

# Sommaire

Préface.....	V
Introduction .....	1
<b>Partie I. Ischémie tissulaire et régénération vasculaire : mécanismes moléculaires et cellulaires</b>	
Hypoxie et revascularisation post-ischémique .....	9
Inflammation et revascularisation post-ischémique .....	17
Cellules souches/progénitrices vasculaires et revascularisation post-ischémique .....	31
Forces hémodynamiques et revascularisation post-ischémique .....	47
Hormones et revascularisation post-ischémique .....	51
<b>Partie II. Ischémie tissulaire et régénération vasculaire : résultats cliniques et perspectives thérapeutiques</b>	
Traitement par thérapie génique .....	59
Traitement par thérapie cellulaire : cellules souches et progénitrices comme outils thérapeutiques .....	63
Cellules souches et progénitrices comme outils diagnostiques et pronostiques.....	83
Références .....	89

# Préface

De tout temps, l'homme a rêvé de ralentir l'usure du temps sur son corps et son esprit. Et tel Faust, chaque génération s'est bercée d'utopie et de fantômes pour rajeunir et séduire. Mais ce qui n'était qu'illusion prend corps aujourd'hui. La médecine régénérative est née et bien née grâce aux progrès inouïs en biologie du développement. Les cellules souches embryonnaires ou de l'adulte permettent chez l'animal de programmer à volonté la production de tissus biologiques, de revitaliser les organes défaillants en quelque sorte. Tel est le cas de l'angiogenèse, un domaine en plein développement. En un peu plus de deux décennies seulement, les acteurs majeurs responsables de la genèse des vaisseaux, de leur croissance, de leur cheminement dans les tissus et de leur différenciation en artères, veines ou lymphatiques ont été identifiés. On connaît le rôle déterminant que jouent la pression partielle d'oxygène dans la formation des vaisseaux et celui des forces hémodynamiques ; les cellules souches et les cellules progénitrices à l'origine des différents constituants cellulaires de la paroi vasculaire au cours de l'embryogenèse ont été identifiées. Ces mêmes cellules peuvent être recrutées à partir de la moelle osseuse, de la paroi vasculaire ou de différents organes en cas de besoin lors de l'angiogenèse réparatrice chez l'adulte. Les retombées pratiques des découvertes sur l'angiogenèse sont considérables puisqu'elles concernent d'une part la pathologie tumorale, avec comme cible le traitement anti-angiogénique, et, d'autre part, la pathologie ischémique avec, comme ambition, la restauration d'un lit vasculaire fonctionnel dans le territoire atteint grâce à une thérapie protéique, génique ou cellulaire.

Le rôle de l'angiogenèse dans la croissance tumorale a été établi par des stratégies visant à inhiber le développement des vaisseaux tumoraux. Le prototype des facteurs de croissance vasculaire, le VEGF (*vascular endothelial growth factor*), a été identifié en 1988, et sa caractérisation suivie de peu par la production d'anticorps thérapeutiques bloquant son action. Les anticorps anti-VEGF se sont révélés efficaces pour diminuer la croissance des vaisseaux tumoraux, réduire la croissance de certaines tumeurs et améliorer la vascularisation rétinienne et la vision dans la dégénérescence maculaire liée à l'âge. Il y a peu d'exemple d'une découverte en biologie fondamentale qui ait conduit aussi rapidement à une application en thérapeutique.

L'autre application potentielle des connaissances nouvelles sur l'angiogenèse concerne la restauration d'un lit vasculaire en cas d'ischémie tissulaire, qu'il s'agisse d'ischémie coronarienne ou d'artérite oblitérante des membres inférieurs. Au cours de la vie adulte, le réseau vasculaire est stable et les processus d'angiogenèse sont généralement éteints. L'endothélium qui borde

la lumière des vaisseaux sanguins est quiescent. Lors de circonstances pathologiques telles que l'ischémie tissulaire, une angiogenèse active se met en jeu. Cette néo-angiogenèse fait-elle intervenir les mêmes mécanismes moléculaires que ceux impliqués lors de l'angiogenèse embryonnaire ? Probablement oui, mais la situation semble plus complexe parce que l'inflammation qui accompagne l'ischémie tissulaire met en jeu de nombreuses molécules et différents types cellulaires. La vasculogénèse, la toute première étape de la constitution du plexus capillaire, que l'on pensait être strictement restreinte au développement embryonnaire, s'observe aussi chez l'adulte dans des circonstances pathologiques.

Comment stimuler et créer des vaisseaux de bonne qualité dans un territoire en souffrance ? Plusieurs tactiques existent : ouvrir et développer une circulation collatérale préexistante mais dormante, créer *de novo* un réseau vasculaire par l'administration de VEGF ou d'autres facteurs de croissance vasculaire, mobiliser et stimuler des cellules souches capables de se différencier en cellules de la paroi vasculaire et de participer à la formation de néo-vaisseaux. Ces stratégies sont fondées sur notre compréhension des événements moléculaires et cellulaires qui surviennent à la suite de l'obstruction d'un vaisseau et des moyens que l'organisme mobilise pour tenter de rétablir un lit vasculaire fonctionnel capable d'apporter oxygène et nutriments au territoire défaillant. En un mot, est-il possible d'imiter la nature, de faire aussi bien qu'elle, sinon mieux, pour rétablir un réseau vasculaire de qualité dans le territoire ischémique ?

Aborder la revascularisation des tissus ischémiques par thérapie protéique, génique ou cellulaire nécessite au préalable une mise à jour des connaissances sur les mécanismes fondamentaux de la formation des vaisseaux dans des circonstances physiologiques et pathologiques. David Smadja, Bernard Lévy et Jean Sébastien Silvestre font pour nous l'état de l'art de nos connaissances sur ce sujet. Tâche ardue car les données sur ce sujet croissent de jour en jour, et une vue intégrée, « compréhensive », comme le diraient les Anglo-Saxons, de l'angiogenèse normale et pathologique est difficile. Le nombre de molécules impliquées est considérable : facteurs de croissance (dont le VEGF, le FGF...) et leurs récepteurs ; molécules de guidage des vaisseaux ; agents de différenciation, de maturation et de remodelage de la paroi vasculaire ; protéines et peptides médiateurs de l'inflammation qui jouent un rôle important dans la pathologie ischémique (interleukines, chimiokines, etc.) ; protéines de la coagulation ; peptides vaso-actifs, et bien d'autres encore...

Les données sur les cellules souches de la paroi vasculaire et les cellules progénitrices des cellules endothéliales ont fait aussi un bond en avant. L'existence de ces dernières et leur présence dans le sang périphérique chez l'adulte ont été rapportées pour la première fois il y a 15 ans seulement. Depuis, nos connaissances sur les cellules souches et les progéniteurs des différents types des cellules vasculaires et myocardiques, au cours du développement et chez l'adulte, ont grandement progressé. Différentes sous-populations cellulaires sont mises en jeu lors de la réparation du réseau vasculaire au cours de l'ischémie tissulaire (cellules dérivées de la moelle osseuse, de la paroi vasculaire, tissu adipeux, etc.). Ces cellules sont capables de participer par elles-mêmes à la néo-angiogenèse en s'incorporant dans la paroi vasculaire mais aussi en produisant de façon paracrine des facteurs de croissance qui stimulent localement la formation du vaisseau dans la zone ischémique. C'est tout le mérite de cet ouvrage de faire le point, de façon détaillée et superbement illustrée, sur les mécanismes moléculaires et cellulaires qui interviennent dans l'ischémie tissulaire et la régénération vasculaire.

Muni de ces connaissances, il est possible de comprendre et de suivre les différentes voies qui ont été explorées ou qui sont aujourd'hui proposées pour accroître l'angiogenèse en pathologie humaine, le but final étant d'augmenter l'apport d'oxygène et de nutriments dans un territoire ischémique pour préserver au maximum la fonctionnalité du tissu. Tout de suite, de nombreuses questions se posent : Quels vaisseaux faut-il cibler (capillaires périnfarctus ou artérioles) afin de développer une circulation collatérale ? Quels facteurs de croissance (VEGF, FGF, etc.) ? Quelle chémokine ou cytokine ? Que choisir entre thérapie protéique ou thérapie génique ? Ne vaut-il pas mieux s'intéresser à la thérapie cellulaire en utilisant les cellules souches mésenchymateuses, ou en mobilisant les cellules endothéliales progénitrices d'origine médullaire, ou encore procéder à une implantation de progéniteurs de cellules endothéliales du patient après culture et expansion *in vitro* de ses propres cellules ? Peut-être ne faut-il pas s'adresser à une molécule ou à un type cellulaire unique mais envisager une combinaison de molécules et/ou de cellules pour générer des néo-vaisseaux ? D'autres possibilités existent encore et sont indiquées dans cet ouvrage.

La liste des stratégies possibles n'est pas close car se pose aussi la question de la voie d'apport des facteurs d'angiogenèse à utiliser. Dans le cas de l'ischémie cardiaque, cet apport peut se faire par voie vasculaire, intramyocardique, épicaudique lors d'une chirurgie à thorax ouvert ou endocardique. En cas d'ischémie tissulaire des membres inférieurs, le même type de question se pose : administration systémique ou locale dans le territoire atteint.

David Smadja et ses collègues analysent de façon détaillée et critique les principaux essais cliniques de thérapie génique ou cellulaire chez les patients atteints d'artérite oblitérante des membres inférieurs, ainsi que les essais de thérapie cellulaire chez les patients ayant une pathologie ischémique cardiaque. L'analyse des résultats disponibles à ce jour révèle les progrès à accomplir pour passer du stade du concept de thérapie génique ou cellulaire – concept maintenant amplement validé chez l'animal – à la démonstration sans ambiguïté du bénéfice en clinique humaine. À ce jour, il est difficile de trancher : les études, pour la plupart, sont des études de faisabilité, d'acceptabilité et de sécurité ; elles n'ont été souvent ni contrôlées ni randomisées ; elles sont de courte durée, ont porté sur de petits effectifs et utilisé des critères intermédiaires d'efficacité et non pas de morbi-mortalité cardiovasculaire. Une autre source de difficultés est la multiplication des stratégies utilisées (utilisation des différents types de cellules, de gènes ou de protéines, multiplicité des voies d'abord et grande hétérogénéité clinique des patients étudiés) qui rend difficile la comparaison des résultats des études entre elles. Une définition précise des produits utilisés et, si possible, leur standardisation faciliteraient une analyse intégrée des résultats.

La thérapie cellulaire supplantera-t-elle un jour notre arsenal chirurgical de prothèses vasculaires, de stents, la greffe de vaisseaux ou la greffe cardiaque ? On peut – et on doit – l'espérer tant nos connaissances sur les mécanismes cellulaires et moléculaires du développement vasculaire se sont accrues en peu de temps, de façon spectaculaire. La recherche dans ce domaine est essentiellement le fait des chercheurs académiques car les grandes industries pharmaceutiques ne se sont pas engagées dans cette voie. Elles laissent, pour la plupart, cette recherche à risque au secteur public, consciente de la difficulté de l'entreprise et du risque, théorique jusqu'à présent, d'échappement d'une cellule souche en cellule cancéreuse ou de la stimulation d'un réseau vasculaire tumoral dormant jusque-là. Il faudra du temps pour démontrer une efficacité thérapeutique chez l'homme, plus de temps que celui rêvé par les chercheurs, espéré par les patients et spéculé par les financiers. Un nouveau chapitre particulièrement

fascinant de la thérapeutique s'ouvre, articulé étroitement sur les toutes dernières découvertes en biologie vasculaire. Il faut lui donner toutes ses chances. Il en va de l'amélioration de l'espérance de vie et de la qualité de vie de nombreux patients souffrant de pathologie cardiaque ischémique et d'ischémie critique des membres inférieurs.

**Pierre Corvol**

Collège de France, Paris