

Nouvel agent de conditionnement potentialisant l'activité et la survie des cellules souches lors du stress hypoxique et oxydatif

Auteurs : M Q Vu, S Der Sarkissian, M Borie, H Aceros, L.M Stevens, S Mansour, N Noiseux

Abstract

Introduction

La thérapie cellulaire est une solution intéressante pour adresser l'insuffisance cardiaque post infarctus. Les données d'études cliniques actuelles démontrent la sécurité et la faisabilité de cette thérapie. Son efficacité est toutefois limitée par la mort extensive des cellules transplantées dans le milieu inflammatoire du myocarde ischémique. Notre groupe a préalablement démontré que le Celastrol, un composé naturel, induit la réponse au choc thermique (*heat shock response*) par l'activation du facteur de transcription HSF-1 qui, à son tour, induit l'expression de chaperones cytoprotectrices communément appelé les protéines de stress thermique (HSPs). Notre objectif est d'évaluer le conditionnement pharmacologique au Celastrol comme moyen d'améliorer la survie des cellules souches dans un environnement hypoxique et/ou oxydatif, conditions retrouvées dans le myocarde ischémique, et ce, en vue de considérer son usage en médecine régénératrice.

Méthodes et Résultats

La réponse intracellulaire des cellules souches mésenchymateuses humaines (CSMh) traitées au Celastrol a été étudiée par Western des protéines et par la quantification de l'ARNm par RT-PCR. Nous constatons une activation précoce des voies PI3K et ERK1/2, soit à l'intérieur des 15 premières minutes d'exposition au Celastrol. Par ailleurs, nous avons démontré que le Celastrol déclenche le *heat shock response*, et ce, par la surexpression des protéines cytoprotectrices HSP70 et HSP32 (HO-1). Pour vérifier l'effet de ces voies sur la protection cellulaire, nous avons soumis les CSMh traitées au Celastrol (10^{-10} M à 10^{-6} M) à un milieu hypoxique (cloche avec $O_2 < 1\%$) et dans du milieu sans serum jusqu'à 72h. Les CSMh stimulées ont également été soumises à un milieu sans serum avec des concentrations de H_2O_2 de 1 à 7mM, conditions mimant le stress oxydatif. La viabilité cellulaire a été évaluée par méthode LIVE/DEAD (*Life Technologies*) qui permet de marquer les cellules viables en vert et les noyaux des cellules mortes en rouge. On note alors une amélioration de la viabilité variant de 5 à 10% chez les cellules traitées au Celastrol et exposées au milieu oxydatif. La viabilité est également notable chez les cellules soumises à un stress hypoxique où elle peut être améliorée jusqu'à 30% dans des conditions optimisées.

L'exposition au Celastrol n'affecte pas le potentiel de différenciation des cellules souches. Ainsi, nous avons induit des CSMh en adipocytes et en ostéocytes par incubation dans des milieux de cultures spécifiques. La différenciation adipocytaire dans le groupe contrôle affiche un taux entre 38,4 % et ostéocytaire un taux entre 42,9%. Nous constatons que les cellules traitées, comparativement au véhicule, ont un taux de différenciation adipocytaire et ostéogénique similaire ($p < 0.05$). De plus, l'intégrité des marqueurs de surface cellulaire, évalués par cytométrie de flux, est préservée et ce, même après une exposition prolongée de 48h au Celastrol ainsi qu'après plusieurs passages cellulaires.

Conclusion

Le Celastrol active plusieurs voies de cytoprotection, dont les cascades impliquant les kinases ERK1/2 et Akt ainsi que l'activation du *heat shock response*. On démontre parallèlement à l'activation de ces voies, une meilleure survie des CSMh en milieu de stress, et ce, surtout dans un milieu oxydatif. De manière importante, nous n'avons pas constaté une atteinte du phénotype cellulaire ainsi que du potentiel intrinsèque des cellules à se différencier, et ce, malgré une exposition prolongée au Celastrol. Ces résultats probants démontrent le potentiel du Celastrol en tant qu'agent de conditionnement pharmacologique et appuient son usage dans l'optimisation de la thérapie cellulaire. Le Celastrol ouvrirait les portes sur une nouvelle génération de thérapies cellulaires améliorées applicables en clinique.

Supporté par ThéCell-FRSQ