



Xénogreffes/organes artificiels : quelles alternatives ?

Jean-Paul Soullou
Thomas Petzold

J.-P. Soullou: ITERT-Inserm U. 437, CHU Hôtel-Dieu, 30, boulevard Jean-Monnet, 44093 Nantes Cedex 1, France. T. Petzold : Kardiovaskuläre Chirurgie, Heinrich Universität Düsseldorf, Moorenstraße 5, 40225 Düsseldorf, Allemagne.

► Puiser chez l'animal des organes qui permettraient à l'homme de survivre à des défaillances d'organes vitaux est un vieux rêve que les progrès de la biotechnologie ont rallumé. Parallèlement, les progrès de la bio-compatibilité et de l'électronique ont produit des robots implantables de plus en plus performants. A cette date, les organes artificiels posent moins de problèmes éthiques et leur progrès procède d'un processus continu. Le succès éventuel des xénogreffes nécessite encore des sauts cognitifs et technologiques importants. Cette brève revue cherche à faire le point sur ces deux stratégies. ◀

Il est bien difficile de prévoir quelles stratégies de l'allo- ou de la xénotransplantation ou, au contraire, de l'utilisation des organes artificiels, connaîtront le plus grand développement dans les décennies à venir dans l'assistance aux malades atteints de défaillance terminale d'un organe indispensable à la vie. Introduite en clinique il y a un demi-siècle, les résultats de l'allo-transplantation sont en constante progression [1]. D'autres progrès sont aussi acquis dans la prévention et la prise en charge médicale de ces défaillances, modifiant continuellement les données qualitatives et quantitatives du problème. La demande de soins dans le domaine des thérapeutiques substitutives ne cessera cependant d'augmenter compte tenu du vieillissement des populations et du meilleur accès aux soins.

Dans cette brève revue, nous abordons les xénogreffes et les organes artificiels, deux grandes stratégies qui pourraient côtoyer ou prendre dans une certaine mesure le relais de l'allogreffe, et tenterons de dégager certaines prédictions. Remarquons cependant l'hétérogénéité même des sujets abordés, l'utilisation d'organes

artificiels, bien que limitée, est courante alors que la pratique des xénogreffes reste confinée au laboratoire. Les cérémonies de fin de siècle ont, çà et là, édifié des greniers où notre génération a glissé des messages, nous y glissons le nôtre. Nos descendants, dans cent ans, les découvriront certainement amusés et surpris.

La xénotransplantation

Un regard sur les médecins qui au fil des siècles ont abordé la possibilité de réaliser des xénogreffes effraie par la naïveté de l'alchimie du biologique (changer l'animal en homme, « humaniser »), et l'impudence des projets. On constate dans le même temps une recherche spectaculairement active dans ce domaine au début du XX^e siècle [2] bien que s'inscrivant dans un objectif plus Faustien que médical [3] et dégageant un fort parfum expressionniste (Méliés, l'île du Docteur Moreau...). Un nouvel engouement pour la xénotransplantation est né récemment des limitations portées au succès de l'allotransplantation, principalement par le décalage croissant entre l'offre et la demande de greffons humains. Reconsidérer ces problèmes de la

TIRÉS À PART

J.P. Soullou.

xéno greffe même avec les connaissances d'aujourd'hui reste un défi formidable [4, 5]. La première difficulté vient des divergences biologiques du donneur et du receveur, accumulées depuis des dizaines de millions d'années. L'idée « simple » de reconfronter ces systèmes dans une xéno greffe illustre le défi. Considérant comme certainement inévitable que le donneur ne soit pas un primate, mais un porc, il est difficile d'interpréter la réalité des progrès acquis depuis des décennies. Le contrôle du rejet hyperaigu peut, en effet, être considéré comme encourageant ou désespérant car il n'a abouti qu'à gagner quelques semaines de survie du greffon. Ce rejet est dû à la présence d'anticorps « naturels » de type IgM fixant le complément et dirigés principalement contre des résidus galactose [6] (figure 1). Tous les humains développent ces anticorps, leur propre gène de l' α 1-3 glycosyltransférase étant inopérant. Ce rejet hyperaigu est amplifié par l'absence de régulation de l'activation du complément due aussi à des divergences évolutives. L'absorption/neutralisation des anticorps ou la reconstitution dans l'organe greffé de mécanismes régulateurs du complément, abolissent le rejet suraigu. L'adjonction de fortes doses de drogues agissant sur la réponse lymphocytaire T et B (régime actuellement incompatible avec une prescription clinique) ne permet de gagner que quelques semaines supplémentaires, le greffon étant ultimement rejeté avec des lésions vasculaires secondaires à l'apparition d'IgM et IgG induites de haute affinité, dirigées contre les épitopes galactose mais aussi contre une variété d'autres déterminants (il existe par exemple 30% de variations dans les séquences des molécules extramembranaires entre l'homme et la souris [7]).

Aucun traitement n'a, à ce jour, permis de franchir ce second obstacle du rejet vasculaire retardé. L'expérience et la pratique des allogreffes chez les sujets hyper-immunisés indiquent que la prévention ou le traitement des lésions vasculaires induites par des anticorps restent non résolus, incitant à n'utiliser qu'avec prudence le phénomène d'« accommodation » de la cellule endothéliale, la « protégeant » de l'activation délétère par la trans-

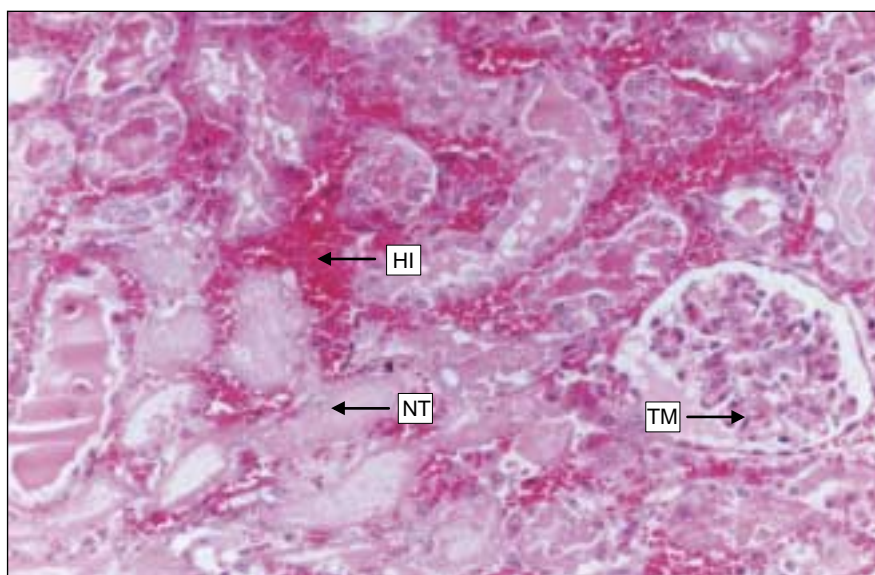


Figure 1. **Lésions histologiques d'un rejet vasculaire aigu lors d'une xéno greffe de rein de porc chez le babouin.** Au 8^e jour post-opératoire, on observe des nécroses tubulaires aiguës (NT), des hémorragies interstitielles infuses (HI) et des thrombus microvasculaires (TM), (avec l'autorisation du Pr Gilles Blanco, N437, Nantes).

cription de molécules anti-apoptotiques (A20 ou HO1). La difficulté s'annonce donc considérable. L'espoir principal est actuellement représenté par obtention d'une invalidation (géo ou phénotypique) du gène de l' α 1-3 galactosyltransférase (α GT) contrôlant l'expression des résidus galactose xéno-antigéniques. L'étude des anticorps induits après transplantation d'îlots porcins chez l'homme, laisse en effet entrevoir la possibilité d'une surprenante restriction de la réponse des Ig induites aux déterminants galactose. Des expériences réalisées chez des souris invalidées pour α GT ne sont cependant pas en faveur d'un effet drastique de l'invalidation du seul gène de la galactosyl transférase. En outre, l'absence complète d'immunisation anti-Gal risque de modifier l'infectivité des rétrovirus du porc (PERV), les particules virales étant entourées de membranes plasmiques exprimant des résidus α 1-3 galactose.

Les recherches actuelles, principalement orientées vers le contrôle de la réponse humorale, ont par ailleurs occulté l'importance de la réponse T et le rôle qu'elle joue dans l'exacerbation de la production d'anticorps. Dans une combinaison pourtant concordante, nous avons démontré une réponse T plus violente que dans un système allogénique, vraisemblablement

due à la diversité des déterminants peptidiques [8]. Des résultats récents indiquent que des lymphocytes T CD4 purifiés peuvent (en l'absence d'anticorps) entraîner un rejet cellulaire aigu après transfert à des receveurs naïfs.

Bien que les informations aussi précises manquent, en particulier *in vivo*, sur les divers autres problèmes potentiels (souvent liés à des défauts de régulation de systèmes complexes comme pour l'activation du complément, la coagulation ou la régulation de l'hématopoïèse), les obstacles immunitaires, qui à l'évidence ne résument pas tous les problèmes de la xénotransplantation, apparaissent néanmoins prédominants. Force est donc de constater que toute progression ne pourra procéder que par étapes-clés ouvrant de nouveaux champs expérimentaux. Ainsi l'obtention de porc transgénique pour les molécules de régulation du complément humain a permis l'étude du rejet vasculaire retardé. L'autre étape attendue (et déterminante dans notre capacité d'évaluer les chances réelles de la xénotransplantation), est l'obtention de porc KO pour l' α 1-3 glycosyltransférase. Le chercheur engagé dans cette voie ne contrôle cependant pas la totalité des questions liées à cette recherche. La réalisation même de la xéno greffe ali-

mente un débat éthique en particulier sur le risque de transmission incontrôlée de pathogène spécifique à l'espèce porcine [9]. Ces débats ont eu le mérite de stimuler l'établissement de procédures internationales d'accès aux xénogreffes. Parmi les risques potentiels, existe la possibilité de transmettre des rétrovirus qui peuvent affecter des cellules humaines *in vitro*. Actuellement, aucune preuve de la transmission de maladie n'a été rapportée après xénogreffe chez l'homme [10] ou le primate. Les résultats, qui n'éliminent pas les risques individuels de la xénotransplantation, rendent cependant très peu probables les risques de zoonose. Une commission de la FDA (*food and drug administration*) a estimé que des projets cliniques pourraient être entrepris si la fonction de l'organe xénogénique, de plus de 6 mois pour le cœur (y compris pour des indications d'assistance temporaire), et de plus d'un an pour le rein, était acquise. De tels délais permettraient aussi d'estimer si les organes de porc sont capables d'assurer des fonctions homéostatiques acceptables, les premiers résultats obtenus chez quelques primates n'étant que modérément encourageants (protéinurie non négligeable, polyurie, tendance acido-tique, nécessité d'EPO exogène).

Au terme de cette énumération des difficultés auxquelles sont confrontés une poignée de laboratoires dans le monde, quels experts accepteraient de recommander de renforcer les moyens (dérisoires) de la recherche dans ce domaine? Faut-il arrêter les recherches sur les xénogreffes? Le succès des allogreffes est un exemple édifiant où la ténacité des chirurgiens et des médecins (et des malades) a forcé le sort et patiemment démontré que ce qui semblait impossible à beaucoup de biologistes, était devenu une routine clinique dont les résultats ne cessent de progresser. C'est la tâche difficile des chercheurs, médecins et chirurgiens que de progresser aussi dans la recherche encore balbutiante sur les xénogreffes. La transplantation de neurones (cellules souches ou différenciées) peut offrir des relais encourageants. La disponibilité de lignées de porcs transgéniques ayant subi une invalidation de l' α 1-3 glycosyltransférase et une transgénèse pour des molécules de

régulation du complément, sera la base de nouveaux progrès. Comme ce fut le cas dans l'allotransplantation, les premières survies prolongées de xénogreffe sur le primate seront un facteur puissant d'un nouvel effort de recherche dans ce domaine. Une levée de l'obstacle immunologique serait vraisemblablement rapidement suivie de diverses avancées susceptibles d'ouvrir la clinique à la xénogreffe, y compris en ce qui concerne les risques potentiels de zoonose.

■ Organes artificiels

A la frontière entre la xénotransplantation et les organes artificiels proprement dits, et principalement d'indication restreinte au remplacement temporaire de la défaillance d'un organe vital, se trouvent différents systèmes extra-corporels utilisant la perfusion d'un organe entier ou de cellules. Ces techniques posent les mêmes problèmes de sécurité que la xénotransplantation. Les perfusions *ex vivo* de foies porcins ont été les plus étudiées expérimentalement et même appliquées en clinique [11, 12]. L'avenir de ces méthodes sera très vraisemblablement lié à celui de la xénotransplantation dans la mesure où les conditions sanitaires adéquates obtenues en cas de vulgarisation de la xénotransplantation permettraient l'utilisation des mêmes organes. Actuellement, les études cliniques n'ont pas démontré de prolongation de survie chez les malades traités par ces techniques.

Les progrès acquis dans la technique de préparation de fibres creuses et la culture cellulaire de masse d'hépatocytes ont permis de produire des bioréacteurs dans lesquels le sang du malade traverse une enceinte contenant des hépatocytes porcins ou des cellules humaines [13]. Il est vraisemblable que cette méthode permette de diminuer les risques infectieux mais le niveau d'étanchéité du système n'est pas totalement garanti. Expérimentalement, dans des modèles de traitement de défaillances aiguës hépatiques, une amélioration des taux d'ammoniaque et de lactate, une meilleure stabilité hémodynamique, un contrôle de l'encéphalopathie et une prolongation de la survie ont été obtenus. Il s'agit d'une recherche en progrès dont les efforts se concentrent

sur l'amélioration des circuits, des conditions de perfusion et sur la source, la disponibilité dans le temps et la quantité des hépatocytes [12]. Ces systèmes évoluent aussi vers le *tissue engineering* [13] où des hépatocytes (ou autres cellules) sont associés à un réseau de polymères biodégradables implantés définitivement. Les cellules hépatiques survivent et se réorganisent vers des structures fonctionnelles, assurant quelques fonctions métaboliques dans des sites bien perfusés. Ces techniques se heurtent cependant à des difficultés majeures d'obtention de cultures de masse d'hépatocytes, au problème du site d'implantation, au contrôle de l'angiogenèse. Enfin, il faut élaborer des techniques de préservation satisfaisantes pour le stockage.

Le cœur artificiel est l'enjeu actuel exclusif du concept d'organes artificiels proprement dit, si l'on exclut le rein. Le principe est de prélever du sang dans les atrioms ou les ventricules et de le diriger vers une chambre de pompage où il sera accéléré et redirigé vers l'aorte et/ou l'artère pulmonaire. D'une manière générale, quel que soit l'état d'avancement actuel de ces techniques, les progrès spectaculaires dans le domaine de la biocompatibilité, de la miniaturisation des systèmes de régulation, et de l'électronique laissent espérer des résultats en amélioration constante. Il s'agit donc d'un défi dont la nature contraste avec celui posé par la xénotransplantation pour laquelle de nouvelles découvertes fondamentales sont nécessaires pour progresser. Contrairement à la xénotransplantation, les cœurs artificiels ont pénétré la clinique, la plupart des hôpitaux possédant un programme d'assistance mécanique, suivant des plans décisionnels pour leur pratique clinique permettant de clarifier les indications du cœur artificiel. La *figure 2* montre que les enjeux du cœur artificiel et ses indications en clinique se situeraient aux mêmes places décisionnelles que pour la xénotransplantation.

Deux grands types de système sont développés [14]. Des systèmes extra-corporels sont principalement destinés à des applications de courte durée, jours ou semaines (auxquelles correspondrait la xénotransplantation dans l'indication *bridge*). La pompe

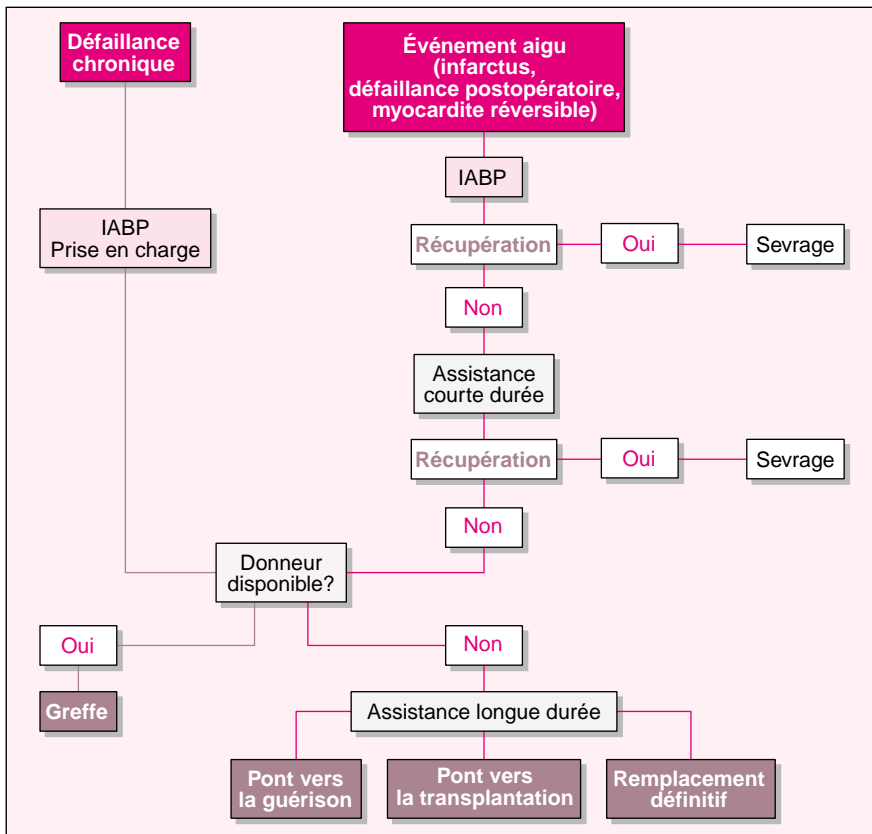
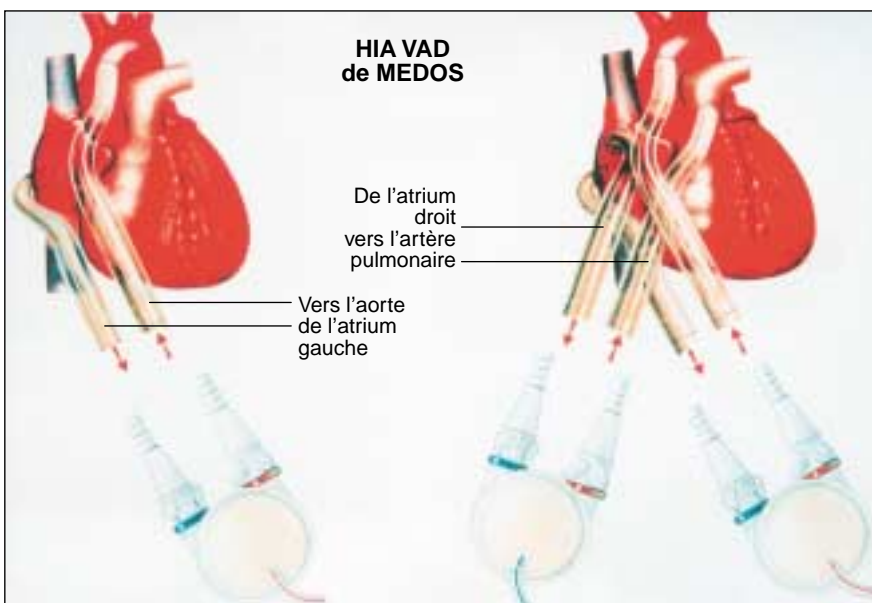


Figure 2. **Plan décisionnel pour défaillance cardiaque nécessitant une assistance mécanique ou une hypothétique xéno greffe.** On distingue des patients avec une défaillance aiguë probablement réversible, et des malades avec une défaillance chronique vraisemblablement irréversible. Chez ces derniers, une solution définitive est directement recherchée alors que chez les premiers, on essaie d'obtenir une récupération par des moyens moins invasifs en laissant la possibilité de quitter le plan décisionnel. IABP: ballon à contre-pulsion intra-aortique.



artificielle est placée sur l'abdomen du malade et utilise différents systèmes d'accélération du sang. Les canules efférentes et afférentes traversent les parois du malade. Bien que les résultats actuels dépendent principalement des pathologies dans lesquelles ces systèmes sont appliqués, ils sont reconnus utiles [15], malgré les complications (hémorragies/infections/problèmes neurologiques).

Des progrès concernant la miniaturisation et la biocompatibilité des matériaux (problème d'hémostase) ont permis l'obtention de cœurs artificiels électriques implantables (LVAD, *left ventricular assist device*) contrôlés par une unité de réglage permettant au malade de sortir de l'hôpital [14, 16] (figure 3). Seul un fil de conduction électrique et un circuit de décompression sont liés à l'unité de contrôle. Des études multicentriques internationales montrent des taux de survie de plus en plus importants, certaines rapportant 75% de malades quittant l'hôpital, et des assistances qui ont duré plusieurs années. La possibilité d'implantations définitives est donc envisagée, utilisant éventuellement des nouveaux systèmes de propulsion non pulsatiles du sang [17]. Ces systèmes pourraient subir une dérive vers des essais de cœurs artificiels complets où, contrairement au système d'assistance, le cœur du malade est remplacé par le cœur artificiel. Une expérience internationale porte sur 120 malades opérés depuis 1993, dont environ les deux tiers ont pu être greffés. Très récemment, de nouveaux concepts sont apparus qui font appel à des principes complètement différents, sans contact direct entre le sang et les surfaces artificielles (*multichamber pump system*), pour des assistances de courte durée. Les problèmes d'alimentation de l'organe artificiel, permettant les 30 millions de systoles par an, sont énormes mais les progrès sont rapides. Pour la première fois, des

Figure 3. **Chambre de pompage artificielle sur l'abdomen d'un patient.** Il s'agit d'un ventricule gauche, LVAD (left ventricular assist device), du système MEDOS. On voit la canule afférente et efférente, la chambre de pompage, le tuyau à décompression (avec la permission de Fa Medos, Aachen, Aix-la-Chapelle, Allemagne).

systèmes entièrement implantables ont été utilisés, la pile placée dans la paroi de l'abdomen suffisant à alimenter la pompe artificielle pendant 30 minutes et étant continuellement rechargée par induction magnétique avec un système qui peut être porté à la ceinture.

Conclusions et perspectives

La grande technicité qui marque notre époque laisse imaginer des progrès très substantiels dans le domaine du cœur artificiel. Le débat sur l'avenir de ces méthodes est donc complexe, mais force est de reconnaître que l'avantage est actuellement aux organes artificiels. Cet avantage peut perdurer ou se renforcer dans la mesure où jouent en sa faveur des aspects sociaux, culturels et éthiques. Cette prédiction du triomphe de la technologie ne rejoint pas l'estimation qui ferait du siècle à venir celui de la biologie. Cependant, si des techniques scientifiques comme le clonage et la capacité de transgénèse ou d'invalidation génétique sur le noyau transféré sont développés, on peut imaginer que la plasticité du vivant offrira les meilleures conditions pour les malades. Cependant, les médecins et chercheurs engagés dans ce type de recherche ne sont pas simplement comptables des chances respectives des différents systèmes, ils sont aussi des acteurs engagés. C'est aussi de leur énergie et de leurs découvertes que se nourrira ce futur ■

MS2000

Summary

Xenograft/artificial organs: which alternatives ?

To harvest animal organs that would allow human beings to survive the definitive alteration of a vital organ is an old dream that the progress in biotechnology has recently reactualised. In the same time, the progresses in bio-compatibility and electronic have generated sophisticated artificial devices that can be definitively placed in the body to

replace a heart for instance. To date, the use of artificial organs carries no ethical problems and their quality are progressing continuously. In contrast, the eventual success of a xenograft still requires important cognitive and technological challenges. This brief review discusses the possible future of these two strategies.

RÉFÉRENCES

1. Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA, Taranto SE, Mcintosh M, Stablein D. Improve graft survival after renal transplantation in the US, 1988 to 96. *N Engl J Med* 2000; 342: 605-12.
2. Real J. *L'Homme et la bête*. Paris: Stock, 1999.
3. Voronoff S. *Étude sur le vieillissement et le rajeunissement par le greffe*. SenS Éditions, 1999.
4. Soullillou JP. Xénotransplantation, une chimère nous rattrape. *Med Sci* 1997; 13: 295-8.
5. Pourcel C, Charreau B, Le Mauff B, Bouhours JF, Aregon I, Soullillou JP. La xéno-greffe chez l'homme: acquis et perspectives. *Med Sci* 1997; 13: 301-11.
6. Cooper DCK, Koren E, Oriol R. Oligosaccharides and discordant xenotransplantation. *Immunol Rev* 1994; 141: 31-58.
7. Murphy PM. Molecular mimicry and the generation of host defense protein diversity. *Cell* 1993; 72: 823-6.
8. Brouard S, Vanhove B, Gagne K, et al. T cell repertoire alterations of vascularized xenografts. *J Immunol* 1999; 162: 3367-77.
9. Van der Laan LJW, Lockey C, Griffeth B, et al. Infection by porcine endogenous retrovirus after islet xenotransplantation in SCID mice. *Nature* 2000; 407: 90-4.
10. Paradis K, Langford G, Long Z, et al. Search for cross-species transmission of porcine endogenous retrovirus in patients with living pig tissue. *Science* 1999; 285: 1236-41.
11. Dowling D, Mutimer D. Artificial liver support in acute liver failure. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 991-6.
12. McLaughlin B, Tosone C, Custer L, Mullon C. Overview of extracorporeal liver support systems and clinical results. *Ann NY Acad Sci* 1999; 875: 310-25.
13. Sundback C, Vacanti J. Alternatives to liver transplantation: from hepatocyte transplantation to tissue-engineered organs. *Gastroenterology* 2000; 118: 438-42.
14. Goldstein D, Oz M, Rose R. Implantable left ventricular assist devices. *N Eng J Med* 1998; 339: 1522-33.
15. Körfer R, El-Banayasy A, Arusoglu M, et al. Single-Center experience with the Thoratec ventricular assist device. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 119: 596-600.
16. Frazier O, Myers T. Left ventricular assist system as a bridge to myocardial recovery. *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 734-41.
17. Wieselthaler G, Schima H, Hiesmayr M, et al. First clinical experience with the DeBakey VAD continuous-axial-flow pump for bridge to Transplantation. *Circulation* 2000; 101: 356-9.

ASSOCIATION POUR L'ÉTUDE DE LA PATHOLOGIE PÉDIATRIQUE PRIX 1999

Le Prix de Pathologie Pédiatrique 1999 a été attribué à

Monsieur Vincent des Portes

du service de Neuropédiatrie de l'Hôpital Saint-Vincent-de-Paul (Paris)
pour son travail intitulé :

« Localisation des gènes impliqués dans les retards mentaux liés au chromosome X et identification du gène double-cortine dans les hétérotopies sous-corticales et les lissencéphalies. »