

Utilisation des cellules endothéliales progénitrices en génie tissulaire pour la création de greffons vasculaires biocompatibles

Philippe Rizkallah^{*1}, Mélanie Borie¹, Evguenia Zdanovich¹, Louis Mathieu Stevens¹², Samer Mansour¹³, Ba Khoi Nguyen¹, Juan Carlos Ruiz⁴, MR Wertheimer⁴, Sophie Lerouge¹⁴, Nicolas Noisieux¹²

Introduction : Le traitement des maladies cardiovasculaires nécessite l'emploi de greffons pour ponter les lésions ischémiques. Cependant, les greffons autologues sont limités, et nous avons recours à des greffons synthétiques. Ces greffons vasculaires artificiels présentent des surfaces non bio-compatibles, et sont thrombogéniques. De nouveaux revêtements déposés par procédé plasma (appelés PPE:N), riches en azote et amines primaires, ont montré d'excellentes propriétés pour l'adhésion, la croissance, et la résistance à l'apoptose cellulaire. Les cellules endothéliales progénitrices (CEP) circulantes sont des cellules sanguines pouvant se différencier en cellules endothéliales (CE) matures, avec capacité à régénérer les vaisseaux sanguins. Les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse (CSM) sont des cellules multipotentes avec grand potentiel thérapeutique.

Objectif : Évaluer la possibilité d'implanter des CEP, CE dérivées des CEP, et CSM de cochon sur des greffons afin d'évaluer la capacité d'attachement et de prolifération cellulaire selon les différents pré-traitements.

Méthodes : Les cellules mononucléaires (CMN) sont isolées du sang par gradient de densité Ficoll et cultivées 4 j avec facteurs de croissance pour stimuler la différenciation en CEP. Des CEP ont été préalablement cultivées plusieurs jours pour sélectionner des colonies de CE matures. Les CMN, CE et CSM ont été mises en culture (1 million) sur films de Polyéthylène téréphtalate (PET) contenant 2 types de revêtements polymérisés : (1) déposés par plasma atmosphérique (H-PPEN) avec mélange éthylène et azote de ratio $C_2H_4/N_2 = 20:10000$ et $50/10000 \text{ cm}^3/\text{min}$ (HPPEN 20 / HPPEN50) ; (2) déposés dans chambre sous vide à partir d'un mélange ammoniacque et éthylène (L-PPEN) ratio $NH_3/C_2H_4 = 1$ ou 0.75 (LPPEN1/ HPPEN0.75). Les contrôles négatifs sont films de PET non traités. La quantification des cellules est faite par microscopie, 10 images et expériences répétées 3 fois en triplicatats.

Résultats : Le phénotype des CE matures dérivés des CEP a été confirmé par immunohistochimie pour marqueurs endothéliaux: vWF, CD31, Angiopoïétine, VEGF, Tie-2, Flk1 et Flt4. Pour tous les types cellulaires, les revêtements ont permis la croissance d'un nombre significativement plus grand de cellules que pour les contrôles PET. Un traitement H-PPEN permet une meilleure adhérence et croissance pour les cellules CSM et EPC, alors que le traitement L-PPEN est plus favorable pour les cellules CE.

Discussion : En combinant génie tissulaire et thérapie cellulaire, il est possible de créer des conduits vasculaires aux propriétés nouvelles, se rapprochant des vaisseaux natifs avec une biocompatibilité accrue, permettant une meilleure croissance et différenciation cellulaire. Le génie tissulaire est en pleine effervescence, l'utilisation de cellules souches et progénitrices est très prometteuse dans ce domaine.

1. Centre de Recherche CHUM (CRCHUM), Université de Montréal. 2. Service de cardiologie du CHUM. 3. Service de chirurgie cardiaque du CHUM. 4. École Polytechnique Montréal.

La présente étude a été supportée par la Fondation des maladies du cœur et par le Département de chirurgie Université de Montréal.

Aucun conflit d'intérêt