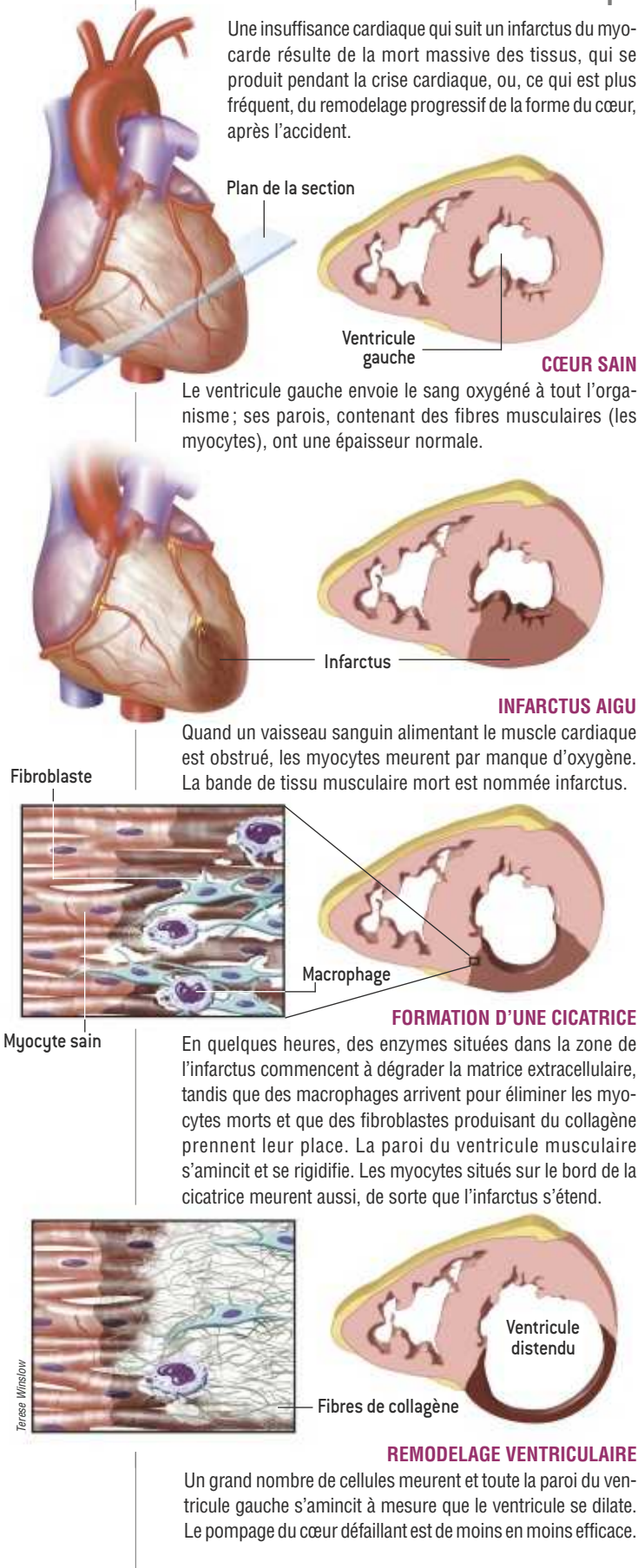


Insuffisance cardiaque



des cellules fibreuses non contractiles remplacent peu à peu les myocytes morts. Les myocytes sains qui bordent l'infarctus peuvent mourir eux aussi, ce qui accroît l'étendue de l'infarctus. Au cours de ce processus, connu sous le nom de remodelage, la paroi du ventricule dans la zone de l'infarctus s'amincit et parfois même se rompt.

Au cours des dernières années, des biologistes ont tenté de réamorcer la croissance du tissu cardiaque dans une zone d'infarctus en transplantant des cellules souches provenant d'autres tissus, par exemple la moelle osseuse ou un muscle, avec l'espoir que ces cellules s'adaptent à leur environnement et produiraient de nouveaux cardiomyocytes, ou stimuleraient la capacité naturelle de régénération du cœur. Malheureusement, les résultats ont été décevants: très peu de cellules souches ont survécu après la transplantation, et celles qui ont survécu se sont généralement rassemblées sur les bords de l'infarctus, mais sans établir de contact avec le tissu sain adjacent ou sans conduire les signaux électriques qui permettent aux cellules cardiaques de synchroniser leurs contractions.

Ces cellules implantées ne sont pas fonctionnelles dans la zone lésée, car la structure naturelle qui soutient les cellules vivantes a disparu. Dans un tissu sain, la matrice extracellulaire, composée de protéines de structure, telles que le collagène, et de molécules de sucre complexes, les polysaccharides, produit des facteurs de croissance et fournit un support physique aux cellules.

À la recherche du support idéal

Les biologistes ont alors cherché un support idéal pour la croissance de tissus vivants, permettant aux cellules de se diviser et de s'organiser en un tissu tridimensionnel. Ces cellules auraient ensuite commencé à sécréter leur propre matrice extracellulaire, l'armature se serait dissoute, ne laissant derrière elle que du tissu sain. Qui plus est, l'armature stimulerait la vascularisation du nouveau tissu, les vaisseaux sanguins apportant de l'oxygène aux cellules et évacuant leurs déchets.

À la fin des années 1980, l'un de nous (Smadar Cohen) a travaillé avec Robert Langer, un pionnier de l'ingénierie tissulaire, à l'Institut de technologie du Massachusetts. À cette époque, l'idée de fabriquer des tissus vivants était encore du domaine du rêve. En 20 ans, de nombreux matériaux (synthétiques et naturels) ont été étudiés pour favoriser la croissance de cellules en un tissu fonctionnel.

Les polyesters dégradables sont parmi les matériaux synthétiques les plus utilisés, mais ils présentent plusieurs inconvénients. Ils sont hydrophobes, de sorte que les cellules vivantes y adhèrent mal, et des armatures réalisées avec ces polymères tendent à se désagréger plutôt qu'à se dégrader à un rythme régulier. Les sous-produits acides de leur dégradation déclenchent des inflammations locales des tissus, et menacent la survie des cellules transplantées. De nouveaux hydrogels synthétiques ne présentent pas ces inconvénients, et leur texture ressemble à celle d'une matrice extracellulaire naturelle, mais ils sont dépourvus des protéines d'une matrice extracellulaire naturelle, par exemple le collagène, indispensables au bon fonctionnement des cellules.

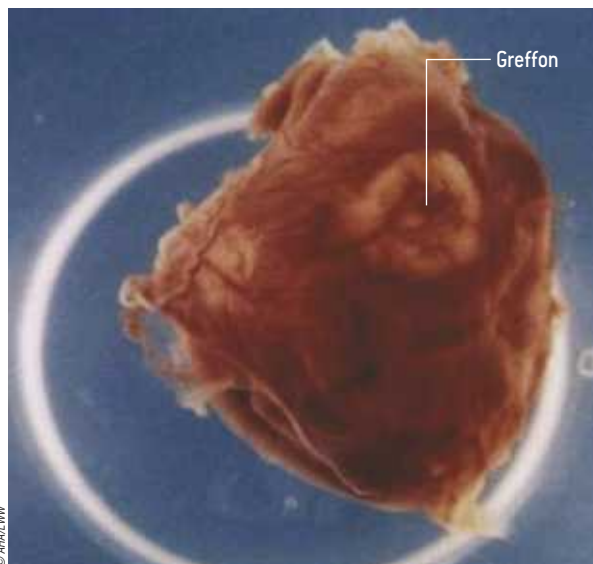
Le collagène lui-même, ainsi que d'autres protéines de la matrice extracellulaire, telle la fibronectine, ont également été testés en tant que support. Bien que ces protéines contiennent des acides aminés auxquels des cellules vivantes adhèrent, elles n'ont pas une résistance mécanique suffisante pour supporter un grand nombre de cellules, et, qui plus est, le collagène est rapidement consommé par les enzymes de l'organisme. En outre, certaines protéines peuvent être rejetées par le système immunitaire, ce qui ne ferait qu'accroître les risques encourus par le patient.

Nous avons donc décidé de fabriquer une armature faite avec un alginat, un polysaccharide dérivé d'algues. Il est biocompatible, c'est-à-dire qu'il n'est pas rejeté par le système immunitaire. Et, quand certains alginates sont dissous dans l'eau, puis exposés à des ions calcium chargés positivement, ils se comportent comme un hydrogel contenant 98 pour cent d'eau : leur consistance est gélatineuse et ils ont des propriétés élastiques semblables à celles d'une matrice extracellulaire naturelle.

Cependant, pour utiliser cet hydrogel d'alginate comme support, il nous fallait lui donner une forme et une structure interne, tout en renforçant sa résistance mécanique pour qu'il puisse conserver sa forme malgré le poids des cellules qui le coloniseraient. Pour ce faire, nous avons versé la solution d'alginate dans une série de moules, puis nous les avons refroidis selon trois méthodes produisant des gradients de température distincts durant la congélation. Des cristaux de glace séparés par de minces parois d'alginate se sont formés dans tous les échantillons. Après avoir éliminé ces cristaux par sublimation, il nous restait une armature ressemblant à une éponge dont les minuscules pores reflétaient la forme des cristaux. En agissant sur les paramètres de la congélation, nous changions la densité des pores, leur taille et leur direction, ainsi que la densité des connexions (voir l'encadré pages 80 et 81).

Les pores doivent être interconnectés, car cela permet aux cellulesensemencées de pénétrer dans l'armature. Il faut aussi que les nutriments puissent atteindre les cellules et que leurs déchets soient éliminés. Le degré d'interconnexion des pores influe aussi sur la revascularisation du tissu transplanté. Enfin, l'architecture d'une telle armature, qui ressemble à une mousse ou à une ruche, contribue à sa résistance mécanique. Bien qu'elles soient surtout constituées de vide (elles contiennent 95 pour cent de pores), ces structures sont très résistantes. Ainsi, nous disposons d'une armature ayant la structure souhaitée, n'activant pas le système immunitaire, non toxique, ayant une bonne stabilité mécanique à long terme, et se désagrégeant dans l'organisme en un temps raisonnable. Encore fallait-il vérifier que des cellules vivantes colonisaient ce support.

Avant d'implanter ces armatures dans des animaux de laboratoire, nous avons observé le comportement des cellules cardiaques sur de l'alginate *in vitro*. Nous avons prélevé des cellules de cœurs d'embryons de rats – qui, contrairement à des cardiomyocytes matures, se divisent – et nous les avons mises en suspension dans un milieu liquide contenant des nutriments. Nous avons ensuite placé dans ce milieu de culture des armatures rondes de six millimètres de diamètre et de un millimètre d'épaisseur. L'ensemble a été soumis à une force centrifuge modérée ; nous avons



Deux mois après son implantation sur un cœur de rat, un supportensemencé avec des cellules s'est intégré dans une zone d'infarctus. Des vaisseaux sanguins locaux ont pénétré dans le greffon, alimentant les cellules cardiaques matures à l'intérieur de l'implant et empêchant ainsi l'extension de l'infarctus.

constaté que les cellules se répartissent dans les pores des armatures en moins de 30 minutes. La rapidité est un avantage précieux pour préserver la viabilité de ces cellules sensibles au manque d'oxygène. Par conséquent, nous avons pu placer une densité élevée de cellules sur nos supports (10^8 cellules par centimètre cube, densité comparable à celle du muscle cardiaque mature).

Reconstruire un fragment de cœur

Nous avons transféré nos supportsensemencés dans un bioréacteur, qui maintient des conditions de culture idéales tout en assurant une circulation continue du milieu contenant les nutriments. Au bout de 24 heures, nous avons détecté des myocytes en train de battre. Au bout de sept jours, nous avons transplanté ces édifices dans des cœurs vivants. Nous avons anesthésié des rats adultes qui avaient eu un infarctus du myocarde sept jours auparavant. La cicatrice était bien visible, et nous avons placé les supportsensemencés sur l'infarctus, refermé l'incision, et attendu. Deux mois plus tard, nous avons ouvert pour observer le cœur, et nous avons constaté que de nombreux vaisseaux sanguins issus du tissu cardiaque sain irriguaient le greffon (voir la figure ci-dessus). Les implants s'étaient bien intégrés à la cicatrice, et les supports d'alginate avaient commencé à se dissoudre, une matrice extracellulaire naturelle prenant leur place. Les cellules cardiaques embryonnaires s'étaient développées en fibres musculaires matures, et quelques-unes étaient même organisées en structures parallèles comme dans un tissu cardiaque en développement. Les connexions mécaniques et les synapses électriques indispensables pour que les cellules cardiaques se contractent et conduisent les signaux nerveux étaient également présentes entre les fibres.