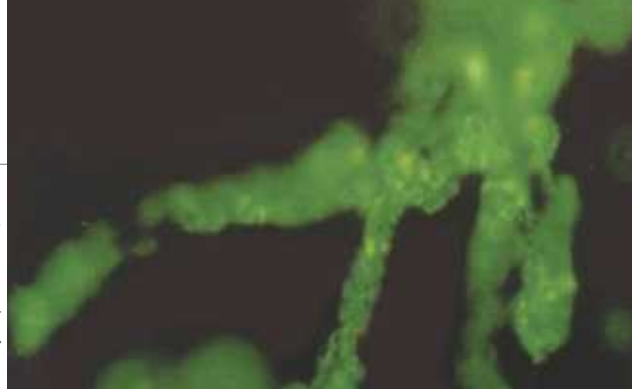
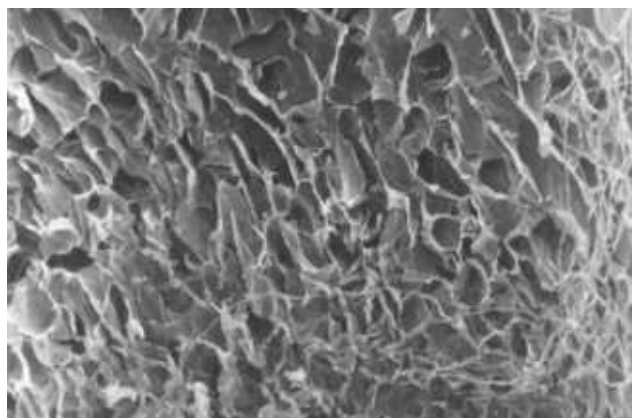




ARCHITECTURE DES PORES

Notre aptitude à contrôler l'architecture des supports avec les techniques de congélation est précieuse parce que la structure des pores a une influence notable sur la fonction du tissu en formation. Des pores allongés, par exemple, favorisent la formation de vaisseaux sanguins. Nous avons utilisé de l'azote liquide pour créer des supports contenant de longs canaux, puis nous les avonsensemencés avec des cellules endothéliales marquées par une substance fluorescente : nous avons constaté que les cellules se sont arrangées en structures qui ressemblaient à des capillaires.



Dans un congélateur à -20°C , la solution d'alginate est d'abord refroidie jusqu'à -10°C , réchauffée jusqu'à -2°C , et refroidie lentement jusqu'à -20°C . L'eau cristallise au même moment dans tout l'échantillon, de sorte que les pores sont répartis uniformément et interconnectés.

patient ne se répliquent pas, et ne peuvent servir pour la réparation des infarctus. Les cellules de donneurs éventuels qui pourraient devenir des cardiomyocytes comprennent les cellules souches embryonnaires et les cellules souches adultes issues de la moelle osseuse ou du sang du cordon ombilical. Toutes ces cellules de donneur seraient reconnues comme étrangères par le système immunitaire du patient, ce qui nécessiterait l'utilisation de médicaments immunosuppresseurs. Des cellules autologues – provenant du patient lui-même – seraient préférables pour éviter cette difficulté. Ce pourrait être des cellules souches et des cellules précurseurs dérivées de la moelle osseuse, des muscles ou de la graisse, ou bien des cellules souches embryonnaires produites à partir des cellules du patient par clonage thérapeutique. Ou encore des cellules souches cardiaques, mais on ne les a pas encore identifiées.

Nos résultats suggèrent plusieurs approches possibles pour l'application des supports d'alginate à la protection et à la régénération de cœurs humains endommagés par un infarctus du myocarde. Nous sommes persuadés, par exemple, que d'ici trois ans nous serons prêts à tester des

supports d'alginate nonensemencés chez des patients ayant eu un infarctus du myocarde. Nos récentes expériences sur des porcs ont confirmé ce que nous avons observé chez des rats : même sans cellules, un support d'alginate semble prévenir l'expansion d'un infarctus et empêcher le remodelage de la paroi du ventricule.

Cette aptitude de l'alginate à favoriser l'angiogenèse suggère que nous pourrions améliorer la survie de cellules transplantées en implantant d'abord une armature, en attendant la vascularisation, puis en ensemencant l'armature avec des cellules. Nous avons testé la méthode chez des rats, avec des résultats prometteurs. La vascularisation s'est également trouvée notablement renforcée lorsque nous avons incorporé dans l'armature des microsphères qui libéraient des facteurs de croissance de façon contrôlée. Malheureusement, la prévascularisation de l'armature réduit l'espace disponible pour les cellules transplantées, et nous cherchons comment ajuster l'angiogenèse en utilisant différents types de facteurs de croissance.

Aujourd'hui, on sait contrôler *in vitro* la forme, la composition et la fonction du tissu cardiaque. Pour les patients qui ont eu un infarctus du myocarde, il faudrait remplacer un morceau du cœur, et l'implantation d'un support poreux vide ne suffirait pas. Nous sommes par conséquent confrontés au problème de maintenir vivant un tissu transplanté jusqu'à ce que la vascularisation locale soit restaurée. Nous cherchons aujourd'hui à fabriquer un greffon prévascularisé.

Nous avons créé un lit capillaire *in vitro* en ensemencant un support en alginate avec des cellules endothéliales, qui tapissent normalement les parois des vaisseaux sanguins, puis nous avons mis cette structure en culture dans un bioréacteur. Dans l'étape suivante, nous cultivons ensemble, sur une armature, des cellules endothéliales et des cardiomyocytes, pour essayer de faire pousser des capillaires à l'intérieur même d'un fragment de myocarde. Même si nous réussissons, nous devons vérifier que ce lit capillaire devient fonctionnel après transplantation et à quel rythme. Si les connexions avec les vaisseaux locaux s'établissent rapidement, alors les chances de survie du tissu transplanté seraient excellentes.

De nombreux chercheurs tentent de créer un tissu prévascularisé en utilisant des stratégies variées. La mise en commun des résultats obtenus fera forcément progresser ce domaine en pleine effervescence qu'est l'ingénierie du tissu cardiaque. Cela prendra une décennie, voire deux, mais la fabrication d'un morceau de cœur humain vivant n'est plus aujourd'hui une utopie.

Smadar COHEN est professeur de biotechnologie à l'Université Ben-Gurion de Beer-Sheva, en Israël. **Jonathan LEOR** dirige l'Institut Neufeld de recherches cardiaques de l'Université de Tel-Aviv.

E. LAVIK et R. LANGER, *Tissue Engineering: Current State and Perspectives*, in *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 65, n° 1, pp. 1-9, juillet 2004.

J. LEOR et S. COHEN, *Myocardial Tissue Engineering: Creating a Muscle Patch for a Wounded Heart*, in *Annals of New York Academy of Sciences*, vol. 1015, pp. 312-319, mai 2004.

Le cœur, Dossier Pour la Science, n° 40, juillet/septembre 2003.

La réparation de l'os et du cartilage

Pour réparer les lésions osseuses et cartilagineuses qui ne se consolident pas spontanément, on pose des implants ensemencés avec des cellules multipliées en laboratoire. Les biologistes recherchent comment stimuler la prolifération et la différenciation des cellules souches du patient.

Hervé Petite

A la suite d'une fracture, une cascade d'événements reproduit, dans un contexte adulte, l'ostéogenèse embryonnaire, qui aboutit à la consolidation de la fracture. Le processus biologique de réparation osseuse est très efficace et le chirurgien se contente généralement de réaligner les os brisés et d'immobiliser le membre fracturé. On estime à près d'un million le nombre de fractures observées chaque année en France, et plus de 90 pour cent de ces fractures se consolident parfaitement. Seuls cinq à dix pour cent présentent des complications entraînant un retard, voire une absence de consolidation, à la suite de défaillances de nature mécanique ou biologique. L'absence de consolidation est souvent due à la formation d'un mélange de tissus fibreux et osseux ne permettant pas la restauration de l'os. Quant aux pertes de substance cartilagineuse, elles posent une difficulté thérapeutique : ces lésions du cartilage sont la plupart du temps irréversibles du fait de la faible capacité de réparation spontanée du cartilage, et risquent d'évoluer vers une arthrose.

Par ailleurs, le traitement de tumeurs, de kystes ou encore des infections résistant aux traitements nécessitent souvent de retirer des fragments osseux de taille trop importante pour que le processus naturel d'autoréparation soit efficace. Le comblement de ces défauts est alors généralement assuré par une autogreffe (on prélève un fragment d'os du patient que l'on réintroduit dans la zone à combler). Toutefois, la quantité d'autogreffe étant limitée, le chirurgien doit souvent utiliser soit une allogreffe (de l'os prélevé sur un donneur), soit des matériaux de substitution osseuse. Ces matériaux servent uniquement de support passif à la repousse osseuse.

Des recherches sont menées pour trouver comment favoriser cette repousse en implantant, en même temps que le support, des cellules souches dont on orienterait, au moyen de facteurs bien choisis, la différenciation vers la formation d'os ou de cartilage. On cherche aussi à fabriquer des matrices guidant la régénération des tissus squelettiques. Ces travaux ont donné naissance à un nouveau secteur d'activité en orthopédie, la bio-orthopédie, dont le but est la reconstruction de tissus squelettiques fonctionnels. Ce secteur en plein essor implique médecins, biologistes et ingénieurs spécialistes des sciences des matériaux. Après avoir rappelé les propriétés essentielles de l'os et du cartilage, nous examinerons les techniques de restauration disponibles aujourd'hui, et les espoirs que soulèvent les cellules souches, notamment pour la reconstruction de l'os.

Un cartilage quiescent et un os en perpétuel remaniement

L'os et le cartilage sont des tissus conjonctifs de soutien dont les cellules sont incluses dans une matrice extracellulaire (voir la figure 2). Ces tissus tirent leur qualité mécanique exceptionnelle d'un arrangement précis de leur matrice extracellulaire qui devra être restitué au mieux après transplantation afin que les tissus transplantés soient mécaniquement fonctionnels.

Le cartilage revêt une grande diversité de formes : cartilage hyalin (nez, articulations, par exemple), fibreux (ménisque, disque intervertébral, insertion du tendon d'Achille) ou encore élastique (oreille, trompe d'Eustache,

épiglotte et quelques cartilages du larynx). D'un point de vue médical, la réparation du cartilage hyalin présente un intérêt prépondérant, car les lésions du cartilage articulaire sont responsables des ostéoarthroses, notamment de la hanche (coxarthrose) ou du genou (gonarthrose). Les chondrocytes, les cellules assurant la formation du cartilage, synthétisent une matrice extracellulaire constituée d'un réseau de fibres de collagène et de protéoglycanes, des protéines qui retiennent l'eau et assurent l'hydratation du tissu. Cette matrice extracellulaire résiste à des contraintes en tension (*via* les fibres de collagène) et en compression (*via* le réseau macromoléculaire hydraté) notables. Les cellules cartilagineuses sont nourries par diffusion des éléments nutritifs à partir de la surface articulaire, puisque le cartilage est le seul tissu de l'organisme qui n'est ni vascularisé ni innervé.

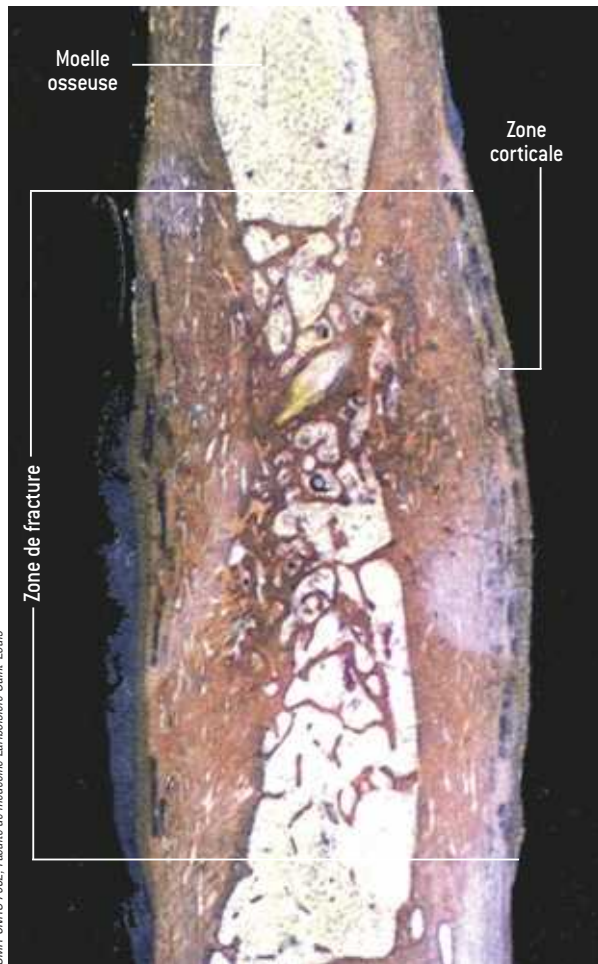
Le cartilage a un potentiel de régénération inférieur à celui de l'os, car il n'est pas vascularisé et contient peu de cellules, lesquelles migrent difficilement au sein de la matrice extracellulaire. Si des lésions de petite taille (inférieures à deux centimètres carrés) se réparent spontanément, celles de grande taille sont comblées par du fibrocartilage dont les propriétés mécaniques et la durabilité sont médiocres.

Le tissu osseux se présente sous deux architectures différentes (spongieuse ou compacte) en fonction de la localisation anatomique ; il est vascularisé et innervé. Il contient des ostéoblastes, des ostéoclastes et des ostéocytes. Les ostéoblastes, les cellules responsables de la formation du tissu osseux, sécrètent une matrice à base de collagène qui s'imprègne progressivement d'hydroxyapatite (un phosphate de calcium) conférant sa rigidité au matériau. Les ostéoclastes sont les cellules qui éliminent l'os ancien. Les ostéocytes sont des cellules osseuses matures qui emplissent les petits espaces vides de la matrice extracellulaire nommés lacunes. Ce tissu n'est pas figé : il est en perpétuel remaniement et s'adapte sans cesse aux sollicitations mécaniques. Par un processus de remodelage osseux, l'os ancien est éliminé (phase de résorption osseuse) et remplacé par de l'os nouveau (phase de formation osseuse).

Les stratégies de réparation

Une lésion osseuse se répare spontanément sauf quand elle est de grande taille. Pour accélérer la réparation du tissu osseux quand elle ne se fait pas spontanément, on dispose de plusieurs stratégies. Dans sa version la plus simple, la régénération des lésions squelettiques est guidée par des matériaux poreux recréant un environnement favorable à la repousse tissulaire. En pratique, les cellules présentes sur le pourtour de la lésion migrent au cœur du matériau, se multiplient et comblent le défaut.

Cette stratégie thérapeutique a un intérêt en clinique lorsque la lésion est de petite taille et que le tissu squelettique environnant est sain. On comble, par exemple, des pertes de substance osseuse à l'aide de céramiques poreuses à base de phosphate de calcium. Le revêtement de ces matériaux par des molécules bioactives favorise la colonisation par les cellules souches présentes dans l'environnement. Enfin, une autre solution consiste à préparer les substituts d'os ou de cartilage en laboratoire : des cellules souches sont multipliées en culture, puis mises en place sur le matériau



1. Lors d'une fracture, l'os se reconstruit d'abord de façon désorganisée, emplissant tout le canal médullaire (*en haut, os normal, en bas os en reconstruction*). Pour favoriser la consolidation de cet os de brebis, un support poreux constitué d'un bloc de corail et portant des cellules souches mésenchymateuses a été introduit dans la lésion. Lorsque la perte de substance osseuse a été consolidée, l'os s'est réarrangé, les zones corticales (périphériques) se sont homogénéisées, le canal médullaire s'est progressivement creusé et a été recolonisé par la moelle osseuse.