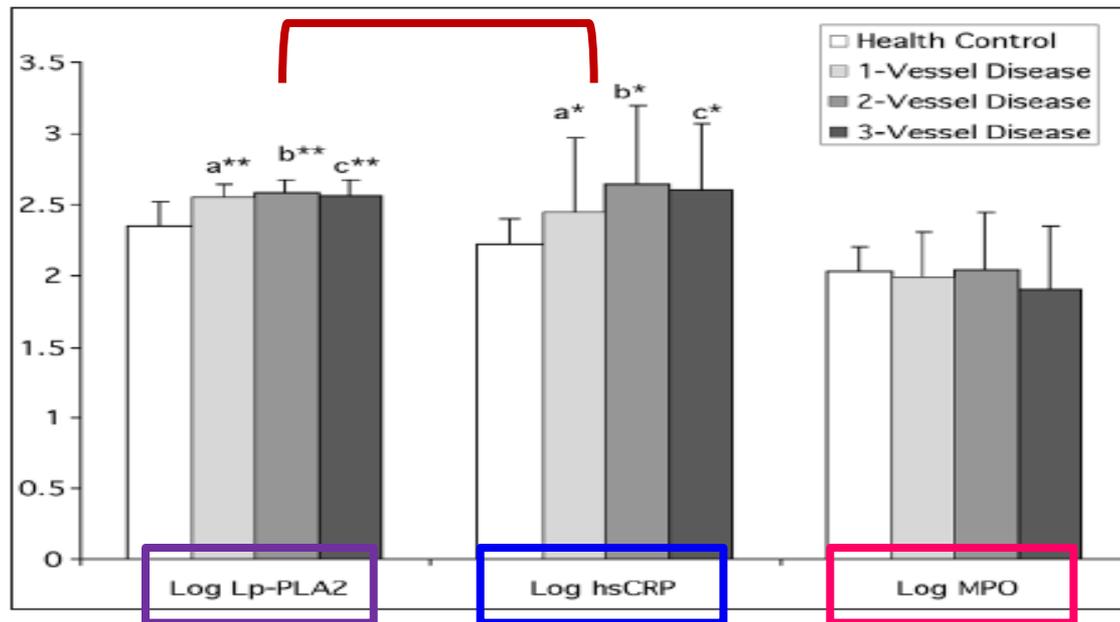
**La Lp-PLA2 joue un rôle important dans  
la progression de l'athérosclérose**



**Prévention précoce des MCV**

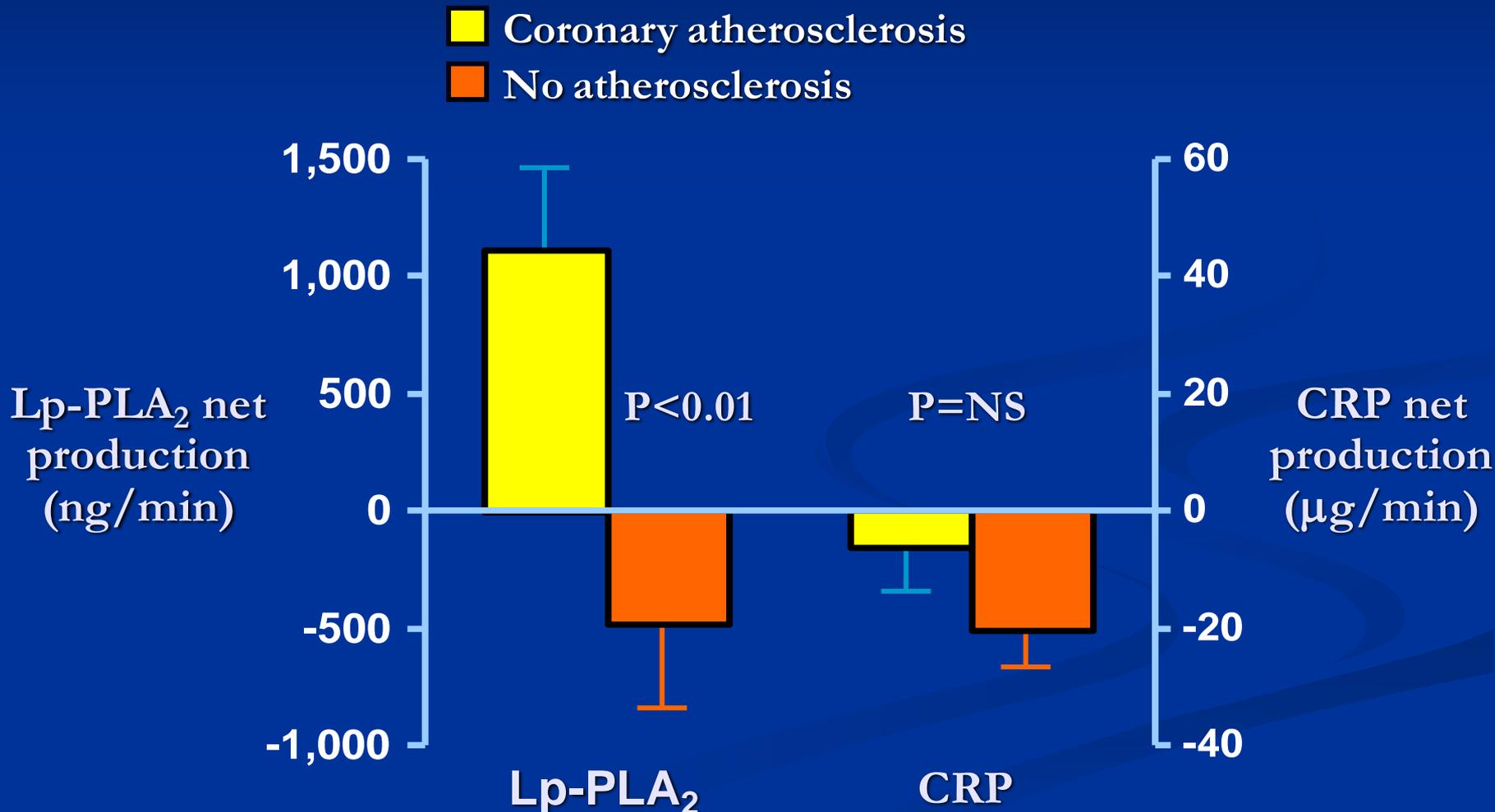
# Corrélations entre biomarqueurs inflammatoires pour la détection de la sténose coronarienne

## Patients coronariens stables

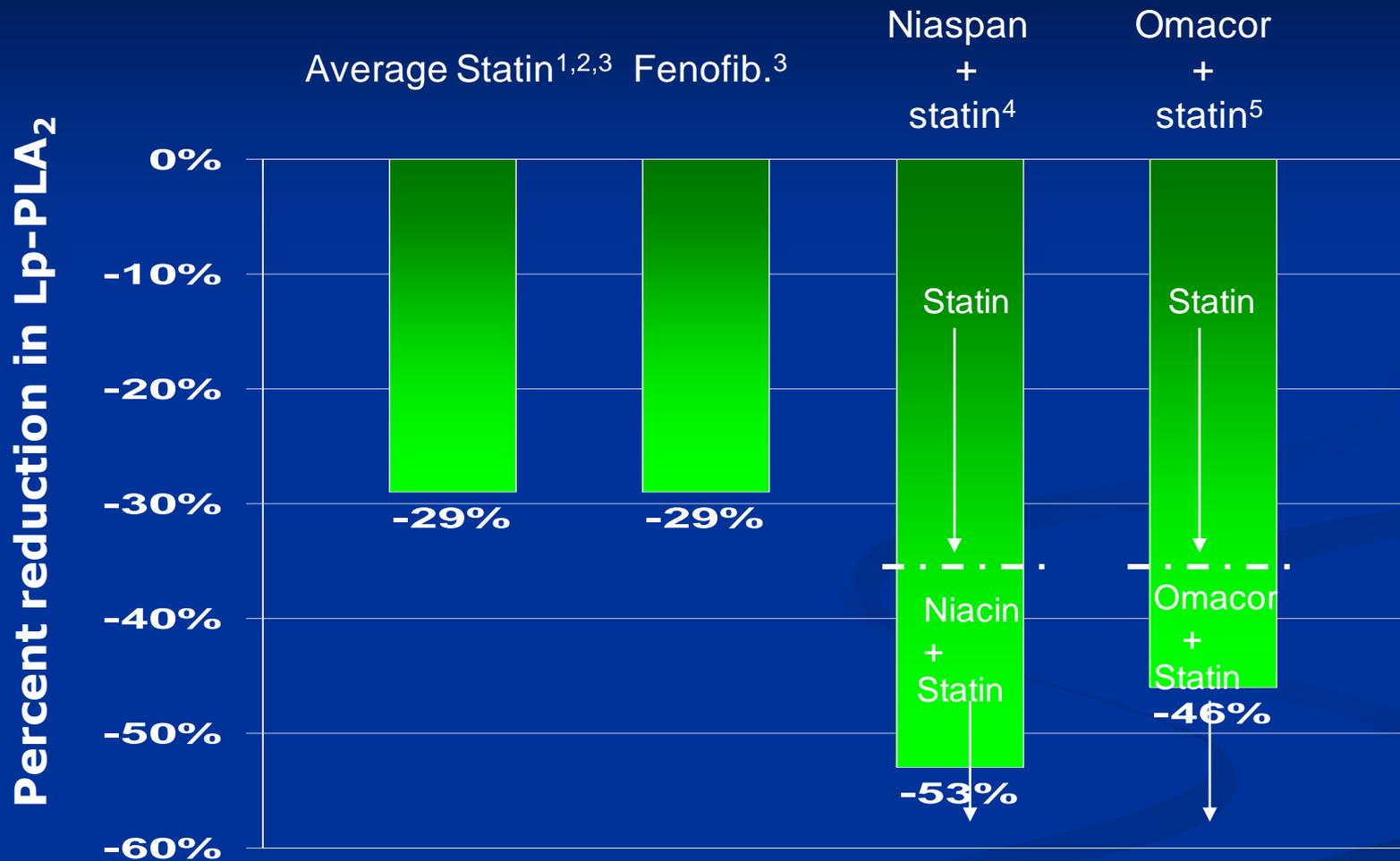


**Figure 1.** Mean (+SD) Log Lp-PLA<sub>2</sub>, Log hs-CRP and Log MPO plasma levels in study group classified according \*There is statistically significant difference ( $p < 0.05$ ); \*\*There is statistically significant difference ( $p < 0.001$ ).

# Production de la Lp-PLA<sub>2</sub> dans la circulation sanguine coronarienne durant l'athérosclérose (IVUS)



# Hypolipémiants et Lp-PLA<sub>2</sub>



1. Albert M, et al. *Atherosclerosis* 2005;182:193-198.  
2. Schaefer EJ, et al. *Am J Cardiol.* 2005;95:1025-1032.

3. Muhlestein JB, et al. *Am H Journal.* 2006;48:396-401.  
4. Kuvin J, et al. *Am J Cardiol.* 2006.  
5. Schalwitz R, et al. *ATVB Annual Mtg abstract* 2007.

# Lp-PLA2 et AVC

## **ARIC study**

**12 819 sujets de sexe masculin et féminin  
en bonne santé et d'âge moyen (45 à 64 ans)  
Suivi 6-8 ans**

**la concentration en Lp-PLA2 s'est avérée être un important prédicteur de  
risque de maladie coronarienne.**

## **cohort study Malmö Sweden**

**5393 sujets dont 60% femmes**

- **la Lp-PLA2 est associée à une augmentation de l'incidence de l'AVCI**
- **L'activité Lp-PLA2 est associée à une augmentation de l'incidence de l'AVCI**

**la Lp-PLA2 constitue un puissant prédicteur de risque pour les accidents  
ischémiques cérébraux, avec un risque pratiquement deux fois plus élevé après  
ajustement des autres facteurs de risque**

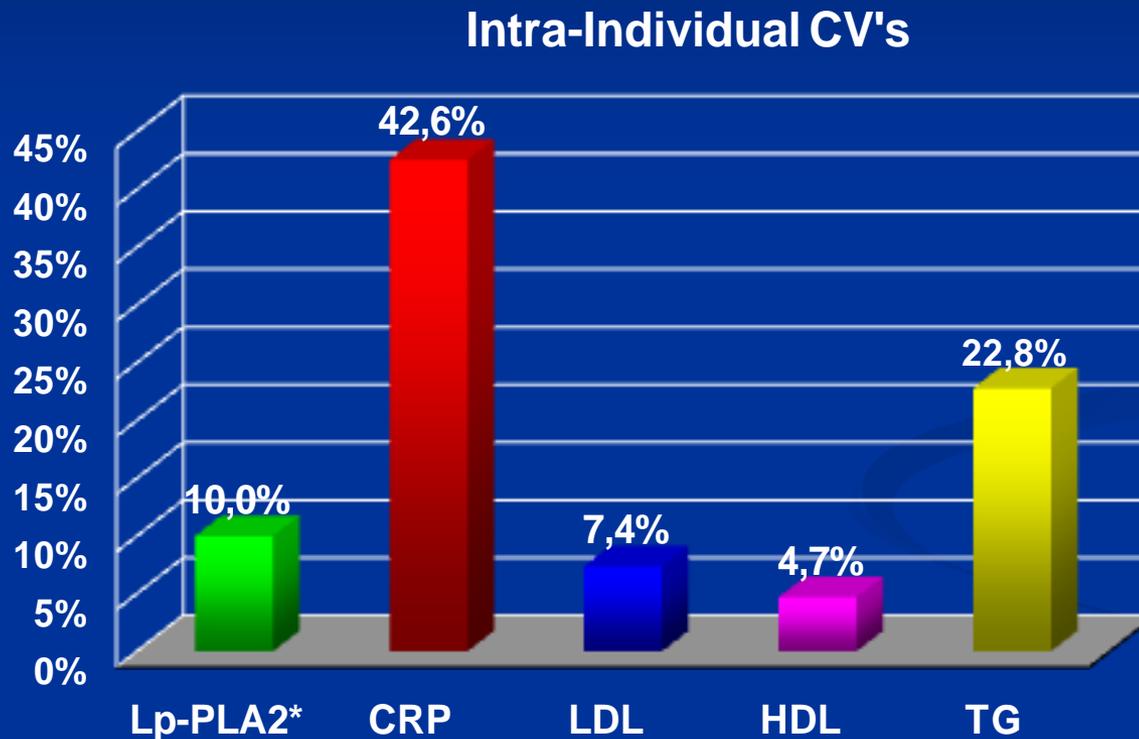
# Dosage de la Lp-PLA<sub>2</sub>

- Méthode ELISA approuvée par la FDA
- Appelé à être automatisable
- Adaptation pas simple en laboratoire de routine
- Méthode immunoturbidimétrique récemment développée et approuvée par la FDA

# Méthode immunoturbidimétrique automatisée pour la Lp-PLA2 (Auto-PLAC)

- Déterminée sur plusieurs analyseurs de chimie automatisés (Roche, Hitachi 912,..)
- Caractéristiques de performance améliorées  
Précision, linéarité, récupération
- Corrélation: Gen 3 ELISA    Auto = PLAC  
( $y = 1.1609x - 12,11$ ,  $R^2 = 0,5363$ ,  $(n = 452)$ )
- Questions de stabilité de l'échantillon et du réactif en cours

# Variabilité biologique de la Lp-PLA2

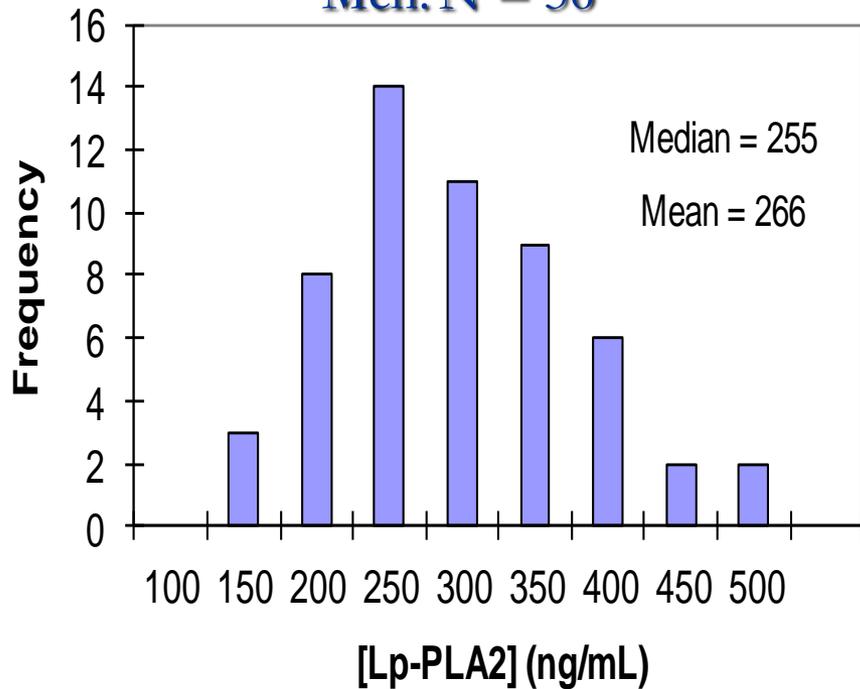


Blood from 43 healthy adults each drawn 7 times over 4 weeks

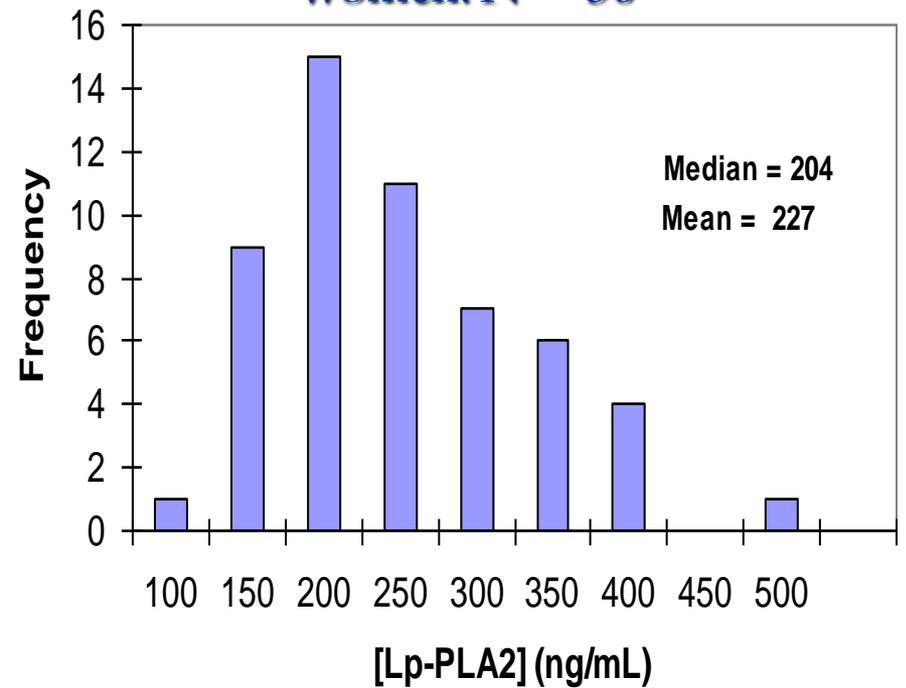
\*Wolfert RL, et al. *Circulation*. 2004.

# Distribution de la Lp-PLA2

Men: N = 56



Women: N = 56



# Essai au Maroc la Lp-PLA<sub>2</sub>

## Epidémiologie de l'AVC au Maroc

**Le Projet AVC : pour la première fois au Maroc, voire dans les pays arabes,  
une enquête épidémiologique de prévalence des AVC**

Données épidémiologiques, cliniques,  
génétiques et métaboliques des AVC au Maroc

Projet fédérateur impliquant plusieurs chercheurs, épidémiologistes, économistes, neurologues, cardiologues, endocrinologues, radiologues, biologistes et généticiens.

# Marqueurs étudiés pour le projet AVCI

Avril 2010 - Fév 2012  
105 patients

Souffrance  
cérébrale

## Marqueur biologique

Protéine S-100B

NSE

IL-6

CRPus

D-Dimères

Réaction  
Inflammatoire

Fibrinolyse

Lp - PLA2

# Conclusions

- Multitude de biomarqueurs de risque CV candidats
- Faible proportion utilisable en routine
- Intégration dans une démarche globale
- Pas de biomarqueur idéal
- Lp-PLA2 a récemment émergé comme biomarqueur indépendant de risque et des événements cardiovasculaires.
- Variabilité biologique similaire aux mesures de lipides.
- Recherche de nouveaux marqueurs très active





# Réduction thérapeutique de la Lp-PLA<sub>2</sub>

- La Lp-PLA<sub>2</sub> peut-elle être une cible thérapeutique?
- Si oui, sa réduction permet-elle de prédire de manière fiable le risque?

## Le Darapladib

- inhibiteur sélectif de la Lp-PLA<sub>2</sub> qui bloque le résidu sérine actif et réduit l'activité de l'enzyme avec une IC<sub>50</sub> de 270 pmol/l.
- 2 grands essais cliniques de phase III pour évaluer les bénéfices apportés chez les patients atteints de maladies CV.

**Circulation**

JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION

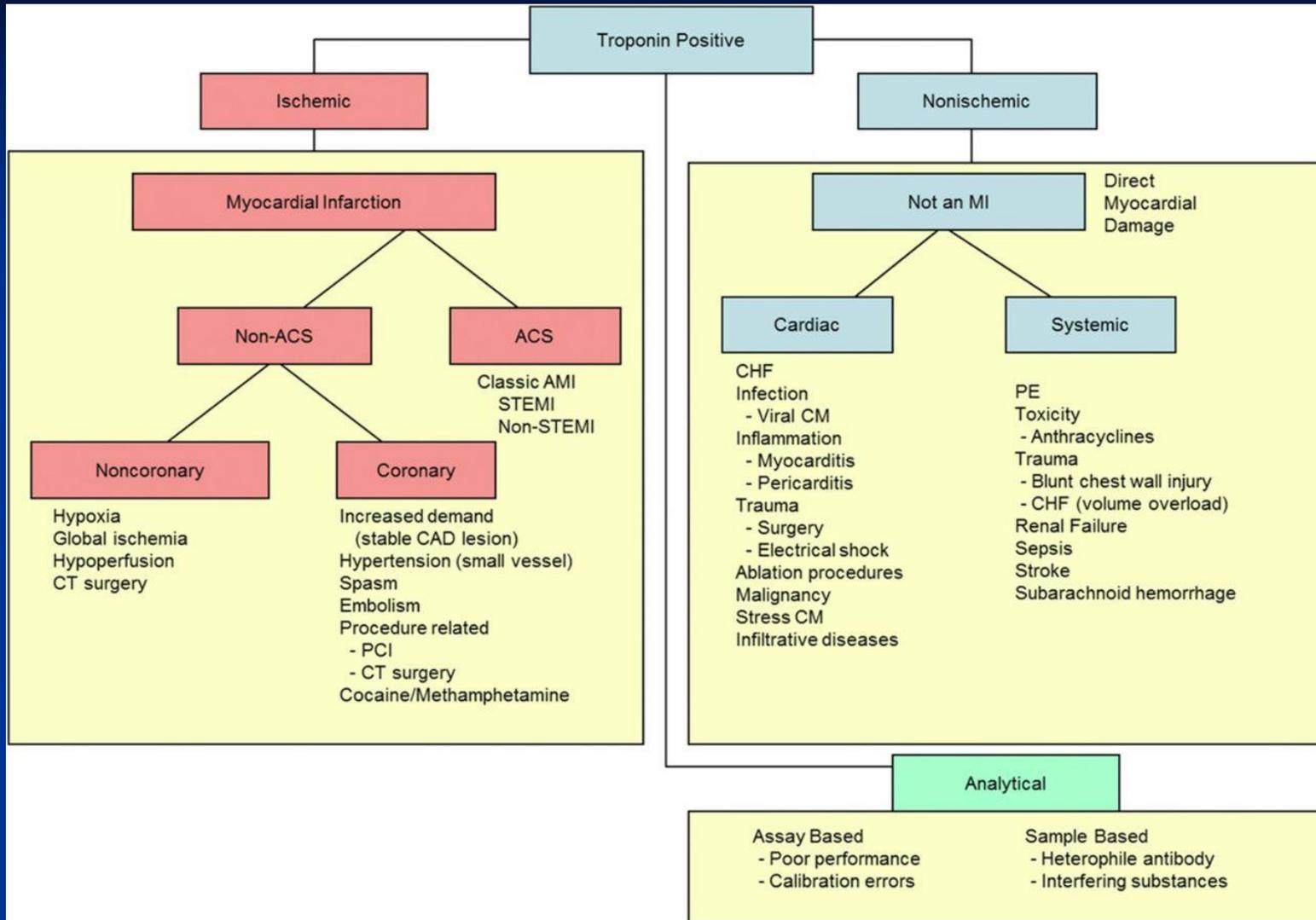
American Heart  
Association  
*Learn and Live...*

Effects of the Direct Lipoprotein-Associated Phospholipase A<sub>2</sub> Inhibitor  
Darapladib on Human Coronary Atherosclerotic Plaque

**Conclusions**—Despite adherence to a high level of standard-of-care treatment, the necrotic core continued to expand among patients receiving placebo. In contrast, Lp-PLA<sub>2</sub> inhibition with darapladib prevented necrotic core expansion, a key determinant of plaque vulnerability. These findings suggest that Lp-PLA<sub>2</sub> inhibition may represent a novel therapeutic approach. (*Circulation*. 2008;118:1172-1182.)

Azetidinones





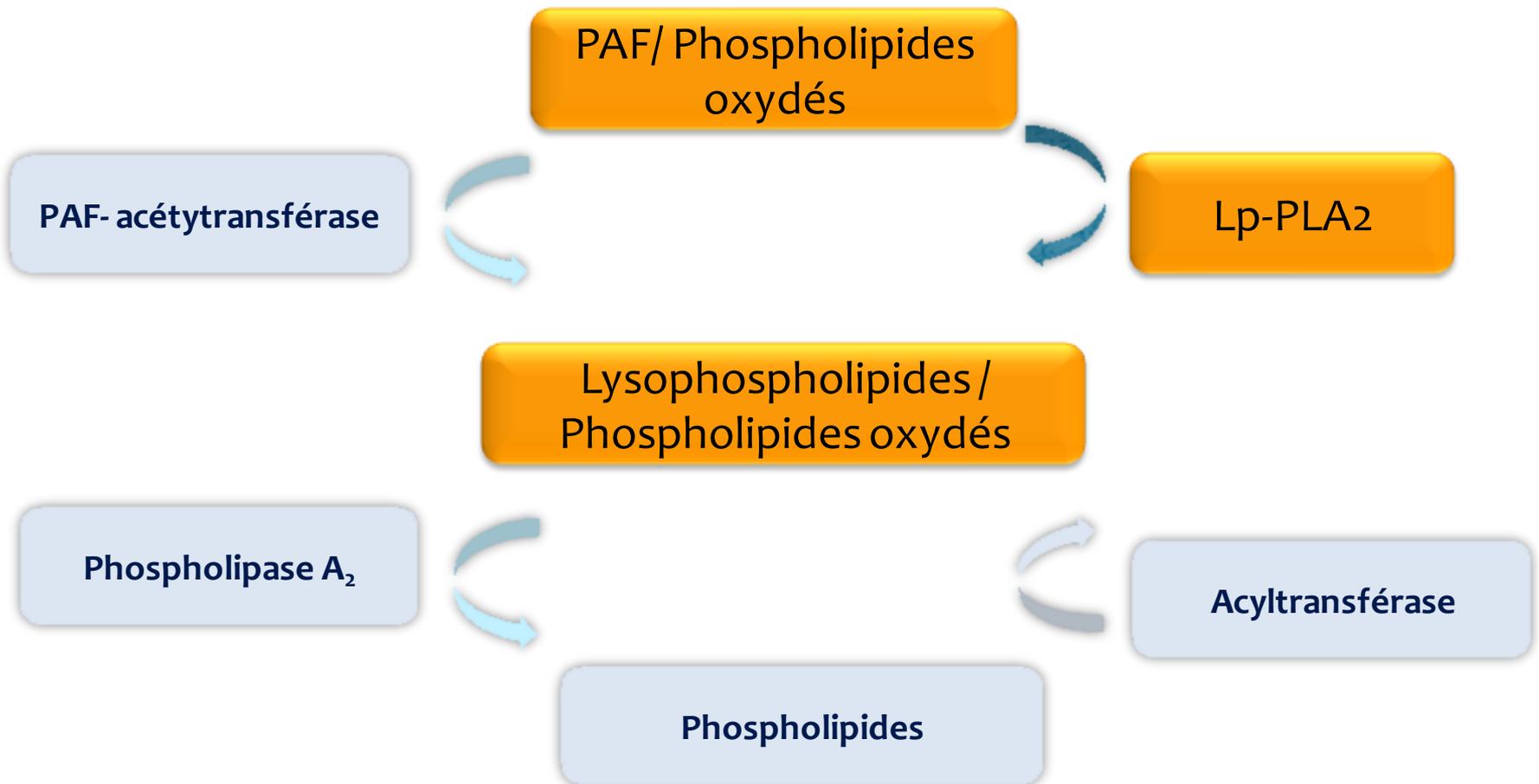
# Effects of Darapladib on Human Coronary Atherosclerotic Plaque

- 330 patients with CAD
- Treated with darapladib or placebo for 12 months
- Lp-PLA2 activity was decreased by 59% in the darapladib group
- LDL cholesterol was not different in placebo vs. treatment groups.

# Effects of Darapladib on Human Coronary Atherosclerotic Plaque

- Primary end points
  - Coronary atheroma deformability by IVUS
  - Reduction in CRP
- There was no significant difference in plaque deformability ( $P=0.22$ ) or CRP ( $P=0.35$ ) between groups
- One of at least 3 secondary endpoints (necrotic core size) was improved (discussion focused on this)
- The safety profile was good although mean systolic blood pressure was higher in the darapladib group

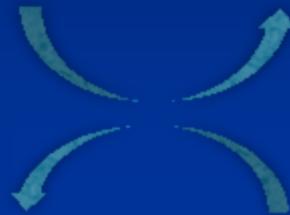
# Rôle de la Lp-PLA<sub>2</sub> dans la production des lysophospholipides



# Objectif du Projet AVCI Vol et Métabolique

AVCI

Diagnostiqué par scanner



Biomarqueurs J3 - J4

- Souffrance cérébrale : Prot S100b et NSE
- Réaction inflammatoire: CRP et IL 6
- Fibrinolyse: D-dimères

- **Exploration de la physiopathologie des processus post-AVC :**
  - Quelle est l'intensité de la souffrance cérébrale résiduelle ?
  - Comment est l'état inflammatoire à J3-J4 ?
  - Comment les concentrations de D-dimères varient-elles ?
- **Evolution pronostique : si les valeurs des biomarqueurs sont élevées à J3-J4**
  - Les séquelles sont-elles plus importantes ?
  - Les séquelles sont-elles moins réversibles ?
  - Les évènements secondaires cérébraux de l'AVC sont-ils plus fréquents ?

# Analyse des résultats Projet AVCI

## (Volet Métabolique)

- La gravité de l'AVC à l'arrivée du patient  
(valeur du score de Glasgow ou équivalent : état clinique, autre échelle d'évaluation de la gravité)
- La gravité de l'AVC à sa sortie, en fonction de la prise en charge médicale ou chirurgicale, en incluant les médicaments
- La localisation intracérébrale
- Les séquelles neurologiques
- La cohérence des marqueurs entre eux
- L'intérêt d'un marqueur par rapport à un autre
  - pour un même processus physiopathologique (inflammation, lésion cérébrale)
  - par l'association des processus (la prot S100 est-elle corrélée à la CRP)