

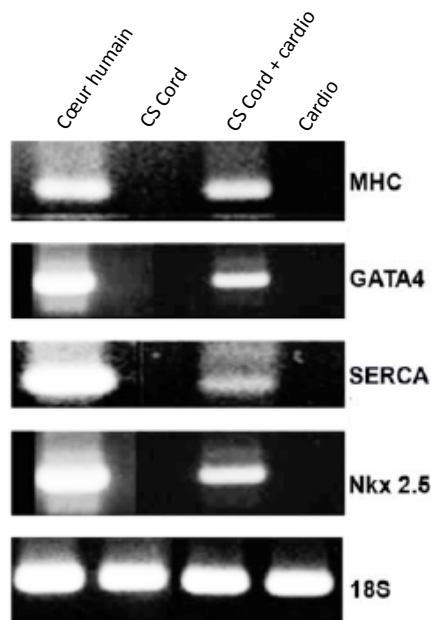


**Enseignement Dirigé N°5**  
**Biologie Cellulaire**  
**PCEM 1**

---

**G. Toumaniantz**

Dans la présente étude, les auteurs ont étudié le potentiel cardiomyogéniques des cellules souches et dérivés obtenues sur la base de cordon ombilical humain ((hUCB)-derived stem cells). Le pouvoir réparateur de ces cellules a été évalué lors d'un essai de traitement d'une hypertrophie pathologique induite la doxorubicine (DOX) dans des cultures de cardiomyocytes de rats néonataux (CNRM) et dans des cœurs de souris.



**Légende : Etude de la différenciation des cellules souches humaines issues de cordon en cardiomyocytes en culture.**

Les cellules souches issues de cordon (CS cord) ont été cultivées seules ou en coculture avec des cardiomyocytes de rat (cardio). Après une culture de 72 heures, elles sont alors récoltées pour une analyse par QRT-PCR de l'expression de marqueurs de différenciation cardiomyocytaire humains (MHC :myosine heavy chain; Gata4 et Nkx2.5: facteurs de transcription cardiaques; SERCA: Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Calcium ATPase, : 18S: ARN ribosomal) (modifiée d'après Gopinath et al 2010).

1) A partir de ces données et de vos connaissances, indiquez parmi les propositions suivantes, laquelle ou lesquelles vous semble vraie ou fausse :

- A- Les échantillons de cœurs humains servent de contrôle d'amplification pour cette expérience.
- B- Les échantillons de cardiomyocytes servent de contrôle pour cette expérience.
- C- A la vue de cette expérience, les cardiomyocytes de rat n'expriment pas de MHC, Gata4, SERCA, ni de Nkx2.5.
- D- Les cellules souches n'expriment pas de marqueurs de différenciation cardiaque.
- E- Ces résultats suggèrent que les cellules souches se différencient spontanément en cellules cardiaques.

2) A partir de ces données et de vos connaissances, indiquez parmi les propositions suivantes, laquelle ou lesquelles vous semble vraie ou fausse :

- A- L'absence de signal pour les différents marqueurs indiquent que les reverse transcriptions n'ont pas fonctionnées.
- B- La SERCA est plus exprimée que la MHC dans le cœur humain.
- C- Les cellules souches différenciées expriment moins de marqueurs cardiaques que le cœur humain.
- D- Ces résultats suggèrent que suite à la coculture, les cellules souches se sont différenciées en cellules cardiaques humaines.
- E- La condition de « coculture » suggère que la présence de cardiomyocytes induit la différenciation des cellules souches en cardiomyocytes.

3) A partir de ces données et de vos connaissances, indiquez parmi les propositions suivantes, laquelle ou lesquelles vous semble vraie ou fausse :

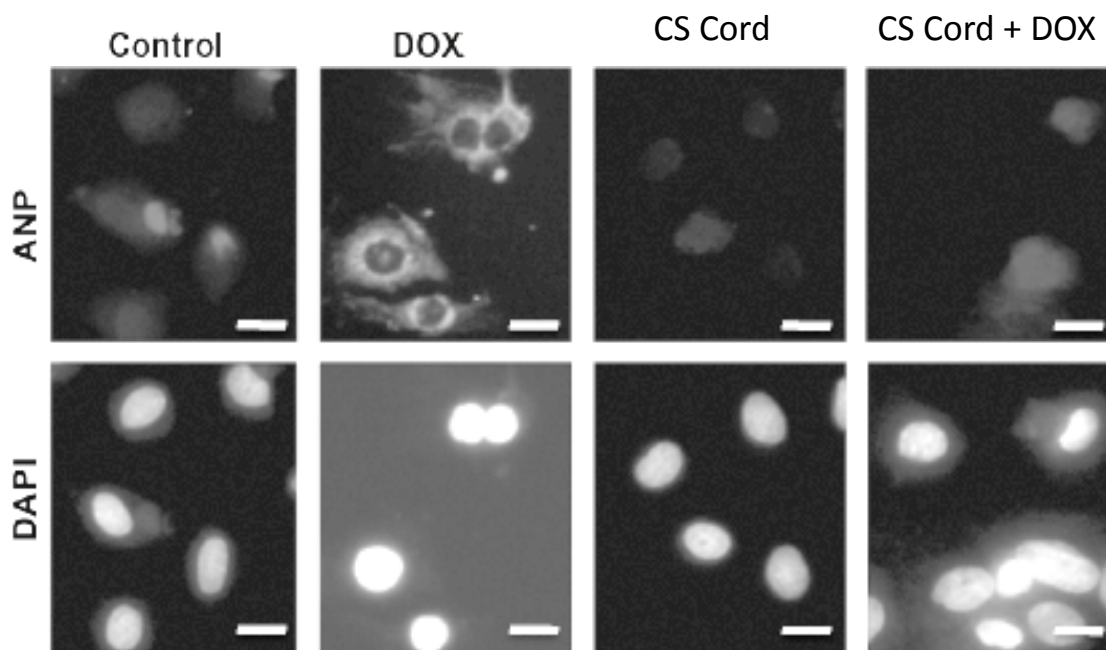
- A- Ces expériences se doivent d'être complétées par des western blots.

B- Les CS se sont faiblement différenciées en cardiomyocytes dans la condition « coculture ».

C- Des expériences de RT-PCR quantitatives permettraient de déterminer si les CS se différencient beaucoup en cardiomyocytes.

D- Des expériences de FACS permettraient de déterminer le nombre de cellules différenciées en cardiomyocytes.

E- Ces résultats suggèrent un potentiel thérapeutique de ces CS pour la réparation cardiaque.



**Légende : Etude d'un traitement à la doxorubicine (DOX) sur les cardiomyocytes de rat (control) ou les cellules souches humaines issues de cordon en en culture.**

Des cardiomyocytes (control) ou des cellules souches issues de cordon (CS cord) ont été cultivées en absence ou en présence de DOX. Un marquage cytochimique de l'ANP a été réalisé. L'ANP est un marqueur du stress myocardique qui est utilisé en recherche pour caractériser la mise en place d'une hypertrophie cardiaque. Les images sont représentatives de trois expériences indépendantes (le Dapi est un marqueur nucléaire) (modifiée d'après Gopinath et al 2010).

4) A partir de ces données et de vos connaissances, indiquez parmi les propositions suivantes, laquelle ou lesquelles vous semble vraie ou fausse :

A- les différentes photographies ont été prises avec le même grossissement.

B- Ce résultat est semi-quantitatif car il résulte de l'analyses de trois expériences indépendantes.

C- Le Dapi, qui est un marqueur nucléaire, sert ici de contrôle d'ensemencement.

D- La DOX semble présenter un marquage cytoplasmique.

E- L'ANP semble plus exprimé en présence de doxorubicine.

5) A partir de ces données et de vos connaissances, indiquez parmi les propositions suivantes, laquelle ou lesquelles vous semble vraie ou fausse :

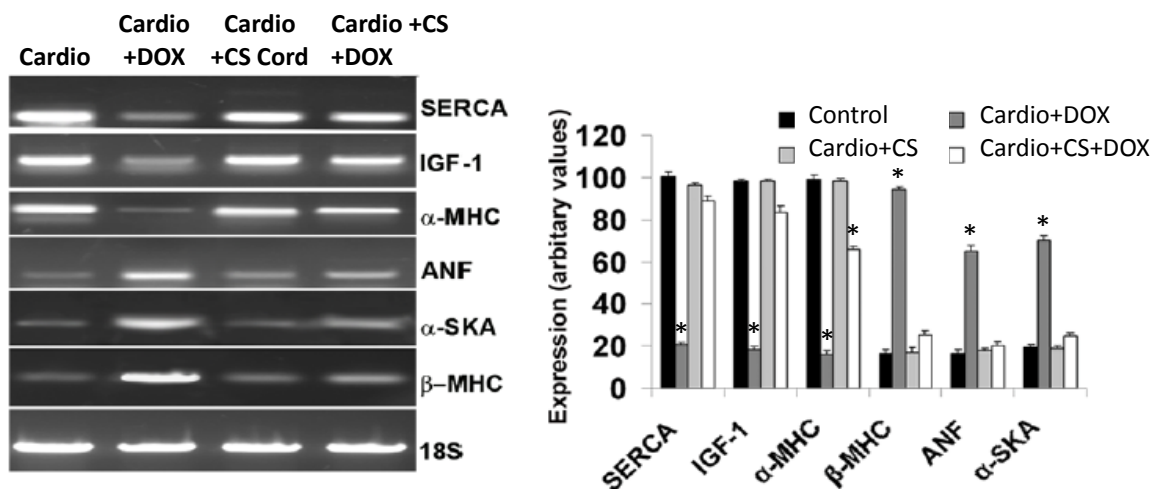
A- Les expériences présentées ici sont réalisées en conditions dénaturantes avec fixation.

B- Le marquage de l'ANP pourrait être obtenu avec un seul anticorps.

C- La DOX semble induire un stress chez les cardiomyocytes de rats en l'absence de CS cord.

D- Le traitement à la DOX est inefficace chez les CS.

E- Ces résultats suggèrent que les CS sont insensibles au stress induit par la DOX contrairement aux cardiomyocytes de rats.



**Légende :** Analyse par RT-PCR des marqueurs physiologiques (Serca, IGF-1 et α-MHC) et des marqueurs pathologiques d'hypertrophie cardiaque (ANF, α-SKA et β-MHC) sur des préparations de cardiomyocytes de rat après traitement à la DOX avec ou sans ajout de cellules souches issues de cordon dans les cultures (modifiée d'après Gopinath et al 2010).

6) A partir de ces données et de vos connaissances, indiquez parmi les propositions suivantes, laquelle ou lesquelles vous semble vraie ou fausse :

A- A la vue de ces résultats, la MHC est un marqueur d'hypertrophie cardiaque.

B- La SERCA est aussi exprimée que l'IGF-1 dans les cardiomyocytes traités à la « DOX+CS Cord ».

C- Les RT-PCRs présentées ici donnent des informations de type quantitative.

D- Le gel de gauche est un southern.

E- L'utilisation des cellules souches prévient toute perte d'expression de marqueur physiologique sous DOX.

7) A partir de ces données et de vos connaissances, indiquez parmi les propositions suivantes, laquelle ou lesquelles vous semble vraie ou fausse :

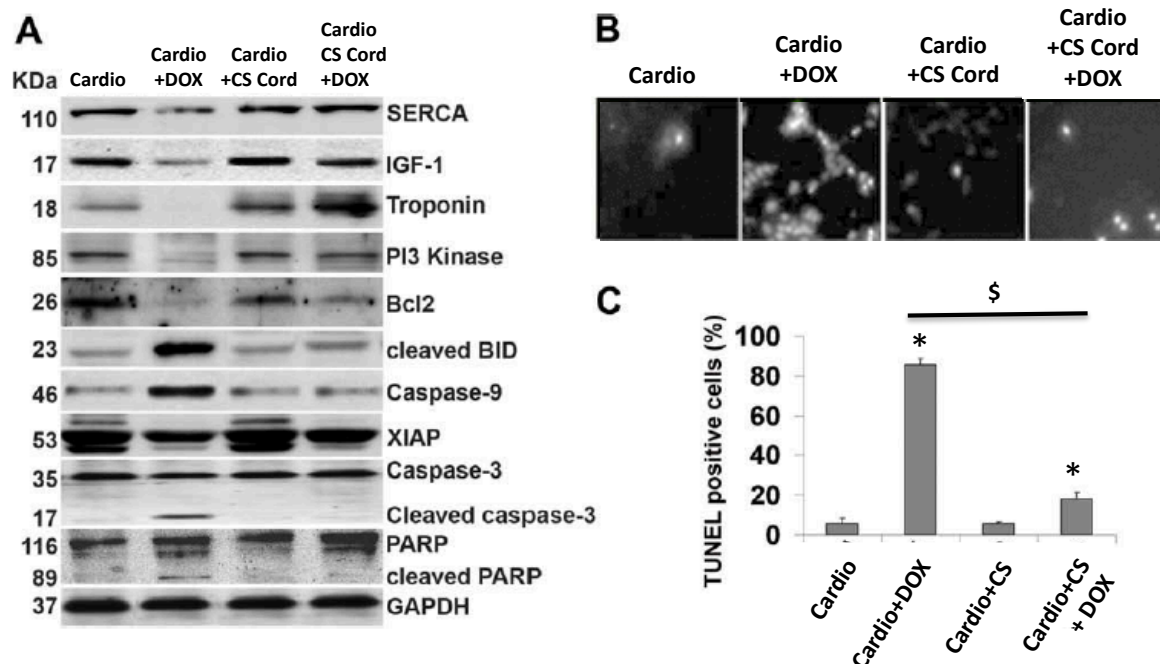
A- Un traitement avec la DOX induit une diminution d'expression des marqueurs étudiés dans cette figure.

B- A la vue de ces résultats, un traitement à la DOX semble induire une hypertrophie cardiaque.

C- Le traitement avec « les cellules souches » induit une élévation de l'ANF.

D- A la vue de ces résultats de RT-PCR, la DOX induit des perturbations physiologiques importantes.

E- Le traitement avec « les cellules souches » semble prévenir les remodelages pathologiques des cardiomyocytes induits par la DOX.



**Légende :** Etude de l'effet d'un traitement avec des CS cord sur l'apoptose induite chez des cardiomyocytes de rat traité avec la DOX (modifiée d'après Gopinath et al 2010). A) Etude de marqueurs d'hypertrophie et d'apoptose. B et C) Immunocytochimie TUNEL et sa quantification (permet un marquage exclusivement des cellules apoptotiques).

8) A partir de ces données et de vos connaissances, indiquez parmi les propositions suivantes, laquelle ou lesquelles vous semble vraie ou fausse :

A- Le blot de gauche est un western-blot.

B- La caspase-9 est augmentée sous DOX.

C- La DOX, sans ajout de CS cord, induit une apoptose des cardiomyocytes.

D- Des immunocytochimies ont pu être utilisées pour générer des données semi-quantitatives.

E- Le traitement avec les « CS cord seules » n'induit pas d'apoptose chez les cardiomyocytes.

9) A partir de ces données et de vos connaissances, indiquez parmi les propositions suivantes, laquelle ou lesquelles vous semble vraie ou fausse :

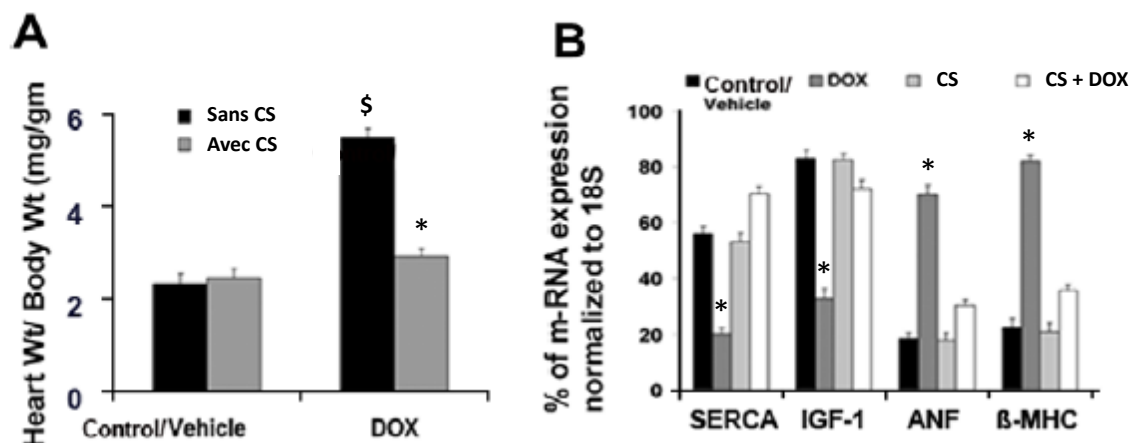
A- Le traitement avec « les CS cord » prévient l'apoptose induite par le traitement à la DOX.

B- Le traitement avec « les CS cord » n'a aucun effet sur l'apoptose des cardiomyocytes.

C- L'apoptose mesurée dans cette figure correspond vraisemblablement à la mort des cardiomyocytes.

D- Les résultats de cette figure suggèrent que les CS cord se sont différenciés en cardiomyocytes.

E- Le traitement avec des « CS cord » inhibe partiellement l'apoptose due au traitement avec la DOX.



**Légende :** L'injection de CS cord inhibe l'induction d'expression des marqueurs d'hypertrophie induite par la DOX *in vivo* chez la souris (modifiée d'après Gopinath et al 2010). A) Gravimétrie du cœur ramené au poids de l'animal. B) Analyse par RT-PCR des marqueurs physiologiques ainsi que pathologiques indicateur d'une hypertrophie cardiaque.

10) A partir de ces données et de vos connaissances, indiquez parmi les propositions suivantes, laquelle ou lesquelles vous semble vraie ou fausse :

- A- Ces résultats sont compatibles avec ceux observés lors des études *in vitro*.
- B- L'hypertrophie cardiaque devrait se traduire par une augmentation du poids du cœur.
- C- Le traitement à la DOX induit une augmentation du poids des cœurs des animaux traités.
- D- Les résultats de gravimétrie ont été normalisés.
- E- L'injection de CS cord prévient l'augmentation de poids des cœurs sous DOX.
- F- Les cœurs des animaux traités avec les CS cord sous DOX ou sans DOX présentent les mêmes valeurs de gravimétrie.