

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : APPARITION D'UNE INCONTINENCE URINAIRE A L'EFFORT CHEZ LA FEMME</b>	
<b><u>1.</u> BASES ANATOMIQUES : LES FACTEURS RESPONSABLES DU MAINTIEN DU TONUS URETRAL</b>	<b>3</b>
E. La muqueuse urétrale	3
F. La sous-muqueuse urétrale	3
G. Le sphincter lisse de l'urètre	4
H. La musculature striée urétrale	4
<b><u>2.</u> LE CONTROLE NEUROLOGIQUE DU BAS APPAREIL URINAIRE</b>	<b>5</b>
1. Les centres nerveux	5
2. Les voies motrices	5
3. Les récepteurs	5
4. Les voies sensibles	6
5. L'innervation intra-pariétale	6
6. Les mécanismes non-adrénergiques non-cholinergiques	6
<b><u>3.</u> LA PHYSIOLOGIE VESICO-SPHINCTERIEENNE : LE CYCLE MICTIONNEL</b>	<b>7</b>
1. Les phases du cycle de fonctionnement vésico-urétral	7
2. Coordination entre les différents systèmes nerveux	7
3. Déroulement du cycle mictionnel	7
3.1. La phase de continence passive	7
3.2. La phase de continence active	8
3.3. La phase de vidange vésicale	9
<b><u>4.</u> MECANISMES DE LA CONTINENCE A L'EFFORT</b>	<b>9</b>
<b><u>5.</u> CAUSES DE L'INCONTINENCE URINAIRE A L'EFFORT CHEZ LA FEMME</b>	<b>13</b>

<b>6. CLASSIFICATION DES DIFFERENTES INCONTINENCES A L'EFFORT</b>	<b>13</b>
1. Utilisation de la radiologie	13
2. Critères urodynamiques	14
3. Classification radio-urodynamique de Mc Guire	15

<b>CHAPITRE II : TRAITEMENTS TRADITIONNELS DE L'INCONTINENCE URINAIRE D'EFFORT</b>
--

<b>A. LA REEDUCATION PERINEALE</b>	<b>17</b>
1. Les objectifs	17
2. Les techniques	17
2.1. L'électrothérapie : une technique passive	17
2.2. Les techniques actives	18
3. Les indications	18
4. Les résultats	19
4.1. Effets de la rééducation sur les paramètres urodynamiques	19
4.2. Taux de succès de la rééducation périnéale	20
<b>B. LE TRAITEMENT MEDICAL</b>	<b>21</b>
1. Les sympathomimétiques	21
2. Les œstrogènes	22
2.1. Les œstrogènes dans la physiologie du bas appareil urinaire	22
2.1.1. Action des œstrogènes sur la pression urétrale	22
2.1.2. Mise en évidence des récepteurs aux œstrogènes dans le bas appareil urinaire	23
2.1.3. Action des œstrogènes sur le bas appareil urinaire	23
2.1.3.1. Action trophique	23
2.1.3.2. Action sur le système vasculaire	24
2.1.3.3. Action sur le système nerveux	24
2.1.4. Autorégulation des œstrogènes	27
2.1.5. Interaction œstrogènes-progestérone	27
2.1.6. L'hypoœstrogénisme comme cause de l'incontinence d'effort	27
2.2. Utilisation des œstrogènes dans le traitement de l'incontinence urinaire de la femme ménopausée	28

3. L'imipramine	29
4. Autres traitements	29
4.1. Béta-bloquants	29
4.2. Duloxétine	29
4.3. Agonistes et antagonistes sérotoninergiques	30
4.4. Vasopressine	30
4.5. Molécules non-adrénergiques non-cholinergiques	30
4.6. Raloxifène	31
<b>C. LE TRAITEMENT CHIRURGICAL TRADITIONNEL</b>	<b>31</b>
1. Soutènement du col vésical par bandelette aponévrotique	31
1.1. Technique	31
1.2. Résultats	35
1.3. Complications	35
2. Soutènement du col vésical par colposuspension rétropubienne de Burch	37
2.1. Technique de la colposuspension de Burch	37
2.2. Résultats	37
2.3. Complications	40
2.4. La colposuspension par laparoscopie	40
3. Techniques simplifiées de colposuspension par voie vaginale	41
3.1. Techniques	41
3.2. Résultats	46
3.3. Complications	46
4. Le sphincter artificiel	48
4.1. Technique d'implantation	48
4.2. Résultats	48
4.3. Complications	51
5. La bandelette synthétique sous-urétrale : TVT	51
5.1. Technique	52
5.2. Résultats	52
5.3. Complications	52
<b>D. LES DISPOSITIFS PALLIATIFS</b>	<b>54</b>
1. Les dispositifs externes	54
2. Les dispositifs de support du col vésical	54
3. Les dispositifs intra-urétraux	54

## **CHAPITRE III : LES TRAITEMENTS ENDOSCOPIQUES DE L'INCONTINENCE D'EFFORT**

<b>A. AVANTAGES D'UN TRAITEMENT ENDOSCOPIQUE DE L'INCONTINENCE URINAIRE</b>	<b>57</b>
<b>B. REALISATION DES INJECTIONS</b>	<b>57</b>
1. Injection périurétrale	58
2. Injection transurétrale	58
<b>C. A LA RECHERCHE DE L'AGENT IDEAL</b>	<b>60</b>
1. Les produits abandonnés	61
1.1. Les premières expériences	61
1.2. Le téflon	61
2. Les produits couramment utilisés	62
2.1. Le collagène d'origine bovine	62
2.2. La graisse autologue	62
2.3. Les particules de carbone	63
3. Les produits en cours de développement	64
3.1. Le silicone	64
3.2. Les microballons	64
3.3. Le bioglass	66
3.4. Le calcium hydroxylapatite	66
3.5. L'acide hyaluronique	66
3.6. L'acide hyaluronique et les microsphères de dextranomère	67
3.7. Copolymère d'éthylène vinyl-alcool	67
3.8. Le collagène humain	67
3.9. Les chondrocytes	68
3.10. Les cellules musculaires lisses	68
<b>D. EFFICACITE DES TRAITEMENTS PAR INJECTION PAR RAPPORT AUX TECHNIQUES CHIRURGICALES CONVENTIONNELLES</b>	<b>68</b>
<b>E. UTILISATION DES MYOBLASTES AUTOLOGUES POUR LE TRAITEMENT PAR INJECTION DE L'INCONTINENCE URINAIRE D'EFFORT</b>	<b>69</b>
1. Intérêt des cellules autologues	69
2. Les particularités du muscle strié squelettique	69
3. Utilisation thérapeutique des cellules dérivées du muscle strié squelettique	71
3.1. La greffe de myoblastes pour la thérapie génique : application à des maladies variées	71

3.2.	La greffe de myoblastes pour traiter les maladies musculaires	72
3.2.1.	Le muscle strié squelettique : la myopathie de Duchenne	72
3.2.2.	Le muscle cardiaque : infarctus et cardiomyopathie dilatée	74
4.	L'urétromyoplastie cellulaire	75
4.1.	Concept	75
4.2.	Historique	76

## CHAPITRE IV : ETUDE

### EXPERIMENTALE

<b>PRINCIPE</b>	<b>79</b>
<b>ANIMAUX, MATERIEL ET METHODES</b>	<b>80</b>
1. Schéma expérimental	80
2. Animaux	80
3. Culture cellulaire	80
4. Produits utilisés	80
5. Biopsie de muscle Sartorius	81
6. Dissociation mécanique	81
7. Préparation des enzymes	81
8. Digestion enzymatique des fragments musculaires	83
9. Filtration et préparation finale	83
10. Mise en culture	83
11. Comptage cellulaire et reconditionnement des cellules pour la greffe	83
12. Richesse en myoblastes des cultures	84
13. Observation de myotubes	84
14. Méthode immunocytochimique	84
15. Optimisation de la survie cellulaire	84
16. Marquage cellulaire	85
17. Réalisation des marquages	87
18. Epreuves de dilution et de recaptage	87
19. Anesthésie et soins post-opératoires	88
20. Anesthésie	88
21. Soins post-opératoires	88
22. Méthode d'implantation	88
23. Technique urétroscopique	90

24.	Implantation chirurgicale par laparotomie sus-pubienne	90
25.	Autopsie, analyse histologique et immunohistochimique	90
<b>RESULTATS</b>		<b>92</b>
1.	Culture cellulaire	92
2.	Comptage cellulaire	92
3.	Richesse en myoblastes des cultures	92
4.	Optimisation de la survie cellulaire	95
5.	Marquage cellulaire	95
6.	Epreuve de dilution	95
7.	Epreuve de recaptage	95
8.	Méthode d'implantation	97
9.	Technique urétroscopique	97
10.	Implantation chirurgicale par laparotomie sus-pubienne	97
11.	Analyse histologique et immunohistochimique	97
<b>DISCUSSION</b>		<b>102</b>
<b>CONCLUSION</b>		<b>103</b>
<b>ANNEXE : CHARTE DU COMITE D'ETHIQUE DE LA FONDATION DE L'AVENIR</b>		<b>105</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>		<b>107</b>

## INTRODUCTION

L'incontinence urinaire d'effort (ou incontinence urinaire de stress) est une incontinence urinaire qui se manifeste par des pertes d'urine lors de l'augmentation de la pression abdominale, sans contraction de la vessie : lors d'une toux, d'un éternuement, d'un rire... L'urètre ne parvient pas à retenir l'urine quand la pression abdominale augmente. Deux mécanismes peuvent être en cause : l'hypermobilité d'un urètre intact avec défaut de transmission de la pression abdominale à cet urètre lors d'effort, ou une véritable incompétence sphinctérienne urétrale intrinsèque (21) (73). Les deux mécanismes sont le plus souvent associés chez la femme incontinente à l'effort.

Ce type d'incontinence urinaire touche en particulier les femmes ménopausées par défaut en œstrogènes. Selon différentes études, 30 à 50 % des femmes ménopausées souffrent d'incontinence urinaire (20) (83).

L'impact social est évident : les malades sont embarrassées dans toutes leurs activités quotidiennes, leur vie en est modifiée. Les conséquences financières sont également majeures : plus de 26 milliards de dollars de coûts directs et indirects pour l'incontinence urinaire des plus de 65 ans aux Etats-Unis (83).

Le traitement de l'incontinence urinaire d'effort est essentiellement chirurgical. La rééducation périnéale donne des résultats inconstants et il n'y a pas de médicament avec « autorisation de mise sur le marché » (AMM) dans cette indication. Il existe à l'heure actuelle plus de cent techniques chirurgicales différentes pour traiter l'incontinence d'effort. Les taux de succès sont de l'ordre de 60 à 80 % à 5 ans (2) (91). La mise en place de bandelettes sous-urétrales ou la colposuspension de Burch sont aujourd'hui les techniques qui offrent le meilleur résultat à long terme. Cependant, ces techniques chirurgicales traditionnelles sont lourdes et la colposuspension de Burch devient inefficace passé la première intervention. Ainsi les femmes trop âgées ou ayant subi plusieurs opérations sont de très mauvaises candidates.

L'avènement de la chirurgie mini-invasive a permis d'envisager un traitement endoscopique à l'incontinence urinaire. Cette nouvelle stratégie permet de réduire la morbidité et la durée d'hospitalisation, et offre à l'heure actuelle des taux de réussite comparables à la chirurgie conventionnelle. Le principe de ces techniques est d'augmenter la pression maximale de clôture de l'urètre en injectant un produit faisant masse dans l'espace périurétral ou sous-muqueux. De nombreux produits différents ont déjà été utilisés à cet effet : téflon, collagène d'origine bovine, silicone, système de membrane détachable... Depuis peu, les recherches s'orientent vers les tissus et cellules autologues qui offrent les avantages d'une biocompatibilité totale : tissu adipeux, collagène, chondrocytes, cellules musculaires lisses... Cependant le matériau idéal n'a toujours pas été trouvé.

Notre projet de recherche se propose donc d'étudier l'effet urodynamique et tissulaire de la greffe de cellules musculaires striées squelettiques autologues dans l'urètre. Le modèle de l'incompétence sphinctérienne urétrale de la femme ménopausée sur lequel les recherches seront effectuées sera la chienne ovariectomisée.

Le projet global consiste à stériliser cinq chiennes Beagle, à les greffer avec leurs propres cellules musculaires squelettiques puis à les euthanasier pour prélever l'urètre. Le premier volet du travail est une étude fonctionnelle : des évaluations urodynamiques seront réalisées avant l'ovariectomie, après l'ovariectomie et après la greffe des cellules. Le deuxième volet est l'étude tissulaire : les cellules greffées seront marquées de manière à pouvoir étudier leur devenir au sein du tissu urétral par l'analyse histologique qui sera réalisée après l'euthanasie. Les résultats seront comparés à ceux obtenus sur cinq chiennes recevant l'injection périurétrale d'un placebo (solution sans cellule).

Pour mener à bien ce projet, chaque étape de la transplantation des cellules dans l'urètre doit être connue et maîtrisée, depuis la biopsie musculaire et la mise en culture des cellules jusqu'au suivi du destin cellulaire dans l'environnement urétral après la greffe. L'étude présentée ici correspond ainsi à l'étude de faisabilité que nous avons réalisée sur six chiennes Beagle entières afin de valider et d'optimiser chaque segment de la séquence. Cette étude est basée sur les analyses histologiques des sites de greffe et ne comprend aucune évaluation urodynamique. Les conclusions de ce travail préliminaire ont permis d'aboutir à des techniques améliorées pour la poursuite du protocole, c'est-à-dire pour l'urétromyoplastie cellulaire sur les cinq chiennes castrées, modèle de l'incompétence sphinctérienne urétrale.

Nous ne développerons pas ici la justification du choix de la chienne castrée comme modèle de l'incompétence sphinctérienne urétrale de la femme ménopausée car c'est précisément le sujet de la thèse de Mlle Christelle Dutot qui a travaillé avec nous sur le projet.

Nous reviendrons d'abord sur quelques généralités concernant l'anatomie, l'innervation et la physiologie de l'appareil vésico-sphinctérien afin de mieux comprendre l'apparition d'une incontinence urinaire à l'effort chez la femme ménopausée, puis nous montrerons ensuite la limite des différents traitements traditionnels proposés à la femme incontinente à l'effort : rééducation périnéale, traitement médical et chirurgie conventionnelle. La partie bibliographique se terminera par une présentation des traitements endoscopiques nouvellement proposés aux patientes et nous donnerons les résultats obtenus avec les différents matériaux déjà utilisés. Enfin, l'étude expérimentale réalisée sur les chiennes de faisabilité sera décrite dans la quatrième partie de cette thèse.

# CHAPITRE I : APPARITION D'UNE INCONTINENCE URINAIRE A L'EFFORT CHEZ LA FEMME

La thèse de WEPIERRE (96) ainsi que la publication de DROUPY et BENOIT (38) ont été les deux références principalement utilisées pour l'écriture des chapitres concernant l'anatomie, l'innervation et la physiologie de l'appareil vésico-sphinctérien.

## A. BASES ANATOMIQUES : LES FACTEURS RESPONSABLES DU MAINTIEN DU TONUS URETRAL

### 1. La muqueuse urétrale

La muqueuse urétrale présente dans son tiers proximal un épithélium de type transitionnel, identique à l'épithélium vésical. Le reste de la muqueuse est recouvert par un épithélium malpighien stratifié non kératinisé. Au niveau du méat externe, cet épithélium se kératinise.

Les infections récurrentes peuvent modifier l'aspect et l'épaisseur de cette muqueuse ainsi que les variations des taux d'hormones sexuelles car cette muqueuse est hormonosensible.

Elle joue un rôle dans la clôture de la lumière urétrale.

### 2. La sous-muqueuse urétrale

Elle est comprise entre la muqueuse et le muscle lisse. Elle contient des fibres de collagène, des fibres élastiques, des fibroblastes et est très riche en éléments vasculaires plexiformes.

On considère qu'il y a trois systèmes veineux au sein de la sous-muqueuse chez la femme : les veines qui cheminent juste sous la muqueuse et compriment les plis muqueux, puis deux plexus veineux. Le plexus proximal n'apparaît qu'en période fertile et joue un rôle important dans le maintien de la pression urétrale. À la ménopause, les parois de ses vaisseaux s'amincissent, ils perdent leur capacité de distension et les anastomoses tendent à disparaître. Cette atrophie est réversible sous œstrogénothérapie. Le deuxième plexus est plus distal, près de l'orifice externe, il ne varie pas avec l'âge.

Ce réseau vasculaire très développé, riche en gros vaisseaux à parois fines avec des shunts artérioveineux, peut devenir turgescents en cas d'afflux sanguin. Ces vaisseaux paraissent trop importants pour remplir seulement un rôle nutritif, ils évoquent la structure d'un tissu érectile.

La vascularisation très développée de l'urètre serait donc un facteur de continence non négligeable.

Après clampage des artères iliaques communes, on note rapidement une disparition des pulsations sur la zone de pression urétrale maximale (pulsations qui étaient synchrones du rythme cardiaque) et une diminution de la pression urétrale maximale d'environ un tiers (82).

### **3. Le sphincter lisse de l'urètre**

La musculature lisse s'étend sur toute la longueur de l'urètre. Les fibres sont essentiellement orientées obliquement et longitudinalement. Les fibres musculaires circulaires sont plus rares et inégalement réparties : elles sont concentrées au niveau du sphincter strié où elles forment un anneau.

La musculature lisse joue un rôle prépondérant dans le maintien de la pression urétrale : après inhibition du sphincter strié par curarisation, et de la couche vasculaire par clampage des artères iliaques communes, la portion de la pression urétrale maximale restante est d'environ 39 % de la valeur initiale (82).

### **4. La musculature striée urétrale**

#### **Le sphincter strié para-urétral**

Au contact de l'urètre, il double extérieurement le sphincter lisse et se distingue du muscle strié périurétral adjacent qui appartient au plancher pelvien.

Dans la partie proximale de l'urètre, les fibres striées forment de véritables anneaux. Le manchon de fibres est plus épais dans la portion moyenne de l'urètre. Dans la partie distale de l'urètre, les anneaux incomplets forment des «  $\Omega$  » ouverts dorsalement.

Les fibres musculaires sont toutes des fibres lentes (type 1) adaptées au maintien d'un tonus urétral permanent (23).

#### **La musculature striée périurétrale**

Tout au long de son trajet, l'urètre est entouré de divers faisceaux musculaires striés qui participent au maintien de la continence. Ces fibres, constituées d'un mélange de fibres lentes et rapides (type 1 et type 2), appartiennent au faisceau pubococcygien du muscle élévateur de l'anus et aux muscles compresseur de l'urètre et urétrovaginal.

Cette musculature permet une augmentation rapide et brève de la pression urétrale en cas de besoin.

Les muscles striés interviennent dans la continence volontaire mais aussi dans le maintien d'un tonus urétral de repos involontaire. L'utilisation de curarisant provoque une chute importante de la pression urétrale maximale. On peut estimer à environ un tiers la participation de la musculature striée au maintien de la pression urétrale (82).

De nombreux facteurs interviennent donc dans le maintien de la pression urétrale mais les plus importants sont la musculature lisse, la musculature striée et la couche vasculaire, intervenant chacun pour environ un tiers. (Les mesures ont été effectuées au repos, au niveau de l'urètre moyen, zone de pression urétrale maximale.)

## **B. LE CONTROLE NEUROLOGIQUE DU BAS APPAREIL URINAIRE**

### **1. Les centres nerveux**

**Les centres somatiques** occupent la corne antérieure des 2<sup>e</sup>, 3<sup>e</sup>, 4<sup>e</sup> segments sacrés (noyau du nerf honteux) et le pied de la circonvolution frontale ascendante, siège de la commande volontaire. Ces deux centres sont reliés par le faisceau pyramidal croisé.

**Les centres végétatifs** sont en liaison par l'intermédiaire du système pyramidal et de la substance blanche de la moelle épinière.

- Les centres médullaires occupent la corne latérale de la moelle lombo-sacrée de T11 à L2 pour le système sympathique et de S2 à S4 pour le parasympathique.

- Les centres du tronc cérébral sont localisés dans la partie antérieure de la protubérance annulaire.

- Les centres diencephaliques se trouvent dans les noyaux gris centraux et noyaux mésencéphaliques qui leur sont rattachés.

- Des centres végétatifs corticaux et sous-corticaux jouent un rôle dans le contrôle volontaire, instinctif ou émotionnel de la miction.

(23)

### **2. Les voies motrices**

#### **La voie motrice périphérique somatique**

Le nerf pudendal (ou nerf honteux interne) est issu de la réunion des 2<sup>e</sup>, 3<sup>e</sup>, et 4<sup>e</sup> racines sacrées. Il innerve le sphincter strié et les muscles périnéaux.

#### **La voie motrice périphérique végétative**

Elle est formée par la succession d'au moins deux neurones relayés dans un ganglion :

- Les neurones sympathiques, venus du centre dorsolombaire, ont leur synapse dans le plexus hypogastrique supérieur, forment les nerfs hypogastriques et traversent le plexus hypogastrique inférieur.

- Les neurones parasympathiques, venus du centre sacré, forment les nerfs pelviens et ont leur synapse près de la vessie, dans le ganglion hypogastrique inférieur.

Au contact de la vessie, il existe des ganglions au sein desquels les systèmes sympathiques et parasympathiques se contrôlent mutuellement.

(23)

### **3. Les récepteurs**

Les fibres musculaires du dôme vésical présentent essentiellement des récepteurs muscariniques pour l'acétylcholine et quelques récepteurs  $\beta$ -adrénergiques pour la noradrénaline.

Les fibres musculaires lisses de l'urètre et du col vésical possèdent des récepteurs muscariniques pour l'acétylcholine, mais surtout des récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques pour la noradrénaline. Le sphincter strié présente des jonctions neuromusculaires et des récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques.

En fait la réalité est plus complexe puisque l'on trouve tous les récepteurs dans toutes les régions de la vessie et de l'urètre avec des proportions qui peuvent varier selon les conditions (maladie, traitement,..).

#### **4. Les voies sensitives**

Des récepteurs d'étirement (volo-récepteurs) et des récepteurs de tension (tenso-récepteurs) se situent dans les couches musculaires de la vessie.

Des tenso-récepteurs existeraient aussi au sein du sphincter strié de l'urètre.

Les récepteurs sensibles à la douleur et à la température sont essentiellement situés dans la région du col et du trigone vésical.

Les influx nerveux d'origine vésicale sont véhiculés vers la moelle lombaire et sacrée par les nerfs hypogastriques et les nerfs pelviens. Les influx urétraux remontent vers la moelle sacrée par les nerfs honteux internes.

Certaines voies s'arrêtent dans les centres réflexes ; d'autres poursuivent leur course et sont perçus consciemment dans les centres supérieurs.

Les perceptions conscientes au niveau de l'urètre sont la distension pariétale, le toucher (le flux), la température et la douleur.

#### **5. L'innervation intrapariétale**

Au sein du détroisor, de nombreuses fibres sensibles non myélinisées s'entrecroisent. Ce sont des récepteurs de tension liés aux fibres musculaires. Cette organisation particulière nécessaire au bon fonctionnement du réseau explique l'atonie vésicale consécutive à une distension excessive de la vessie qui rompt les relations entre les fibres.

Ainsi, le système sympathique est mis en jeu lors du remplissage de la vessie : par l'intermédiaire de la noradrénaline, il permet le relâchement de la vessie (récepteur  $\beta$ ) et la contraction du col vésical et de l'urètre (récepteurs  $\alpha$ ). Au contraire le système parasympathique est le système de la miction : son neuromédiateur est l'acétylcholine ; il contracte la vessie (récepteurs muscariniques) et inhibe la contraction de l'urètre par inhibition des systèmes sympathique et somatique (23).

Le système somatique, par contraction du sphincter strié et des muscles pelviens, renforce la continence vésicale.

Il existe une inhibition réciproque des systèmes parasympathique d'une part, sympathique et somatique d'autre part, de sorte que le détroisor est relâché quand les sphincters sont contractés et réciproquement.

#### **6. Les mécanismes non-adrénergiques non-cholinergiques (NANC)**

D'autres neuromédiateurs participent au fonctionnement de l'appareil vésico-sphinctérien : sérotonine, histamine, prostaglandines, adénosine triphosphate, vaso-active intestinal peptide (VIP) et substance P. Ces molécules pourraient avoir en particulier un rôle dans la médiation de la sensibilité. Les mécanismes impliqués sont encore à élucider (23).

## **C. LA PHYSIOLOGIE VESICO-SPHINCTERIEENNE : LE CYCLE MICTIONNEL**

### **1. Phases du cycle de fonctionnement vésico-urétral**

- Écoulement de l'urine des uretères dans la vessie
- Phase de continence passive : augmentation du volume de la vessie sans augmentation de la pression intravésicale
- Phase de continence active : la contraction de l'urètre doit s'opposer à une pression intravésicale devenue élevée
- Perception du besoin d'uriner lorsque la pression intravésicale est importante
- Déclenchement de la miction par les centres supérieurs : les influx nerveux efférents provoquent la contraction des muscles abdominaux et du détrusor.
- Arrêt de la miction et retour à l'état initial soit par arrêt volontaire, soit lorsque la vessie est vide.

### **2. Coordination entre les différents systèmes nerveux**

Pour un fonctionnement harmonieux de l'appareil vésico-sphinctérien, les systèmes sympathique et somatique d'une part et le système parasympathique d'autre part, s'inhibent réciproquement. Ainsi, quand le détrusor est contracté les sphincters sont ouverts pour permettre la miction ; quand les sphincters sont contractés, le détrusor se relâche pour le remplissage de la vessie.

Cette coordination est organisée en deux boucles (23) :

- un circuit court incluant les centres médullaires et les plexus ganglionnaires périphériques pour la coordination entre le sympathique et le parasympathique,
- un circuit long incluant les centres du tronc cérébral pour la coordination entre les systèmes parasympathique et somatique.

(Il existe également des réflexes inhibiteurs viscéro-viscéraux : la dilatation anale, la contraction de l'ampoule rectale, l'érection empêchent la contraction du détrusor. Ils sont probablement intégrés à un niveau supra-médullaire (23).)

### **3. Déroulement du cycle mictionnel**

#### **3.1. La phase de continence passive**

Cette phase ne fait appel qu'à l'automatisme vésico-sphinctérien, sans intervention d'un contrôle volontaire. La vessie stocke l'urine en augmentant son volume sans augmenter de manière importante sa pression. Sa qualité de « compliance » permet, en maintenant la pression basse, la protection du haut appareil urinaire. La pression urétrale reste très supérieure, les sphincters sont fermés.

Le système sympathique permet le relâchement du détrusor (effet  $\beta$ ) et la contraction du col et de l'urètre (effet  $\alpha$ ). Le système somatique permet la contraction du sphincter strié. Le système parasympathique est inhibé à la fois par le sympathique et le somatique.

Le système vasculaire jouerait un rôle au cours de cette phase : d'une part, l'angiotensine augmenterait le tonus urétral par son action vasculaire, et d'autre part la distension vésicale, en empêchant un retour veineux correct, entraînerait une distension des sinus veineux de l'urètre. Ce rôle est encore discuté.

### **3.2. La phase de continence active**

Lorsque la pression vésicale atteint les 20 cm d'eau la sensation de besoin d'uriner est transmise aux centres supérieurs (cortex). Cette information sensitive émane des récepteurs de tension du détrusor.

La contraction des sphincters est maintenue, la vessie se relâche. Ce qui caractérise cette phase c'est une élévation importante du tonus du sphincter strié qui renforce la continence sous l'effet d'influx d'origine corticale. La contraction des muscles du plancher pelvien intervient également en augmentant la pression urétrale ainsi que la longueur fonctionnelle de l'urètre.

La contraction active, volontaire, du sphincter strié va provoquer l'augmentation de la pression urétrale et s'accompagne d'un relâchement du détrusor. Ce relâchement du muscle vésical est primordial car le sphincter strié est un muscle fatigable qui ne peut maintenir sa contraction plus d'une à deux minutes. Ainsi se succèdent alternativement la répression volontaire et le renouvellement du besoin d'uriner (car le volume vésical continue à augmenter) jusqu'à parvenir à un seuil critique où la vessie ne peut plus se distendre et où toute augmentation de volume provoque une augmentation très importante de la pression. Le besoin d'uriner se renouvelle donc de plus en plus fréquemment jusqu'à devenir irrépessible.

Durant cette phase, le relâchement vésical est induit par des influx nerveux volontaires corticaux et des influx régulateurs cérébelleux qui dépriment le centre protubérentiel et le centre sacré de la miction.

Au niveau urétral, des réflexes courts et un réflexe long interviennent au cours de la continence active :

12. le maintien permanent du tonus urétral (par un réflexe court),
13. la contraction du sphincter strié en réponse à toute augmentation de pression abdominale (toux, rire, éternuement, changement de position...),
14. le réflexe long de contrôle volontaire de la pression urétrale.

Ce réflexe long est initié par la distension vésico-urétrale et l'échappement de quelques gouttes d'urine qui stimulent les récepteurs sensibles de l'urètre. La forte contraction du sphincter strié s'associe à la contraction des muscles du plancher pelvien pour maintenir la continence face à la pression vésicale élevée.

### **3.3. La phase de vidange vésicale**

Lorsque la limite de distensibilité de la vessie est atteinte, la stimulation des récepteurs de tension du détrusor provoque une décharge parasympathique motrice qui entraîne la contraction du détrusor. Ce réflexe est supra-segmentaire, il passe par les centres protubérentiels. Il existe d'autres réflexes facilitateurs à point de départ cutané ou muqueux qui peuvent entraîner le déclenchement d'une miction (**figure 1**).

La décharge parasympathique inhibe le système sympathique ce qui permet un relâchement du sphincter urétral pendant la miction.

La contraction du détrusor est auto-entretenu par un réflexe « automultiplicateur » d'activation du détrusor par lui-même par stimulation des tenso-récepteurs vésicaux.

Le passage de l'urine dans l'urètre, par réflexe cutanéomuqueux, stimule le détrusor et relâche le sphincter urétral.

Ainsi la miction est possible par le maintien de la contraction du détrusor et le relâchement réflexe des sphincters.

D'autres molécules (les prostaglandines en particulier) interviendraient pour améliorer la contraction vésicale et le relâchement de l'urètre.

Lorsque la vessie est vide, l'activation réflexe du détrusor cesse : la vessie se relâche et les sphincters se referment. La contraction volontaire des muscles pelviens et du sphincter strié peuvent aussi interrompre la miction par contraction de l'urètre et par inhibition du système parasympathique.

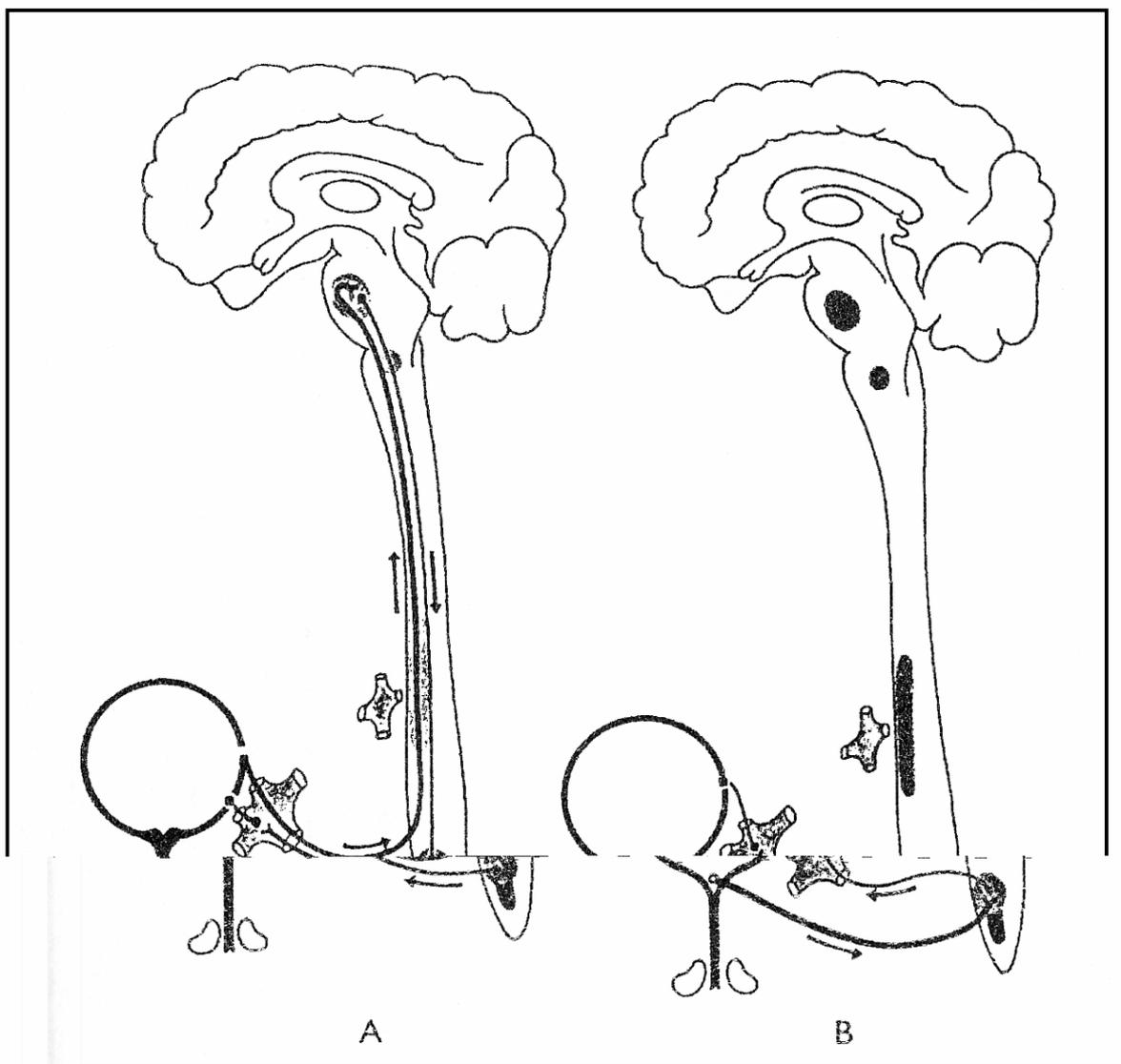
Ainsi, l'homme (mais aussi la plupart des animaux) peut contrôler volontairement son appareil vésico-sphinctérien : il peut retarder la vidange vésicale alors que la pression vésicale est importante, déclencher la miction au moment opportun ou l'interrompre quand bon lui semble. Ce contrôle volontaire de la continence apporte un confort de vie ; il est très important pour la vie en société.

## **D. MECANISMES DE LA CONTINENCE A L'EFFORT**

Nous avons vu que les facteurs principaux pour le maintien de la pression urétrale au repos sont la musculature lisse, les muscles striés (musculature para et périurétrale), et la couche vasculaire. Bien sûr, de nombreux autres facteurs interviennent dans une moindre mesure, par exemple le tissu conjonctif urétral ou les organes adjacents à l'urètre.

Que se passe-t-il au cours d'une situation d'effort, c'est-à-dire au cours d'une augmentation de la pression abdominale ?

On distingue habituellement deux types d'incontinence à l'effort chez la femme : l'incompétence sphinctérienne intrinsèque, qui met en cause la valeur sphinctérienne lisse et striée de l'urètre (classe III de l'incontinence d'effort), et l'hypermobilité cervico-urétrale qui traduit un défaut de soutènement du col vésical et de l'urètre entraînant un défaut de transmission des pressions abdominales à l'urètre.



**Figure 1 : Réflexes mictionnels (23).**

A : Réflexe suprasegmentaire, à partir de la stimulation des récepteurs de tension du détrusor.

B : Réflexe segmentaire, à partir de la stimulation des récepteurs cutanéomuqueux.

En effet, des études réalisées sur des modèles urétraux mécaniques évoquent au sujet des parois urétrales la nécessité d'avoir trois types de facteurs pour maintenir la clôture urétrale :

- **une tension intrinsèque ou une compression extrinsèque suffisante**
- une grande souplesse des tissus
- un tissu de soutien sous-muqueux qui permet aux muqueuses urétrales de se déformer jusqu'à coaptation complète.

La tension urétrale est assurée par le tonus urétral de base, les contractions de la musculature lisse et striée, mais aussi les facteurs mécaniques liés à la transmission à l'urètre des pressions abdominales, celle-ci étant favorisée par le soutènement de l'urètre et du col vésical.

Le soutènement du col vésical et de l'urètre se comporte comme un mur contre lequel l'urètre vient s'écraser lors d'augmentations de la pression abdominale. Un défaut de soutènement entraîne une hypermobilité de l'urètre et l'apparition d'une incontinence d'effort. En pratique clinique, la majorité des patientes incontinentes à l'effort relève d'une telle anomalie de position et de fixité du col vésical.

Le défaut de fixation du col vésical entraînerait l'incontinence urinaire selon deux mécanismes : l'urètre sortirait de la chambre de transmission des pressions abdominales et l'augmentation de pression abdominale ne serait pas transmise à l'urètre, ou l'angle cervico-urétral disparaîtrait (28).

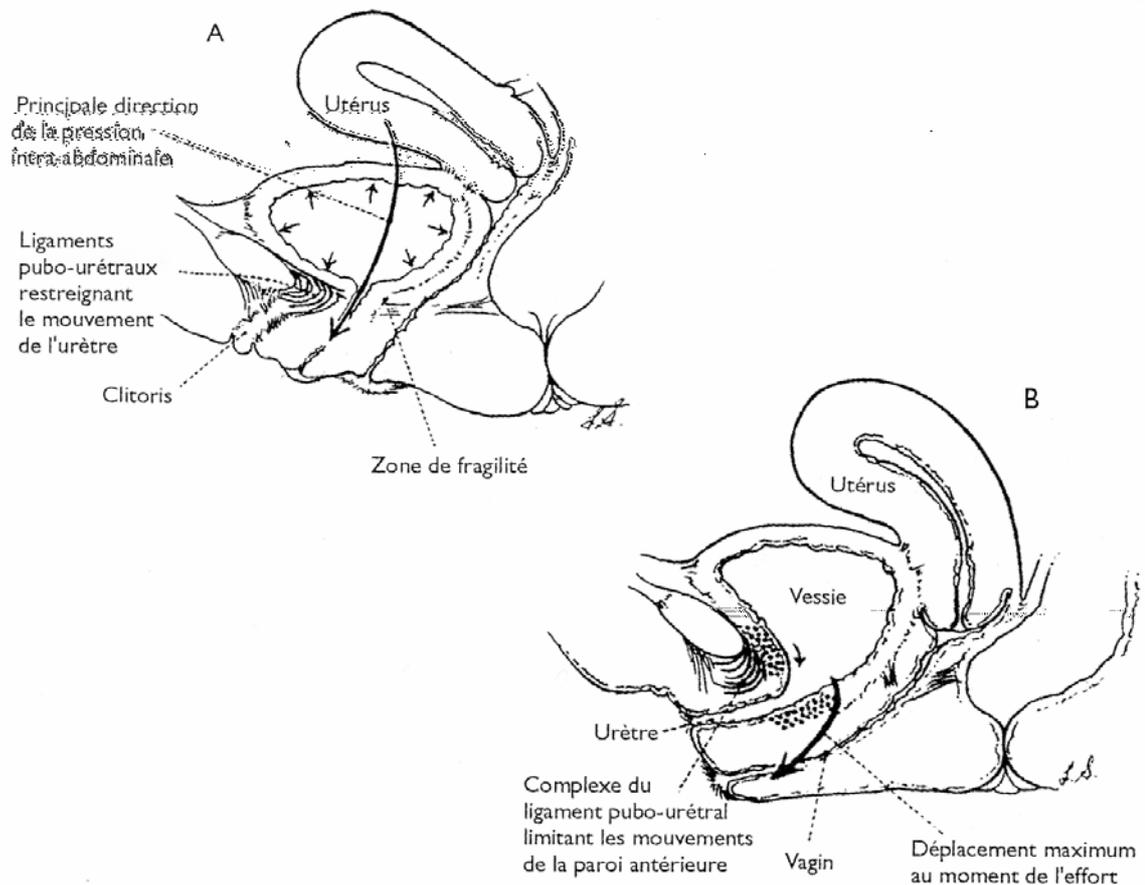
Actuellement, les travaux mettent l'accent sur le fait que la descente n'est pas égale pour les parois cervico-urétrales antérieure et postérieure : lors d'un effort, c'est surtout la paroi postérieure qui descend avec la paroi vaginale antérieure, ce qui ouvre la lumière cervico-urétrale (**figure 2**).

Mais la transmission des pressions abdominales n'est pas seulement un phénomène d'écrasement passif : les muscles du périnée semblent jouer un rôle important dans la transmission des pressions. En effet, lors d'un effort de toux, le pic de pression urétrale survient avant le pic vésical évoquant une transmission à l'urètre précédant la transmission à la vessie, et de plus la transmission des pressions varie tout au long de l'urètre : elle est de 100 % au niveau du col vésical, inférieure à 100 % dans le premier quart de l'urètre puis supérieure à 100 % au niveau du pic de pression urétrale maximale. Il y a donc une hypertransmission chez la femme jeune (28).

La contraction des muscles du plancher pelvien participerait au mécanisme de continence à l'effort.

Deux hypothèses différentes mettent l'accent sur la musculature pelvienne pour expliquer le mécanisme de continence à l'effort : De Lancey insiste sur le rôle des muscles releveurs tandis que pour Petros et Ulmstem ce sont les muscles pubococcygiens qui se contractent et participent à la continence urétrale (28).

Ces travaux sont très importants. Ils mettent l'accent sur la partie active, musculaire de la transmission des pressions abdominales à l'urètre. Le renforcement de cette musculature est le principe même de la rééducation périnéale. Pour les chirurgiens, ces résultats ont aussi leur importance : le principe des opérations, quelle que soit la technique choisie, sera de soutenir l'urètre pour empêcher sa descente lors d'effort mais aussi de le laisser libre de contrainte au repos ou pendant les mictions, en évitant au maximum les traumatismes des structures urétrale ou pelvienne adjacente.



**Figure 2 : Illustration du mécanisme d'incontinence à l'effort par hypermobilité cervico-urétrale (28).**

A : Normalement le col vésical et l'urètre proximal sont maintenus en place par les ligaments pubo-urétraux et leurs extensions proximales.

B : Chez les patientes avec une hypermobilité cervico-urétrale, lors des augmentations de pression abdominale, le soutien postérieur est plus déficient que la fixation antérieure. Le col vésical et l'urètre s'ouvrent et une incontinence survient.

La plupart du temps, on retrouve chez les femmes souffrant d'incontinence urinaire à l'effort ce défaut de soutènement du col vésical et cette hypermobilité de l'urètre. Parfois, la position et la fixation de l'urètre ne sont pas à mettre en cause et c'est le sphincter urétral en lui-même qui est déficient : c'est l'incompétence sphinctérienne intrinsèque. Elle peut être par exemple d'origine neurologique ou traumatique.

Douglass S. HALE et ses collaborateurs (48) supportent l'hypothèse d'une contribution neurogénique à l'incontinence d'effort : d'après leurs travaux (résultats histologiques et électromyographiques comparant la structure des urètres d'un groupe de femmes saines et d'un groupe de femmes incontinentes), l'hypermobilité de l'urètre n'expliquerait pas tout. La dénervation musculaire de l'urètre pourrait contribuer au défaut de continence urétrale.

## **I. CAUSES DE L'INCONTINENCE URINAIRE A L'EFFORT CHEZ LA FEMME**

L'incontinence urinaire d'effort peut être congénitale avec une faiblesse du sphincter urétral présente dès la naissance. C'est le cas des patients atteints de myéломéningocèle, d'épispadias, de dénervation pelvienne (22).

Le plus souvent, cette incontinence est acquise. Les causes les plus fréquentes chez la femme sont les suivantes :

- Les causes traumatiques : accouchements, fracture, chirurgie pelvienne, ...
- Les causes neurologiques.
- Les causes hormonales : la ménopause et le déficit en œstrogènes.
- Les traitements par radiations.

Les facteurs favorisants sont aussi à rechercher : l'obésité, la toux chronique, la faiblesse musculaire pelvienne, la gymnastique intensive avec sollicitation des abdominaux, la constipation, le port de gaine, les infections urinaires récurrentes...

L'incontinence urinaire d'effort touche surtout les femmes âgées, ménopausées, ayant déjà eu plusieurs accouchements dont la structur

La cystographie dynamique et mictionnelle est l'examen d'imagerie de choix pour analyser la continence urinaire : on réalise tout d'abord des clichés au repos puis en Valsalva de profil, debout, membres inférieurs légèrement écartés, avec une vessie en semi-réplétion et un repère opaque marquant la filière cervico-urétrale, puis des clichés mictionnels assis de profil.

**L'incompétence cervico-urétrale** peut être définie sur des clichés de cystographie de profil en Valsalva par l'ouverture du col vésical sans mobilité de celui-ci. Les clichés mictionnels fournissent de plus un argument sémiologique fort en faveur de l'incompétence cervico-urétrale : la vésicalisation urétrale. La jonction vésico-urétrale est très large et il est difficile ou impossible de délimiter la vessie et l'urètre.

Dans les cas d'incompétences majeures, le col et l'urètre sont ouverts en permanence rendant quasiment impossible la réplétion vésicale et les clichés dynamiques, debout.

Mais l'imagerie ne permet que de visualiser une incompétence cervico-urétrale, c'est-à-dire l'ouverture trop facile de la jonction vésico-urétrale. Pour faire le diagnostic d'une **incompétence sphinctérienne intrinsèque**, concept urodynamique qui renvoie à la cause de l'incontinence, il faut corréliser aux images radiographiques évocatrices des critères urodynamiques : pression de clôture urétrale et « Valsalva leak point pressure ».

## 2. Critères urodynamiques

**La pression de clôture de l'urètre** est la différence, sur un profil de pression urétrale au repos, entre la pression maximale de l'urètre et la pression vésicale.

Le « **Valsalva leak point pressure** » (**VLPP**) est la pression abdominale la plus basse qui provoque des fuites urinaires.

Pour sa détermination, la patiente est en position gynécologique semi-assise, une sonde rectale permet de mesurer la pression intra-abdominale, une sonde vésicale mesure la pression vésicale et vérifie l'absence de contraction du détrusor. La patiente réalise des efforts de poussée par manœuvre de Valsalva. On note la pression abdominale la plus basse qui entraîne une fuite urinaire ou la pression abdominale maximale atteinte en l'absence de fuite.

Chez des patientes volontaires saines, des pressions abdominales de 250 cm d'eau n'entraînent pas de fuite (47).

Le VLPP semble corrélé à l'évaluation subjective de l'incontinence d'effort et serait un outil précieux pour la classification des différentes incontinenances d'effort (73).

Différents auteurs ont comparé ces deux paramètres (pression de clôture et VLPP) : les valeurs moyennes de ces deux tests ne sont pas corrélées, mais il existe une corrélation entre les valeurs extrêmes.

Ainsi, le diagnostic d'une insuffisance sphinctérienne intrinsèque repose sur un faisceau d'arguments qui associe une pression de clôture inférieure à 20 cm d'eau, un VLPP inférieur à 50 cm d'eau et une absence d'hypermobilité urétrale. Ces deux tests seraient donc complémentaires (47).

### 3. Classification radio-urodynamique de Mc Guire (60)

Mc Guire intègre à la fois des critères radiologiques et des critères urodynamiques. L'incompétence sphinctérienne intrinsèque est le type III de l'incontinence d'effort.

<b>Type 0</b>	Absence d'incontinence urinaire à l'effort à l'examen
<b>Type I</b>	Hypermobilité < 3cm (avec ou sans cystocèle) Pression de clôture > 20 cm d'eau
<b>Type II</b>	Hypermobilité ≥ 3 cm Pression de clôture > 20 cm d'eau
<b>Type III</b>	Echec de chirurgie préalable ou pression de clôture < 20 cm d'eau

Ainsi l'incontinence urinaire d'effort (ou incontinence de stress) est très fréquente chez les femmes venant d'accoucher ou à la ménopause. Deux mécanismes sont impliqués : la descente de l'urètre en dehors de l'enceinte manométrique abdominale et donc l'impossibilité de transmettre à cet urètre hypermobile la pression abdominale qui augmente, ou la déficience intrinsèque de l'urètre qui ne parvient pas à retenir l'urine. Mais la séparation n'est pas si nette et les deux problèmes sont souvent réunis.

Ce type d'incontinence est fréquent et handicapant car il peut se manifester lors de toute activité sitôt que la pression abdominale augmente. Les malades souffrant d'une incontinence sévère sont donc obligés de se traiter pour garder leur qualité de vie.

|

|

## **CHAPITRE II : TRAITEMENTS TRADITIONNELS DE L'INCONTINENCE URINAIRE D'EFFORT**

Le traitement commence d'abord par réduire les facteurs aggravants : traitement d'une éventuelle infection urinaire, réduction du poids, limitation de la prise de boisson, traitement des toux chroniques et arrêt du tabac (1).

Ensuite, la patiente pourra essayer les traitements conservateurs ou la chirurgie.

### **A. LA REEDUCATION PERINEALE**

C'est Arnold Kagel, chirurgien, gynécologue et obstétricien, qui a proposé au milieu du XX<sup>e</sup> siècle une approche tout à fait novatrice pour le traitement de l'incontinence urinaire féminine.

#### **1. Les objectifs :**

Le but est d'améliorer la contraction de la musculature striée du périnée, à commande volontaire, en particulier le sphincter strié urétral et les muscles releveurs de l'anus, et de renforcer cette musculature : amélioration de sa résistance, de son endurance, de son tonus de base (84).

La patiente va aussi apprendre à éviter les fuites dans les situations d'effort en pratiquant le « verrouillage périnéal », c'est-à-dire en contractant volontairement ses muscles périnéaux avant et pendant l'effort. L'acquisition de cet automatisme permet de remplacer ou de suppléer l'affaiblissement du tonus basal et de la contraction réflexe.

En revanche la rééducation n'a aucun effet sur la musculature lisse, facteur important du tonus urétral.

#### **2. Les techniques**

##### **2.1. L'électrothérapie : une technique passive**

À l'aide d'une sonde vaginale munie de deux électrodes en forme d'anneaux, le thérapeute stimule par un courant électrique les muscles et les nerfs du périnée.

Le courant électrique employé possède des caractéristiques (fréquence, durée de chaque impulsion, durée de passage du courant, durée de la période de repos, intensité) qui sont bien précises et adaptées pour chacune des indications.

L'électrostimulation est indiquée si la contraction musculaire de la patiente est inférieure ou égale à 2 sur 5 (cotation de la contraction périnéale sur une échelle de 0 à 5).

Elle est contre-indiquée en cas de maladie neurologique, au cours de la grossesse ou en présence d'un stimulateur cardiaque.

(40)

## **2.2. Les techniques actives**

Le travail doit suivre une progression dont les étapes sont clairement définies :

- Perception et prise de conscience de l'existence de la contraction des muscles du périnée.
- Acquisition de l'électivité de cette contraction : éliminer les contractions musculaires parasites en particulier le blocage abdominal et respiratoire souvent associé à la contraction périnéale dans les premiers temps.
- Amélioration de l'intensité et de la durée de la contraction : dès que la contraction est bien exécutée chez le thérapeute, les femmes peuvent s'entraîner à domicile par exemple en interrompant le jet mictionnel, c'est le « pipi-stop ».
- Acquisition du « verrouillage périnéal » : la patiente devra être capable de contracter son périnée au cours de toute circonstance responsable de fuites. C'est un véritable conditionnement, un automatisme de contraction.

Il existe deux techniques actives : la kinésithérapie et le biofeedback (40).

### **La kinésithérapie :**

C'est la technique manuelle classique : la patiente travaille activement sa musculature en luttant contre la résistance exercée par toucher vaginal par le thérapeute.

La patiente peut aussi utiliser des cônes métalliques de poids croissant à mettre dans le vagin qu'elle doit éviter de faire tomber pour compléter le travail musculaire.

La kinésithérapie doit être pratiquée si la contraction est inférieure ou égale à 2.

### **Le biofeedback**

Les électrodes intravaginales utilisées pour l'électrostimulation vont servir cette fois de capteurs et vont transformer les microcourants émis par les muscles périnéaux lors de leur contraction en un signal sonore ou visuel : la patiente pourra ainsi prendre conscience et apprécier ses contractions volontaires.

Près de la moitié des patientes qui présentent une incontinence urinaire d'effort est incapable de localiser et de contracter les muscles du plancher pelvien sur commande. Le biofeedback joue donc un rôle important dans l'identification des muscles (63).

La patiente essaiera ensuite de changer volontairement le signal et améliorera ainsi sa contraction. C'est une sorte de défi permanent.

Cette technique n'est utilisable que lorsque la contraction atteint au moins 2 sur 5.

Le programme des séances est à adapter au besoin de chaque femme. En moyenne, la durée des séances est de trente minutes dont dix à quinze minutes consacrées à l'électrothérapie. Le nombre total de séances est en général de dix à quinze.

## **3. Les indications**

### **L'incontinence urinaire d'effort :**

C'est l'indication la plus fréquente, qu'elle soit d'origine anatomique ou non. La meilleure indication est l'incontinence urinaire d'effort, discrète ou modérée, sans trouble important de la statique pelvienne.

### **L'incontinence urinaire sur urgence mictionnelle :**

Ce type d'incontinence est dû à une instabilité vésicale. L'indication de la rééducation est donc logique puisque la contraction des muscles du périnée provoque un réflexe périnéo-vésical qui peut inhiber la contraction vésicale indésirée.

La prise d'anticholinergiques et le soutien psychologique doivent aider la patiente à attendre les premiers résultats de la rééducation.

### **Prévention de l'incontinence urinaire féminine :**

La rééducation périnéale devrait être plus souvent mise à profit dans la prévention de l'incontinence urinaire au cours des différentes étapes de la vie obstétricale et génitale de la femme :

- **Dès le début de la grossesse**, les femmes devraient être prises en charge, surtout s'il s'agit de la première grossesse, si la musculature périnéale est faible ou s'il existe des antécédents d'incontinence urinaire.

- **Après l'accouchement**, la prévention doit bien sûr être poursuivie :  
Juste après l'accouchement, qu'il y ait ou non incontinence, les femmes doivent pratiquer le verrouillage périnéal et le « pipi-stop ». La gymnastique abdominale est interdite.

À la 6<sup>e</sup> semaine, les femmes qui ont présenté de l'incontinence urinaire ou qui réunissent de nombreux facteurs de risque suivent un véritable programme de rééducation périnéale.

- La rééducation périnéale devrait aussi être **pratiquée avant toute intervention disséquant la région périnéale**.

- Des séances de rééducation devraient être prescrites en même temps que les substituts hormonaux au moment de la **ménopause**.

(40)

## **4. Les résultats**

### **4.1. Effets de la rééducation sur les paramètres urodynamiques**

#### **Paramètres non modifiés :**

La littérature ne permet pas de conclure quant à la modification de la pression maximale de clôture au repos (PMC) : 16 auteurs ne trouvent pas de modification, 13 auteurs retrouvent une amélioration après rééducation.

En revanche, la grande majorité des auteurs s'accorde pour dire qu'il n'y a pas de modification de la longueur fonctionnelle ni de la pression maximale de clôture à l'effort.

#### **Paramètres modifiés :**

La pression maximale de clôture en retenue (PMC retenue) est augmentée. Ce paramètre est la pression maximale de clôture pendant la contraction des muscles pelviens en dehors d'un effort. Il représente une appréciation des forces retenues actives.

Le gain de retenue (PMC retenue – PMC) évalue la réserve de force contractile disponible de la musculature périurétrale striée. Il est augmenté après rééducation.

Ces deux paramètres rendent bien compte du renforcement musculaire pelvien et sont corrélés avec des résultats cliniques satisfaisants.

(84)

## 4.2. Taux de réussite de la rééducation périnéale

La rééducation périnéale apporte une amélioration des symptômes pour la majorité des patientes **à la fin de la période de rééducation**. 70 à 80 % des patientes sont améliorées, 40 à 50 % sont satisfaites du degré d'amélioration et 20 à 30 % sont guéries d'après différentes publications (65) (84). Cependant, l'évaluation réelle de l'efficacité de la technique reste difficile car il faudrait tenir compte de l'effet placebo et du taux de rémission spontanée, de l'ordre de 11 % chez la femme pour tout type d'incontinence urinaire (65).

D'après LIGHTNER et ITANO (65), trois études suggèrent **un maintien des bons résultats sur plusieurs années** :

- CAMMU et VAN NYLEN obtiennent 54 % de succès ou de grande amélioration après la rééducation puis 58 % à 5 ans. Dans cette étude, le succès à long terme ne semble pas lié à la poursuite des exercices par la patiente.
- BO et TALSETH ont aussi montré des progrès significatifs et stables sur 23 patientes réexaminées 5 ans après leur rééducation. 75 % ne présentaient plus de fuite lors du test d'effort provoqué, mais 70 % continuaient régulièrement les exercices.
- KLARSKOV *et al.* ont réévalué 48 patientes 4 et 8 ans après de la rééducation périnéale, de la chirurgie ou les deux combinées. Celles qui avaient répondu à la rééducation restaient guéries à long terme.

Il semblerait que le risque de rechute soit diminué par l'auto-entretien de la musculature périnéale par la patiente : pratique régulière du verrouillage périnéal à l'effort, pratique du « pipi-stop » une fois par jour, exercices de renforcement musculaire 2 à 3 minutes par jour. Certaines femmes auront besoin d'une série de séances de rééducation annuelle ou semestrielle avec leur thérapeute pour obtenir des résultats stables.

Une étude récente réalisée sur des femmes atteintes d'incontinence d'effort modérée a comparé les résultats obtenus par la rééducation périnéale seule (premier groupe de patientes) et la rééducation périnéale assistée par le **biofeedback** (deuxième groupe). Bien que les résultats soient comparables au final, une diminution significative des fuites a été obtenue plus rapidement avec le biofeedback (65).

La rééducation périnéale donne aussi de bons résultats **en prévention** de l'incontinence urinaire : une étude prospective réalisée sur des femmes en post-partum a montré que le groupe pratiquant la rééducation avait une musculature pelvienne renforcée et moins de pertes urinaires que le groupe témoin. Cependant, l'élimination des facteurs de risque (obésité, toux chronique, tabac...) est plus efficace que l'auto-rééducation pour la prévention (65).

Pour obtenir de bons résultats par la rééducation, il est important de bien **choisir les candidates**. D'une part, la motivation est primordiale : la participation active de la patiente est le facteur le plus fortement lié au taux de succès. Elle est plus importante que le type ou la sévérité de l'incontinence. D'où les difficultés rencontrées avec les patientes souffrant d'important déficit mental (65). Ensuite, certaines incontinenances d'effort ne peuvent pas être traitées par cette technique : il serait préférable d'éviter la frustration d'un échec aux femmes qui ont perdu le contrôle neurologique des muscles pelviens ou qui présentent un arrachement musculaire en pratiquant un examen clinique approfondi pour les détecter. Au contraire, les femmes qui ont perdu ce réflexe inconscient qui consiste à contracter les muscles périnéaux au cours de la toux ou celles dont les muscles se contractent normalement mais sont trop faibles obtiendront de très bons résultats par la rééducation.

La rééducation n'est donc pas à pratiquer systématiquement sur toutes les patientes (31) (65).

La rééducation périnéale ne peut pas traiter à elle seule tous les cas d'incontinence urinaire, mais elle doit être aujourd'hui considérée comme un outil précieux pour le traitement des incontinenances de la femme et devrait être plus utilisée, en particulier pour la prévention. Elle a l'avantage par rapport à d'autres techniques de ne jamais aggraver les troubles existants. C'est un traitement de première intention et qui peut s'associer à un traitement chirurgical.

Cependant, on manque encore aujourd'hui de protocole bien standardisé donnant le détail des procédures à suivre selon le type d'incontinence urinaire. La littérature est pauvre sur ce sujet : difficulté de terminologie, de méthodologie, traitements de durée variable, protocoles divers (84)...

## **B. LE TRAITEMENT MEDICAL**

### **1. Les sympathomimétiques**

La musculature lisse semble avoir un rôle prépondérant dans le maintien du tonus urétral au repos, il est donc logique de penser que les  $\alpha$ -agonistes pourraient améliorer les incontinenances d'effort en renforçant la pression urétrale (32) (96).

La pression maximale de clôture de l'urètre est en effet augmentée lors de la stimulation  $\alpha$ -adrénergique, à des niveaux variables selon les agents pharmacologiques utilisés, mais les études sont restées peu nombreuses (32).

Différents sympathomimétiques sont proposés pour le traitement de l'incontinence d'effort. Pourtant, aucun ne possède l'AMM dans cette indication (41). Le nombre limité d'études ne permet pas de prouver une efficacité suffisante : ces molécules n'ont pas pu prouver qu'elles produisaient une guérison ou une amélioration significative mais elles avaient au moins un effet égal au placebo (72).

Souvent, ces molécules sont utilisées en automédication ou prescrites pour d'autres maladies en particulier pour le traitement des affections rhinopharyngées et bronchopulmonaires (41).

Le gros inconvénient de cette classe de médicaments est leur défaut d'urosélectivité et la fréquence des effets secondaires : anxiété, insomnie, hypertension artérielle, céphalées, tremblements, palpitations, arythmies cardiaques, difficultés respiratoires. Les  $\alpha$ -agonistes sont potentiellement contre-indiqués en cas d'hyperthyroïdie, de maladie coronarienne avérée, d'hypertension artérielle, de glaucome (32).

Les résultats obtenus avec ces molécules montrent qu'elles ont un intérêt pour le traitement des incontinenances d'effort modérées mais elles ne sont pas suffisantes en cas d'incontinence avérée, ne permettant pas dans ce cas d'éviter le recours à la chirurgie (22).

Il existe des sympathomimétiques directs, qui agissent directement sur les récepteurs  $\alpha$ 1-adrénrgiques et des sympathomimétiques indirects qui agissent en augmentant la quantité de neurotransmetteurs : l'éphédrine, la pseudo-éphédrine, la phénylpropanolamine, la phényléphrine, l'oxométazoline, l'étiléfrine, la midodrine sont les plus connues. On retrouve souvent ces molécules en associations avec d'autres principes actifs (41).

**L'éphédrine, la pseudo-éphédrine et la noréfédrine** provoquent une augmentation de la pression de clôture urétrale et une amélioration clinique inconstante et variable. À cause de leurs effets secondaires, ces molécules sont déconseillées.

**La phénylpropanolamine** est le produit le plus souvent prescrit. Son efficacité périphérique potentielle est équivalente à celle de l'éphédrine, mais ses effets centraux sont minorés. Elle améliore les troubles mais ne résout totalement le problème d'incontinence que très rarement : les études randomisées à la dose de 50 mg deux fois par jour parlent de réduction de l'incontinence à des taux variables de 20 à 60 %. Ses effets secondaires sont fréquents et imposent des précautions d'emploi. Ce produit est interdit en France.

**La midodrine** est un  $\alpha$ 1-adrénrgique périphérique sélectif, utilisé pour le traitement de l'éjaculation rétrograde. Des études expérimentales ont montré que cette molécule pouvait aussi donner des résultats intéressants dans le traitement de l'incontinence urinaire d'effort. Ses effets secondaires sont essentiellement une sensation de froid ou de fourmillement, plus rarement des mictions impérieuses, voire de l'hypertension à dose élevée (41).

De nouvelles molécules sympathomimétiques qui auraient une plus grande sélectivité pour l'appareil urinaire sont actuellement à l'étude :

- D'après BUTERA et ARGENTIERI (22), Tanaguchi et son équipe ont montré que les composés qui présentaient une sélectivité pour les récepteurs  $\alpha$ 1A par rapport aux récepteurs  $\alpha$ 1B et  $\alpha$ 1D avaient une action sélective sur le tissu urétral par rapport au tissu vasculaire.
  - Le NS-49 a montré in vivo chez l'animal ses possibilités d'augmentation de la pression intra-urétrale à des doses qui ne modifient pas la pression artérielle. Ce nouvel  $\alpha$ -agoniste paraît sélectif. Son utilisation humaine fait l'objet d'une étude européenne en cours (32)
- D'autres molécules font l'objet de travaux et sont à surveiller : SDZ NVI 085, A 61603 (32).

## **2. Les œstrogènes**

### **2.1. Les œstrogènes dans la physiologie du bas appareil urinaire de la femme**

#### **2.1.1. Action des œstrogènes sur la pression urétrale**

Pour mieux comprendre le rôle joué par les hormones sexuelles, des études urodynamiques ont été réalisées sur des femmes saines et fertiles au cours des différentes périodes de leur cycle : les résultats révèlent des variations significatives des paramètres urodynamiques classiques en fonction des différentes périodes. Quand le taux d'œstrogènes circulants est élevé (phase folliculaire), la pression urétrale maximale et la longueur fonctionnelle augmentent. En revanche, quand le taux d'œstrogènes chute, le profil urétral s'abaisse (résultats de SCHREITER *et al.* en 1976 et de VAN GEELEN *et al.* en 1984, d'après WEPIERRE (96)).

L'apport d'œstrogènes exogènes modifie également les paramètres urodynamiques : BHATIA, BERGMAN et KARRAM (15) ont montré une augmentation de la pression urétrale de clôture et une amélioration de la transmission des pressions abdominales à l'urètre chez des patientes présentant une amélioration de leur incontinence d'effort après un traitement de 6 semaines par application vaginale quotidienne d'œstrogènes.

D'après les tracés urodynamiques, les œstrogènes augmenteraient donc le tonus urétral.

### **2.1.2. Mise en évidence des récepteurs aux œstrogènes dans le bas appareil urinaire**

D'après WEPIERRE (96), IOSIF et son équipe ont été les premiers, en 1981, à identifier des récepteurs aux œstrogènes dans le bas appareil urinaire : le marquage radioactif a permis de déceler des récepteurs aux œstrogènes urétraux et de suspecter la présence de ces mêmes récepteurs dans la vessie.

En 1983, BATRA et IOSIF (11) démontrent chez des lapines la présence de récepteurs aux œstrogènes dans l'urètre et dans la vessie, identiques aux récepteurs du vagin et de l'utérus. Cependant les concentrations en récepteurs cytoplasmiques ou nucléaires sont 10 fois et 20 fois inférieures respectivement pour l'urètre et pour la vessie par rapport aux concentrations retrouvées dans l'utérus.

De nombreux organes possèdent des sites de liaison à haute affinité pour les œstrogènes mais seuls certains tissus comme l'utérus, le vagin, les glandes mammaires sont véritablement stimulés par les hormones sexuelles et sont considérés comme des organes cibles. On considère que si la réponse des organes cibles est le résultat d'une interaction entre l'hormone et des récepteurs tissulaires, alors l'organe cible doit posséder plus de récepteurs que les autres organes. Il n'y a pas de minimum établi pour le nombre de récepteurs requis pour qu'un tissu soit considéré comme un tissu cible. Les travaux réalisés par BATRA et IOSIF en 1983 laissaient supposer que l'urètre était un véritable tissu cible des œstrogènes puisque son poids doublait après un traitement de seulement 4 jours aux œstrogènes tandis que la vessie ne devait certainement pas être un tissu cible car son poids avait peu varié au cours du traitement œstrogénique (11).

D'autres expérimentations ont prouvé que la vessie possédait plus de récepteurs aux œstrogènes que le foie qui est pourtant considéré comme un organe cible. Donc, la vessie serait elle aussi un organe cible des œstrogènes (96).

### **2.1.3. Action des œstrogènes sur le bas appareil urinaire**

#### **2.1.3.1. Action trophique**

Chez la lapine, on a montré que l'administration d'œstrogènes doublait le poids de l'urètre et augmentait seulement de 25 % le poids de la vessie (11).

Chez la femme, les œstrogènes entraînent une prolifération de la muqueuse urétrale qui est dite « hormonodépendante ». Des expérimentations ont montré que les œstrogènes agissent à la fois sur la muqueuse urétrale et sur le muscle urétral (expérimentations de FABER et HEIDENREICH en 1977 et de LINDSKOG *et al.* en 1982, d'après WEPIERRE (96)).

Cette action trophique des œstrogènes sur le bas appareil urinaire est indéniable mais semble tout de même limitée : l'effet des œstrogènes sur l'urètre et la vessie est beaucoup moins important que sur le vagin ou l'utérus.

### 2.1.3.2. Action sur le système vasculaire

D'après WEPIERRE (96), BATRA *et al.* ont montré que le flux sanguin urétral, vaginal et utérin est augmenté après seulement deux heures de traitement aux œstrogènes à faible dose chez la lapine.

Chez la femme, la vascularisation urétrale dépend aussi des œstrogènes : au cours des augmentations physiologiques du taux sanguin d'œstrogènes, on note une augmentation des pulsations vasculaires urétrales (résultats de VAN GEELEN *et al.*, d'après WEPIERRE (96)).

En fait l'action des œstrogènes sur leurs organes cibles peut être divisée en deux phases : la phase vasculaire immédiate avec augmentation de la perméabilité vasculaire, augmentation de la perfusion des tissus et œdème, puis une deuxième phase qui n'apparaît qu'après une douzaine d'heures de traitement aux œstrogènes avec accroissement de la masse cellulaire. Comme le vagin et l'utérus, l'urètre est un tissu sensible à des faibles doses d'œstrogènes surtout pour la réponse immédiate

Ainsi les œstrogènes pourraient augmenter la pression urétrale par leur action vasculaire.

### 2.1.3.3. Action sur le système nerveux

#### Système sympathique, fibres $\alpha$ -adrénergiques

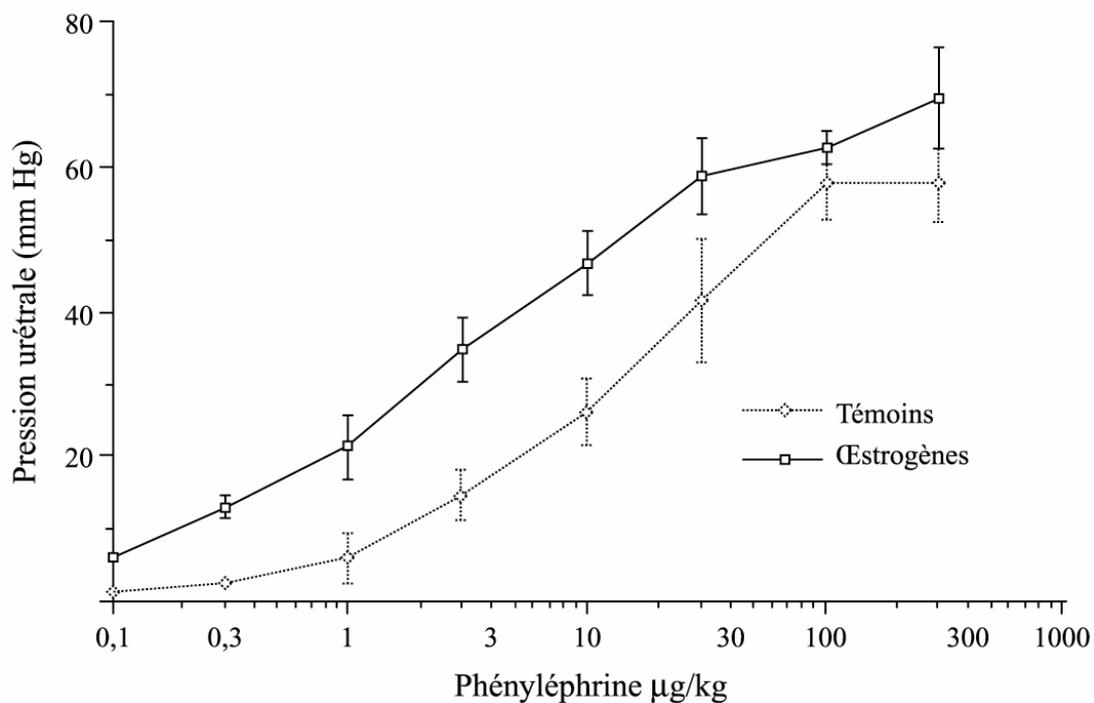
Quand on associe à la phényléphrine un traitement au diéthylstilboestrol, la courbe de réponse urétrale à la phényléphrine chez la chienne castrée est déviée sur la gauche sans qu'il y ait de modification de la pression urétrale maximale ni de l'allure générale du tracé (**figure 3**) Ceci montre qu'en présence de diéthylstilboestrol, l'urètre est plus sensible à la phényléphrine.

L'augmentation de sensibilité de l'urètre à la phényléphrine ou à la noradrénaline en présence d'œstrogènes peut s'expliquer par une **augmentation du nombre des récepteurs  $\alpha$**  dans le muscle lisse urétral. En effet, diverses expérimentations animales ont montré une véritable multiplication des récepteurs  $\alpha$  dans l'urètre. Cette multiplication n'est pas seulement due à l'effet trophique avec augmentation de taille et de nombre des cellules mais aussi à une augmentation de la densité des récepteurs.

L'augmentation de réponse  $\alpha$ -adrénergique pourrait aussi être due à la **modification des échanges membranaires** de calcium et à la modification du potentiel de repos des cellules musculaires lisses urétrales.

**Les œstrogènes empêcheraient aussi la recapture de la noradrénaline** au niveau de la synapse neuronale ce qui entraînerait une prolongation de l'effet  $\alpha$ -adrénergique. Cet effet des œstrogènes a été prouvé au niveau de l'aorte, des artères coronaires, de la trachée et du myocarde et pourrait peut-être être extrapolé au niveau du muscle urétral.

Ainsi, les œstrogènes augmentent la sensibilité aux  $\alpha$ -adrénergiques par divers mécanismes complémentaires (96) (**figure 4**).



Le traitement correspond à l'administration de stilbœstrol (1 mg/j) pendant 3 semaines. Les barres d'erreurs correspondent à l'écart à la moyenne de valeurs sur 1 semaine.

**Figure 3 : Courbe dose-réponse à la phényléphrine de la pression urétrale avant et après traitement aux œstrogènes d'une chienne castrée (résultats de CREED en 1983, d'après WEPIERRE (96)).**

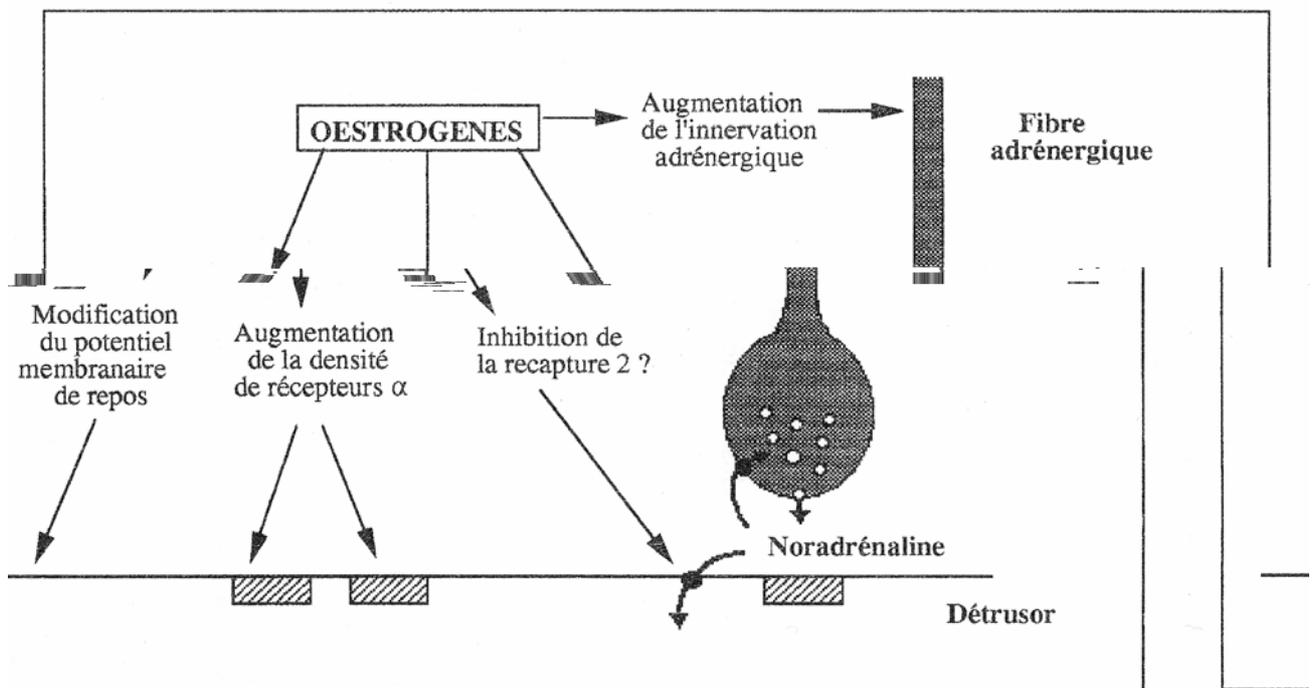


Figure 4 : Intervention des œstrogènes sur la réponse adrénergique (96).

## **Système parasympathique, fibres cholinergiques**

Diverses études réalisées sur des animaux ont montré que sous traitement œstrogénique le nombre de récepteurs cholinergiques du corps vésical diminuaient dans un premier temps puis remontaient dans un second temps. Mais la baisse de densité des récepteurs cholinergiques est compensée par l'action trophique des œstrogènes sur le tissu vésical et finalement il y a peu de modification du nombre global des récepteurs cholinergiques.

## **Mécanismes NANC**

On suspecte un effet des œstrogènes sur les systèmes NANC, mais rien n'est encore démontré.

### **2.1.4. Autorégulation des œstrogènes**

Après un traitement long aux œstrogènes (dès une semaine) on note une chute du nombre des récepteurs au niveau de l'utérus et du vagin mais aussi dans une moindre mesure au niveau de l'urètre et de la vessie (12) (96).

### **2.1.5. Interaction œstrogènes-progestérone**

La progestérone n'aurait aucune influence sur la sensibilité de l'urètre à la phényléphrine. En revanche, elle apparaît comme un stimulant  $\beta$ -adrénergique (96).

La progestérone diminue le nombre de récepteurs œstrogéniques dans l'appareil urogénital (96). De plus, son administration à des lapines ayant reçu un traitement œstrogénique préalable produit une chute de l'activité péroxydasique des tissus urogénitaux. Cette activité péroxydasique est le marqueur de la croissance induite par les œstrogènes. Elle joue donc un rôle antagoniste à celui des œstrogènes dans le bas appareil urinaire (12).

L'association de progestérone au traitement œstrogénique de l'incontinence urinaire diminuera donc les effets des œstrogènes.

### **2.1.6. L'hypoœstrogénisme comme cause de l'incontinence urinaire d'effort**

La baisse du taux d'œstrogènes à la ménopause entraînerait une atrophie urétrale responsable de l'incompétence sphinctérienne et des fuites urinaires à l'effort (96) :

- Après privation en œstrogènes, l'épithélium urétral devient fin et la muqueuse urétrale perd de sa souplesse.
- Le tissu conjonctif périurétral devient plus sclérotique, l'urètre est plus rigide, plus court, sa mobilité est réduite, la transmission des pressions abdominales est moins bonne. On note une chute des résistances urétrales.
- Le plexus vasculaire sous-muqueux s'atrophie chez les femmes ménopausées.
- La privation en œstrogènes peut aussi entraîner un affaiblissement de la musculature lisse : les œstrogènes n'exercent plus leur effet trophique et la sensibilité  $\alpha$ -adrénergique est diminuée.

- A la ménopause, les muscles du plancher pelvien et les ligaments du bassin perdent de leur tonus ce qui peut entraîner une descente du col vésical hors de l'enceinte manométrique abdominale.

L'hypoœstrogénisme est certainement un des facteurs de l'apparition de l'incontinence urinaire d'effort chez la femme ménopausée, mais l'exact mode d'action des œstrogènes sur l'urètre reste à élucider.

## **2.2. Utilisation des œstrogènes dans le traitement de l'incontinence urinaire de la femme ménopausée**

Les femmes ménopausées et les femelles castrées souffrent beaucoup plus fréquemment d'incontinence urinaire que les femelles « entières ». Le rôle des œstrogènes dans le bas appareil urinaire laisse à penser qu'une substitution hormonale pourrait améliorer les symptômes des femmes ménopausées incontinentes.

Les œstrogènes sont donc utilisés empiriquement depuis longtemps pour le traitement de l'incontinence urinaire de la femme ménopausée, mais leurs effets dépassent largement leurs objectifs urinaires : effets bénéfiques également pour la prévention des infarctus et de l'ostéoporose en particulier (72).

L'utilisation des œstrogènes est très fréquente, le plus souvent en association avec des  $\alpha$ -mimétiques. Les substances peuvent être employées par voie orale (dérivés de l'estriol et de l'estrone) ou par voie locale, sous forme de gels vaginaux (estriol et promestriène). Les doses et les modalités d'emploi sont à adapter à chaque individu. La voie locale présente l'avantage d'être efficace sur le plan génito-urinaire sans entraîner de retentissement systémique. Les œstrogènes locaux, prescrits en association avec de la rééducation, ont une action trophique sur le bas appareil urinaire (41).

Les effets secondaires des œstrogènes sont bien connus : nausées, hyperthermie, jambes et poitrine douloureuses, hyperlipidémie, cancers de l'utérus ou du sein, toxicité médullaire (96). L'utilisation de la voie locale ou de molécules peu rémanentes permet de limiter leurs effets secondaires. Les œstrogènes sont contre-indiqués chez les patientes atteintes ou suspectes de cancer de l'utérus ou du sein (72). L'association avec de la progestérone permet de limiter la stimulation de l'endomètre par les œstrogènes qui peut conduire à un cancer de l'utérus (22) (72).

L'amélioration subjective des symptômes après traitement œstrogénique est décrite chez 34 à 75 % des femmes traitées selon une administration locale ou générale, de durée et à doses variables. Chez certaines femmes, la continence est retrouvée (15) (96).

Il est effectif et démontré à l'heure actuelle, qu'il existe un effet synergique des œstrogènes et des  $\alpha$ -adrénergiques dans leur efficacité sur l'incontinence à l'effort de la femme ménopausée. Aux Etats-Unis, on recommande l'utilisation combinée des œstrogènes (oraux ou locaux) et de la phénylpropanolamine quand la monothérapie n'a pas donné de résultats (32). L'association ne doit pas être employée en première intention car elle augmente considérablement le risque d'effets secondaires.

D'après WEPIERRE (96), WILSON et son équipe ont mené, en 1987, une étude en double aveugle sur des femmes ménopausées et incontinentes à l'effort : l'amélioration de l'incontinence urinaire remarquée après traitement aux œstrogènes dans le premier groupe n'était pas significativement différente de celle obtenue avec le placebo dans le deuxième groupe. La rechute a eu lieu trois mois après l'arrêt du traitement dans les deux groupes et les profils urétraux étaient identiques.

Plus récemment, on a montré que chez des femmes ménopausées, l'utilisation à fortes doses d'œstrogènes permettait d'obtenir des taux circulants supérieurs à ceux de femmes préménopausées sans pour autant obtenir la rémission des symptômes.

En fait le mécanisme d'action des œstrogènes est encore mal connu et la substitution hormonale est encore l'objet d'une controverse. Cependant les bénéfices que l'on obtient en pratique chez les femmes ménopausées, certainement en partie dus à leur effet placebo, poussent à continuer de les prescrire. Il faut tout de même bien mesurer les bénéfices réellement obtenus et les risques d'effets secondaires avant l'emploi à long terme.

Depuis 1987, d'autres études ont montré que l'amélioration apportée par les œstrogènes était significativement supérieure à celle du placebo (72).

### **3. l'Imipramine**

L'imipramine (Tofranil®) renforce le tonus urétral et relaxe la vessie par ses propriétés  $\alpha$ -adrénergiques et anticholinergiques (72). Chez la femme ménopausée souffrant d'incontinence urinaire d'effort, son effet anti-dépresseur est très important (96).

Deux études non contrôlées ont montré son intérêt dans l'incontinence d'effort (72).

Ses effets secondaires (nausées, insomnie, faiblesse, fatigue, hypotension) et les interactions médicamenteuses en limitent l'utilisation (96).

L'imipramine est le plus souvent utilisée comme traitement alternatif quand les traitements de première intention n'ont pas donné de résultat.

## **4. Autres traitements**

### **4.1. $\beta$ -bloquants**

En théorie ils pourraient augmenter le tonus urétral en potentialisant ou en démasquant un effet  $\alpha$ -adrénergique, mais aucune étude n'a prouvé leur efficacité dans l'incontinence urinaire.

L'augmentation du tonus urétral par le propranolol par exemple est inconstante et s'accompagne de fréquents effets secondaires, cardiovasculaires en particulier (96). Leur utilisation n'est pas recommandée (72).

### **4.2. Duloxétine**

C'est une molécule à double effet sur la fonction noradrénergique et sérotoninergique. D'après DENYS et CHARTIER-KASTLER (32), THOR et KATOFIASC ont démontré chez l'animal que la molécule provoquait une augmentation de la capacité vésicale et du tonus sphinctérien par son effet central.

Un premier protocole en double aveugle contre placebo a été réalisé aux Etats-Unis sur une grande population de patientes atteintes d'incontinence urinaire d'effort ou d'incontinence mixte. Les résultats montraient une amélioration significative des paramètres mesurés.

La molécule est encore en cours de développement.

### **4.3. Agonistes et antagonistes sérotoninergiques**

D'après BUTERA et ARGENTIERI (22), MEDINNOVA a montré l'efficacité des composés agonistes des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> (buspirone) pour le traitement de l'incontinence urinaire et fécale. Les cas qui sont présentés montraient que le buspirone était surtout efficace sur les patientes atteintes d'incontinence urinaire d'effort en augmentant la tonicité du sphincter urétral.

Au contraire, d'autres chercheurs ont publié l'intérêt des antagonistes des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> dans le traitement de l'incontinence urinaire et l'instabilité vésicale.

Les investigations continuent dans ce domaine.

### **4.4. Vasopressine**

Des études ont montré que le ratio mictions diurnes sur mictions nocturnes était de 2 sur 1 chez les jeunes personnes tandis qu'il avait tendance à s'inverser chez les personnes âgées. Ceci serait dû à une diminution de la production de vasopressine pendant la nuit.

La desmopressine est un analogue de la vasopressine qui a des propriétés antidiurétiques sur le rein.

Jusqu'à présent, peu d'études ont été réalisées pour mesurer l'effet de cette molécule sur les patients atteints d'incontinence urinaire nocturne. On ne sait pas encore quel type d'incontinence répondra le mieux à ce traitement. D'autres investigations sont nécessaires avant de pouvoir l'utiliser couramment (72).

### **4.5. Molécules des systèmes NANC**

De nombreuses études animales et humaines ont montré que des composés endogènes, les transmetteurs NANC (l'histamine, la sérotonine, les acides aminés, les peptides, les purines, les prostaglandines, le monoxyde d'azote, les canaux potassiques) contribuent à la régulation du tonus urétral. Leur rôle n'est pas clairement précisé.

Aucun médicament du système NANC n'a l'AMM pour le traitement des troubles vésicosphinctériens. Cependant il est important de les connaître car leur association avec des  $\alpha$ -agonistes peut être à l'origine d'une interaction médicamenteuse avec effet synergique ou antagoniste (41).

#### **4.6. Raloxifène**

D'après BUTERA et ARGENTIERI (22), ELI LILLY a proposé un groupe de molécules (appelées raloxifène) pour le traitement de l'incompétence sphinctérienne. Le raloxifène possède un effet agoniste des œstrogènes sur certains récepteurs œstrogéniques (en particulier au niveau de l'os). D'après certaines publications, le raloxifène aurait peu d'activité sur l'utérus et son utilisation devrait donc comporter peu de risques d'hyperplasie ou de cancer de l'utérus. Mais il n'est pas prouvé que cette molécule ait réellement une activité œstrogénique significative sur l'urètre.

L'incontinence urinaire d'effort est une maladie pour laquelle peu de médicaments ont montré une réelle efficacité, aucun n'a l'AMM pour cette indication.

De nombreuses molécules sont en cours de développement : la recherche s'attache en particulier à trouver des molécules  $\alpha$ -adrénergiques plus sélectives et présentant donc moins d'effets secondaires.

La prise en charge médicamenteuse en association ou non à la rééducation est souvent insuffisante. Le recours à la chirurgie est inévitable pour les incontinenances sévères.

### **C. LE TRAITEMENT CHIRURGICAL TRADITIONNEL**

Le traitement chirurgical est indiqué pour des patientes motivées et souffrant d'une incontinence significative créant un véritable problème hygiénique ou social, le traitement médical associé à la rééducation n'ayant pas suffi.

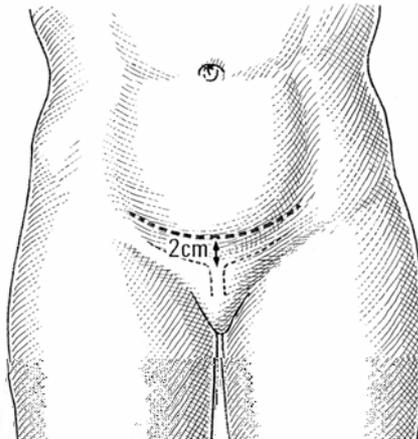
Les objectifs de toute intervention visant à corriger l'incontinence d'effort sont la réintégration du col vésical dans l'enceinte manométrique abdominale et son soutènement afin qu'il ne puisse la quitter lors de l'effort, et/ou l'augmentation de la résistance des parois urétrales face à l'écoulement d'urine en créant une compression. Ceci en évitant de léser l'urètre et son sphincter.

Il existe à l'heure actuelle de très nombreuses techniques chirurgicales décrites dans la littérature pour le traitement de l'incontinence urinaire d'effort. Dans cette partie, nous ne décrirons que les plus couramment utilisées.

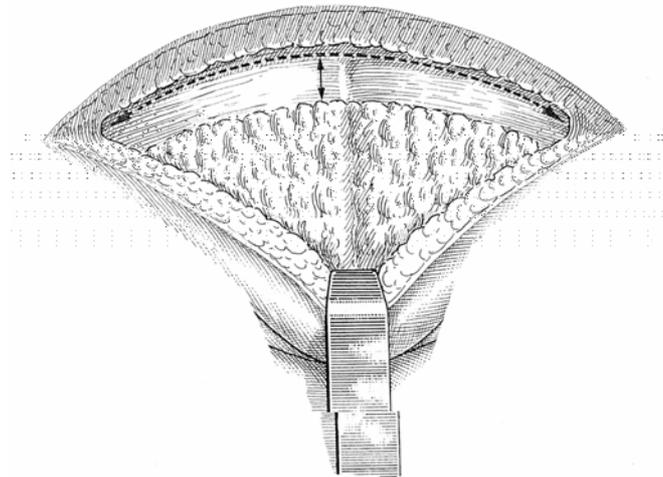
#### **1. Soutènement du col vésical par bandelette aponévrotique**

##### **1.1. Technique**

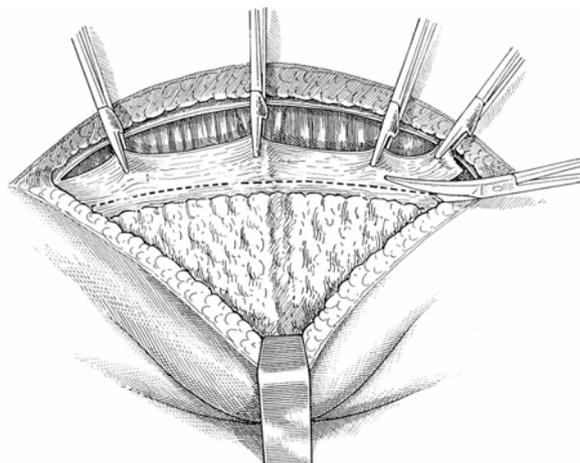
L'opération consiste à prélever une bandelette aponévrotique de 10-12 cm de long et de 1 cm de large sur les muscles grands droits de l'abdomen en pratiquant une incision de Pfannenstiel 2 cm au-dessus de la symphyse pelvienne, puis par un abord à la fois vaginal et abdominal, placer cette bandelette sous le col vésical de manière à le soutenir (**figures 5 à 13**). La bandelette passe sous le col vésical puis remonte de chaque côté du col à travers une incision pratiquée dans la paroi vaginale antérieure et vient s'attacher finalement sur les ligaments de Cooper droit et gauche. L'utilisation d'un endoscope permet de repérer précisément la projection du col vésical sur la paroi vaginale antérieure et donc de placer correctement la bandelette.



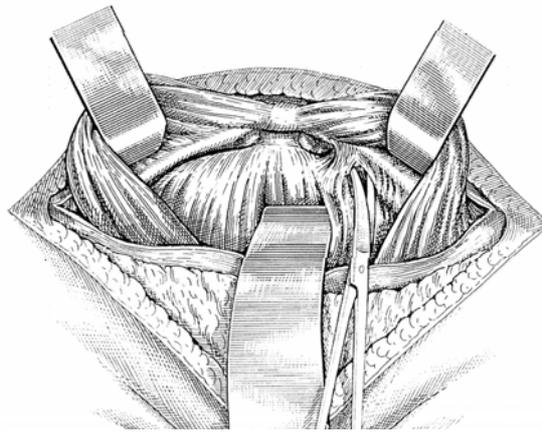
**Figure 5 : Soutènement aponévrotique du col vésical.**  
 Incision de Pfannenstiel sur 10 à 12 cm de long, à 2 cm au-dessus de la symphyse pubienne.



**Figure 6 : Soutènement aponévrotique du col vésical.**  
 Libération de la face antérieure du futur lambeau aponévrotique de toute attache grasseuse sur une hauteur de 2 cm.

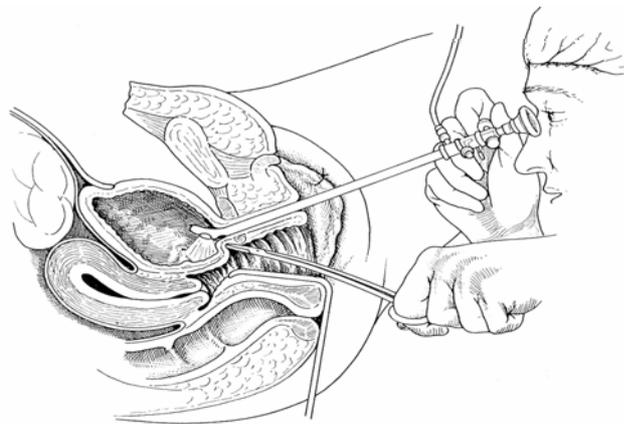


**Figure 7 : Soutènement aponévrotique du col vésical.**  
 Prélèvement d'une bandelette sur 10 à 12 cm de long et 1 cm de large.



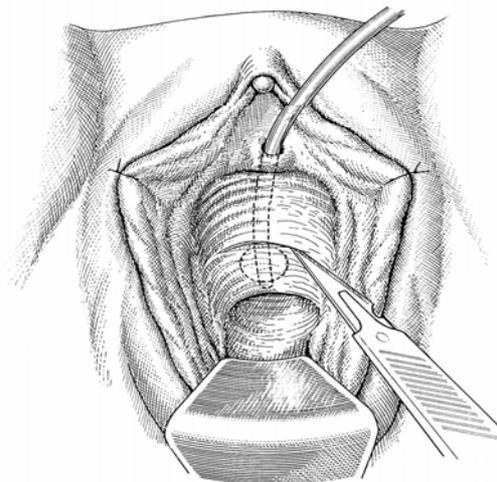
**Figure 8 : Soutènement aponévrotique du col vésical.**

Mise à nu de l'extrémité interne du ligament de Cooper et libération de la partie basse de la vessie, de la partie initiale de l'urètre et de la face antérieure du vagin, de part et d'autre de l'urètre.



**Figure 9 : Soutènement aponévrotique du col vésical.**

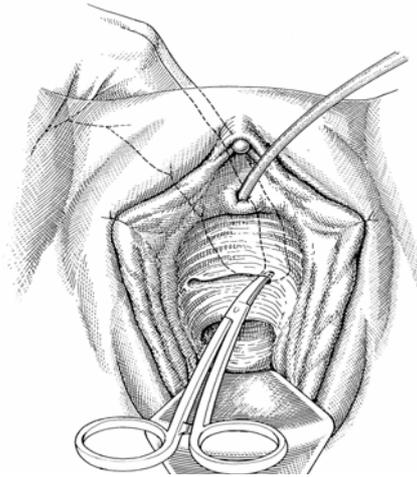
Repérage endoscopique de la lèvre postérieure du col vésical. Une pince courbe à petites griffes saisit la paroi vaginale, exactement en regard du col.



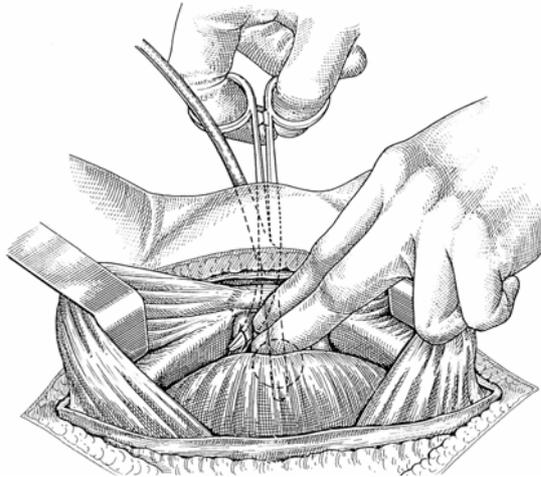
**Figure 10 : Soutènement aponévrotique du col vésical.**

Incision transversale sur toute la largeur de la paroi antérieure du vagin à la hauteur exacte du point précédemment pincé. Rester dans l'épaisseur de la paroi vaginale.





**Figure 11 : Soutènement aponévrotique du col vésical.**  
Perforation du vagin aux angles latéraux de l'incision.



**Figure 12 : Soutènement aponévrotique du col vésical.**  
Perforation vaginale. La main endopelvienne de l'opérateur palpe le ballonnet et la sonde urétrale qui indiquent la position de l'urètre et du col vésical.

**Figure 13 : Soutènement aponévrotique du col vésical.**  
Amarrage des extrémités de la bandelette aponévrotique libre aux extrémités distales des ligaments de Cooper.

Le temps le plus délicat de l'intervention est la mise en tension de la bandelette sous le col : à l'aide d'un fil non résorbable 00, l'extrémité gauche de la bandelette est fixée à l'extrémité interne du ligament de Cooper gauche. Le contrôle endoscopique permet la mise en traction correcte de la bandelette : la mise en traction doit s'arrêter dès que la lèvre postérieure du col est soulevée. On ne peut admettre qu'un soulèvement léger de cette lèvre postérieure, il ne faut pas se laisser tenter par un supplément de tension. L'extrémité droite de la bandelette est ensuite suturée au ligament de Cooper droit.

(39)

## **1.2. Résultats**

La technique de soutènement du col vésical par une bandelette est particulièrement adaptée à l'incontinence urinaire d'effort de type III, c'est-à-dire avec une incompétence sphinctérienne intrinsèque de l'urètre car elle assure une compression de l'urètre. Elle donnera en effet de bons résultats chez des patientes présentant une pression urétrale préopératoire très basse ou lors d'échec à une première intervention chirurgicale qui a soulevé le col.

Outre le fascia des muscles grands droits de l'abdomen, d'autres matériels autologues peuvent être utilisés en bandelettes : le fascia lata, la paroi vaginale antérieure pour les plus utilisés, mais aussi le ligament rond, la bandelette de peau, les muscles gracile, élévateur de l'anus, adducteur, biceps.

Les matériaux synthétiques utilisés sont le mersilène (Dacron), le Gore-Tex, le polytétrafluoroéthylène, le silicone.

D'après une étude récente, sur 247 femmes traitées à l'aide d'une bandelette aponévrotique, 92 % étaient satisfaites de la procédure. Cette technique donne donc de très bons résultats.

(97)

## **1.3. Complications**

Le **tableau 1** présente les complications rencontrées lors de l'utilisation de différentes bandelettes.

La rétention urinaire prolongée se produit chez 2 à 12 % des patientes et peut nécessiter une révision chirurgicale.

Chez 3 à 24 % des patientes, une instabilité vésicale apparaît. Cela peut s'expliquer par le fait que l'urètre était fortement incompétent avant la chirurgie et qu'il acquiert soudainement la capacité à retenir l'urine. Ceci peut provoquer des symptômes d'urgence mictionnelle. Il faut savoir que l'instabilité vésicale est présente chez 40 à 55 % des femmes présentant une incontinence d'effort. Il est donc important de diagnostiquer ces cas avant l'intervention chirurgicale pour ne pas les confondre avec des cas de complications post-opératoires.

Les complications liées à l'incision sus-pubienne telles que les abcès, les hématomes, les déhiscences de plaie, les douleurs apparaissent chez 0 à 20 % des patientes et sont surtout retrouvées avec les matériaux synthétiques.

L'érosion de la paroi vaginale, la formation de fistules, l'ostéite du pubis ainsi que la section de l'urètre sont des complications dues à l'utilisation de matériaux synthétiques. (97)

Auteurs	Matériel utilisé	Rétention urinaire prolongée	Incontinence avec urgence mictionnelle	Complications de la plaie sous-pubienne	Erosion de la paroi vaginale, tissu de granulation	Erosion ou section urétrale	Retrait de la prothèse
Morgan et al. 1999	FGD	2%	7%	0.8%	0	0	0
Chaikin et al. 1998	FGD	2%	3%	0.3%	0	0	0
Wright et al. 1998	FGD	3%	10%	0	0	0	0
	FL	2%	10%	0	0	0	0
Govier et al. 1997	FL	6%	9%	0	0	0	0
Barbalias et al. 1997	FGD	0	?	?	0	0	0
	G	0	12%	?	0	12%	12%
Litwiller et al. 1997	PV	12%	9%	2%	0	0	0
Zaragova 1996	FGD	0	12%	5%	0	0	0
Weinberg et Ostergard 1995	PTFE	0	24%	20%	25%	0	22%

FGD : fascia des muscles grands droits FL : fascia lata G :Gore-Tex PV : paroi vaginale PTFE : polytétrafluoroéthylène

**Tableau 1 : Complications associées aux bandelettes sous-urétrales, selon le matériel utilisé (97).**

Le soutènement du col par bandelette est une des techniques de choix pour le traitement de l'incontinence d'effort. Elle s'adresse surtout aux patientes présentant une incompétence sphinctérienne urétrale intrinsèque. Les matériaux synthétiques ne sont pas recommandés.

## **2. Soutènement du col vésical par colposuspension rétropubienne de Burch**

La colposuspension de Burch est une modification de la technique de Marshall-Marchetti-Krantz (MMK) de 1949. Dans la technique de MMK, les sutures étaient fixées au cartilage de la symphyse pelvienne ou au fascia des muscles droits de l'abdomen. Burch a préféré les fixer aux ligaments de Cooper.

### **2.1. Technique de la colposuspension de Burch**

Le but est d'amarrer le vagin rétro cervical de telle sorte que le col ne puisse plus descendre lors de l'effort. La paroi vaginale antérieure rétro cervicale jouerait le rôle d'une balançoire sur laquelle le col serait assis : les cordes de la balançoire seraient les fils non résorbables de la colpopexie et le montant fixe de la balançoire serait la paroi antérieure du bassin représentée par les ligaments de Cooper.

Le but est de soutenir le col sans le suspendre, sans l'étrangler ni le comprimer en préservant la liberté de jeu de l'appareil vésicosphinctérien.

La dissection rétropubienne préalable permet d'obtenir un col souple en position normale, une libération de la paroi vaginale antérieure de part et d'autre de l'urètre et de la vessie sans toucher de près à la jonction urétrovésicale, et enfin une mise à nu de la partie interne des ligaments de Cooper (**figure 14**).

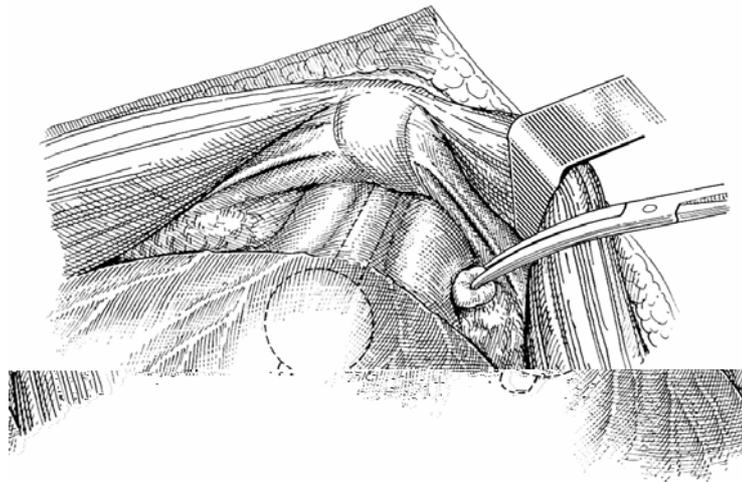
À l'aide d'un fil non résorbable 00, deux points sont passés de chaque côté dans la paroi vaginale, l'un en dehors du col et l'autre en dehors du premier centimètre de l'urètre. Chacun des fils est passé dans le ligament de Cooper correspondant puis les fils sont tous noués (**figures 15 à 18**). Il ne faut pas plaquer la paroi vaginale contre le pubis mais bien laisser deux haubans qui maintiendront le col en bonne position. Des fils trop tendus peuvent provoquer de la dysurie et cisailent les tissus. Une uréthro-cystoscopie permettra de vérifier qu'aucun fil n'a pénétré la vessie et que la traction de la lèvre postérieure du col n'est pas excessive.

(39)

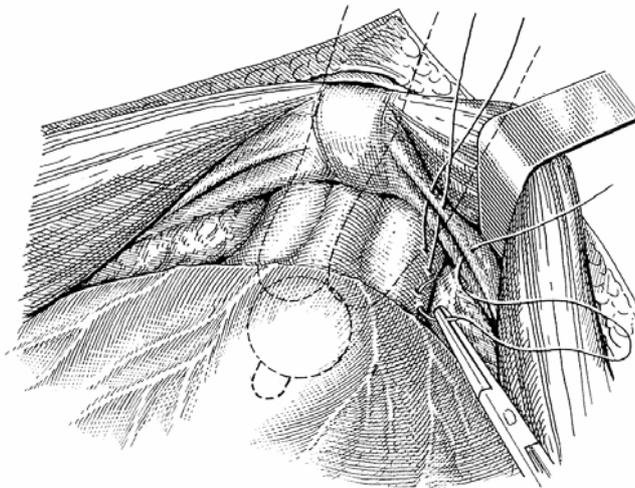
### **2.2. Résultats**

Les techniques de colposuspension par voie abdominale (colposuspension de Burch décrite précédemment mais aussi colposuspension de Marshall-Marchetti-Krantz) restent **les techniques de référence** pour traiter les incontinenances urinaires d'effort avec hypermobilité du col et sans incompétence sphinctérienne intrinsèque (pour lesquelles les bandelettes sont mieux adaptées).

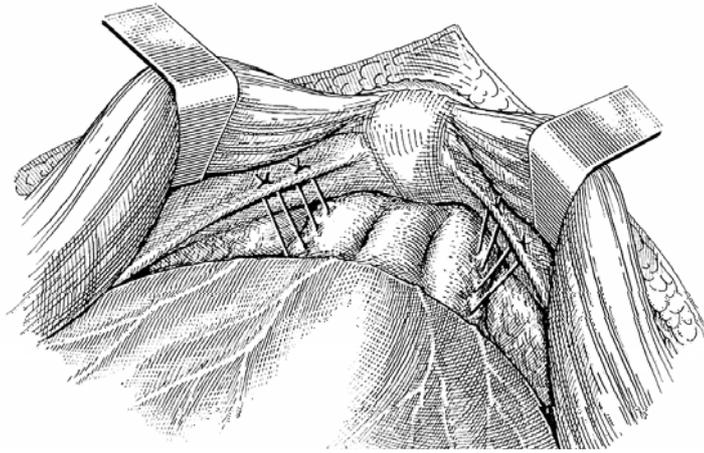
Ce type de colposuspension permet d'obtenir des taux de succès objectifs de 80 % auxquels s'ajoutent des patientes améliorées et satisfaites de l'amélioration. 15 % des patientes restent incontinentes. Ces échecs sont dus à un défaut dans la technique chirurgicale, à une instabilité vésicale présente avant l'opération ou apparue après l'opération. **Le taux de succès décroît en revanche rapidement lorsque la patiente a déjà subi des interventions au préalable (55).**



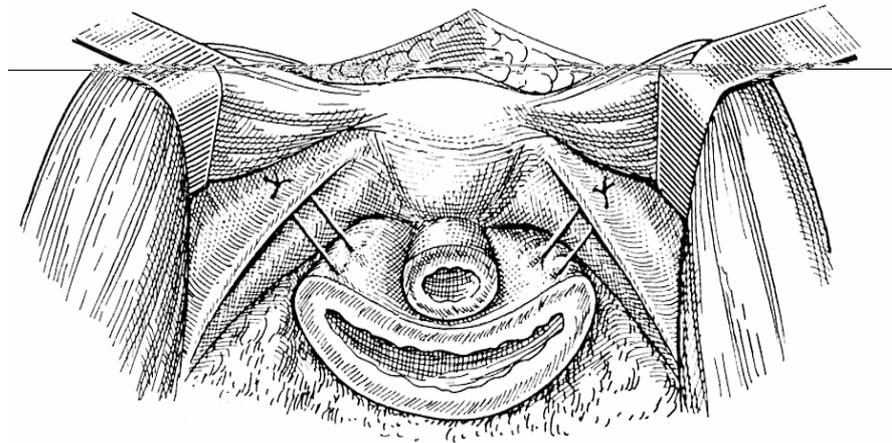
**Figure 14 : Colpopexie rétropubienne.**  
Dissection rétropubienne du vagin, latéro-urétrale et latéro-cervicale.



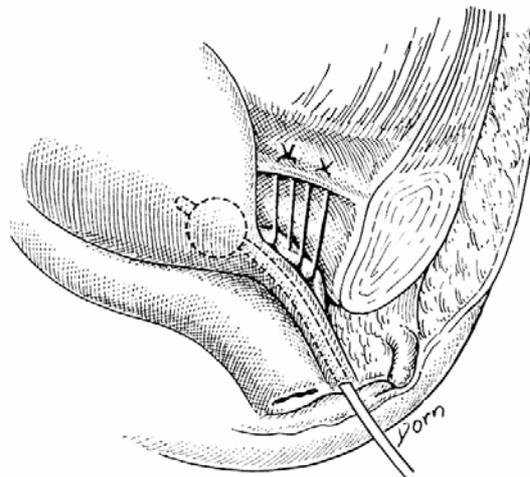
**Figure 15 : Colpopexie rétropubienne.**  
Passage de deux points solides de fil non résorbable, dans l'épaisseur de la paroi vaginale. Le fil supérieur en regard du col. Le fil inférieur 1 centimètre plus bas. Se servir de l'aiguille pour repasser les brins dans le ligament de Cooper correspondant. o



**Figure 16 : Colpopexie rétropubienne.**  
 Nouer les haubans en assurant une traction juste suffisante pour remonter le col dans sa situation anatomique normale.



**Figure 17 : Colpopexie rétropubienne.**  
 Coupe transversale en fin d'opération.



**Figure 18 : Colpopexie rétropubienne.**  
 Coupe sagittale en fin d'opération.

### **2.3. Complications**

La dissection de l'espace rétropubien peut s'accompagner d'hémorragies surtout si d'autres opérations ont déjà été réalisées dans la région car les tissus sont remaniés.

Une bactériurie post-opératoire est fréquente et due à la contamination de la vessie par les cathéters.

2 à 3 % des patientes dont les sutures sont accrochées au pubis (technique de Marshall-Marchetti-Krantz) présentent une ostéite du pubis dont la cause est inconnue (55) (95). L'ostéite infectieuse est rare.

Toute chirurgie pelvienne prédispose au développement de thrombophlébite ou d'embolie pulmonaire. Il faut en tenir compte chez les patientes à risques.

Les lésions de l'appareil urinaire sont rares (moins de 5 % des cas) (55) (95). Elles arrivent surtout quand la dissection est rendue difficile par des chirurgies préalables.

Les colposuspensions rétropubiennes entraînent 15 à 20 % de rétention urinaire : la cathétérisation vésicale jusqu'à l'obtention d'un volume post-mictionnel inférieur à 100 mL est conseillée afin de ne pas provoquer de distension vésicale. Cette rétention urinaire est associée à toute opération de cystourétopexie : elle est le plus souvent due à une correction chirurgicale excessive. Dans de rares cas, la rétention urinaire se prolonge et peut mener à la révision de la chirurgie (55).

L'instabilité vésicale peut être guérie ou non par la colposuspension rétropubienne. Chez 10 à 15 % des patientes, c'est une complication qui apparaît à la suite de la chirurgie en relation avec l'obstruction urétrale créée (55).

Le développement d'un entérocele touche 3 à 17 % des opérées. Il est le plus souvent dû à l'aggravation de la faiblesse de la paroi vaginale postérieure (95).

Des difficultés d'ordre sexuel peuvent être dues à la constriction et au raccourcissement du vagin.

### **2.4. La colposuspension par laparoscopie**

Les colposuspensions de MMK ou de Burch peuvent être réalisées par laparoscopie. Cette technique mini-invasive fut décrite pour la première fois en 1991. Les avantages de la technique sont une meilleure visualisation du champ opératoire, un meilleur accès à l'espace de Retzius, une diminution des pertes de sang per-opératoires, une diminution des analgésiques utilisés en post-opératoire, un séjour hospitalier plus bref avec des patientes qui se remettent plus rapidement (70) (95).

Le taux de succès à court terme reste aussi élevé que celui des techniques traditionnelles : les taux des succès publiés varient de 69 à 100 % avec la plupart du temps de taux supérieurs à 80 % (70). Cette technique est déjà très populaire même s'il manque encore des informations concernant son efficacité à long terme. Il semblerait que le taux de guérison à 2 ans soit de 50 % seulement (65).

### **3. Techniques simplifiées de colposuspension par voie vaginale**

#### **3.1. Techniques**

L'idée d'une suspension du col vésical réalisée par voie vaginale par l'intermédiaire d'un fil passé à l'aide d'une longue aiguille revient à PEREYRA en 1959. L'idée était de diminuer la morbidité et la durée d'hospitalisation en simplifiant la technique de colposuspension. Depuis PEREYRA, de nombreux chirurgiens ont modifié la technique initiale et créé des variantes. Les plus couramment utilisées sont les colposuspensions de STAMEY, RAZ, GITTES et BENDEREV (**figure 19**).

Toutes ces techniques poursuivent les mêmes objectifs :

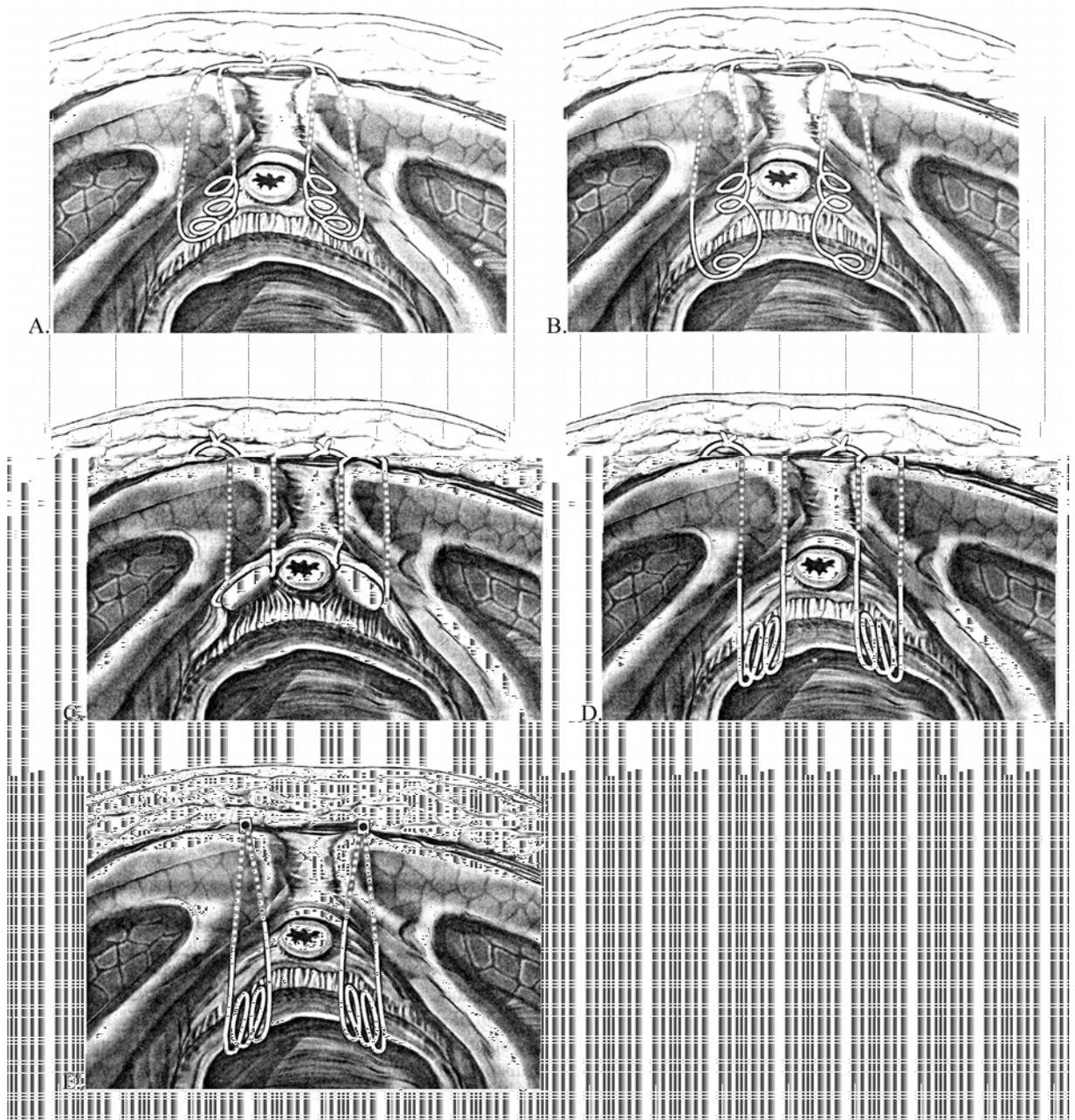
- simplicité de réalisation,
- amélioration de la reproductibilité de l'acte chirurgical,
- absence d'ouverture abdominale,
- réduction de la morbidité,
- amélioration de l'efficacité à long terme.

**STAMEY** décrit le passage des fils sous contrôle endoscopique et chercha à renforcer l'appui périurétral par l'utilisation de petits tubes de Dacron (**figures 20 à 22**) (39).

**RAZ**, en 1981, eu l'idée d'utiliser la voie vaginale pour disséquer l'espace de Retzius et de guider au doigt l'aiguille ce qui rend l'intervention plus précise. Au fil de son expérience, il a apporté des modifications à sa technique initiale pour adopter, depuis 1992, la technique de bandelette de paroi vaginale antérieure (« Anterior vaginal wall sling »). Dans cette technique, deux incisions vaginales verticales parallèles à l'urètre sont réalisées au niveau de l'urètre moyen. La dissection latérale à l'urètre est effectuée aux ciseaux jusqu'à l'espace rétropubien. Quatre points hélicoïdaux sont passés dans la paroi vaginale en extraépithélial : deux points antérieurs sont placés de part et d'autre de l'urètre à l'extrémité antérieure de la bandelette vaginale, deux points postérieurs sont aussi passés en regard du col vésical. Par une incision sus-pubienne, l'aiguille de Raz est descendue dans l'espace rétropubien au ras de la symphyse pubienne, guidée par l'index. Les fils des différents points sont ainsi remontés en sus-pubien par l'aiguille. Les fils sont sérés sans tension excessive (**figures 23 à 28**) (39).

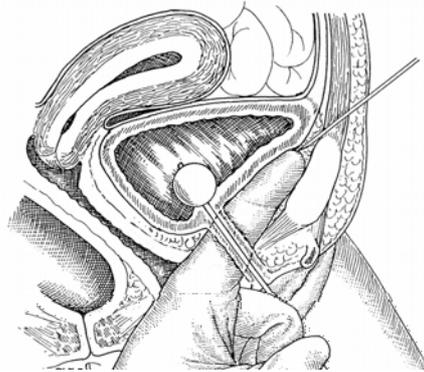
**GITTES** a simplifié la technique de colposuspension à l'extrême en passant l'aiguille exclusivement sous contrôle du doigt endovaginal placé à côté du ballonnet de la sonde urétrale. Le vagin n'est pas incisé. Sa paroi est largement chargée de part et d'autre du col vésical par la mise en place d'un point hélicoïdal à travers toute l'épaisseur de la paroi vaginale. Le chef vaginal du fil une fois bien ancré est remonté en sus-pubien au deuxième passage de l'aiguille. Le contrôle endoscopique est indispensable dans cette technique plus « aveugle » (39).

**BENDEREV** propose la technique de colposuspension à l'aiguille percutanée avec ancrage osseux : l'aiguille est passée par voie haute, elle traverse la paroi vaginale par quatre fois ce qui permet un amarrage solide du fil tracteur. Les fils, une fois remontés, sont fixés à la symphyse pubienne par l'intermédiaire d'une vis et sont noués avec une tension minime grâce à un ajusteur de tension (39).



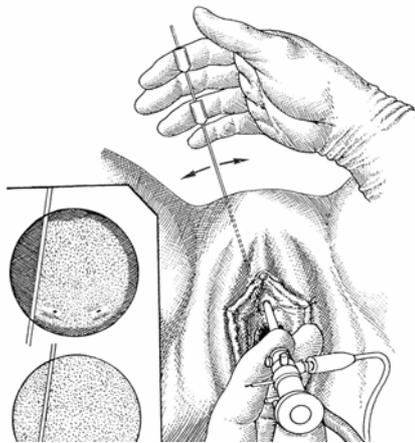
**Figure 19 : Coupe transversale des techniques de colposuspension par voie vaginale (57).**

A : Procédure de Pereyra modifiée. B : Procédure de Raz (initiale). C : Procédure de Stamey. D : Procédure de Gittes. E : Techniques avec ancrage osseux (Leack, Benderev).



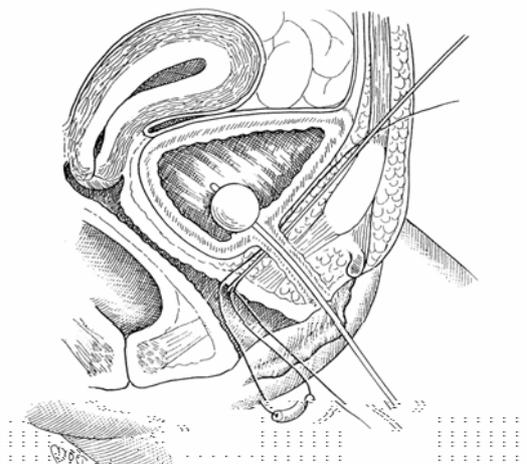
**Figure 20 : Opération de Stamey.**

Passage de l'aiguille sus-pubienne guidée par la pulpe de l'index le long de la face postérieure du pubis. Ce geste évite les blessures vésicales.



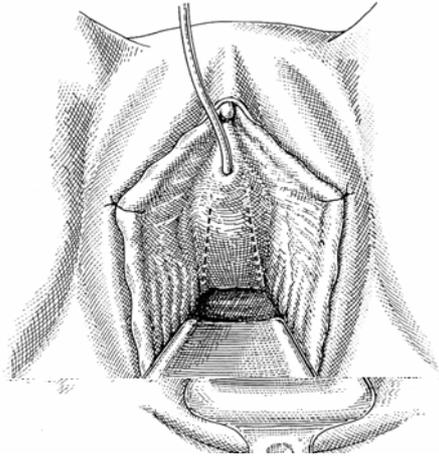
**Figure 21 : Opération de Stamey.**

Contrôle cystoscopique pour s'assurer de la bonne position de l'aiguille. Bien positionnée, les mouvements imprimés à son niveau se répercuteront sur la paroi vésicale.



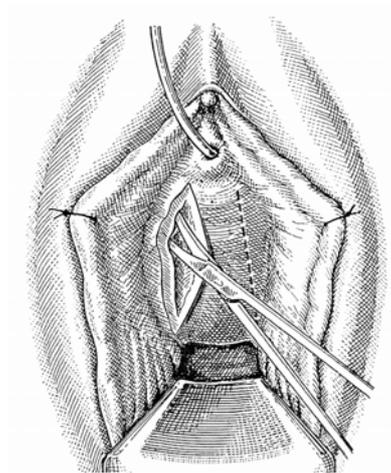
**Figure 22 : Opération de Stamey.**

L'aiguille chargeant le petit tube de Dacron repasse en rétropubien selon un trajet situé à 1 cm du précédent avant un nouveau contrôle cystoscopique.



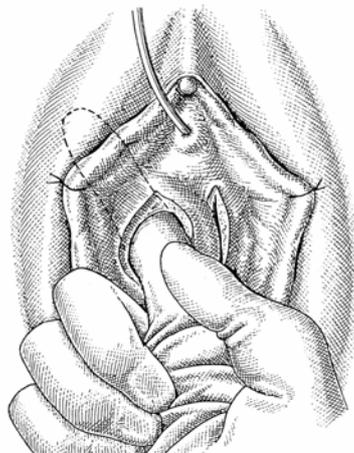
**Figure 23 : Opération de Raz modifiée.**

Une valve à poids expose la paroi antérieure du vagin. En pointillé les lignes d'incisions, de part et d'autre de l'urètre et du col.



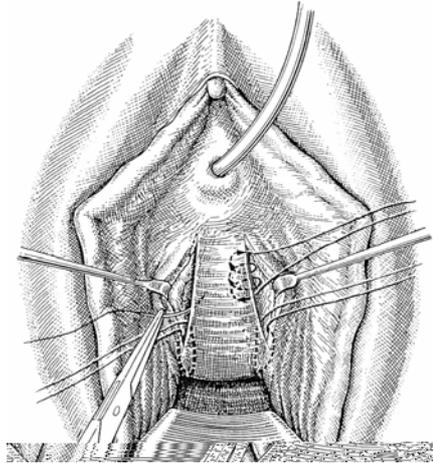
**Figure 24 : Opération de Raz modifiée.**

Ebauche de la dissection de la paroi antérieure du vagin aux ciseaux. La pointe de ceux-ci reste tangentielle par rapport au col. Elle vise l'épaule ipsilatérale.



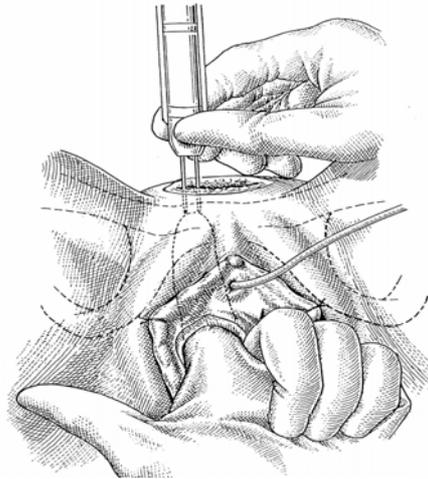
**Figure 25 : Opération de Raz modifiée.**

L'index complète la dissection de l'espace rétropubien jusqu'à la paroi abdominale dont il perçoit la face postérieure.



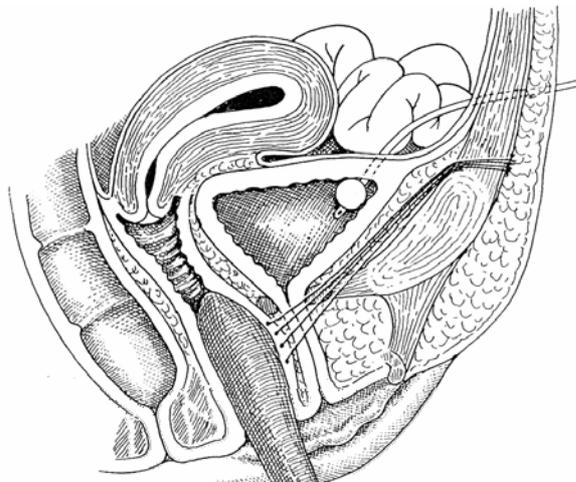
**Figure 26 : Opération de Raz modifiée.**

Les quatre points hélicoïdaux sont passés. Deux en regard de l'urètre, deux en regard du col vésical.



**Figure 27 : Opération de Raz modifiée.**

Les fils de chaque point sont transférés vers la région sus-pubienne avec l'aiguille qui reste bien au contact de la face postérieure du pubis.



**Figure 28 : Opération de Raz modifiée.**

Coupe sagittale résumant le montage. C'est la paroi antérieure du vagin qui est suspendue. Elle constitue un hamac qui soutient l'urètre et le col vésical.

Les intérêts de cette technique sont un abord peu invasif sans incision vaginale, la fixation à la symphyse pubienne qui est censée réduire les douleurs de traction sur le fascia et assurer une fixation plus stable, le large ancrage vaginal, la standardisation de la force de traction.

### **3.2. Résultats**

Les publications concernant les différentes techniques de suspension transvaginales à l'aiguille annoncent des taux de succès variant de 40 à 100 %. Le taux de succès généralement accepté est de 85 % avec des suivis plus ou moins longs. Cependant ces études ont pour la plupart des échantillons réduits et des méthodes de suivi peu standardisées (57).

Les résultats publiés concernant les personnes âgées sont particulièrement intéressants car ces patientes sont celles qui bénéficient le plus de ces techniques mini-invasives : d'après KARRAM et KOHLI (57), tandis que des études annoncent des taux de succès de 88 % (NITTI *et al.*) ou de 90 % (GOLOMB *et al.*) après 17 mois, les résultats des équipes qui utilisent comme critère le taux de succès objectif et des suivis sur du plus long terme sont bien moindres. Par exemple, PEATTIE et STANTON trouvent un taux de succès subjectif de 53 % et un taux de succès objectif de 43 % après deux ans.

Une étude prospective réalisée par BERGMAN et ELIA portant sur 289 patientes atteintes d'incontinence urinaire d'effort a comparé les techniques de colporrhaphie antérieure (technique non décrite ici car jugée peu efficace aujourd'hui), la technique de suspension de Pereyra modifiée et la colposuspension rétropubienne classique. Bien que les résultats objectifs étaient comparables à court terme, après 1 an et surtout près 5 ans de suivi, la colposuspension de Burch avait un taux de succès objectif supérieur à la suspension à l'aiguille de Pereyra ou à la colporrhaphie antérieure (87 %, 70 % et 69 % respectivement), d'après KARRAM et KOHLI (57).

D'autres études ont confirmé que les suspensions à l'aiguille avaient des taux de succès moindres sur du long terme que les colposuspensions classiques en cas d'incontinence primaire (mais pas nécessairement en cas d'incontinence récurrente) (91) (65). Cette dégradation des résultats avec le temps leur a fait perdre de leur popularité (65).

### **3.3. Complications (57)**

#### **- Incontinence récurrente ou persistante**

L'incontinence récurrente peut être dû à une faiblesse des sutures ou un mauvais placement des sutures, l'apparition ou l'aggravation d'une instabilité vésicale préexistante, une incompétence sphinctérienne intrinsèque, la formation d'une fistule, ou l'apparition d'une incontinence à vessie pleine.

Les patientes présentant une pression urétrale très basse avant l'opération sont suspectes de présenter une incompétence sphinctérienne intrinsèque et devraient plutôt recevoir une bandelette sous-urétrale qui augmente davantage la résistance urétrale.

L'incontinence à vessie pleine s'explique par l'obstruction de l'urètre par le montage ou des lésions neurologiques.

### **- Difficultés à uriner**

C'est une complication de toute intervention chirurgicale contre l'incontinence. Cependant, les techniques de suspension à l'aiguille s'accompagneraient de plus fréquentes dysuries ou rétentions urinaires post-opératoires par rapport aux techniques de colposuspensions classiques avec abord abdominal. La rétention urinaire varierait de 2 à 50 % et les défauts de vidange chroniques seraient d'environ 20 % selon les différentes études. 2 à 7 % des patientes présenteraient des difficultés urinaires prolongées.

### **- Prolapsus**

Des études récentes ont noté un taux de récurrence des prolapsus augmenté lorsque la chirurgie de reconstruction réalisée par voie vaginale était associée à une suspension à l'aiguille, par rapport aux opérations de reconstruction réalisées par voie abdominale associées à une colposuspension rétropubienne. On avance l'hypothèse de lésions neurologiques ou fibromusculaires pendant la dissection.

### **- Infection**

Les infections peuvent survenir après n'importe quelle intervention chirurgicale, mais elles sont probablement plus fréquentes après des suspensions à l'aiguille car les chirurgiens utilisent des sutures non résorbables et des greffons (technique de Stamey), surtout si les fils passent à travers la lumière vaginale. 2 à 12 % des patientes présentent des infections des plaies ou des abcès. Le taux d'infections urinaires varie de 1 à 32 %.

### **- Hémorragie**

Le taux de transfusions post-opératoires varie de 1 à 7 %, le taux de formation d'hématome de 1 à 5 %. Une technique chirurgicale méticuleuse et une connaissance précise de l'anatomie sont particulièrement importantes pendant l'exécution d'une suspension à l'aiguille.

### **- Instabilité du détrusor**

30 à 75 % des patientes verront leurs symptômes d'urgence disparaître après la chirurgie de l'incontinence d'effort tandis que 2 à 24 % développeront une incontinence d'urgence qui n'existait pas au préalable. Il est important de faire un examen préopératoire complet de façon à déceler une éventuelle incontinence d'urgence qui coexisterait avec l'incontinence d'effort avant l'intervention.

### **- Lésions de l'appareil urinaire**

Les techniques dans lesquelles la pénétration de l'aiguille est plus aveugle (par exemple celle de Gittes) présentent plus de dangers. Les interventions préalables qui ont fibrosé les tissus sont aussi un facteur de risque. L'endoscopie permet d'éviter de léser les organes.

Sur du long terme, les colposuspensions rétropubiennes se révèlent plus efficaces que les suspensions à l'aiguille. De plus, les complications post-opératoires telles que les difficultés à uriner ou les récurrences de prolapsus semblent plus fréquentes avec ces techniques de suspension à l'aiguille.

## **4. Le sphincter artificiel**

Compte tenu de la complexité de la technique et du risque de rejet, certains considèrent le sphincter artificiel comme la solution de dernier recours. Cependant la mise en place secondaire d'un sphincter entraîne de plus fréquentes complications ce qui pousse d'autres chirurgiens à le proposer en première intention pour le traitement de l'incompétence sphinctérienne.

### **4.1. Technique d'implantation** (39)

Le sphincter artificiel se compose de trois éléments essentiels : la manchette périurétrale qui jouera le rôle de sphincter à proprement parlé, le ballon contenant le liquide de remplissage et la pompe servant à l'activation du sphincter, c'est-à-dire au remplissage de la manchette sur commande manuelle (**figure 29**). Bien que le sphincter ne puisse se placer qu'au niveau du col vésical chez la femme, il peut être implanté par voie vaginale ou par voie abdominale.

#### **Implantation par voie abdominale :**

L'incision transversale des muscles droits le long de leur insertion pubienne permet une bonne exposition de la vessie, du col et de l'urètre. La dissection de la région se termine par l'incision de l'aponévrose pelvienne de part et d'autre de l'urètre (**figure 30**). Le temps délicat consiste ensuite à disséquer l'espace inter-vésico-vaginal, de manière à pouvoir passer le pouce et l'index autour de l'urètre (**figure 31 et 32**). Le deuxième temps délicat consiste à la prise des mesures à l'aide d'un mesureur prévu à cet effet (**figure 33**). Il faut choisir une manchette 0,5 à 1 cm plus longue que la valeur donnée par le mesureur mis sous légère tension. La manchette vide est clipée et installée : elle doit pouvoir tourner facilement autour du col vésical (**figure 34**).

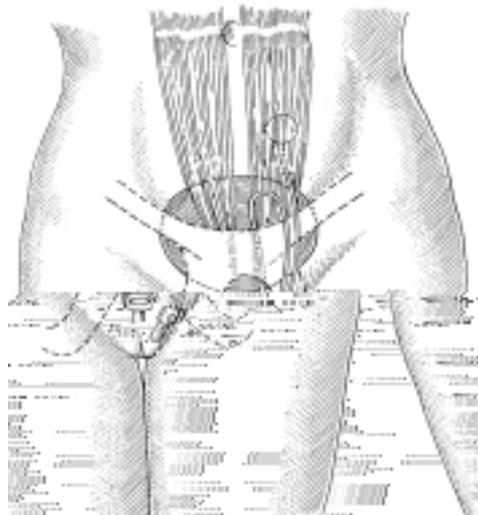
Le plan musculo-aponévrotique est refermé après avoir attiré le tube de la manchette en sous-cutané. Le ballon est placé en rétropéritonéal dans la fosse iliaque droite par une courte incision iliaque. La pompe qui servira à activer le sphincter est positionnée à l'endroit convenu avec la patiente : grande lèvre, région inguinale...

Le sphincter n'est pas activé au moment de sa pose pour permettre aux tissus de cicatriser. L'activation du système s'effectue vers la sixième ou huitième semaine après l'implantation en pressant fortement sur la pompe.

### **4.2. Résultats**

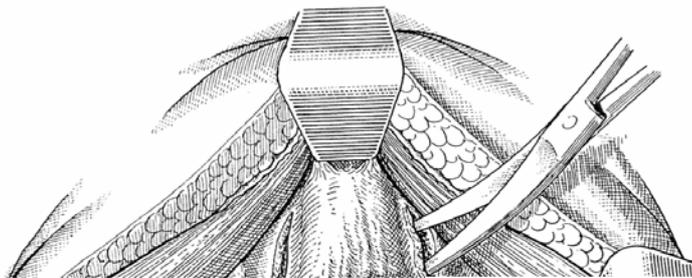
Le sphincter artificiel n'est pas indiqué pour tous les types d'incontinences urinaires : les meilleures candidates sont celles qui présentent une incompétence sphinctérienne intrinsèque. Les femmes incontinentes à l'effort par hypermobilité du col sont de mauvaises candidates ainsi que les femmes souffrant d'instabilité vésicale.

Les publications annoncent de bons résultats : d'après BARRETT et LICHT (10), PARULKAR et BARRETT ont obtenu 83,3 % d'amélioration après 40 mois sur 24 femmes ayant reçu le sphincter artificiel ; FISHMAN annonce 86 % de femmes continentales après 9 ans sur 239 patientes implantées. Par la voie transvaginale, APPEL annonce 100 % de réussite sur 34 patientes et HADLEY obtient 93 % de réussite sur 14 patientes.



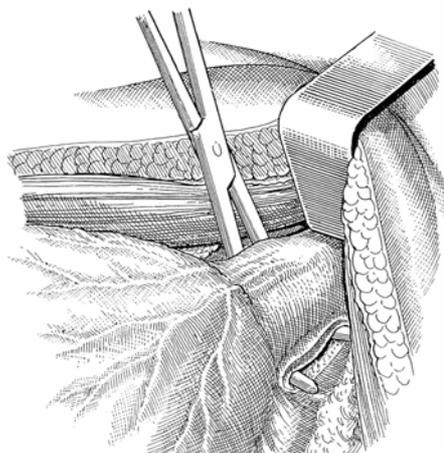
**Figure 29 : Sphincter artificiel chez la femme.**

Schéma d'implantation des principaux éléments du sphincter artificiel. Manchette périurétrale. Ballon dans la fosse iliaque gauche. Pompe en position inguinale chez la femme jeune ou dans une grande lèvre chez la femme âgée.



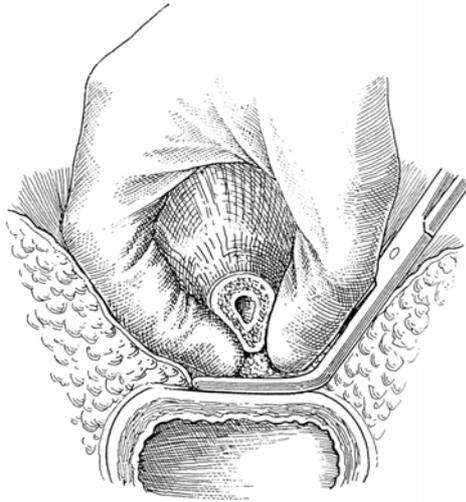
**Figure 30 : Sphincter artificiel chez la femme.**

Incision de l'aponévrose pelvienne profonde de part et d'autre du col vésical.



**Figure 31 : Sphincter artificiel chez la femme.**

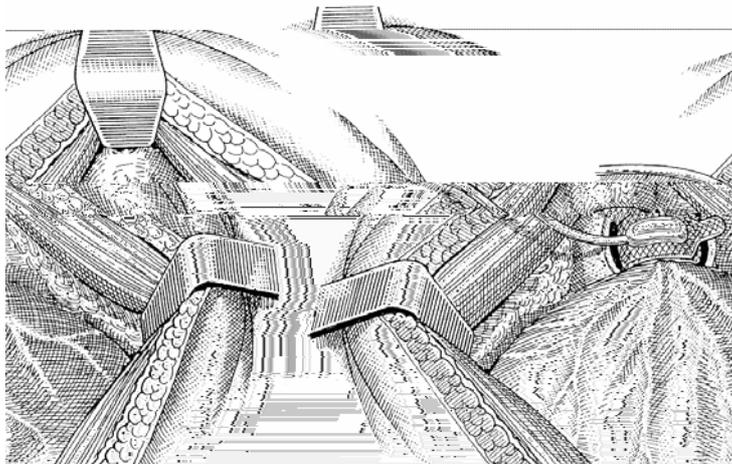
Dissection de l'urètre autorisant le passage d'une forte pince à angle droit.



**Figure 32 : Sphincter artificiel chez la femme.**  
Le pouce et l'index doivent pouvoir faire le tour de l'urètre.



**Figure 33 : Sphincter artificiel chez la femme.**  
Mesure du diamètre de l'urètre. C'est un temps important.



**Figure 34 : Sphincter artificiel chez la femme.**  
Manchette en place. Vide, elle doit pouvoir tourner autour de l'urètre.

Les causes de la persistance de l'incontinence ou de sa récurrence sont le plus souvent un défaut mécanique de la prothèse (par exemple une fuite, une désactivation, ...), l'atrophie des tissus voire leur érosion, l'infection autour de la prothèse, l'apparition d'une instabilité vésicale ou une lésion de l'appareil urinaire au cours de la chirurgie.

#### **4.3. Complications** (10)

Des hématomes apparaissent fréquemment, mais se résolvent le plus souvent spontanément.

La rétention urinaire survient en général juste après la chirurgie à cause de l'œdème mais il faut bien vérifier que le sphincter n'est pas activé. La rétention urinaire après activation peut être due à une plicature des tissus sous la manchette qui se traite sous endoscopie. Si la manchette est trop serrée, il faut réintervenir.

L'infection du matériel peut avoir deux origines : l'infection immédiate lors de l'implantation par des germes cutanés ou aéroportés, ou l'infection plus tardive par des germes de l'organisme moins virulents et le plus souvent d'origine urinaire. Le drainage des abcès autour de la prothèse peut être tenté, mais le retrait du matériel est le plus souvent nécessaire. Une nouvelle prothèse peut être réimplantée 3 à 6 mois plus tard dans de beaucoup moins bonnes conditions.

Certains constituants peuvent devenir défectueux et devront être changés. Le taux de révision du matériel est élevé.

L'érosion des tissus par la manchette est une complication majeure du sphincter artificiel. Il faut à la fois une pression suffisante pour assurer la continence et une pression qui ne comprime pas les tissus au point de provoquer l'ischémie et l'atrophie. Le modèle utilisé actuellement date de 1982. Il possède un système de désactivation qui permet d'attendre la cicatrisation des tissus avant de l'activer et une manchette qui transmet plus efficacement la pression au tissu urétral et limite l'atrophie des tissus. Ces améliorations techniques diminuent le risque d'érosion des tissus. L'érosion survient en général 3 à 4 mois après la mise en place. La confirmation d'une érosion nécessite le retrait de la manchette. Une nouvelle prothèse peut être remise en place après 3 mois.

Le modèle de sphincter artificiel utilisé actuellement est un système fiable, présentant peu de complications et qui a montré son efficacité dans le traitement de l'incompétence sphinctérienne urétrale chez la femme mais aussi chez l'homme et chez l'enfant.

Mais il reste sophistiqué et de fonctionnement complexe. Il n'est donc pas utilisable chez toutes les patientes.

#### **5. La bandelette synthétique sous-urétrale : TVT**

Pour la première fois décrite en 1995, cette nouvelle technique peu invasive est basée sur le même principe que la bandelette aponévrotique. Elle est pratiquée sous anesthésie locale ou régionale et présente des taux de succès élevés comparables aux techniques traditionnelles avec une diminution des complications. De plus, les résultats dépendent peu de l'expérience de l'opérateur.

### **5.1. Technique**

La paroi vaginale antérieure est incisée sur 1,5 à 2 cm en regard de l'urètre moyen et distal. Les espaces périurétraux sont disséqués aux ciseaux sans effondrer l'aponévrose pelvienne.

La bandelette de Prolène mesure 40 cm de long et 1,2 cm de large, elle est entourée d'une gaine de plastique facilitant son passage et la protégeant des contaminations pendant les manipulations. Elle est sertie à chaque extrémité sur une aiguille qui se fixe à une poignée réutilisable (**figure 35**).

À l'aide des deux aiguilles, la bandelette est mise en place sous la partie moyenne de l'urètre et ressort dans la région sus-pubienne après être passée le plus près du pubis (**figure 36**). Le cystoscope est utile au cours des différentes étapes.

Le réglage de la tension de la bandelette est effectué pour chaque patiente en la faisant tousser (anesthésie locale ou locorégionale). La bandelette est ensuite sortie de sa gaine en plastique puis coupée au ras de la peau, la seule adhérence des mailles de Prolène avec les tissus traversés assurant sa fixation.

(39)

### **5.2. Résultats**

Cette technique étant récente, ses résultats à long terme sont encore à prouver, mais son taux de succès à moyen terme est comparable aux techniques traditionnelles, colposuspension rétropubienne ou bandelette sous-urétrale.

MIKLOS et KOHLI (70) donnent les résultats de la plus récente des études prospectives réalisée avec six centres différents : 91 % des 131 patientes opérées étaient guéries après au moins 12 mois de suivi et 7 % supplémentaires étaient améliorés. La durée des opérations était faible : 28 minutes en moyenne.

Les résultats semblent moins bons dans les incompétences sphinctériennes intrinsèques, mais le manque de recul est insuffisant pour se faire une opinion définitive (23).

Le succès de cette technique serait dû au positionnement de la bandelette au niveau de l'urètre moyen, à son système de fixation qui assure un soutien sans tension excessive, et aux modifications des propriétés du collagène engendrées par la bandelette autour de l'urètre.

### **5.3. Complications**

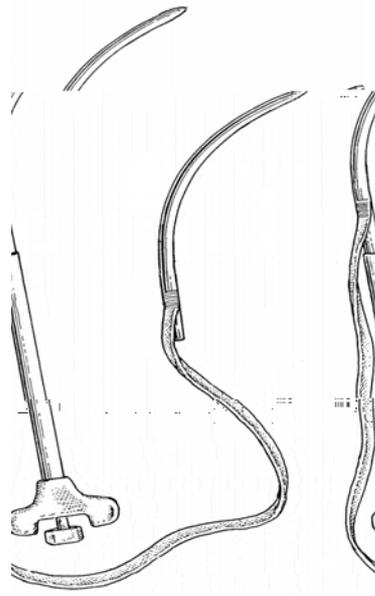
L'étude récente portant sur 131 patientes opérées par TVT déjà citée ci-dessus annonce un taux de complications de 3 %. Les complications de cette technique, si elle est correctement réalisée, sont rares. Elles peuvent être de la rétention urinaire, une hémorragie ou la formation d'un hématome, la perforation de la vessie (moins de 1 % des cas), une infection.

La rétention urinaire après 48 heures est rare. La fréquence et la sévérité des difficultés urinaires post-opératoires après une TVT sont significativement plus faibles que celles qui sont associées aux bandelettes traditionnelles ou aux suspensions transvaginales à l'aiguille.

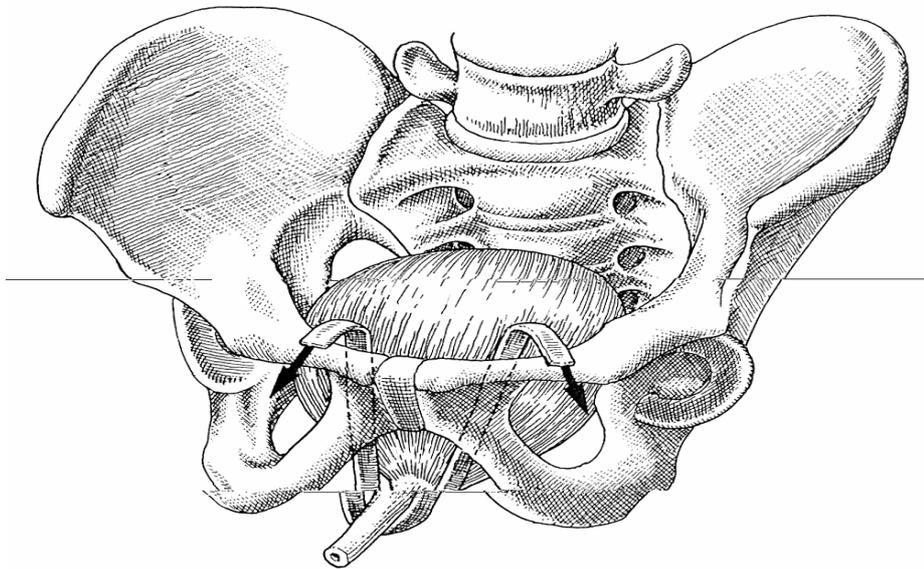
Lorsque l'on place l'aiguille à l'aveugle dans l'espace de Retzius, il existe des risques de saignement. Les hématomes sont fréquents et se résolvent le plus souvent spontanément.

Le risque d'infection de la plaie est faible (moins de 1 % des cas) : le prolène présente moins de risques d'infection que les autres matériaux synthétiques.

(70)



**Figure 35 : Matériel pour tension transvaginale de l'urètre (TVT).**  
La bandelette et sa gaine sont chargées sur deux grosses aiguilles reliées à un applicateur.



**Figure 36 : TVT. Schéma de la bandelette en fin d'intervention.**  
La bandelette se situe sous l'urètre et non sous le col tenant le rôle des ligaments urétropubiens.

La technique TVT est une technique aussi efficace à moyen terme que les techniques traditionnelles et qui présente moins de complications. Mais la technique est récente et nous manquons encore aujourd'hui de données concernant son efficacité à long terme.

Depuis la première suspension du col vésical par voie abdominale en 1910, de nombreuses techniques chirurgicales différentes ont vu le jour pour le traitement de l'incontinence urinaire de stress. Cependant, la colposuspension de Burch et les bandelettes sous-urétrales sont toujours celles qui produisent les meilleurs taux de réussite à long terme (70).

Mais ces techniques sont lourdes, peuvent s'accompagner de complications post-opératoires graves et la colposuspension de Burch perd son efficacité passé la première intervention. Elles excluent donc potentiellement les femmes âgées, débilitées ou ayant déjà subi plusieurs interventions.

## **D. LES DISPOSITIFS PALLIATIFS**

Ils s'adressent aux personnes âgées. Leur efficacité est limitée dans le temps.

### **7. Les dispositifs externes**

Certaines femmes portent des protège-slips, des couches.

Un collecteur à urine a été décrit sous le nom de Incogyn®, mais il est peu utilisé à cause du défaut d'adhérence de la coque autour du méat (16).

Une couche adhésive périméatique a été décrite : elle ne semble efficace que pour des petits volumes d'urine (65).

### **8. Les dispositifs de support du col vésical**

Plusieurs dispositifs intravaginaux peuvent être utilisés pour comprimer le col vésical et l'urètre proximal : les tampons, les diaphragmes, les pessaires...

### **9. Les dispositifs intra-urétraux**

Ils sont munis d'un système évitant l'expulsion ou la migration intra-vésicale. Il s'agit soit d'obturateurs à usage unique retirés par la patiente avant la miction, soit d'obturateurs munis d'une turbine à commande magnétique permettant la vidange de la vessie et changés par le médecin tous les mois (obturateur type Inflow®).

Les obturateurs à usage unique ont une efficacité intéressante, mais leur coût est élevé et les complications sont nombreuses. Le procédé Inflow® est en cours d'évaluation : les premières études montrent qu'il est simple d'utilisation (16).

En fait, aucun traitement traditionnel n'est tout à fait satisfaisant : la rééducation périnéale peut donner de bons résultats sur des incontinences modérées, mais ne peut pas résoudre les incontinences les plus sévères. Aucun médicament n'a l'AMM pour le traitement de l'incontinence de stress et le défaut d'urosélectivité des alpha-agonistes entraîne de nombreux effets secondaires. Les traitements chirurgicaux sont lourds et peuvent s'accompagner de graves complications.

|

|

## **CHAPITRE III : LES TRAITEMENTS ENDOSCOPIQUES DE L'INCONTINENCE D'EFFORT**

### **A. AVANTAGES D'UN TRAITEMENT ENDOSCOPIQUE DE L'INCONTINENCE URINAIRE**

Bien que les interventions chirurgicales classiques de l'incontinence urinaire d'effort décrites ci-dessus offrent d'excellents résultats lorsqu'elles sont pratiquées par des chirurgiens expérimentés, ce sont des opérations lourdes accompagnées de complications parfois graves.

L'avènement de la chirurgie mini-invasive a permis d'envisager un traitement endoscopique à l'incontinence urinaire. Ce traitement consiste en l'injection de produit faisant masse dans la paroi urétrale à l'aide d'un endoscope afin d'augmenter la pression maximale de clôture de l'urètre et ainsi lutter contre les augmentations de pression abdominale.

Traditionnellement il est reconnu que le traitement endoscopique est indiqué pour la classe de femmes présentant une véritable incompétence sphinctérienne intrinsèque (incontinence de type III) et non pour celles présentant une hypermobilité du col vésical pour lesquelles la chirurgie classique est plus adaptée (4) (21) (36) (88).

Très récemment des cliniciens ont remis en question cette idée et proposent aussi le traitement endoscopique aux femmes présentant un urètre hypermobile. L'hypothèse selon laquelle une déficience de l'urètre serait en cause dans tous les types d'incontinence d'effort et donc que les traitements par injections endoscopiques seraient efficaces aussi sur les urètres hypermobiles est étudiée actuellement aux Etats-Unis (64).

Les avantages de ce type de traitement par rapport à la chirurgie traditionnelle sont évidents : l'opération est facile, rapide (quelques minutes) et peu invasive. Elle peut être réalisée sous anesthésie locale ou régionale, les complications sont rares et bénignes en général (rétention urinaire, instabilité vésicale, infection urinaire, fièvre, saignement, extrusion du matériel injecté (67)) et la durée d'hospitalisation ainsi que la morbidité sont réduites : en général, la patiente rentre chez elle le jour même. D'autre part, le coût d'une injection est bien moindre que celui d'une opération classique.

Ce traitement intéresse particulièrement les femmes âgées ou présentant un risque opératoire, ou les femmes ayant déjà subi des opérations classiques sans résultat.

Les contre-indications au traitement endoscopique sont peu nombreuses : infection du tractus urinaire, instabilité du détrusor incontrôlable, hypersensibilité connue au produit (88).

### **B. REALISATION DES INJECTIONS**

Le principe de l'opération est de déposer dans la paroi de l'urètre proximal et du col vésical un produit faisant masse afin d'obtenir une augmentation de la résistance urétrale.

Trois méthodes d'injection sont utilisables : l'injection périurétrale, l'injection transurétrale ou l'injection antégrade. On emploie les administrations périurétrale et transurétrale chez la femme. ( L'administration antégrade est réservée aux hommes souffrant d'une incontinence suite à une prostatectomie pour lesquels l'injection transurétrale donne souvent de mauvais résultats.) L'anesthésie locale suffit en général (58).

Les patientes reçoivent une antibioprofylaxie avant la chirurgie. Si la patiente présente une fragilité de la muqueuse urétrale par défaut en hormones, il est important de la traiter préalablement par application locale d'œstrogènes en crème au moins quatre à six semaines avant l'intervention (36).

### **1. Injection périurétrale**

L'injection périurétrale est considérée comme la meilleure méthode chez les femmes (21) (58). Elle est tout aussi efficace que la méthode transurétrale mais réduit les risques d'extrusion du produit après son administration (36) (58) ainsi que les saignements (4) (21).

L'anesthésie locale de l'orifice vaginal et de l'urètre est pratiquée à l'aide de lidocaïne en gel à 2 % puis de la lidocaïne à 1% est injectée en périurétrale à 4 heures et 8 heures. Une aiguille pénètre ensuite dans l'espace périurétral à 4 heures, parallèlement à un endoscope placé dans l'urètre, jusqu'à ce qu'elle atteigne l'espace sous-muqueux juste distalement au col vésical (**figure 37**). L'aiguille est repérée par la visualisation à l'endoscope des mouvements de la paroi urétrale. Le produit est injecté doucement dans l'espace sous-muqueux jusqu'à l'obtention d'un surélévement suffisant de la paroi urétrale, visible à l'endoscope. L'opération est répétée à 8 heures afin d'obtenir une occlusion complète de la lumière urétrale.

L'image à l'endoscope doit mimer les lobes d'une prostate hypertrophiée (58). Cependant, l'image des parois urétrales surélevées obtenue après injection ne sert pas de pronostic (36).

Lorsque l'on injecte du gras (peu coûteux et rapidement réabsorbé), le produit peut être déposé tout le long du trajet de l'aiguille en la retirant (21).

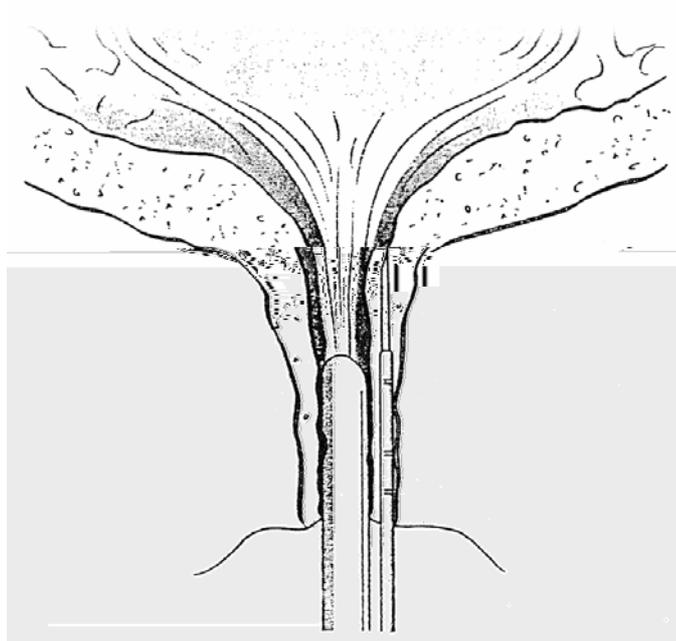
### **2. Injection transurétrale**

C'est la méthode choisie en général chez les hommes souffrant d'incontinence suite à une prostatectomie.

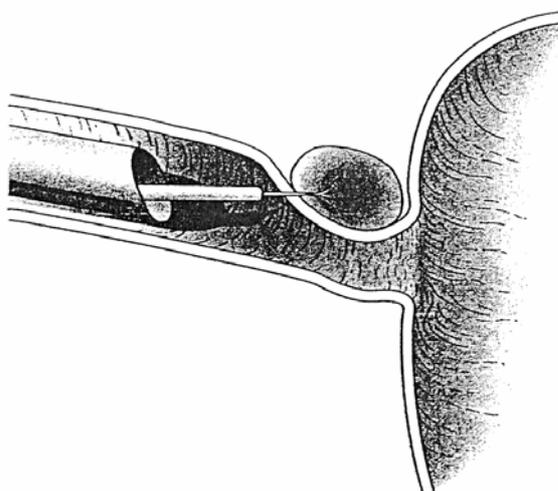
L'urètre est anesthésié localement avec de la lidocaïne en gel à 2% puis un endoscope est utilisé pour réaliser une cystouréthroscopie. Une fois que le site d'injection au niveau de l'urètre proximal est repéré à l'endoscope, le produit est injecté dans l'espace sous-muqueux à l'aide d'une aiguille dont on suit directement l'avancée grâce à l'endoscope. Le produit est déposé à 4 heures et à 8 heures dans l'espace sous-muqueux jusqu'à obtenir l'apposition totale des muqueuses et l'occlusion de la lumière urétrale (58) (**figure 38**).

Pour éviter l'extrusion du matériel injecté, il faut éviter d'injecter un trop gros volume de produit qui risquerait de rompre la muqueuse urétrale, éviter de piquer plusieurs fois sur le même site d'injection et ne pas avancer le cystoscope au-delà de la zone d'injection.

Qu'il s'agisse de la méthode transurétrale ou de la méthode périurétrale, le positionnement des points d'injection à 4 heures et à 8 heures peut être modifié : d'autres auteurs préfèrent par exemple les injections à 3 heures et à 9 heures (36), tandis que certains injectent en trois points différents.



**Figure 37 : Technique d'injection périurétrale (58).**



**Figure 38 : Technique d'injection transurétrale (58).**

Pour certains produits, il est nécessaire d'utiliser un matériel particulier : pour les matériaux les plus visqueux, l'injection se pratique à l'aide d'une aiguille de plus gros calibre ou avec une pression plus forte tandis que les matériaux qui contiennent des composants de viscosité différente doivent être administrés en continu et régulièrement pour éviter la séparation des éléments (36). Le matériel et la méthode d'injection sont donc à adapter à chaque produit selon ses caractéristiques.

Récemment, un nouvel appareil a été créé en association avec le produit Macroplastique® (particules de silicone) pour permettre une injection plus standardisée et plus simple : il se compose d'un élément de forme conique monté sur un manche que l'opérateur introduit directement dans l'urètre sans assistance endoscopique, sur lequel se trouvent trois canaux servant au guidage de l'aiguille. Avec ce système, le produit est injecté à trois points bien précis, de façon beaucoup plus reproductible. C'est la première méthode d'injection sans assistance endoscopique (36) (50).

Un nouveau système d'injection a aussi été spécialement conçu pour la mise en place des microballons (36).

Afin d'éviter l'instrumentation de l'urètre, il est aussi possible d'injecter le produit par voie transvaginale à l'aide d'une sonde échographique endovaginale associée à une aiguille comme pour la réalisation d'une biopsie échoguidée (4).

Les soins post-opératoires sont limités : le traitement antibiotique est poursuivi deux ou trois jours. S'il y a rétention urinaire, des cathétérisations intermittentes doivent être réalisées. On évitera les cathéters intraurétraux permanents : si la cathétérisation doit être maintenue sur du long terme, il est préférable d'employer un cathéter suprapubien (4).

En général, les patientes urinent seules et rentrent chez elles le jour de l'intervention.

### **C. A LA RECHERCHE DE L'AGENT IDEAL**

Idéalement, le produit injecté dans la paroi urétrale doit être peu coûteux, facilement disponible, facilement injectable dans l'urètre, nonantigénique, non inflammatoire, non cancérigène, non érosif. Il doit maintenir son volume initial et ne pas migrer ni localement ni à distance (21).

Pour les produits prélevés sur des cadavres, ils doivent être le plus pauvre possible en cellules afin de minimiser les risques de transmission de virus et les réactions antigéniques (35).

De nombreux matériaux ont déjà été testés dans le traitement de l'incontinence d'effort de la femme tandis que de nombreux autres font l'objet de recherches expérimentales.

Les seuls agents approuvés par l'US Food and Drug Administration sont le collagène bovin, la graisse autologue, les particules de carbone.

## **1. Les produits abandonnés**

### **1.1. Les premières expériences**

Les premières injections réalisées dans le but de traiter l'incontinence urinaire ne sont pas récentes : en 1938, MURLESS décrivait l'injection d'une solution sclérosante dans la paroi vaginale antérieure sur vingt patientes. L'urètre incompetent était comprimé par la réaction inflammatoire et la cicatrisation. Dix-sept femmes étaient guéries ou améliorées, mais les complications étaient importantes. En 1955, QUACKELS traite deux patientes par l'injection périurétrale de paraffine sans complication. SACHSE, en 1963, utilise un autre produit sclérosant, le Dondren, sur trente et un patients, hommes et femmes. Des complications pulmonaires graves sont rencontrées.

(4)

### **1.2. Le téflon**

La première description date de 1973 (14) : Berg traite trois patientes atteintes d'incontinence d'effort en injectant des particules de téflon dans la paroi urétrale. Les résultats obtenus étaient très encourageants : résolution des symptômes sans complication majeure. Cette expérience a ouvert la voie aux traitements de l'incontinence par injection.

Le téflon ou polytétrafluoroéthylène est une suspension colloïdale de microparticules de polymères, utilisée dans le passé pour diverses indications chirurgicales chez l'homme et chez la femme. La majorité des particules a une taille inférieure à 50 microns, la taille maximale étant de 300 microns. Les petites particules peuvent donc être phagocytées par les macrophages et migrer localement ou à distance entraînant la formation de granulomes dans des organes comme la rate, le cerveau, les poumons, le foie (6) (35). Chez les animaux d'expérimentation, les particules ont aussi été retrouvées dans les reins et les nœuds lymphatiques pelviens (58).

Les résultats des injections de téflon sont variables : 20 à 86 % de taux de continence après injection (35). Les résultats à court terme sont très bons, mais se dégradent avec le temps, avec des taux de succès de 10 % à cinq ans (23).

Les échecs des traitements au téflon sont dus à la pression très importante qu'il est nécessaire d'employer pour injecter les particules car elle entraîne l'extrusion du produit, à l'absorption du téflon par l'organisme et à la migration des particules (35) (88).

Les complications rencontrées après injection de téflon ont été : de la fièvre sans infection apparente, des infections urinaires, la fibrose de l'urètre, la formation de diverticulum urétral, de granulome et d'abcès dans la paroi urétrale. La migration à distance des particules de téflon a entraîné des complications graves. D'après KERSHEN et ATALA (58), MITTLEMAN et MARRACCINI rapportent le cas d'une femme de soixante-seize ans dont l'autopsie a révélé la présence d'un granulome de téflon dans les poumons quatre ans après le traitement, et BORGATTI, TETTAMANTI et PICCINELLI publient la survenue d'un infarctus cérébral chez une fille âgée de six ans et en apparence bonne santé, un an après l'injection de téflon pour le traitement d'un reflux vésico-urétéral. D'après DMOCHOWSKY et APPELL (35), KIILHOLMA et MAKINEN ont publié le cas d'une femme ayant présenté une pneumonie accompagnée de fièvre trois ans après l'injection périurétrale de téflon. Le potentiel cancérigène du téflon est certainement faible. Cependant, trois cas de tumeurs développées à proximité de site d'injection sont rapportés (4).

Le téflon est un matériau qui n'est pas approuvé par l'US Food and Drug Administration pour l'injection périurétrale (35). Le risque de migration et les difficultés d'injection expliquent l'abandon de ce produit aujourd'hui (36).

## **2. Les produits couramment utilisés**

### **2.1. Le collagène d'origine bovine**

C'est le produit le plus utilisé à l'heure actuelle.

Proposé sous le nom déposé de Contigen®, c'est un dérivé purifié de collagène dermique d'origine bovine qui est tanné avec du glutaraldéhyde et dispersé en solution avec du phosphate pour former une préparation finale stérile et peu visqueuse. La liaison au glutaraldéhyde diminue l'immunogénicité et augmente la résistance du collagène aux collagénases (21).

Le collagène une fois injecté est colonisé par les cellules et les vaisseaux de l'hôte. Il commence à se dégrader à douze semaines et est complètement résorbé à dix-neuf mois laissant place à du tissu conjonctif (4). Sa réabsorption progressive oblige à renouveler les injections selon une fréquence encore mal connue. Généralement, deux à cinq injections sont nécessaires pour obtenir un résultat satisfaisant (35).

Les taux de guérison varient de 7 à 83 %, avec la plupart des études annonçant des taux de 40 à 60 % de continence. Si l'on inclut dans les succès les améliorations de l'état des patientes, 68 à 90 % sont améliorées ou guéries après l'injection de collagène (35) (36). Comme pour le téflon, les résultats se dégradent avec le temps (44).

L'injection de collagène bovin peut entraîner des réactions immunologiques néfastes. 4 % des femmes sont allergiques au collagène bovin ce qui oblige à la réalisation d'un test cutané préalablement à l'injection. De plus des cas de lupus érythémateux disséminé, de polymyosite, de dermatomyosite après des injections de collagène sont également rapportés dans la littérature (58).

Les complications post-opératoires sont en général mineures : l'apparition de symptômes d'urgence urinaire (13 % des patientes) (35) (36), de l'hématurie (5 % des patientes) (88), de la rétention urinaire (2 % des patientes) (35) (36). Des cas d'abcès, de pseudokyste et de diverticulum périurétraux ainsi qu'un cas de prolapsus urétral sont rapportés suite à l'injection de collagène (64).

Le principal inconvénient du collagène est sa non-persistance et la nécessité de renouveler les injections. En conséquence, le coût du traitement peut parfois devenir élevé. (16) (88). La crise de la « vache folle » a de plus limité ses indications, notamment en Europe (16).

Le mélange de collagène et d'élastine d'origine bovine en tant que nouvel agent injectable est actuellement à l'étude (36).

### **2.2. La graisse autologue**

La graisse autologue peut être considérée comme une alternative au collagène pour les patientes allergiques.

La graisse autologue a d'abord été employée en chirurgie plastique et otorhinolaryngologique. Le plus gros inconvénient de la graisse injectée dans l'urètre est sa réabsorption rapide et son remplacement par du tissu fibreux. Jusqu'à 60 % du volume initial peut être réabsorbé en six mois (36).

La persistance du greffon de graisse dépend de différents facteurs : l'intégrité de la membrane des adipocytes greffés, la contamination éventuelle du greffon par des débris cellulaires ou du sang, la vascularité urétrale, la fragilité de la muqueuse urétrale (35).

Les taux de succès rapportés après injection de graisse autologue varient de 23 à 65 % selon les études (35) (88). Même à court terme les résultats sont décevants : LEE *et al.* (62) montrent que trois mois après l'injection la graisse n'est pas plus efficace que le placebo.

Les complications sont généralement bénignes : infection urinaire, fièvre modérée, rétention urinaire. Deux cas d'embolisation pulmonaire de particules de graisse injectée sont tout de même rapportés (62) (90), l'un des deux patients ayant décédé suite à l'embolisation.

La graisse autologue a l'avantage d'être abondante, peu chère et facile à prélever par simple liposuction. De plus, elle n'engendre pas de réaction antigénique. Cependant, les complications parfois graves et surtout la très rapide absorption de la graisse poussent les chirurgiens à lui préférer le collagène bovin.

### **2.3. Les particules de carbone**

C'est le plus récent des agents approuvés par l'US Food and Drug Administration pour l'injection périurétrale. Le produit est composé de particules de carbone recouvertes de zirconium dans un gel à base d'eau et de béta-glucan (97 % d'eau et 3 % de glucan).

Les résultats obtenus à partir d'une étude en double aveugle portant sur 355 femmes traitées soit par des injections de particules de carbone soit par des injections de collagène sont les suivants (63) : 66,1 % des patientes traitées avec les particules de carbone étaient améliorées significativement douze mois après la première injection contre 65,8 % des patientes traitées avec le collagène. Mais 80,3 % des femmes traitées avec le carbone étaient améliorées douze mois après la dernière injection du traitement contre 69,1 % de celles traitées avec le collagène. Dans le groupe traité aux particules de carbone, les complications étaient mineures mais l'incidence des complications telles que l'urgence urinaire ou la rétention urinaire était plus élevée. Elles se sont résolues chez toutes les patientes et s'expliquent par la plus grande taille de l'aiguille utilisée pour administrer les particules de carbone. Cette étude montre que les particules de carbone sont efficaces et n'entraînent pas de complication particulière.

D'après LIGHTNER (64), l'étude de CALVOSA *et al.* annonce 94 % de succès à douze mois.

Cependant, PANNEK *et al.* (74) rapportent deux cas de migration de particules de carbone trois mois après l'injection : dans la sous-muqueuse urétrale et dans les nœuds lymphatiques régionaux chez un homme ; dans les nœuds lymphatiques régionaux et des nœuds lymphatiques plus distants chez une femme.

### **3. Les produits en cours de développement**

#### **3.1. Le silicone**

Le véhicule est formé d'un gel contenant des molécules de polyvinylpyrrolidone de faible poids moléculaire et l'agent principal est composé d'élastomères de polydiméthylsiloxane solide (silicone). La taille des particules est très variable : la taille moyenne est de 160 microns, mais 25 % des particules ont une taille inférieure à 50 microns et sont donc susceptibles d'être phagocytées par les macrophages et de migrer.

Une fois injecté, le gel est absorbé et les particules de silicone sont encapsulées par la multiplication des fibres de collagène, avec une réaction inflammatoire minimale.

Les taux de guérison varient en général de 33 à 67 %, avec 68 à 75 % de guérison ou amélioration à court terme et 48 à 72 % à long terme. Les résultats semblent relativement stables dans le temps (35).

L'injection des particules de silicone nécessite une pression importante. Mais depuis peu, l'injection a été facilitée par l'emploi d'un nouvel appareil spécialement conçu à cet effet (Cf. ci-dessus). Une des limites du traitement est le coût de chaque injection (16).

Les particules de silicone et de carbone sont visibles à l'échographie ce qui peut être utile pour vérifier la stabilité des greffons ou la nécessité de renouveler l'injection. Le collagène lui n'est pas visible à l'échographie (64).

L'utilisation du silicone a été limitée par la découverte de la migration de particules dans les poumons, les reins, le cerveau et les nœuds lymphatiques quatre mois après l'injection chez des chiens. Cependant, cette migration est directement liée à la taille des particules (51). Certains auteurs décrivent aussi des réactions autoimmunes après le traitement (87).

Depuis les années 1990, d'autres particules de silicone de plus grand diamètre sont utilisées (188 microns de diamètre en moyenne) (35) (88).

Ces particules sont hypoallergéniques et biocompatibles. Leur grande taille empêche leur migration comme le confirment les recherches menées en chirurgie plastique (88).

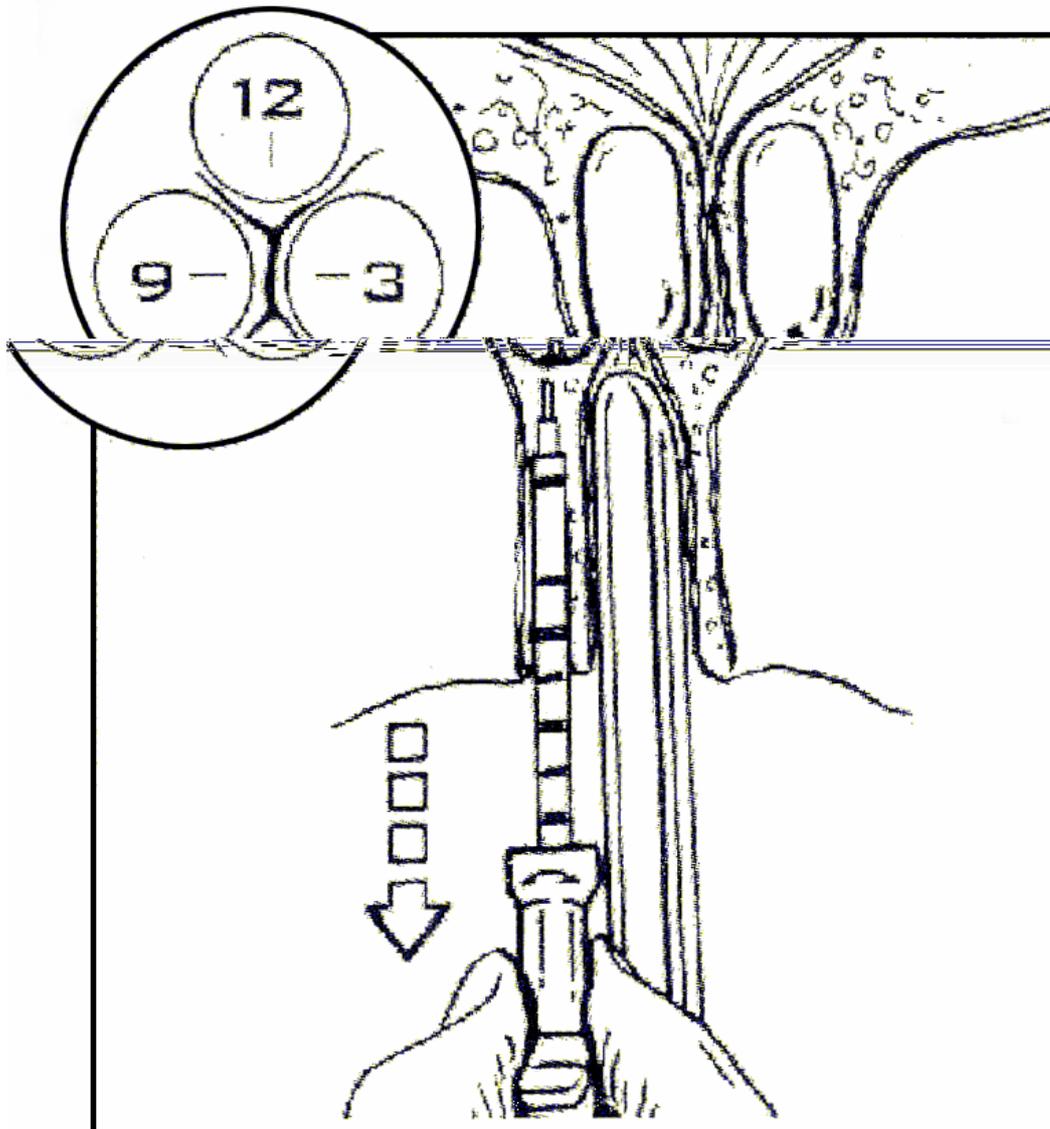
L'étude menée par Hertz et son équipe a montré l'efficacité du produit chez des enfants atteints de reflux vésico-urétéral. Aucune complication particulière n'a été rapportée (52). Ce nouveau produit a déjà été utilisé chez des hommes atteints d'incontinence suite à une prostatectomie, mais il doit encore être évalué chez la femme incontinente.

#### **3.2. Les microballons**

Chacun des microballons est composé d'une capsule élastomérique de silicone contenant un volume distensible de 0,2 à 0,9 cm<sup>3</sup> que l'on peut remplir à l'aide d'un gel composé d'eau et de pyrrolidinone. (Ce gel existe in vivo.)

Le système a d'abord été proposé pour le traitement du reflux vésico-urétéral chez les enfants. Il a été démontré que le produit est sain, biocompatible, sans risque de migration. Les expérimentations animales pour le traitement de l'incontinence urinaire n'ont pas mis en évidence de migration, d'érosion ou de réaction inflammatoire particulière (58).

L'injection périurétrale donne de meilleurs résultats que l'injection transurétrale, elle diminue en particulier les risques d'extrusion des ballons. L'appareil utilisé pour l'implantation des microballons est encombrant et la complexité de son utilisation demande de l'expérience (Schéma de mise en place **figure 39**).



**Figure 39 : Schéma de mise en place des microballons Urovive® (16).**

La mise en place de ces ballonnets est effectuée sous contrôle endoscopique par voie transurétrale ou de préférence par voie périurétrale sous anesthésie locale. Les ballonnets de 0,9 mL sont déposés dans la sous-muqueuse urétrale sous le col vésical, au moyen d'un cathéter et d'une aiguille adaptés permettant le gonflage et le largage. Trois ballonnets sont en général largués à 3, 6 et 12 heures d'intervalles afin d'occlure la lumière urétrale.

D'après DMOCHOWSKY *et al.* (36), l'expérience menée par PYCHA et ses collaborateurs sur dix-neuf patientes souffrant d'incontinence urinaire d'effort annonce les résultats suivants avec une seule implantation urétrale : 42 % des femmes sont guéries et 37 % sont améliorées de manière significative après 14,4 mois, tandis qu'aucune complication majeure n'a été mise en évidence, à part le rejet spontané des ballons par une patiente. Chaque patiente a reçu entre trois et sept microballons (en moyenne 4,2).

Le système ACT est un nouveau microballon dont le volume peut être ajusté : il est actuellement à l'étude (64).

### **3.3. Le bioglass**

C'est un mélange inerte d'oxyde de calcium, d'oxyde de sodium, de silicone-calcium. Les expérimentations animales ne rapportent aucune toxicité, la réaction inflammatoire est minimale et le produit est stable. Le collagène de l'hôte se fixe à la surface du composé et permet une intégration tissulaire (35).

Cependant, les études réalisées sur l'homme sont encore peu nombreuses.

### **3.4. L'hydroxyapatite de calcium**

L'hydroxyapatite de calcium synthétique est identique au constituant naturel qui se trouve dans les os et les dents, et le produit est non-antigénique. La forme utilisée pour les injections est constituée de sphères d'hydroxyapatite très uniformes, dont la taille varie de 75 à 125 microns, en suspension dans un gel aqueux de sodium carboxyméthylcellulose. Ce produit a l'avantage d'être radio-opaque ce qui facilite son suivi.

Les expérimentations animales ont montré que le produit était biocompatible, adhère aux fibres de collagène de l'hôte et provoquait une réaction inflammatoire minimale (35).

Une étude pilote chez l'homme a montré que le produit était efficace, maintenait son volume initial sur du long terme et ne causait pas de douleur à l'injection (35) (36).

Dans une étude récente réalisée sur dix femmes, une était continente et quatre autres étaient significativement améliorées après un an. L'incidence des rétentions urinaires, bien qu'elles se soient résolues spontanément, était relativement élevée (50 %) (64).

### **3.5. L'acide hyaluronique**

L'acide hyaluronique est un glucosaminoglycane complexe, insoluble dans l'eau, composé d'unités de disaccharides formant des molécules de huit à vingt-trois millions de poids moléculaire. C'est un composé très élastique et très visqueux (36).

Pour d'autres indications (ophtalmologiques, orthopédiques...), les études cliniques ont montré sa biocompatibilité, son innocuité et son efficacité (35).

D'après DMOCHOWSKY et APPELL (35), en 2000, une étude de faisabilité menée sur vingt patientes a rapporté une amélioration dans le degré de continence chez 53 % des femmes et une amélioration de la qualité de vie chez 83 % des femmes, six mois après l'injection.

### **3.6. L'acide hyaluronique et les microsphères de dextranomère (DiHA)**

L'association entre des microsphères de dextranomères et de l'acide hyaluronique a été évaluée en Europe et au Royaume-Uni pour le traitement du reflux vésico-urétéral et de l'incontinence d'effort de la femme. Les deux composants sont des polymères glucidiques complexes, biocompatibles, biodégradables et non-immunogènes.

L'acide hyaluronique joue le rôle de véhicule et est résorbé dans les deux semaines suivant l'injection. Les microsphères de dextranomères jouent le rôle de l'agent faisant masse dans la paroi urétrale. Elles mesurent entre 80 et 200 microns de taille et sont dégradées très lentement par hydrolyse (elles ont été retrouvées sur le site d'injection après quatre ans) (34). Les fibroblastes sont recrutés sur le site et la production active de collagène conduit à la formation d'un tissu fibreux qui persiste (58).

D'après DMOCHOWSKY et APPELL (34), les études européennes réalisées par STENBERG ont montré que le produit était efficace (85 % des femmes étaient guéries ou améliorées) et bien toléré par l'organisme. Aucune migration ou réaction tissulaire anormale n'a été mise en évidence lors des études cliniques ou expérimentales (35) (36) (87).

### **3.7. Copolymère d'éthylène vinyl alcool**

Le produit est composé de copolymère d'éthylène vinyl alcool en suspension dans du diméthyl sulfoxyde (DMSO). Après injection, le diméthyl sulfoxyde diffuse et permet à l'éthylène vinyl alcool de précipiter. Il y a un changement de phase : passage de l'état liquide à l'état solide.

Les études cliniques sont à leur début.

### **3.8. Le collagène humain**

Des fibres de collagène intactes peuvent être extraites de la peau de cadavres ou même de la peau de la patiente elle-même. Ces fibres de collagène sont mises en suspension avec du phosphate à pH neutre, la concentration variant de 25 à 100 mg /mL. Les suspensions plus concentrées sont difficiles à injecter car trop visqueuses.

Ce produit a l'avantage d'être non-allergénique et de posséder des liaisons intermoléculaires augmentant sa persistance (35).

L'injection de collagène autologue est déjà utilisée en ophtalmologie, otorhinologie et dermatologie. Le produit n'a provoqué qu'une faible réaction inflammatoire et a démontré sa stabilité lors d'évaluations expérimentales menées chez le lapin (25).

Des études cliniques pour son utilisation dans le traitement de l'incontinence urinaire d'effort sont en cours (35).

Des études sont actuellement menées sur la possibilité d'injecter des préparations **de derme humain** (36).

### **3.9. Les chondrocytes**

Les chondrocytes peuvent être prélevés au niveau de l'oreille, cultivés in vitro, puis mis en suspension avec de l'alginate. Une fois la suspension injectée, le gel se dégrade progressivement tandis que les cellules cartilagineuses se mettent à sécréter une matrice extracellulaire. Le volume injecté initialement se maintient, l'amas cellulaire est stable sans tendance à la migration (35).

Les recherches déjà menées pour le traitement du reflux vésico-urétéral ont montré l'efficacité et l'inocuité de la préparation à la fois chez l'animal et chez l'homme (6) (7) (8) (34) : pas de réaction inflammatoire particulière ou de migration.

Dans une étude récente portant sur trente-deux femmes souffrant d'incompétence sphinctérienne intrinsèque, 81,3 % des patientes étaient guéries ou améliorées douze mois après une seule injection de chondrocytes (13).

### **3.10. Les cellules musculaires lisses**

Le succès obtenu avec les chondrocytes autologues a poussé les chercheurs à travailler sur d'autres types de cellules autologues. Les cellules musculaires de la vessie sont injectées avec de l'alginate qui joue le rôle de véhicule.

D'après KERSHEN et ATALA (58), ATALA et ses collaborateurs ont montré lors d'expérimentations animales que les cellules survivaient en maintenant leur programme normal de différenciation et remplaçaient progressivement l'alginate. Le greffon semble stable et aucune migration ou formation de granulome n'a été mise en évidence.

## **D. EFFICACITE DES TRAITEMENTS PAR INJECTION PAR RAPPORT AUX TECHNIQUES CHIRURGICALES CONVENTIONNELLES**

Les résultats annoncés dans les paragraphes précédents sont les résultats d'études parus dans la littérature. Cependant, tous ces résultats sont extrêmement difficiles à comparer car les études réalisées sont peu standardisées : elles diffèrent par les critères de sélection des patientes, par les volumes de produit injecté, par le nombre d'injections réalisées, par la durée du suivi ou par la méthode d'évaluation des résultats.

Depuis peu, une évaluation subjective du grade de continence est utilisée pour juger de l'efficacité des traitements :

- |                |  |
|----------------|--|
| <b>Grade 0</b> | La patiente est continente.  |
| <b>Grade 1</b> | La patiente perd de l'urine lors d'une augmentation soudaine de la pression abdominale.  |
| <b>Grade 2</b> | La patiente perd de l'urine lors d'activités physiques courantes provoquant une augmentation de la pression abdominale (marche, changement de position, ...) |
| <b>Grade 3</b> | La patiente présente une incontinence totale, elle perd de l'urine sans relation avec une activité ou une position.  |

Il y a « amélioration » lorsque le grade d'incontinence diminue. Les patientes sont dites « guéries » lorsqu'elles sont totalement continentes ou n'ont plus que des pertes minimales pouvant être contrôlées par des tissus absorbants.

RODNEY et APPELL (4) publient les résultats des études qui ont utilisé ces critères d'évaluation et nous permet de comparer les différentes techniques : la technique chirurgicale de la bandelette obtient 81 à 98 % de succès, le sphincter artificiel atteint les 90 % de réussite. En comparaison, le taux de succès des injections de téflon est de 70 à 95 %, celui du collagène bovin est de 64 à 95 %, celui de la graisse est de 70 à 90 %, tandis que l'efficacité des particules de silicone varie de 70 à 82 %.

Les traitements par injection ont donc une efficacité à court terme comparable à celle des opérations chirurgicales classiques. (Cependant, les bons résultats à court terme se dégradent en général rapidement avec le temps.)

## **E. UTILISATION DES MYOBLASTES AUTOLOGUES POUR LE TRAITEMENT PAR INJECTION DE L'INCONTINENCE URINAIRE D'EFFORT**

### **1. Intérêt des cellules autologues**

De très nombreux agents ont déjà été essayés pour le traitement endoscopique de l'incontinence urinaire. Cependant, le produit idéal n'a toujours pas été trouvé : certains produits sont vite résorbés et perdent rapidement leur efficacité (le collagène bovin et surtout la graisse autologue), d'autres s'accompagnent de complications graves telles que la migration à distance (le téflon, les particules de carbone). De nombreux agents sont encore en cours d'évaluation.

La greffe de cellules autologues dans la paroi urétrale offre de nombreux avantages. Les cellules sont reconnues comme appartenant à l'organisme lui-même et ne sont pas rejetées par le système immunitaire : pas de réaction allergique, pas de granulome inflammatoire à redouter. La biocompatibilité est totale. De plus, les cellules greffées pourraient survivre et même se multiplier sur le site de la greffe et ainsi maintenir l'effet « masse » sur du long terme.

Les résultats obtenus avec les chondrocytes et les cellules musculaires lisses de la vessie nous encourageant à tenter la greffe d'un nouveau type de cellules autologues : les myoblastes squelettiques.

### **2. Les particularités du muscle strié squelettique**

Contrairement au muscle lisse et au muscle cardiaque, le muscle strié squelettique a des capacités de régénération très importantes car il possède des cellules spécialisées : les cellules satellites. Lorsque l'organisme a besoin de produire de nouveaux noyaux pour la croissance des fibres musculaires existantes, de produire de nouvelles fibres musculaires ou encore de réparer des fibres abîmées ou malades, la première source de noyaux est le pool de cellules satellites de l'organisme.

Les cellules satellites ont été découvertes en 1961 par KATZ, et par MAURO (66). Ce dernier était en train d'observer au microscope électronique les fibres musculaires de la patte d'une grenouille lorsqu'il a aperçu ces petites cellules situées en bordure des fibres musculaires, difficiles à discerner des noyaux périphériques des fibres musculaires. Le nom de « cellule satellite » est lié à la localisation des cellules par rapport aux fibres musculaires.

Les cellules satellites sont des petites cellules mononucléées situées sous la lame basale des fibres musculaires. Elles mesurent 18 à 50 microns de longueur. Les cellules satellites quiescentes, inactives possèdent un ratio nucléocytoplasmique relativement élevé avec un cytoplasme peu abondant et des organites rares, leur noyau (unique) est plus petit et plus hétérochromatique que ceux des fibres musculaires adjacentes et les myofilaments sont typiquement absents de la cellule satellite alors que les microtubules et les microfilaments sont souvent observés.

Mais la morphologie de la cellule satellite varie selon son état : les caractéristiques décrites ci-dessus disparaissent lorsque la cellule est activée ou prolifère. La cellule satellite active apparaît alors comme un « gonflement » le long de la fibre musculaire avec des processus cytoplasmiques pouvant partir d'un ou de ses deux pôles.

L'état physiologique d'un muscle est reflété par la proportion de cellules satellites actives et inactives : les muscles des jeunes animaux en croissance possèdent par exemple une grande proportion de cellules satellites métaboliquement actives.

En réponse à un stimulus (un traumatisme musculaire par exemple), les cellules satellites quiescentes peuvent s'activer, proliférer et exprimer des marqueurs myogéniques (les cellules satellites exprimant des marqueurs myogéniques sont appelés « myoblastes »). Ensuite, les myoblastes fusionnent avec les fibres musculaires préexistantes ou fusionnent entre eux pour former des cellules multinucléées, les myotubes qui se différencient finalement en nouvelles fibres musculaires, si l'innervation et la vascularisation sont adéquates. Certaines cellules produites restent mononucléées et renouvellent le stock de cellules satellites : BAROFFIO *et al.* (9) ont montré que parmi les cellules formées par la prolifération d'une cellule satellite, certains myoblastes ne fusionnaient pas *in vitro* et présentaient un phénotype

De plus, des études récentes ont permis d'isoler du muscle squelettique des cellules appelées « Side Population cells » (cellules SP) qui sont capables de se différencier en différents types cellulaires selon l'environnement. Il reste encore à savoir si ces cellules SP sont une sous-population de cellules satellites, si les cellules satellites dérivent des cellules SP ou si ces deux populations de cellules musculaires sont indépendantes (49).

QU-PETERSON *et al.* (79) ont isolé très récemment à partir du muscle squelettique un nouveau type de cellules multipotentes, capables de se différencier *in vivo* en cellules endothéliales vasculaires et cellules de Schwann. Ces cellules seraient distinctes des cellules satellites.

On sait maintenant que le muscle squelettique mature contient des cellules souches multipotentes capables de se différencier en divers types cellulaires, cependant la nature et l'origine précises de ces cellules n'est pas connue à l'heure actuelle.

Ainsi, les cellules dérivées du muscle squelettique, et en particulier les cellules satellites et les myoblastes qui en découlent, possèdent des propriétés particulièrement intéressantes.

### **3. Utilisation thérapeutique des cellules dérivées du muscle strié squelettique**

Les cellules satellites sont accessibles et faciles à prélever (biopsie musculaire). De plus, les techniques de culture et de multiplication de ces cellules *in vitro* sont connues. Il est donc aisé d'obtenir des cellules satellites et des myoblastes pour les utiliser à des fins thérapeutiques.

#### **3.1. La greffe de myoblastes pour la thérapie génique : application à des maladies variées**

Quand les myoblastes se différencient en myotubes et fibres musculaires, ces cellules deviennent post-mitotiques et persistent à un état stable sans risque de prolifération incontrôlée. Elles constituent alors un réservoir durable pour la sécrétion de molécules à rôle thérapeutique. C'est pour ces propriétés uniques que les myoblastes sont employés en thérapie génique.

Le principe de la thérapie génique utilisant les myoblastes consiste à prélever des myoblastes sur un individu donneur, à les mettre en culture *in vitro* pour introduire dans leur génome le gène de la molécule qui nous intéresse par l'infection d'un virus vecteur, puis à les greffer sur un individu receveur, afin de produire durablement chez ce dernier une molécule absente ou insuffisante.

La greffe s'effectue en général au sein d'un muscle squelettique : les myoblastes peuvent alors fusionner avec des fibres musculaires de l'hôte, fusionner entre eux et former des myotubes puis des fibres différenciées, ou persister à l'état de cellules mononucléées. Mais les greffes de myoblastes peuvent aussi s'effectuer dans d'autres tissus : le rein (61), le cerveau (56), les articulations (45), les os (30). Dans tous les cas, leur maturation conduit à l'expression durable de protéines localement ou à distance.

De nombreux exemples existent dans ce domaine : la greffe de myoblastes porteurs du gène du facteur IX de la coagulation a permis d'obtenir la production du facteur IX dans le plasma des souris greffées pendant plus de six mois (29) ; l'hormone de croissance humaine a été produite par des souris greffées avec des myoblastes porteurs du gène de l'hormone (33) ; la transplantation allogénique d'îlots de Langerhans chez des souris diabétiques a été facilitée par la cotransplantation à proximité de myoblastes syngéniques porteurs du gène du ligand de FAS : Les myoblastes exprimant le ligand de FAS ont protégé les îlots de Langerhans contre la réponse immunitaire du receveur et ont permis d'obtenir une glycémie normale pendant plus de 80 jours chez les souris diabétiques (61) ; la pro-insuline humaine a également pu être produite grâce à la greffe de myoblastes (26) ; la transplantation intracérébrale de myoblastes et myotubes porteurs du gène de la tyrosine hydroxylase a conduit à l'expression de l'enzyme dans le cerveau (avec production de L-DOPA et de dopamine) et à la disparition des troubles neurologiques chez les rats modèles de la maladie de Parkinson (56).

### **3.2. La greffe de myoblastes pour traiter les maladies musculaires**

#### **3.2.1. Le muscle strié squelettique : la myopathie de Duchenne**

La myopathie de Duchenne (DMD) est une maladie génétique liée au chromosome X qui touche 1/3500 garçons à la naissance. La maladie a été décrite pour la première fois par Duchenne comme un processus dégénératif progressif affectant le muscle strié squelettique. On sait maintenant que la DMD est une maladie plus complexe touchant également le cœur, le système nerveux, les muscles lisses. Mais le muscle squelettique est le tissu le plus sévèrement atteint.

La maladie est découverte entre deux et cinq ans. Dès l'âge de douze ans, le garçon est tellement faible que l'utilisation d'un fauteuil roulant devient inévitable. La faiblesse du diaphragme et des muscles intercostaux peut conduire à une insuffisance respiratoire.

La DMD est due à une mutation touchant le gène de la dystrophine. Cette protéine est située sous le sarcolemme des fibres musculaires squelettiques et assure la liaison entre le cytosquelette de la cellule et la matrice extracellulaire. L'absence de cette protéine chez les malades fragilise les fibres musculaires : elles dégénèrent au cours des contractions. La régénération est assurée par le stock de cellules satellites jusqu'à ce qu'il s'épuise (43).

La thérapie génique de la DMD repose sur l'introduction du gène de la dystrophine au sein des fibres musculaires squelettiques du malade. Différentes méthodes peuvent être employées (43) :

**7. L'injection directe d'ADN (plasmides)** est la technique la moins risquée, la plus simple et la moins chère. Le muscle strié est un tissu qui capte facilement l'ADN nu et d'autant plus efficacement que le taux de régénération est important, ce qui est le cas dans la DMD. Cependant, l'injection d'ADN nu ou complexé reste peu efficace.

**8. Les virus vecteurs de gènes** peuvent être utilisés pour améliorer le transfert génétique. Ce sont des virus dont le génome a été modifié artificiellement in vitro : une partie de leurs gènes a été remplacée par un ou plusieurs gènes étrangers intéressants. Ces virus jouent le rôle de vecteurs de gènes car, une fois injectés au sein d'un organisme, ils délivrent leur génome aux cellules qu'ils infectent. Leur modification génétique empêche leur propagation incontrôlée et élimine leur pouvoir pathogène.

Ainsi, il est possible d'introduire le gène de la dystrophine dans le génome de virus tels que les adénovirus, les rétrovirus, les herpes simplex virus... Puis d'injecter les virus modifiés génétiquement chez des myopathes afin d'introduire ce gène dans leurs fibres musculaires.

**Les adénovirus** ont l'avantage d'être stables et d'infecter des cellules quiescentes comme des cellules en division. Leur génome est facile à manipuler et subit peu de réarrangements. L'inconvénient principal est la limitation de la taille du gène qu'il est possible d'introduire dans le virus : 7,8 kb maximum. Le transfert de gènes par les adénovirus est efficace sur les cellules musculaires immatures, mais les fibres musculaires matures ne sont pas transfectées. De plus, les adénovirus produisent des protéines qui stimulent le système immunitaire et provoquent la mort des cellules infectées.

**Les rétrovirus** sont aussi intéressants car leur génome modifié est introduit de manière stable dans le génome de la cellule hôte et permet une expression durable de la protéine. Cependant, la longueur du gène est encore limitée (9-10 kb) et les rétrovirus n'infectent que les cellules en mitose ou proches de la mitose. L'injection directe in vivo est peu efficace car seules les cellules satellites sont transfectées car elles entrent en mitose, les fibres musculaires matures ne sont pas atteintes.

**9. Les myoblastes** jouent un rôle clé dans la thérapie génique de la DMD : ils peuvent être utilisés de deux manières différentes.

**Tout d'abord, les myoblastes transfectés par des virus possédant le gène de la dystrophine peuvent jouer le rôle de véhicule pour cette protéine.** En effet, la plus grande barrière à l'utilisation des virus comme vecteurs de gène dans le muscle squelettique est leur incapacité à transfecter des fibres musculaires matures. Comme les virus sont capables de transfecter les myoblastes et que les myoblastes sont capables de fusionner avec les fibres musculaires matures, on utilise les myoblastes pour améliorer l'efficacité du transfert de gène par les virus. Les myoblastes autologues du malade sont mis en culture avec les virus modifiés génétiquement. Ces virus pénètrent dans les myoblastes et leur transmettent le gène de la dystrophine. Les myoblastes transfectés sont ensuite greffés au même malade. Lorsque les myoblastes sont greffés au sein du muscle, ils peuvent fusionner avec les fibres musculaires de l'hôte et leur apporter le gène manquant, ils peuvent former des fibres musculaires nouvelles en fusionnant entre eux, mais ils permettent aussi la formation de nouvelles cellules satellites compétentes contenant de la dystrophine (53).

BOOTH et son équipe (17) ont montré que la technique de transfert de gène ex-vivo utilisant les myoblastes était bien plus efficace que l'utilisation simple des virus, en ce qui concerne les adénovirus et les herpes simplex virus.

**La greffe directe de myoblastes compétents possédant naturellement le gène de la dystrophine est une autre alternative pour le traitement de la DMD.** Les greffes de myoblastes chez des animaux modèles de la DMD ont donné de très bons résultats et ont poussé les cliniciens à tenter des allogreffes chez les garçons malades.

La greffe de myoblastes compétents provenant du père ou du frère du malade dans le muscle d'enfants myopathes a permis d'obtenir l'expression de dystrophine dans le muscle greffé (69).

GUSSONI *et al.* (46) ont montré la persistance des noyaux des myoblastes greffés au sein du muscle. Dans leur étude, la moitié des noyaux retrouvés avaient fusionné avec les cellules de l'hôte et 50 % d'entre elles produisaient de la dystrophine. Certains myoblastes avaient donné naissance à des cellules satellites, réservoir pour la production de nouveaux noyaux en cas de besoin.

D'après TREMBLAY et VILQUIN (93), le groupe de MENDELL a démontré, au cours d'un essai clinique mené de 1993 à 1995, la présence de dystrophine normale dans 10 % des fibres musculaires d'un patient greffé avec des myoblastes.

Les études cliniques ont aussi montré une augmentation de la force musculaire des patients traités par injection de myoblastes (54) (78) (93).

Les résultats cliniques de la greffe de myoblastes pour le traitement de la DMD sont cependant décevants dans l'ensemble et de nombreux problèmes restent encore à résoudre. Mais il est indéniable que les myoblastes représentent un outil thérapeutique important dans le traitement des myopathies.

### **3.2.2. Le muscle cardiaque : infarctus et cardiomyopathie dilatée**

Contrairement au muscle squelettique, le muscle cardiaque des vertébrés a des capacités de régénération très limitées (45) (59). La réparation par l'organisme d'une lésion myocardique entraîne la formation d'un tissu fibreux cicatriciel, non fonctionnel.

Pour remplacer le tissu cardiaque perdu, des greffes de cellules dans le cœur ont déjà été réalisées : les lignées de cellules myogéniques ont l'inconvénient de former des tumeurs *in vivo* et présentent toujours un risque de dérive génétique ; les cardiomyocytes d'embryons, de fœtus, ou de nouveau-nés posent un grave problème éthique.

De nombreuses équipes de chercheurs ont greffé avec succès des myoblastes squelettiques au sein du myocarde. Que ce soit par la voie intra-artérielle ou par la voie intra-myocardique, les cellules ont été délivrées au myocarde, ont survécu et se sont différenciées (27) (37) (71) (80) (81) (92). Une fois greffés, les myoblastes ont suivi leur programme normal de développement : sortie du cycle de réplication et différenciation myogénique avec expression d'enzymes caractéristiques du muscle strié squelettique (SERCA1) et la formation de myofibrilles. Ainsi, l'environnement cardiaque permet la différenciation myogénique. L'expression ensuite de phospholamban par les myoblastes greffés, protéine présente dans les cellules cardiaques et les fibres musculaires lentes, traduit l'influence de l'environnement myocardique sur les myoblastes greffés : l'environnement a altéré le programme de développement des cellules implantées en les transformant en fibres musculaires lentes (81). Cette transformation en fibres lentes permet d'obtenir un muscle néoformé adapté au travail cardiaque (71).

Certains auteurs auraient même observé la transformation des myoblastes greffés dans le myocarde en cellules de type cardiaque (27) (92), mais cette affirmation a été contredite par les travaux d'autres chercheurs (80). La preuve formelle d'une telle trans-différenciation est encore à apporter.

Le fonctionnement du myocarde repose sur le couplage électrique des cellules cardiaques par des gap-jonctions. Ces jonctions sont absentes du muscle strié squelettique. Cependant, des jonctions ressemblant à des jonctions serrées ou des jonctions adhérentes ont été retrouvées au sein des greffons de myoblastes. Ces jonctions pourraient assurer des liaisons entre les cellules greffées entre elles, ou entre des cellules greffées et des cellules présentes dans le cœur (60). D'autre part, lors de la greffe de myoblastes dans le cœur par voie intra-artérielle, la protéine connexin-43 et des gap-jonctions auraient été identifiés à l'interface entre les cellules greffées et les cellules de l'hôte (81). Ainsi, des composants du système de couplage électrique seraient présents dans certaines cellules greffées.

BORENSTEIN *et al.* (18) ont montré très récemment que la greffe de myoblastes non cultivés, directement après leur extraction enzymatique, donne de très bons résultats dans le myocarde de moutons : les analyses histologiques après trois semaines montrent que les cellules musculaires se sont greffées massivement au sein du myocarde. Les études précédentes n'avaient jamais sauté l'étape de la culture cellulaire *in vitro* préalablement à la greffe. Pourtant, éviter la culture cellulaire permet de gagner du temps et de l'argent, et de réduire les risques de contamination des cellules.

Les résultats des greffes de myoblastes dans le cœur de chiens, de rats, ou de lapins ont donc montré clairement la survie et la différenciation des cellules greffées. De plus, il a été démontré une amélioration des performances hémodynamiques du cœur greffé (92).

La majorité des recherches dans ce domaine concerne la réparation de liaisons myocardiques localisées, de type infarctus. Mais de bons résultats ont aussi pu être obtenus par la greffe intra-myocardique de myoblastes autologues dans le cœur de chiens atteints de cardiomyopathie dilatée idiopathique : amélioration de l'état clinique des chiens greffés et amélioration des performances hémodynamiques (fraction de raccourcissement, volume systolique) (19).

Ainsi, la greffe de myoblastes est à la fois intéressante pour des liaisons myocardiques localisées ou diffuses.

Les bons résultats expérimentaux ont conduit à la réalisation en France de la première greffe de myoblastes autologues dans le cœur d'un homme présentant une lésion ischémique très sévère. Les myoblastes ont été greffés dans et autour de la lésion d'infarctus au cours de l'intervention de pontage aorto-coronarien. Cinq mois après l'intervention, les résultats de la greffe sont très encourageants (68). Plusieurs autres groupes procèdent à la mise en place de tels essais à travers le monde.

## **4. L'urétromyoplastie cellulaire**

### **4.1. Concept**

Nous venons de voir que les cellules dérivées du muscle squelettique présentent des propriétés originales qui les différencient de tout autre type cellulaire.

Le succès de la greffe des myoblastes squelettiques dans le muscle strié squelettique puis dans le muscle strié myocardique nous encourage à aller plus loin et à tenter un nouveau type de greffe : la greffe de myoblastes striés squelettiques dans la paroi de l'urètre, au sein du sphincter urétral pour le traitement de l'incontinence urinaire. Par analogie avec l'urétromyoplastie dynamique, intervention décrite pour le traitement des incontinenes, où un muscle squelettique est utilisé pour encercler et assister l'urètre (3) (23) (75) (76) (94), nous qualifierons notre opération d'urétromyoplastie cellulaire. Cette greffe de précurseurs des cellules musculaires striées pourrait aider le muscle urétral natif qui présente des capacités régénératives très limitées.

Cette nouvelle stratégie pour le traitement de l'incontinence urinaire pourrait avoir un intérêt clinique direct dans le futur proche : les myoblastes récoltés par simple aspiration musculaire dans le muscle du bras d'une patiente pourraient, après une mise en culture de quelques jours, lui être réinjectés au sein de l'urètre à l'aide d'un endoscope, sous anesthésie locale.

Grâce aux propriétés toutes particulières des myoblastes, nous espérons améliorer les résultats des traitements endoscopiques classiques de l'incontinence urinaire (injection de collagène, graisse, téflon).

D'abord, les myoblastes greffés pourraient survivre dans le tissu urétral, se multiplier puis se différencier en myotubes et fibres musculaires (ou fusionner avec des fibres musculaires déjà présentes et participer à leur croissance). Ces cellules matures, post-mitotiques cessent de se multiplier et persistent dans le temps sans risque de croissance incontrôlée. En plus de l'effet « masse », ce tissu musculaire vivant néoformé assisterait le sphincter urétral déficient.

Ensuite, la présence de cellules souches parmi les cellules dérivées du muscle squelettique autorise à envisager le développement d'autres types cellulaires à partir des cellules greffées par influence de l'environnement (par exemple des cellules musculaires lisses qui pourraient s'intégrer au muscle urétral natif).

D'autre part, les myoblastes peuvent être modifiés génétiquement avant leur implantation dans l'urètre lors de la culture in vitro et ainsi être utilisés comme source de facteurs trophiques favorisant la régénération musculaire ou augmentant la force musculaire.

Ainsi, l'effet « masse » recherché classiquement pourrait s'accompagner de l'incorporation des cellules au tissu urétral natif, d'une restitution d'une masse urétrale fonctionnelle et d'une amélioration des performances contractiles de l'urètre, en injectant les myoblastes directement ou après modification génétique grâce à des virus.

## **4.2. Historique**

Les premières greffes de myoblastes dans l'urètre sont très récentes. Les publications sur le sujet sont peu nombreuses.

En 2000, l'équipe de CHANCELLOR (26) a publié les résultats de la greffe de myoblastes provenant d'une lignée cellulaire immortelle de souris dans les parois urétrale et vésicale de rattes. Les myoblastes ont été mis en culture avec des adénovirus qui leur ont transmis le gène rapporteur de la  $\beta$ -galactosidase, et avec des microsphères de latex fluorescentes. Ainsi, le devenir des myoblastes après la greffe a pu être suivi à l'aide de deux marquages différents. Les urètres ont été prélevés 3 à 4 jours après la greffe pour éviter le rejet par le système immunitaire. Les analyses histologiques ont révélé la présence de

nombreuses cellules exprimant la  $\beta$ -galactosidase et contenant des microsphères fluorescentes dans la paroi vésicale et la paroi urétrale : des myoblastes, mais aussi des myotubes et des fibres musculaires résultant de leur fusion. Cette expérience montre la faisabilité de la greffe de myoblastes dans la paroi urétrale avec la survie et la différenciation des myoblastes injectés ainsi que la formation de myotubes et de fibres musculaires capables de produire la  $\beta$ -galactosidase dans la paroi de l'urètre, sans effet indésirable particulier.

En 2001, YOKOYAMA *et al.* (100) ont greffé des myoblastes primaires provenant d'une souris normale dans la paroi vésicale d'une souris SCID (souris présentant une immunodéficiência combinée sévère). Les myoblastes ont été marqués comme précédemment à l'aide du gène rapporteur Lac Z de la  $\beta$ -galactosidase. Les analyses histologiques à 5, 35 et 70 jours ont montré un grand nombre de cellules exprimant la  $\beta$ -galactosidase dans la paroi vésicale. De nombreux myotubes et fibres musculaires ont été retrouvés. À 35 jours, la quasi-totalité des cellules musculaires injectées était différenciée en myotubes. L'utilisation de souris SCID permet de mimer les conditions d'une autogreffe et de pouvoir suivre le devenir des cellules sans le problème du rejet immunitaire. Cette expérience montre qu'il est possible d'isoler des myoblastes primaires, de les réinjecter dans le bas appareil urinaire et d'obtenir après plus de deux mois leur survie et leur différenciation dans ce nouveau milieu de vie.

(Des résultats identiques ont été obtenus en pratiquant la greffe dans la paroi urétrale. Des cellules greffées ont même été retrouvées sur le site de la greffe après six mois (99).)

D'après YOKOYAMA *et al.* (99), lors d'une expérience comparable (greffe de myoblastes primaires marqués à l'aide du gène de la  $\beta$ -galactosidase dans la paroi vésicale de souris SCID), l'équipe de CHANCELLOR aurait obtenu la différenciation des cellules musculaires striées greffées en cellules musculaires lisses. Les tissus greffés ont été récoltés à 3, 35 et 70 jours après l'injection et traités avec le marqueur de l' $\alpha$ -actine spécifique du muscle lisse et le marqueur de la chaîne lourde de la myosine spécifique du muscle squelettique. Les cellules exprimant la  $\beta$ -galactosidase ont été retrouvées en quantité et les chercheurs ont noté la présence d' $\alpha$ -actine spécifique du muscle lisse au sein des myofibres greffées. Ainsi cette expérience montre encore une fois la survie à long terme des myoblastes greffés dans le bas appareil urinaire de la souris, et suggère même leur différenciation en cellules musculaires lisses.

YOKOYAMA *et al.* (102) ont comparé la greffe des myoblastes à l'injection de collagène chez des rattes : des myoblastes primaires prélevés sur des rattes puis marqués avec le gène de la  $\beta$ -galactosidase ont été réinjectés dans les parois vésicale et urétrale de ces mêmes rattes. Cette greffe autologue a été comparée à l'injection de 100  $\mu$ L de collagène bovin chez d'autres rattes. Les tissus ont été récupérés et analysés après 3 ou 30 jours, dans les deux groupes. De nombreuses cellules exprimant la  $\beta$ -galactosidase ont été retrouvées dans la vessie et l'urètre à 3 et 30 jours chez les rattes greffées. La persistance du collagène et des cellules musculaires était comparable à 3 jours. Mais à 30 jours il ne restait plus qu'une faible quantité de collagène alors que les cellules musculaires persistaient significativement et faisaient toujours protrusion vers la lumière urétrale. Cette expérience montre la faisabilité de la greffe de cellules musculaires autologues dans le bas appareil urinaire de la ratte et la persistance supérieure des cellules musculaires par rapport au collagène, produit couramment utilisé pour le traitement de l'incontinence urinaire chez la femme.

Dans une autre expérience de greffe autologue sur des rattes, YOKOYAMA *et al.* (101) ont essayé de mettre en évidence la réaction immunitaire : des myoblastes primaires prélevés sur des rattes puis marqués à la  $\beta$

## **CHAPITRE IV : ETUDE EXPERIMENTALE**

### **A. PRINCIPE**

Le but de l'étude que nous voulons entreprendre est d'évaluer les effets tissulaires et fonctionnels de la transplantation de cellules satellites, lors d'incompétence sphinctérienne urétrale chez le gros animal. Le modèle animal que nous avons choisi est la chienne castrée. Jusqu'à présent, les expériences décrites concernent le petit animal (rat ou souris), et il est important aujourd'hui de vérifier que les bons résultats obtenus avec le modèle murin s'appliquent au gros animal avant d'envisager des essais cliniques.

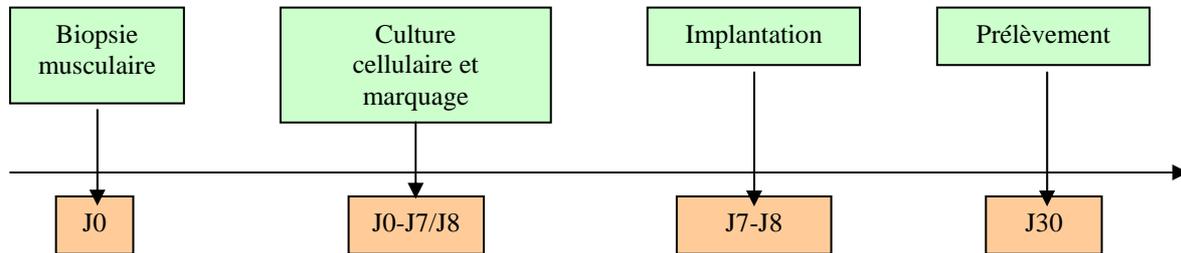
L'incontinence urinaire par incompétence sphinctérienne urétrale (comparable à l'incontinence urinaire de stress de la femme) est d'étiologie multifactorielle chez la chienne. Les facteurs prédisposant les animaux à ce type d'incontinence sont d'ordre anatomique (urètre trop court, vessie pelvienne), d'ordre hormonal (incontinence de castration bien connue chez la femelle), d'ordre racial. Le déficit en œstrogènes est l'explication la plus populaire de l'incontinence dite de castration. Une étude a permis de démontrer la diminution systématique de la pression maximale de clôture lors d'examens urétromanométriques chez des chiennes castrées, avec ou sans incontinence clinique (96). Le traitement de l'incontinence urinaire par incompétence sphinctérienne urétrale chez la chienne peut être médical (alpha-agonistes, œstrogènes), chirurgical (colposuspension, urétrocystopexie, écharpe transpelvienne), ou endoscopique (injection de collagène ou de téflon), comme chez la femme souffrant d'incontinence d'effort. Les chiennes castrées pourraient ainsi représenter un modèle avantageux pour tester l'effet d'un traitement cellulaire de l'incontinence par incompétence sphinctérienne urétrale.

Pour réaliser ce projet, chaque étape de la transplantation doit être connue et maîtrisée : biopsie musculaire, culture cellulaire, optimisation des conditions de culture, caractérisation des cellules, marquage optimal des cellules, implantation intra-urétrale, amélioration de la survie après implantation et suivi du destin cellulaire dans le microenvironnement urétral. L'étude présentée ici correspond ainsi à une étude de faisabilité pour valider chaque segment de la séquence. Un élément important à signaler est que l'amélioration des techniques de culture et de marquage a eu cours en même temps que des essais de faisabilité in vivo.

Les conclusions préliminaires de ce travail permettent d'aboutir à des techniques in vitro et in vivo améliorées pour la poursuite de ce protocole, c'est-à-dire pour l'urétromyoplastie cellulaire sur un véritable modèle d'incompétence sphinctérienne urétrale chez la chienne.

## **B. ANIMAUX, MATERIEL ET METHODES**

### **1. Schéma expérimental**



### **2. Animaux**

Six chiennes Beagle pesant de 10 à 15 kg ont été commandées dans un élevage spécialisé (CEDS, Domaine des souches, MEZILLES, 89130 TOUCY). Ces chiennes ont été par la suite hébergées dans l'animalerie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. Les interventions (biopsie, culture, greffe et prélèvement final) ont eu lieu au Centre d'Expérimentation et de Recherche Appliquée (CERA). Le projet a été préalablement audité par le comité d'éthique de la Fondation de l'Avenir pour la Recherche Médicale Appliquée (voir la charte du comité d'éthique de la Fondation de l'Avenir en annexe). La totalité du protocole a été conduite en accord avec les recommandations de ce même comité d'éthique et en conformité avec les principes exposés dans les textes et guides de référence, notamment le Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (National Institutes of Health) et le Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation du Conseil Canadien de Protection des Animaux (CCPA).

Le protocole qui sera décrit ci-dessous est le protocole de greffe qui a été utilisé sur la sixième chienne et qui a permis d'obtenir les meilleurs résultats : traitement par choc thermique, marquage au cmDiI et au BrdU et ajout de dexaméthasone à la préparation cellulaire.

### **3. Culture cellulaire**

La technique de culture cellulaire utilisée ici pour expandre des cellules satellites in vitro, a été développée au CERA d'après plusieurs protocoles publiés (77) (86). La biopsie musculaire est réalisée dans un muscle non indispensable à la locomotion : le muscle sartorius. Le principe de la récolte des cellules est celui d'une dissociation mécanique, d'une digestion enzymatique puis d'une sélection des cellules d'intérêt par centrifugations différentielles.

Pour la culture cellulaire, une observation quotidienne a été réalisée avec un microscope inversé à contraste de phase (Olympus®, LH50A).

#### **9.1. Produits utilisés**

Les produits et milieux utilisés pour la technique de culture sont les suivants :

- DULBECCO'S Modified Eagle Medium (DMEM) avec Glutamax-1, sodium pyruvate, pyridoxine, 4500 mg/L glucose, Gibco®
- Phosphate Buffered Saline (PBS), pH7, 2/0, 1M, Gibco®
- Collagénase (dessicat) Sigma® C-9891, Lot 129H8607, collagen digestion activity : 548 U/mg solid, FALGPA hydrolysis activity : 1,9 U/mg solid
- Trypsine (1X), Gibco®
- Sérum veau fœtal (SVF), Gibco®
- Diméthyl sulfoxyde (DMSO), Sigma®
- Pénicilline/Streptomycine (Péni/strepto), Gibco®

Milieu préparé par l'opérateur :  
Milieu de culture de base : DMEM complété (DMEMc)

DMEM	79%
SVF	20%
Péni/strepto	1%

### **9.2. Biopsie de muscle sartorius**

Les chiennes étaient anesthésiées selon le même protocole que celui décrit pour l'implantation cellulaire (voir chapitre 6). Les chiennes ont été placées en décubitus dorsal avec les membres postérieurs en extension. Le chef crânial du muscle sartorius (anciennement couturier) a été exposé par une incision cutanée en regard de ce muscle, sur la face crâniale de la cuisse droite (**Figure 40**). Après l'incision du fascia recouvrant cette région, un soin particulier a été appliqué pour ne pas endommager le muscle prélevé. Le prélèvement a été nettoyé du tissu adipeux et fibreux l'entourant avant d'être dissocié mécaniquement. Les différents plans ont été fermés successivement de manière classique.

### **9.3. Dissociation mécanique**

La biopsie a été transférée dans une cupule stérile puis coupée aux ciseaux de Mayo en petits dés. La dissociation mécanique a été poursuivie avec des ciseaux plus fins jusqu'à l'obtention d'un mélange type compote. Cette préparation a été stérilement transférée dans deux tubes contenant chacun 10 mL d'une solution stérile à base de collagénase 0,2 % (voir préparation plus bas) puis a été pesée (environ 10 grammes).

### **9.4. Préparation des enzymes**

Une solution de collagénase à 0,2 % a été préparée comme suit : 0,2 g de collagénase dilués dans 100 mL ont été placés dans deux tubes de 50 mL avec 50 mL de DMEM par tube. Le mélange a été filtré avec une unité de filtration à dépression (ultrafiltration à 0.2 µm).

**Figure 40 : Prélèvement du chef crânial du muscle sartorius.**

Un soin particulier a été appliqué pour ne pas endommager le muscle lors de la dissection. Le prélèvement a été nettoyé du tissu adipeux et fibreux l'entourant avant d'être haché et stérilement transféré dans un milieu de culture.

### **9.5. Digestion enzymatique des fragments musculaires**

Les tubes contenant les fragments musculaires ont été transférés dans un agitateur sec à 37°C pendant 20 minutes. Les tubes ont été ensuite centrifugés à 200 g (=1200 t/min) pendant 2 minutes. Le surnageant contenant les cellules satellites (environ 5 mL de culot et 10 mL de surnageant) a été retiré et conservé dans un flacon de 75 cm<sup>2</sup> contenant 50 mL de DMEM complété avec du sérum de veau fœtal et des antibiotiques (DMEMc). 10 mL de collagénase 0,2 % ont été rajoutés à chaque tube avec le culot restant puis remis à l'agitation à 37°C pendant 20 minutes encore. Cette série de digestions enzymatiques a été recommencée 4 fois, soit 5 extractions en tout.

### **3.6. Filtration et préparation finale**

Le contenu du flacon de 75 cm<sup>2</sup> avec les cellules satellites a été filtré avec des filtres autoclavés de 250 µm pour le retrait des plus gros éléments musculaires. La préparation a été ensuite lavée par centrifugation dans 4 tubes de 50 mL, à 2000 t/min pendant 15 minutes. Le surnageant a été éliminé. Cette étape a été répétée une seconde fois. L'ensemble a été reconditionné dans 30 mL de DMEM pur puis transféré dans 30 boîtes (1 mL/boîte) de Pétri contenant 10 mL chacune de DMEMc.

### **3.7. Mise en culture**

Les boîtes ont été mises à l'étuve humidifiée, à 38°C avec 5 % CO<sub>2</sub>, puis surveillées quotidiennement pour l'avancement des cultures et l'absence d'infection. Un changement de milieu a été effectué tous les 3 jours.

### **3.8. Comptage cellulaire et reconditionnement des cellules pour la greffe**

Les cellules ont été ensuite marquées au BrdU 48 heures avant leur utilisation (voir chapitres suivants). Le jour de la greffe, les cellules ont été trypsinées : le surnageant a été enlevé des boîtes puis les cellules ont été rincées avec du PBS (10 mL/boîte) pendant 1 minute. 2 à 3 mL de trypsine ont été ajoutés pendant 5 à 10 min en fonction du décollement des cellules du fond de la boîte (la boîte a été frappée sur la table). 2 à 3 mL de milieu complet (DMEMc) ont été ajoutés car le SVF stoppe la digestion. Les cellules dans le DMEMc et la trypsine sont centrifugées 10 minutes à 2000 t/min puis les cellules sont remises en suspension dans du DMEM pur pour être à nouveau centrifugées (rinçage). Les cellules en suspension dans du DMEM pur sont comptées à la cellule de Malassez. Le nombre de cellules a été noté pour chaque culture et rapporté au poids initial de la biopsie. Puis les cellules ont été marquées au cmDiI (voir chapitres suivants). Elles ont été finalement exposées à un stress thermique (« heat shock », voir chapitres suivants) puis reconditionnées dans 2 mL de DMEM pur complété avec de la dexaméthasone (20 µL de dexaméthasone 0,1 %).

### **3.9. Richesse en myoblastes des cultures**

#### **3.9.1. Observation de myotubes**

Une boîte de Pétri a été systématiquementensemencée au moment de chaque passage et observée au maximum de confluence pour l'éventuelle formation de myotubes, structures multinucléées allongées et larges, précurseurs de la fibre musculaire, signant ainsi la nature myoblastique des cellules cultivées. La formation des myotubes a été favorisée par le non-renouvellement du milieu de culture classique DMEMc ou l'exposition à un milieu de culture riche en sérum de cheval (10 %).

#### **3.9.2. Méthode immunocytochimique**

La quantification précise de la richesse myoblastique des cultures a été pratiquée par une méthode immunocytochimique révélant la desmine (sous-unité protéique des filaments intermédiaires localisés dans le cytosquelette des cellules musculaires).

Les cellules d'une boîte de Pétri de 35 mm ont été rincées avec du PBS avant d'être fixées à  $-18^{\circ}\text{C}$  dans du méthanol (100 %) pendant 10 min. Le méthanol a alors été enlevé et les cellules ont séché. Puis les cellules ont été réhydratées avec du PBS (5 minutes) avant d'être recouvertes d'un mélange PBS/SVF 2 % pendant 30 minutes. Après trois rinçages avec du PBS, le premier anticorps monoclonal anti-desmine (isotype de souris IgG1, Sigma®) dilué au 1/100<sup>ème</sup> dans du PBS/SVF 1 % a été déposé sur les cellules pendant une heure. Après 4 rinçages avec du PBS/SVF 0,01 %, le deuxième anticorps Cy3 (Fluorolink® Cy® 3 IgG, Amersham Pharmacia Biothech®) dilué au 1/200<sup>ème</sup> dans du PBS/SVF 1 % a été déposé au contact des cellules pendant 30 minutes. Puis les cellules ont été rincées 4 fois avec du PBS/SVF 0,01 % avant d'être recouvertes par des lamelles avec un mélange Glycérol/PBS (50 %). Les lamelles ont enfin été fixées avec du vernis à ongle. Pour chaque boîte traitée par immunocytochimie, une boîte contrôle a été constituée où seul le deuxième anticorps Cy3 a été déposé au contact des cellules.

L'observation a été réalisée avec un microscope à immunofluorescence (Nikon®, Eclipse TE 300). Le pourcentage de myoblastes a été déterminé par le calcul suivant :

Nombre de cellules fluorescentes / nombre de cellules totales  
(moyenne pour trois champs microscopiques x 100 pris au hasard).

### **4. Optimisation de la survie cellulaire**

La mortalité cellulaire est une difficulté majeure en transplantation cellulaire. Peu d'équipes ont véritablement évalué cette mortalité mais selon les types cellulaires et les tissus receveurs, la mortalité peut atteindre 80 à 95 % (42) (78) (93). Plusieurs facteurs sont incriminés : stress mécanique de l'injection (passage dans une aiguille de faible calibre), réaction inflammatoire non spécifique locale très forte, réaction immunitaire lors d'allogreffe, ischémie, manque d'apport nutritif, rejet d'un des composants de l'excipient, compression des cellules dans leur nouvelle loge, perturbation mécanique et chimique du microenvironnement du site receveur.

Plusieurs stratégies ont été entreprises au cours de cette étude : diminution de la réaction inflammatoire non spécifique en traitant les animaux greffés avec des corticostéroïdes par voie parentérale et en ajoutant des corticostéroïdes à l'excipient contenant les cellules à transplanter, et pré-traitement des cellules avec un stress thermique (« heat shock »). Cette stratégie où les cellules sont exposées à une température élevée, mais compatible avec la survie cellulaire, pendant une courte période, a été publiée comme améliorant la survie cellulaire jusqu'à 100 % (89) (104).

Afin de valider préalablement cette stratégie pour nos cellules d'intérêt et dans notre expérience, plusieurs tests ont été réalisés *in vitro* : plusieurs lots de cellules cultivées ont été randomisés pour être exposés au « heat shock » ou non. Ces cellules ont été ensuite exposées à des conditions de cultures très défavorables (absence de sérum de veau fœtal, absence d'oxygène). La survie cellulaire a été ensuite évaluée par trypsinisation des boîtes et comptage des cellules ayant adhéré.

Deux boîtes de Pétri à confluence contenant chacune  $3 \times 10^6$  cellules d'un même donneur ont été exposées soit à 42°C pendant 1 heure (groupe « heat shock » « HS ») soit à une température normale de culture, 38°C (groupe témoin « T »). Ces boîtes ont été trypsinées puis les cellules comptées. Une quantité égale de cellules ( $1 \times 10^6$ ) issues de chaque lot a été transférée dans une boîte de Pétri contenant du DMEMc pendant 1 heure pour permettre l'adhérence des cellules. Le milieu complet a été changé par du milieu de culture sans sérum. La boîte a été hermétiquement fermée puis remise à l'étuve à 38°C pendant 48 heures. Les boîtes ont été enfin trypsinées et les cellules comptées.

## **5. Marquage cellulaire**

Le marquage des cellules afin de déterminer leur destin après la greffe est, là encore, un enjeu capital de la recherche en thérapie cellulaire. Avant de valider définitivement la meilleure méthode de marquage des cellules et d'identifier le meilleur traceur des cellules après transplantation *in vivo*, plusieurs tests *in vitro* ont été réalisés. Le marquage génétique demeure la meilleure méthode de marquage des cellules puisqu'il est transmis à toutes les générations cellulaires descendantes, mais certains problèmes demeurent : ces techniques sont assez coûteuses, nécessitent un savoir faire particulier et un matériel biologique difficile à manipuler ; les cellules sont par la suite implantées chez des animaux qui doivent être gardés dans des conditions de confinement élevé et sont donc coûteuses ; l'immunogénicité du transgène utilisé est, en outre, un écueil difficile à évaluer. Nous avons donc préféré des marqueurs « chimiques », qui sont faciles d'utilisation et beaucoup moins chers.

Trois marqueurs non génétiques ont été sélectionnés pour être comparés *in vitro* : le cmDiI (Chloromethylbenzamido-dérivée du DiI, marqueur carbocyaninique lipophile) marqueur fluorescent rouge des membranes (Cell tracker, Molecular Probes®), le DAPI (4'-6-diamidino-2-phenylindole) marqueur fluorescent bleu de l'ADN (Sigma®) et le BrdU (5-bromo-2'-deoxyuridine) marqueur de l'ADN révélé par immunohistochimie (Roche®). **(figure 41)**

**Figure 41 : Marquage in vitro des cellules satellites au BrdU (x300).**

## **5.1. Réalisation des marquages**

### **Coloration cmDiI (Chloromethylbenzamido-dérivée du DiI)**

Les cellules dans le DMEM sont centrifugées (2000 t/min, 5-10 minutes) puis remises en suspension dans 10 mL de DMEM pur. Le cmDiI a été ajouté (un tube de 50 µg dans 50 µL de DMSO). Les cellules ont été laissées 5 minutes à température ambiante puis 15 minutes dans la glace. 40 mL de DMEM pur ont été ajoutés puis les cellules ont été centrifugées pendant 5 min à 2000 t/min. Les cellules ont enfin été lavées 3 fois dans le DMEM pur.

### **Coloration DAPI (4'-6-diamidino-2-phenylindole)**

Les cellules ont été lavées au PBS une fois dans 30 mL puis remises en suspension dans 5 mL de DMEM pur. Le DAPI a été ajouté (25 µL/5 mL) et laissé au contact des cellules pendant 30 minutes à température ambiante. Les cellules ont enfin été lavées 3 fois.

### **Marquage au BrdU (5-bromo-2'-deoxyuridine)**

Les cellules encore en boîtes de Pétri en basse densité (potentiel de division et d'incorporation du BrdU) sont rincées au PBS puis incubées avec le BrdU (10 µL dans 10 mL de DMEMc à partir d'une solution 1000x) pendant 48 heures à 38°C dans l'incubateur. Les cellules sont ensuite rincées 3 fois dans du PBS.

## **5.2. Epreuves de dilution et de recaptage**

Les deux critiques classiques de ce genre de marquage sont le risque de dilution rapide au cours des divisions cellulaires et le risque de relargage lors de mort cellulaire avec marquage des cellules résidentes et ainsi confusion entre cellule native et cellule greffée (faux positif).

Plusieurs expériences ont été menées pour répondre à ces deux préoccupations :

### **Expériences de dilution :**

Dix boîtes de Pétri de 35 mm ont étéensemencées chacune avec 10.000 cellules marquées par l'un des trois marqueurs d'intérêt. Ces boîtes ont été observées quotidiennement pour noter l'intensité du marquage et le nombre de cellules encore marquées. Une de ces boîtes a été trypsinée tous les deux jours puis les cellules comptées pour identifier le nombre de doublement de population.

### **Expérience de recaptage :**

Des cellules ( $1 \times 10^6$  cellules/boîte) préalablement marquées avec l'un des trois marqueurs ont été détruites par choc thermique intense : trois cycles d'expositions à  $-160^\circ\text{C}$  puis à  $90^\circ\text{C}$  en quelques minutes. Ces cellules mortes ont ensuite été déversées sur des boîtes de Pétri contenant des cellules vivantes sans marquage préalable ( $1 \times 10^5$  cellules/boîte). Les cellules ont ensuite été observées à 2h, et 48h pour l'intensité de marquage par recaptage.

## **6. Anesthésie et soins post-opératoires**

La technique anesthésique et l'analgésie postopératoire présentées ici ont été réalisées pour la biopsie et la greffe.

### **6.1. Anesthésie**

Trente minutes avant l'induction, les chiennes ont reçu une prémédication avec de l'acépromazine (Calmivet®, 0.1mg/kg IM).

L'induction a été réalisée à l'aide de thiopental sodique (Penthotal®, 7-10 mg/kg IV) ; les animaux ont ensuite été intubés pour un relais gazeux avec de l'isoflurane (1,5-2,5%) dans de l'oxygène pur en ventilation contrôlée (volume courant : 15 mL/kg/min, permettant d'atteindre une pression de 15 cm H<sub>2</sub>O). Le circuit anesthésique était de type recirculant.

Pendant toute la durée de l'intervention, les animaux ont été perfusés avec un soluté de Ringer Lactate (10 mL/kg/h). Ils ont reçu une injection de céfamandole (Kéfandol®, 30 mg/kg, IV) au moment de l'induction et au réveil. Ils ont également été placés sur tapis chauffant à circulation d'eau.

La surveillance comportait un stéthoscope œsophagien, un électrocardiogramme et les mesures suivantes : pression artérielle invasive prise à l'oreille, capnométrie, température corporelle (sonde œsophagienne). Des valeurs seuil étaient fixées : fréquence cardiaque entre 60 et 150 bpm, pression artérielle moyenne entre 60 et 90 mm Hg, pression partielle en CO<sub>2</sub> entre 35 et 45 mm Hg.

### **6.2. Soins post-opératoires**

Les cathéters veineux et artériels ont été retirés avant le réveil du chien. De la morphine (Morphine base®) a été administrée au moment du réveil de l'animal (0,2 mg/kg IV). Une injection de kétoprofène (Kétofen®), à la dose de 2 mg/kg IM, a été faite pendant le réveil de l'animal. Les animaux ont également reçu une injection de dexaméthasone (Dexafort®, 0,1 mg/kg IM) au réveil puis tous les trois jours, deux fois en tout.

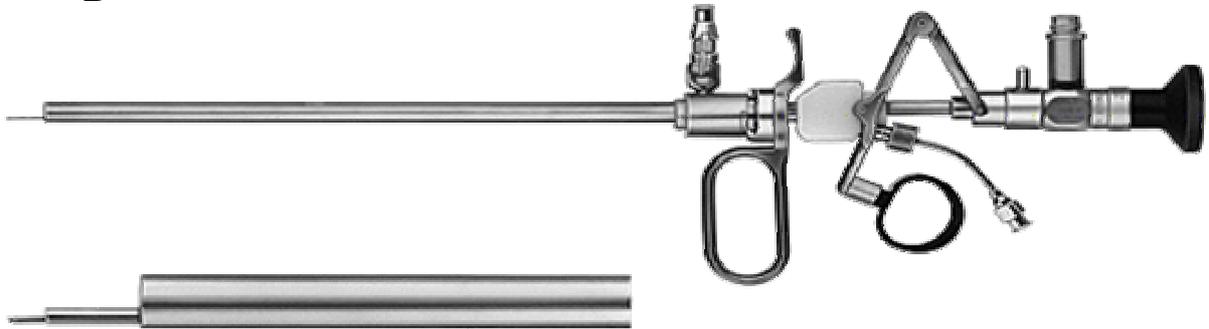
## **7. Méthode d'implantation**

Deux techniques chirurgicales ont été pratiquées pour l'implantation des cellules dans l'urètre. Une technique endoscopique mini-invasive a été tout d'abord réalisée puis une technique à ciel ouvert classique, par laparotomie sus-pubienne. Dans tous les cas, les cellules ont été implantées dans la partie proximale de l'urètre, zone privilégiée pour l'implantation d'agent faisant masse dans l'urètre (« bulking agents » classiquement utilisés dans le traitement endoscopique de l'incontinence urinaire d'effort chez la femme). (**figure 42**)

A



B



**Figure 42 : Méthodes d'implantation à ciel ouvert ou par voie endoscopique.**

Implantation des cellules de part et d'autre de l'urètre par laparotomie sus-pubienne.  
Urétroscope utilisé pour l'implantation transurétrale des cellules.

### **7.1. Technique urétroscopique**

Les chiennes ont été placées en décubitus ventral, le bassin légèrement en appui sur l'extrémité de la table opératoire, avec les membres postérieurs libres dans le vide et au-dessus d'un récipient étanche (récupération de l'eau). La zone ano-génitale a été tonduée et un lavement vaginal a été réalisé avec une solution antiseptique moussante. L'urètre a ensuite été sondé avec un cathéter de Folley de 5 Fr. Le gonflage du ballon a ainsi permis en retirant la sonde de buter sur la zone intermédiaire entre la vessie et l'extrémité proximale de l'urètre pour le repérage. Le reste de l'intervention a été pratiqué de manière stérile classique (champs opératoire autour de la vulve et habillage stérile des chirurgiens).

Un urétroscope Storz® 2,7 mm optique de 30° et sa chemise présentant un canal opérateur pour l'insertion d'une aiguille a été introduit dans l'urètre. L'optique a été connecté à une caméra et une lumière froide Wolff® montées sur une colonne d'endoscopie. La visualisation était réalisée sur un moniteur couleur Sony®. Une poche de 5 litres de Ringer Lactate était connectée à la chemise de l'urétroscope pour l'instillation sous pression et la dilatation de l'urètre (meilleure visualisation).

Une fois la zone d'intérêt atteinte, une aiguille 22G a été introduite dans le canal opérateur et piquée dans l'espace sous-muqueux. Le mandrin de l'aiguille a été retiré et la préparation cellulaire injectée par cette voie (**figure 43**). Quatre injections à 3h, 6h, 9h et 12h de 0,2 à 0,4 mL chacune ont été pratiquées soit 130 à 140 millions de cellules en tout dans une seringue à insuline. Le matériel endoscopique a été retiré et les chiennes ont été réveillées.

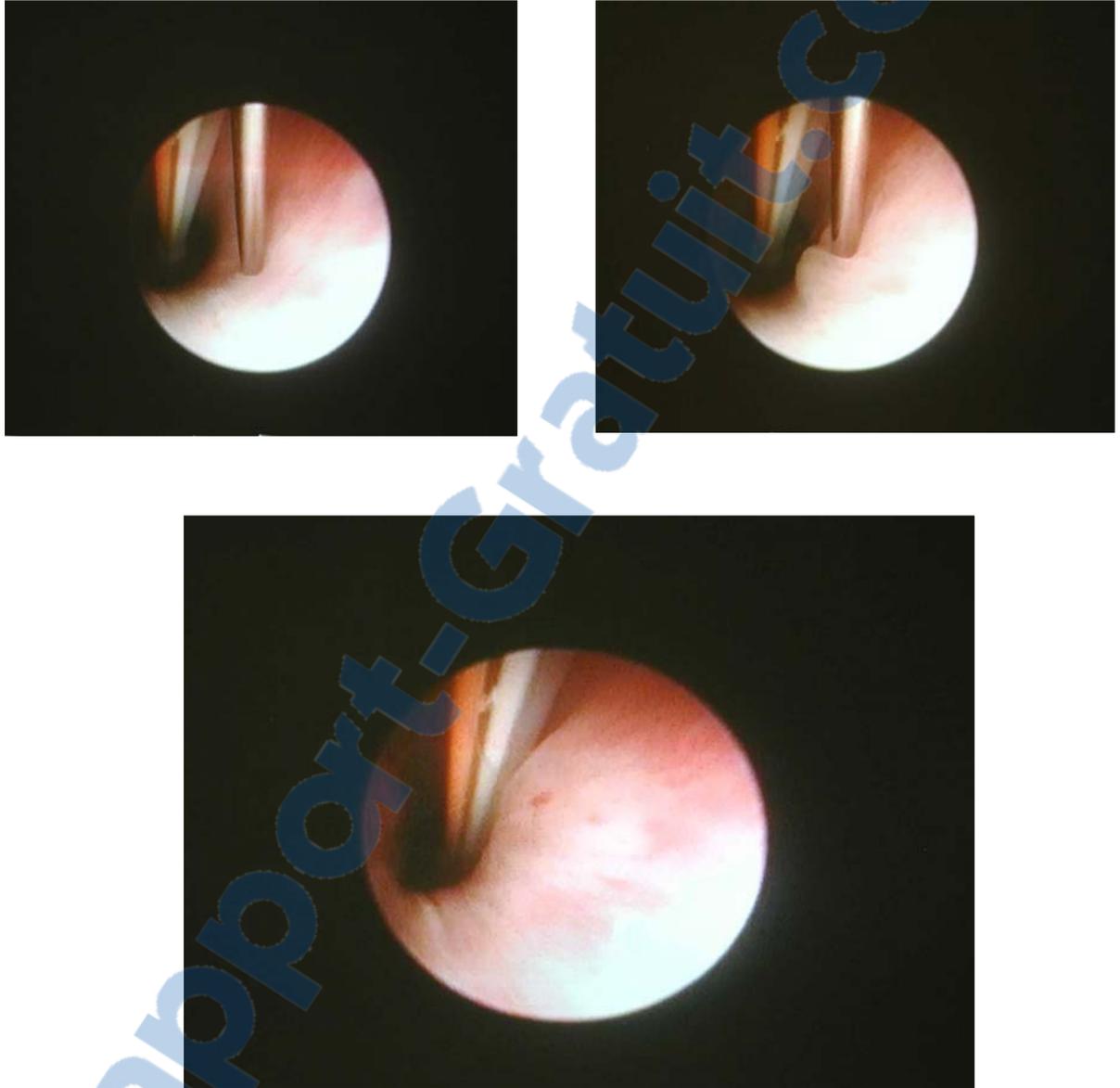
### **7.2. Implantation chirurgicale par laparotomie sus-pubienne**

L'animal était placé en décubitus dorsal. Une tonte large de toute la face ventrale de l'abdomen et de l'entre-cuisse a été effectuée. Une laparotomie sus-pubienne de 10 cm environ a été pratiquée sur les chiennes. La vessie a été extériorisée puis la partie proximale de l'urètre individualisée entre les couches graisseuses de cette région. Deux points de suture de Prolène® 5/0 ont été réalisés pour repérer la zone d'injection. Deux injections de 0,5 mL ont été pratiquées de part et d'autre de l'urètre avec une seringue et une aiguille à insuline (26G), en tentant de ne pas traverser la paroi jusqu'à la lumière urétrale.

La paroi abdominale a ensuite été refermée plan par plan de manière classique avec du fil de polyglactine (Vicryl®) et du nylon (Filapeau®). Les chiennes ont été enfin réveillées et traitées contre la douleur.

## **8. Autopsie, analyse histologique et immunohistochimique**

Les chiennes ont été euthanasiées de deux jours à quatre semaines après la greffe par l'injection intraveineuse de pentobarbital (Doléthal®). Les urètres et les vessies ont été prélevés par laparotomie sus-pubienne.



**Figure 43 : Injection des cellules par voie endoscopique**

Chaque prélèvement a été divisé en deux éléments. Le premier a été fixé dans du formol dilué au 1/10<sup>ème</sup> (formol 3 %) pour la microscopie optique, le deuxième a été congelé à -80°C avant d'être coupé au cryostat (-20°C) pour la fluorescence. Le traitement des prélèvements a été réalisé par le laboratoire d'anatomie pathologique de l'Institut Mutualiste Montsouris.

Sur les coupes en paraffine de 5 µm pour la microscopie optique, après l'inclusion en paraffine classique et le marquage HES standard, une révélation par une technique immunohistochimique de la chaîne lourde de myosine squelettique (clone MY32, Sigma®, au 1/100<sup>ème</sup>) et de l'actine musculaire lisse (Dako®, au 1/400<sup>ème</sup>) a été réalisée pour rechercher les signes de myogénèse dans les sites de greffe (technique automatisée). Un anticorps anti-BrdU (clone BMG 6H8, Roche®, au 1/10<sup>ème</sup>) a également été utilisé pour repérer les cellules marquées.

Le principe de révélation immunohistochimique sur banc automatisé est le suivant : Les lames ont été déparaffinées et réhydratées avec du PBS puis incubées 30 minutes avec les anticorps primaires (MY32, anti-actine musculaire lisse, et anti-BrdU). Après un rinçage dans du PBS, les coupes ont été incubées pendant 8 minutes avec un anticorps anti-IgG de souris biotinylé. Après un rinçage dans du PBS, les coupes ont été incubées pendant 8 minutes avec de la streptavidine couplée à de la peroxydase. Après un rinçage dans du PBS les coupes ont été incubées pendant 8 minutes avec les substrats de la peroxydase (eau oxygénée et diaminobenzidine) jusqu'à obtention d'un produit de réaction coloré en marron. Puis elles ont enfin été contre-colorées avec de l'hématoxyline et post-contre-colorées avec un réactif bleu, puis rincées et montées sur lamelles.

Les coupes faites au cryostat pour évaluer la présence des marqueurs fluorescents ont été réalisées à -20°C. L'épaisseur des coupes était de 10 µm. Les lames ont été gardées vierges et ont été observées avec un microscope à immunofluorescence (Nikon®, Eclipse TE 300), à l'Institut Pasteur.

## **C. RESULTATS**

### **1. Culture cellulaire (figures 44 et 45)**

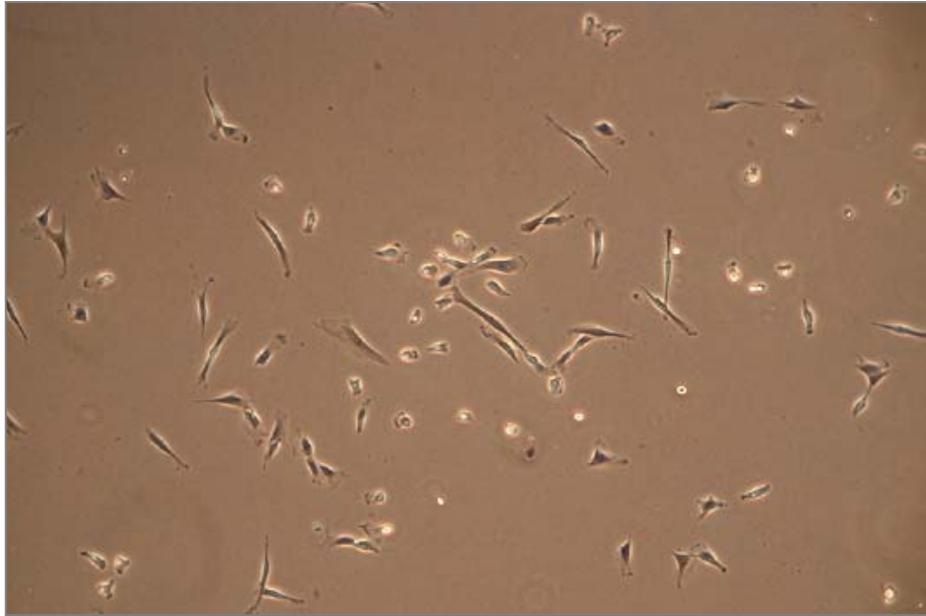
#### **3.4.Comptage cellulaire**

La technique développée a permis d'obtenir  $134 \times 10^6 \pm 15 \times 10^6$  cellules en 7 à 8 jours, à partir de  $12 \pm 2$  grammes de muscle sartorius.

#### **3.5.Richesse en myoblastes des cultures**

##### **Observation de myotubes**

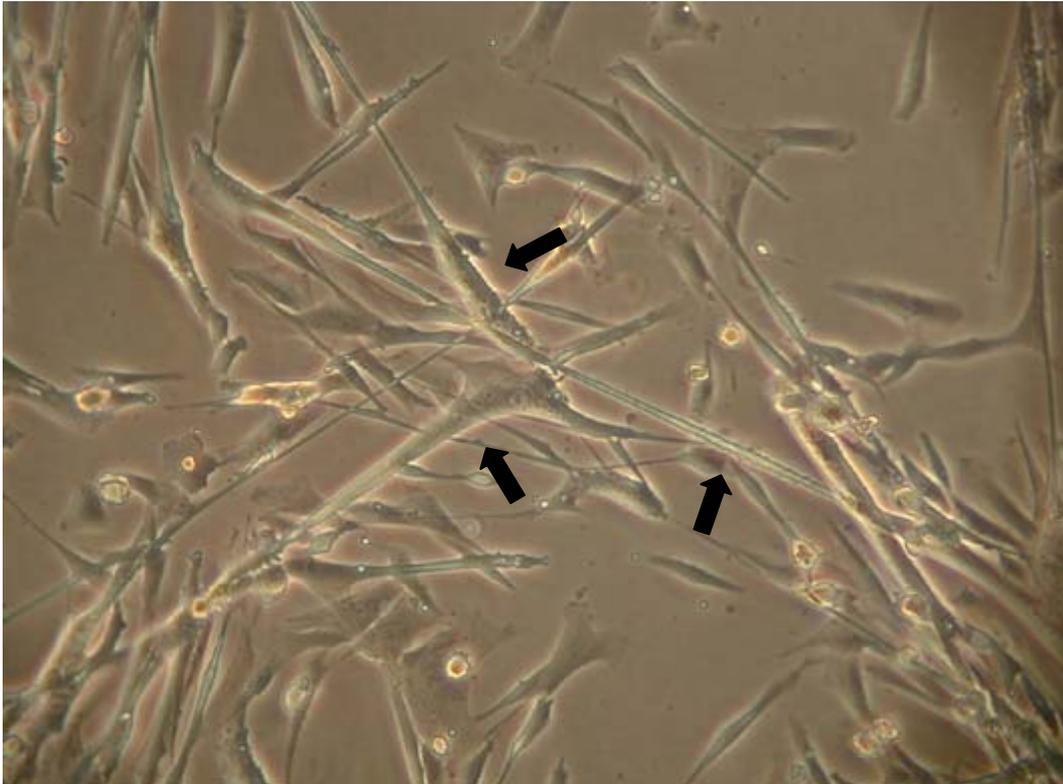
Des myotubes ont été observés dans toutes les boîtes de culture, signant ainsi la nature myoblastique d'au moins une partie des cellules cultivées. (**figures 46 et 47**)



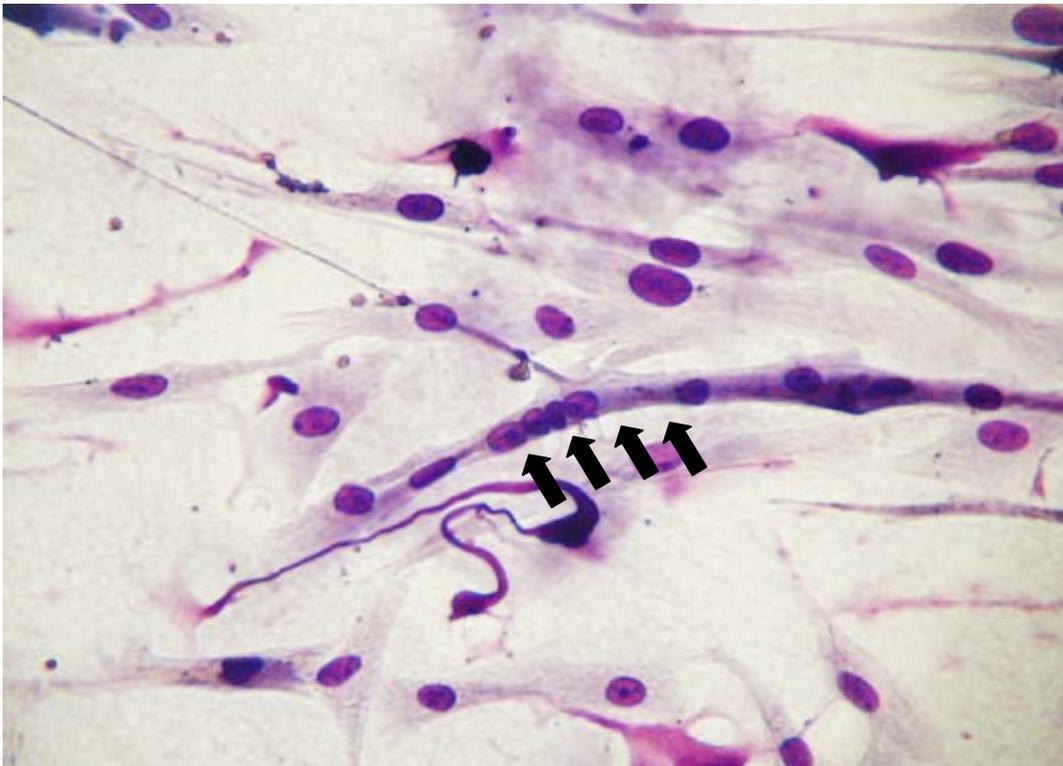
**Figure 44 : Cellules satellites obtenues à J+4 (x200)**



**Figure 45 : Cellules satellites obtenues à J+7 (x200)**



**Figure 46 :** Myotubes (flèches) obtenus dans les cultures contenant un milieu avec 10 % de sérum de cheval (microscope à contraste de phase, x200).



**Figure 47 :** Myotube (flèches) obtenu dans les cultures contenant un milieu avec 10 % de sérum de cheval (coloration RAL, x300).

## **Méthode immunocytochimique**

La quantification de la richesse myoblastique des cultures par une méthode immunocytochimique révélant la desmine a permis d'obtenir des taux de myoblastes de l'ordre de 50 % dans les cultures. Les autres cellules sont considérées comme des fibroblastes.

### **2. Optimisation de la survie cellulaire**

Le nombre de cellules ayant survécu aux conditions défavorables de culture, avec ou sans stress thermique préalable comme stratégie de protection, est présenté dans le **tableau 2**.

Le taux de survie comparatif est de près de 2, c'est-à-dire que le taux de survie in vitro des myoblastes en conditions de culture extrêmes doublait après traitement par « heat shock » à 42°C pendant une heure.

Ces résultats ont justifié le traitement par stress thermique des cultures avant transplantation in vivo.

### **3. Marquage cellulaire**

#### **3.1. Epreuve de dilution**

Les résultats obtenus avec les trois marqueurs sont présentés dans le **tableau 3**.

On peut observer que 90 % des cellules marquées au cmDiI sont encore marquées après 5 divisions alors qu'aucune des cellules marquées initialement au DAPI n'est encore marquée après 3 divisions. Le BrdU et le cmDiI sont encore présents après 7 à 10 divisions. Ce nombre de doublements de populations est considérable : 10 doublements de populations déterminent le passage de 50 000 à 50 millions de cellules.

En d'autres termes, le BrdU et le cmDiI permettent de suivre longtemps le destin des cellules greffées. En revanche, le DAPI est un mauvais marqueur en terme de durabilité sur une population cellulaire en division.

#### **3.2. Epreuve de recaptage**

Les résultats de l'épreuve sont présentés dans le **tableau 4**.

Ces résultats démontrent que le recaptage par les cellules résidentes in vitro est

Nombre de cellules ayant survécu ( $\times 10^5$ )	Premier lot de myoblastes	Deuxième lot de myoblastes	Troisième lot de myoblastes
Heat shock (HS)	330	112	380
Témoin (T)	150	56	230
Ratio HS/T	2,2	2	1,65
Taux de survie comparatif : Moyenne +/- écart type	1,95+/-0,3		

**Tableau 2 : Résultat des tests de survie cellulaire avec ou sans stress thermique (« heat shock »).**

	Nombre de divisions	Pourcentage de cellules marquées
cmDiI	5	90 %
	10	10 %
DAPI	3	0 %
BrdU	5	90 %
	7	30 %

**Tableau 3 : Expérience de dilution des marqueurs chimiques.**

	2 heures après le contact	48 heures après le contact
cmDiI	0 cellule	Quelques cellules marquées
DAPI	Quelques cellules marquées	100 % des cellules sont marquées
BrdU	0 cellule	Quelques cellules marquées

**Tableau 4 : Expérience in vitro de recaptage des marqueurs chimiques libérés sur une population cellulaire non marquée à 2h et 48h.**

## **10. Méthodes d'implantation**

### **4.1. Technique urétroscopique**

La technique urétroscopique présentait l'intérêt principal d'être relativement simple, rapide, peu invasive et peu douloureuse pour l'animal et correspond au schéma clinique envisagé chez la femme. Les premières chiennes ont ainsi été greffées par cette méthode. Un écueil de cette technique est qu'il est difficile de juger correctement de la profondeur de l'aiguille lors de l'injection sous-muqueuse ou périurétrale. L'aiguille disponible de 22G est également assez grosse pour la finesse du tissu envisagé chez ces chiennes de petit format.

De plus, le repérage est particulièrement difficile et lors du prélèvement final, la zone d'implantation est difficile à retrouver.

### **4.2. Implantation chirurgicale par laparotomie sus-pubienne**

Cette technique plus classique a permis de repérer correctement la zone de greffe et de la retrouver facilement lors du prélèvement final. Les suites de ce genre d'intervention sont simples et cette méthode d'implantation demeure la meilleure voie pour injecter les cellules avec certitude chez la chienne.

## **11. Analyse histologique et immunohistochimique**

Les coupes histologiques montrant les cellules marquées au BrdU, au cm DiI et au DAPI sont présentées dans les **figures 48 à 51**. La **figure 52** montre un granulome inflammatoire.

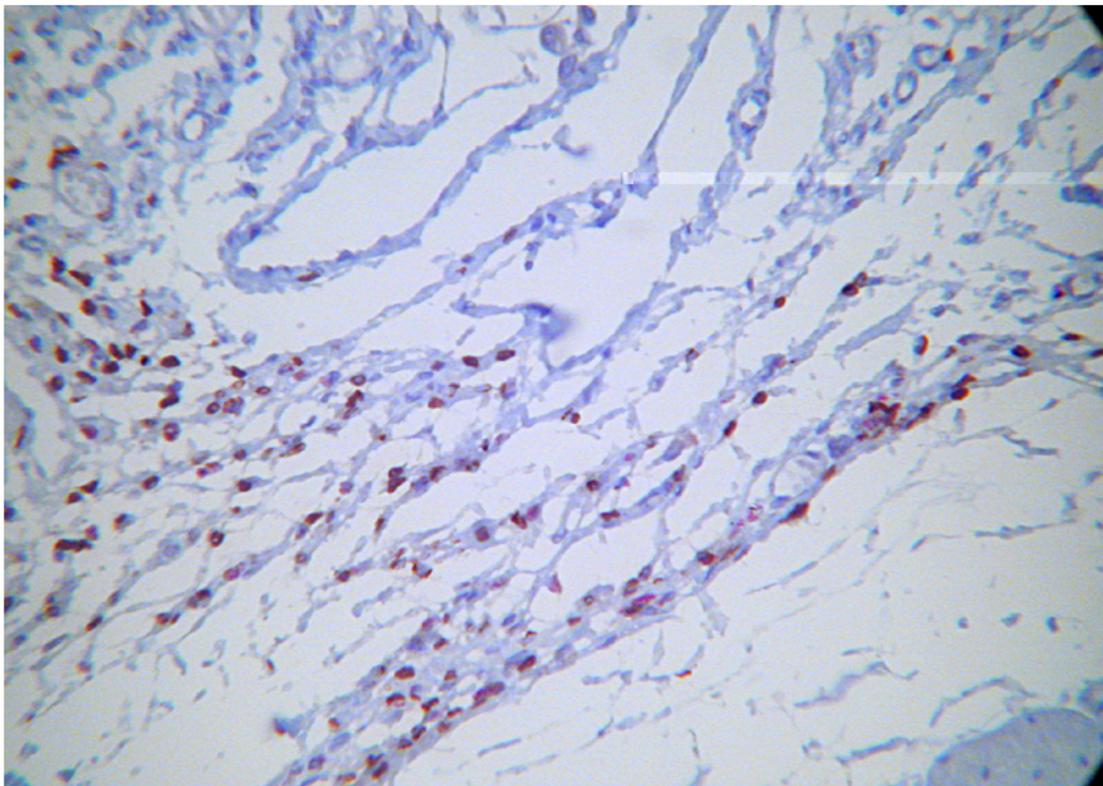
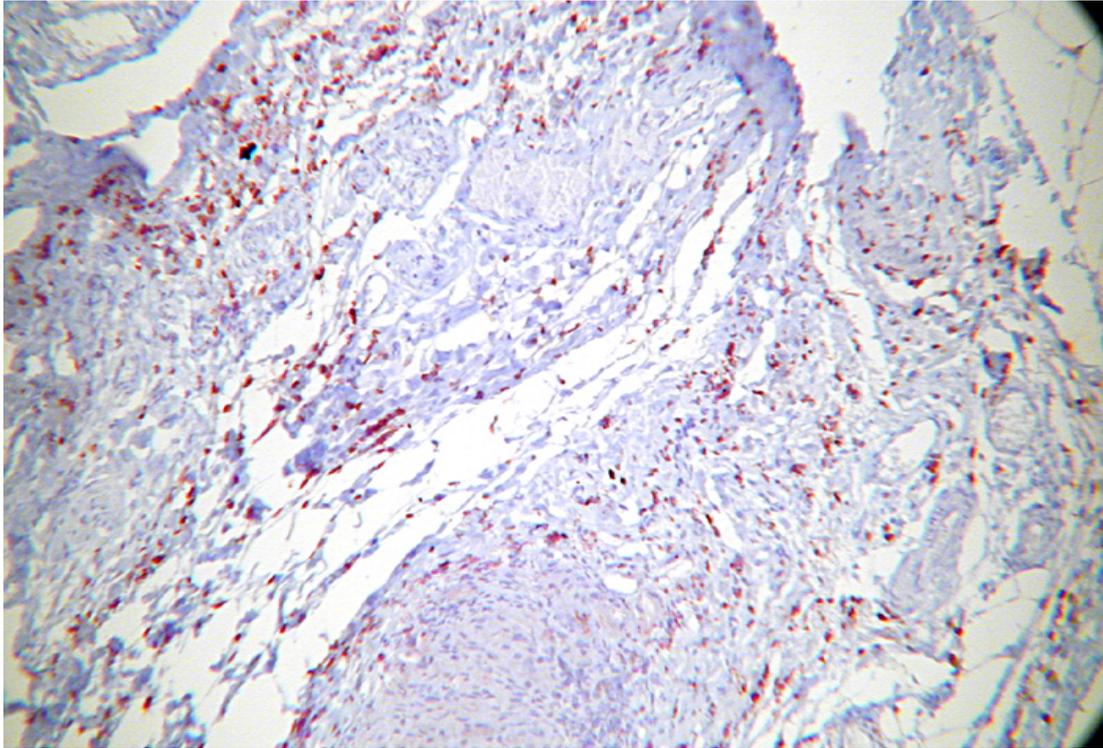
Les analyses anatomo-pathologiques menées au cours de ce protocole de faisabilité permettent d'établir le bilan présenté dans le **tableau 5**.

Les injections réalisées par voie urétroscopique sont difficiles à retrouver lors du prélèvement et n'ont pas permis de servir le projet en cours. Une hypothèse est que l'injection n'a pas été réalisée dans la paroi de l'urètre mais autour, c'est-à-dire dans le tissu périurétral, essentiellement graisseux.

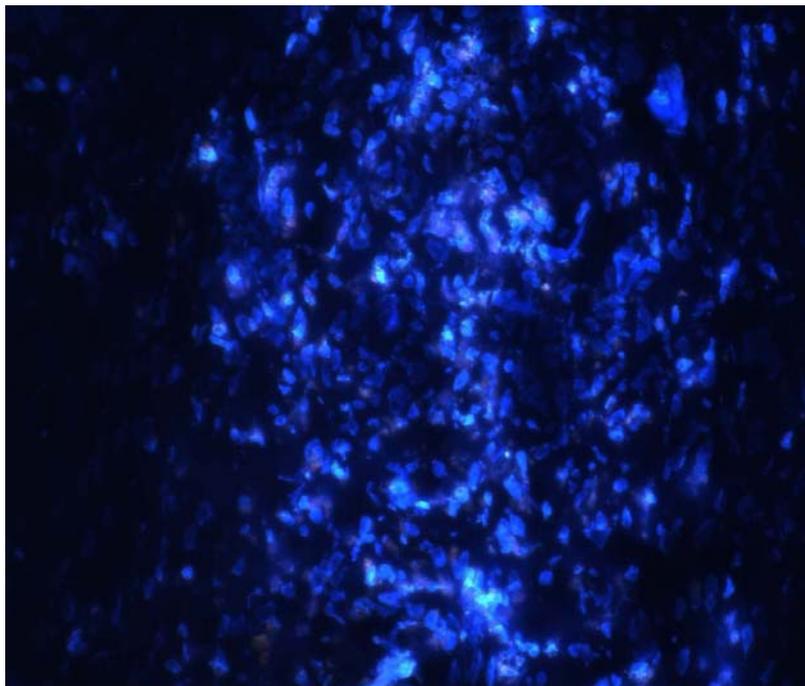
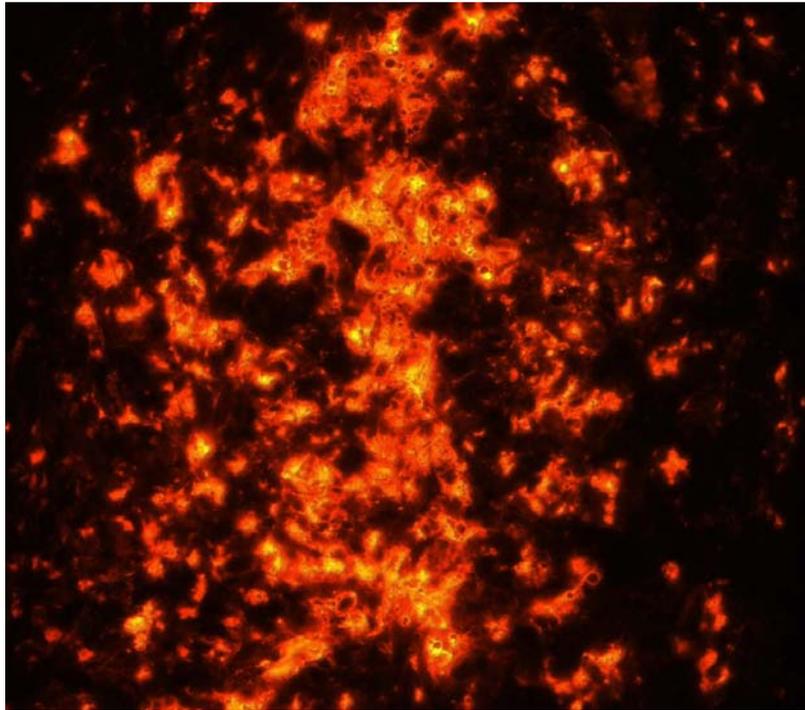
Une fuite de DAPI très importante a été observée (marquage d'une grande quantité de cellules résidentes sur plusieurs lames, sur des tissus prélevés à J2 ou à J30). Cette fuite traduit une mortalité cellulaire intense après l'implantation. Effectivement, les cellules implantées ont été retrouvées au sein de granulomes inflammatoires, type réaction à corps étranger (**figure 52**).

Le cmDiI ainsi que le BrdU sont de bons marqueurs en terme de dilution et de recaptage puisqu'ils permettent de repérer la zone d'injection mais ne marquent pas les cellules résidentes. Ces résultats sont compatibles avec les résultats

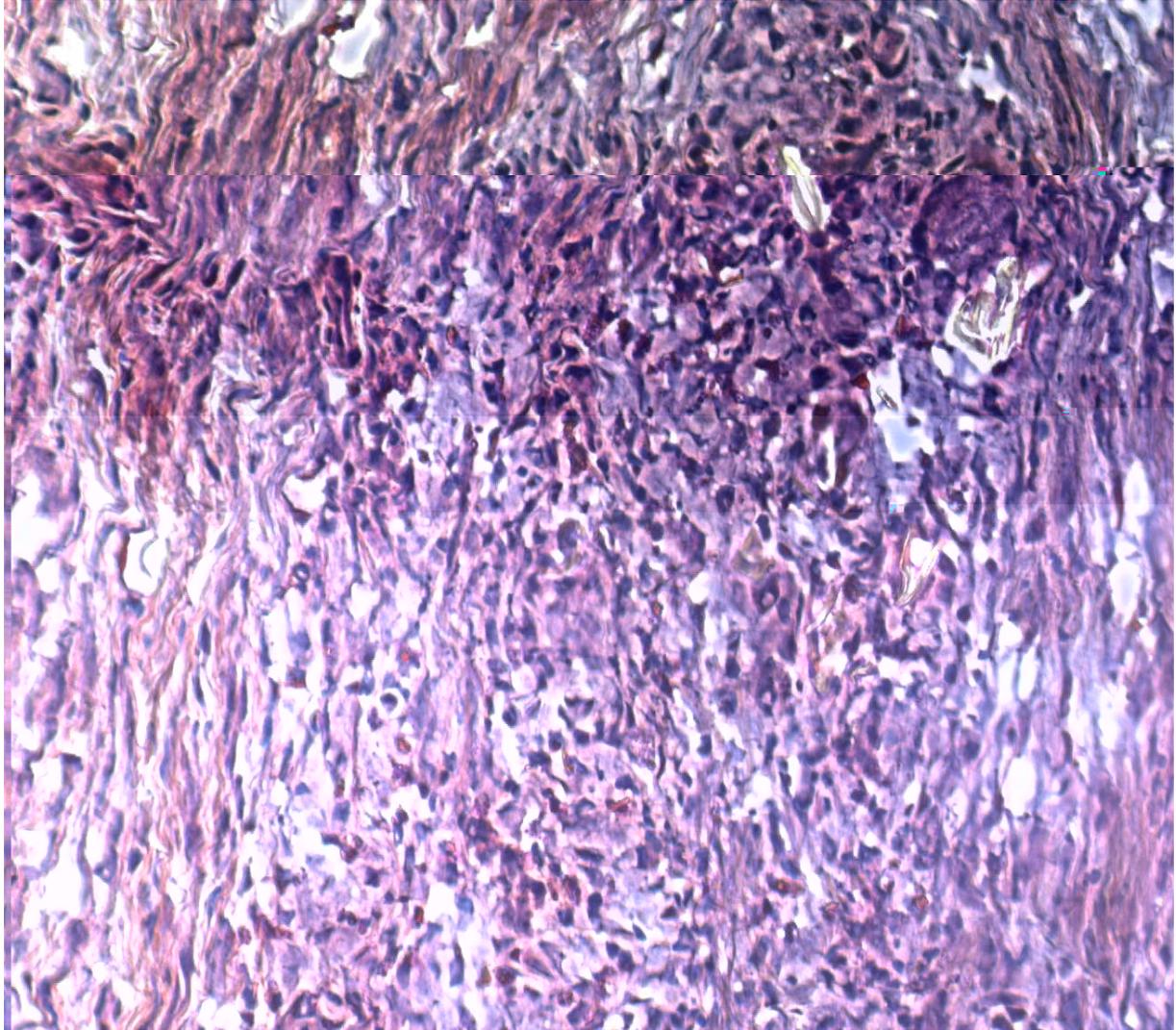
laréussuite dea



**Figures 48 et 49 :** Coupes histologiques montrant de nombreuses cellules marquées au BrdU. Début de formation de myotubes.



**Figures 50 et 51 :** Repérage des cellules dans les coupes histologiques avec deux types de marquage fluorescent : cmDiI (rouge) et DAPI (bleu).



**Figure 52 : Image d'un granulome inflammatoire (coloration HES).**

	Marquage cellulaire	Particularités	Méthode d'implantation	Observation histologique	Conclusions/hypothèses
Chienne 1	DAPI	Une injection de cellules protégées dans de l'alginate	Urétroscopique	Cellules retrouvées DAPI+ sur partie intermédiaire. Aspect de muscle lisse, desmine et actine musculaire lisse+. Vaisseaux DAPI+. Réaction à corps étranger sur une partie de l'urètre.	DAPI a probablement fuit. Pas de cellule retrouvée. Réaction inflammatoire visualisée.
Chienne 2	DAPI		Urétroscopique	Pas de cellule retrouvée DAPI+.	Trop de divisions cellulaires et dilution du marqueur ?
Chienne 3	DAPI		Urétroscopique	Pas de cellule retrouvée DAPI+.	Trop de divisions cellulaires et dilution du marqueur ?
Chienne 4	DAPI	Prélèvement à J2	Ciel ouvert	Hémorragie sous-muqueuse et granulome. Cellules retrouvées DAPI+ sur partie proximale en amas dans des cryptes (sinus). Fuite évidente du DAPI sur cellules natives.	Le DAPI est un mauvais marqueur (fuite, dilution). Les cellules ont bien été injectées au bon endroit. Impossible de savoir si elles peuvent évoluer normalement en cellules musculaires.
Chienne 5	CmDiI et DAPI	« Heat shock »	Ciel ouvert	Granulome avec amas cellulaires retrouvés cmDiI+ et DAPI+. Fuite du DAPI à la périphérie.	Le DAPI est un mauvais marqueur. Le cmDiI ne fuit pas in vivo. Toujours grosse réaction inflammatoire.
Chienne 6	CmDiI et BrdU	Dexaméthasone dans le milieu, « Heat shock »	Ciel ouvert	Quelques zones inflammatoires mais cellules retrouvées BrdU+ et cmDiI+. Mieux que toutes les autres fois. Cellules en amas ou enfilées type myotubes. Certaines zones sont faiblement MY32+.	CmDiI et BrdU sont des bons marqueurs. La dexaméthasone diminue significativement la réaction locale. Première observation de myogénèse squelettique dans l'environnement urétral proximal.

**Tableau 5 : Bilan des analyses anatomopathologiques réalisées sur les six chiennes.**

## **D. DISCUSSION**

Les différents essais que nous avons réalisés au cours de cette étude ont abouti chez la sixième chienne à l'identification certaine de nombreux myoblastes ayant survécu et ayant tendance à se différencier (formation de myotubes, expression de la chaîne lourde de la myosine squelettique). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus chez le rat ou la souris par d'autres auteurs, mais il nous aura fallu de nombreux essais avant de trouver un protocole adapté à la chienne.

Cette étude de faisabilité nous aura permis de valider les différentes étapes du protocole depuis la biopsie musculaire jusqu'à l'analyse histologique des sites de greffe, en particulier :

- validation in vitro d'une technique de culture de myoblastes primaires chez la chienne,
- validation des meilleures méthodes de marquages non génétiques des myoblastes,
- validation de stratégies améliorant la survie cellulaire après la greffe.

Pour chacune de ces étapes, différents paramètres ont été modifiés de manière à optimiser les manipulations.

Ce travail préliminaire de mise au point a rempli ses objectifs puisqu'il a permis le passage au protocole de greffe des myoblastes sur un modèle d'incompétence sphinctérienne urétrale : en effet, la greffe de myoblastes autologues dans l'urètre de cinq chiennes castrées, comparées à un lot placebo a débuté en septembre 2002 avec à la fois une appréciation des effets tissulaires mais aussi des effets fonctionnels de la greffe. Pour ce protocole, toutes les chiennes sont greffées selon la méthode qui a donné les meilleurs résultats dans notre étude de faisabilité : greffe à ciel ouvert, traitement par le « heat shock », marquage au BrdU et au cmDiI et injection de dexaméthasone avec les cellules.

Mais notre étude n'est qu'un travail de faisabilité réalisé sur un petit nombre de chiennes. Il n'a donc pas permis de constituer des groupes d'animaux homogènes ni de réaliser une analyse statistique. Nous avons pu retrouver et identifier clairement un grand nombre de cellules greffées seulement chez les deux dernières chiennes : ce sont les seules à avoir reçu des cellules traitées au « heat shock » et marquées au cmDiI et il n'y a qu'une chienne dont les cellules ont été marquées au BrdU et ont été protégées par de la dexaméthasone. Nos résultats sont donc basés sur un faible effectif et il est difficile dans ces conditions d'établir une technique fiable et reproductible.

De plus, nos prélèvements ont été réalisés entre J2 et J30 après la greffe et cette étude de courte durée ne nous permet pas de présager du devenir des cellules à long terme. Les marqueurs que nous avons retenus (cm DiI et BrdU) pourraient d'ailleurs poser des problèmes de dilution avec le temps et être moins performants.

## CONCLUSION

Aucun des traitements traditionnels de l'incontinence urinaire de stress proposés aujourd'hui à la femme n'est complètement satisfaisant. Depuis peu, un traitement innovateur, peu invasif, par injection endoscopique se développe. Cependant, le matériel idéal pour l'injection n'a toujours pas été trouvé et les chercheurs orientent aujourd'hui leurs recherches vers les cellules autologues, en particulier les myoblastes squelettiques.

Notre étude a été une succession d'essais de greffe urétrale de myoblastes sur des chiennes de faisabilité, avec en parallèle un travail réalisé in vitro et l'observation in vivo du devenir des cellules greffées. Ce travail a permis de mieux connaître les conditions de culture favorables à la multiplication des myoblastes, les marqueurs non génétiques les plus efficaces sur ce type cellulaire (le cm DiI et le BrdU ont démontré ici leurs qualités en tant que marqueur des myoblastes), les techniques utilisables pour améliorer la survie des cellules greffées (« heat shock », dexaméthasone). Ainsi, la greffe des myoblastes à plus grande échelle sur le modèle canin d'incompétence sphinctérienne urétrale a pu être entreprise dans de meilleures conditions.

Ce travail pourrait être complété d'une recherche plus fondamentale afin d'élucider la nature des interactions mécaniques, électriques, et paracrines entre les cellules greffées et l'urètre natif, ou d'une étude fonctionnelle et clinique pour déterminer si cette nouvelle stratégie thérapeutique aboutit à une amélioration clinique chez les chiennes atteintes d'incontinence urinaire de castration.

Deux voies de recherche pourraient encore être développées : tout d'abord la comparaison de différentes sources cellulaires pour la greffe urétrale (cellules musculaires lisses, cellules souches stromales) ; ensuite, l'amélioration des techniques de marquage cellulaire permettant de mieux définir le destin des cellules après transplantation avec l'orientation vers des gènes rapporteurs (Beta-Gal, GFP, luciférase) ou des marqueurs traçables par résonance magnétique nucléaire afin de suivre l'évolution de la greffe dans le temps sur animal vivant.

Si la poursuite des études expérimentales chez le gros animal confirme l'intérêt des myoblastes dans le traitement de l'incompétence sphinctérienne, il sera intéressant de comparer l'efficacité des myoblastes à celle d'autres agents tels que le collagène, chez la femme au cours d'essais cliniques.

L'utilisation des myoblastes autologues pourrait aussi être étendue à d'autres applications telles que le traitement de l'incontinence urinaire de l'homme après prostatectomie, de l'atonie vésicale, du reflux vésico-urétéral de l'enfant ou même de l'incontinence anale.



## Charte de la Fondation de l'Avenir pour la Recherche Médicale Appliquée : Principes régissant la recherche sur les animaux

Les protocoles de recherche menés à la Fondation de l'Avenir comportent l'utilisation d'animaux de laboratoire. Une étude menée à la Fondation de l'Avenir n'est acceptable que si elle contribue à faire mieux comprendre les principes biologiques fondamentaux ou à assurer le développement des connaissances et de nouvelles techniques médico-chirurgicales dont on peut raisonnablement attendre qu'elles profiteront aux êtres humains ou aux animaux.

Les principes régissant l'utilisation des animaux à des fins expérimentales à la Fondation de l'Avenir sont en accord avec la règle Russell-Burch des «3R» (Remplacement, Réduction et Raffinement) :

**Remplacement** : des animaux ne sont utilisés que si les expérimentateurs ont tenté en vain de trouver une solution de rechange pour répondre à leurs objectifs (modélisation informatique, cultures de cellules et de tissus, etc.)

**Réduction** : les expérimentateurs qui utilisent des animaux doivent recourir aux méthodes les plus humaines et ce, sur le plus petit nombre possible d'animaux appropriés requis pour obtenir des renseignements exploitables.

**Raffinement** : s'il faut utiliser des animaux, ceux-ci doivent être gardés dans des conditions qui leur assurent le confort physique et le bien-être psychologique. Il faut éviter de soumettre les animaux à des souffrances ou à des angoisses inutiles.

**Prise en charge de la douleur** : la Fondation de l'Avenir ne pratique aucune vivisection ; les animaux sont anesthésiés avant toute intervention et les conditions de l'anesthésie ont le même niveau de rigueur et de qualité que pour les humains. Tous les animaux opérés bénéficient d'un traitement analgésique postopératoire adapté. L'analgésie doit correspondre au niveau de douleur attendue pour chaque intervention. Tous les moyens nécessaires sont disponibles et doivent être intégrés dans les projets de recherche, sans pour autant interférer avec les résultats expérimentaux ; selon les protocoles : anti-inflammatoire non-stéroïdiens (AINS), opioïdes, anesthésiques locaux.

Le personnel de la Fondation de l'Avenir est à la disposition des expérimentateurs pour envisager l'analgésie nécessaire pour les différentes phases de leur protocole.

**Euthanasie** : la procédure utilisée à la Fondation de l'Avenir pour euthanasier un animal est sans douleur et engendre un minimum de peur et d'anxiété. Elle est fiable, reproductible, irréversible et rapide. Elle est conforme aux méthodes appropriées à l'espèce et privilégie les injections intraveineuses.

Les locaux destinés à l'hébergement des animaux sont conçus pour assurer leur bien être : ils sont conformes à la réglementation française et européenne en vigueur. Les animaux passent le temps nécessaire pour la réalisation de la phase chirurgicale, soins rapprochés pré et postopératoires si nécessaire, pour retourner rapidement à leurs conditions d'hébergement habituelles dans la ferme expérimentale de la Fondation de l'Avenir à Bligny.

Les conditions de transport des animaux sont réglementaires et correspondent à deux impératifs : diminuer le temps de transport au maximum et s'assurer de leur confort physique.

Le personnel a les compétences requises pour traiter les animaux avec respect ; il dispose pour cela des moyens nécessaires, en conformité avec les principes exposés dans les textes et guides de référence, notamment le : Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (National Institutes of Health) et le Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation du Conseil Canadien de Protection des Animaux (CCPA).

Tout mauvais traitement infligé à un animal ou l'inobservation de ces règles est considéré comme une infraction grave à cette déclaration de principe et la personne responsable est passible de sanctions disciplinaires.

Les membres du comité d'éthique sont à la disposition de toute personne souhaitant obtenir des informations relatives à l'éthique.

## BIBLIOGRAPHIE

- (1) ABRAMS P, LOWRY SK, WEIN AJ, BUMP R, DENIS L, KALACHE A *et al.* Assessment and treatment of urinary incontinence. *Lancet*, 2000, **355**, 2153-2158.
- (2) AMAYE-OBU FA, DRUTZ HP. Surgical management of recurrent stress urinary incontinence : a 12-year experience. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1999, **181**, 1296-1307.
- (3) ANIDJAR M, HAAB F, KIRSCH NOIR F, MONDET F, GATTEGNO B, TEILLAC P *et al.* Urethral graciloplasty for treatment of female intrinsic sphincter deficiency : rationale for the transvaginal approach : an anatomical study. *J. Urol.*, 1998, **159**, 2182-2184.
- (4) APPELL RA. Periurethral injection therapy. *In* : WALSH, RETIK, VAUGHAN *et al.* *Campbell's urology*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia : WB Saunders Company, 1998, 3432p, 1109-1120.
- (5) ASAKURA A, KOMAKI M, RUDNICKI MA. Muscle satellite cells are multipotential stem cells that exhibit myogenic, ostéogenic and adipogenic differentiation. *Differentiation*, 2001, **68**, 245-253.
- (6) ATALA A. Tissue engineering in urologic surgery. *Urol. Clin. North Am.*, 1998, **25**, 39-50.
- (7) ATALA A. Engineering tissues and organs. *Curr. Opin. Urol.*, 1999, **9**, 517-526.
- (8) ATALA A, CIMA LG, KIM W, PAIGE KT, VACANTI JP, RETIK AB *et al.* Injectable alginate seeded with chondrocytes as a potential treatment for vesicoureteral reflux. *J. Urol.*, 1993, **150**, 745-747.
- (9) BAROFFIO A, HAMANN M, BERNHEIM L, BOCHATON-PIALLAT ML, GABBIANI L, BADER CR. Identification of self-renewing myoblasts in the progeny of single human muscle satellite cells. *Differentiation*, 1996, **60**, 47-57.
- (10) BARRETT DM, LICHT MR. Implantation of the artificial genitourinary sphincter in men and women. *In* : WALSH, RETIK, VAUGHAN *et al.* *Campbell's urology*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia : WB Saunders Company, 1998, 3432p, 1121-1134.
- (11) BATRA SC, IOSIF CS. Female urethra : a target for estrogen action. *J. Urol.*, 1983, **129**, 418-420.
- (12) BATRA SC, IOSIF CS. Effects of estrogen treatment on the peroxydase activity and estrogen receptors in the female rabbit urogenital tissues. *J. Urol.*, 1992, **148**, 935-938.
- (13) BENT AE, TUTRONE RT, Mc LENNAN MT, LLOYD LK, KENNELLY MJ, BADLANI G. Treatment of intrinsic sphincter deficiency using autologous ear chondrocytes as a bulking agent. *Neurourol. Urodyn.*, 2001, **20**, 157-165.
- (14) BERG S. Polytef augmentation urethroplasty. Correction of surgically incurable urinary incontinence by injection technique. *Arch Surg*, 1973, **107**, 379-381.

- (15) BHATIA NN, BERGMAN A, KARRAM MM. Effects of estrogen on urethral function in women with urinary incontinence. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1989, **12**, 349-360.
- (16) BLADOU F, MAZOUNI C, SERMENT G. Chirurgie à minima et dispositifs palliatifs. In : AMARENCO G, SERMENT G. *L'insuffisance sphinctérienne urétrale de la femme*. Société internationale francophone d'urodynamique, actualités en urodynamique. Paris : Elsevier SAS, 2000, 274p, 265-272.
- (17) BOOTH DK, FLOYD SS, DAY CS, GLORIOSO JC, KOVESDI I, HUARD J. Myoblast-mediated ex vivo gene transfer to mature muscle. *Tissue eng.*, 1997, **3**, 125-133.
- (18) BORENSTEIN N, BRUNEVAL P, HEKMATI M, BOVIN C, BEHR L, PINSET C *et al.* Non-cultured autologous skeletal muscle cells can successfully engraft into ovine myocardium, article soumis à publication.
- (19) BORENSTEIN N, CHETBOUL V, RAJNOCH C, BRUNEVAL P, CARPENTIER A. Successful cellular cardiomyoplasty in canine idiopathic dilated cardiomyopathy. *Ann. Thorac. Surg.*, 2002, **74**, 294-300.
- (20) BROWN JS, GRADY D, OUSLANDER JG, HERZOG AR, VARNER RE, POSNER SF. Prevalence of urinary incontinence and associated risk factors in postmenopausal women. Heart and estrogen/progestin replacement study research group. *Obstet. Gynecol.*, 1999, **94**, 66-70.
- (21) BURNEY TL, BADLANI GH. Rationale and treatment results with bioinjectables. *J. Endourol.*, 1996, **10**, 273-277.
- (22) BUTERA JA, ARGENTIERI TM. Recent approaches to the treatment of urinary incontinence : a survey of patent activity from 1995 to 1998. *Exp. Opin. Ther. Patents*, 1998, **8**, 1017-1035.
- (23) BUZELIN JM. Physiologie de la continence et de la miction. *Rev. Prat.*, 1995, **45**, 286-291.
- (24) CAMPION DR. The muscle satellite cell : a review. *Int. Rev. Cytol.*, 1984, **87**, 225-248.
- (25) CENDRON M, DeVORE DP, CONNOLLY R, SANT GR, UCCI A, CALAHAN R *et al.* The biological behavior of autologous collagen injected into the rabbit bladder. *J. Urol.*, 1995, **154**, 808-811.
- (26) CHANCELLOR MB, YOKOYAMA T, TIRNEY S, MATTES CE, OZAWA H, YOSHIMURA N *et al.* Preliminary results of myoblast injection into the urethra and bladder wall. *Neurourol. Urodyn.*, 2000, **19**, 279-287.
- (27) CHIU RCJ, ZIBAITIS A, KAO RL. Cellular cardiomyoplasty : myocardial regeneration with satellite cell implantation. *Ann. Thorac. Surg.*, 1995, **60**, 12-18.

- (28) COSTA P. Mécanismes de la continence à l'effort chez la femme. In : AMARENCO G, SERMENT G. *L'insuffisance sphinctérienne urétrale de la femme*. Société internationale francophone d'urodynamique, actualités en urodynamique. Paris : Elsevier SAS, 2000, 274p, 25-34.
- (29) DAI Y, ROMAN M, NAVIAUX RK, VERMA IM. Gene therapy via primary myoblasts : long-term expression of factor IX protein following transplantation in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, **89**, 10892-10895.
- (30) DAY CS, BOSCH P, KASEMKIJWATTANA C, MENETREY J, MORELAND MS, FU FH *et al.* Use of muscle cells to mediate gene transfer to the bone defect. *Tissue eng.*, 1999, **5**, 119-125.
- (31) DELANCEY JOL. Stress urinary incontinence : where are we now, where should we go ? *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1996, **175**, 311-319.
- (32) DENYS P, CHARTIER-KASTLER E. Traitement médical de l'insuffisance sphinctérienne. In : AMARENCO G, SERMENT G. *L'insuffisance sphinctérienne urétrale de la femme*. Société internationale francophone d'urodynamique, actualités en urodynamique. Paris : Elsevier SAS, 2000, 274p, 245-251.
- (33) DHAWAN J, PAN LC, PAULATH GK, TRAVIS MA, LANCTOT AM, BLAU HM. Systemic delivery of human growth hormone by injection of genetically engineered myoblasts. *Science*, 1991, **254**, 1509-1512.
- (34) DIAMOND DA, CALDAMONE AA. Endoscopic correction of vesicoureteral reflux in children using autologous chondrocytes : preliminary results. *J. Urol.*, 1999, **162**, 1185-1188.
- (35) DMOCHOWSKY RR, APPELL RA. Injectable agents in the treatment of stress urinary incontinence in women : where are we now ? *Urology*, 2000, **56**(suppl 6A), 32-40.
- (36) DMOCHOWSKY RR, APPELL RA. Delivery of injectable agents for treatment of stress urinary incontinence in women : evolving techniques. *Tech. Urol.*, 2001, **7**, 110-117.
- (37) DORFMAN J, DUONG M, ZIBAITIS A, PELLETIER MP, SHUM-TIM D, LI C *et al.* Myocardial tissue engineering with autologous myoblast implantation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 1998, **116**, 744-751.
- (38) DROUPY S, BENOIT G. Anatomie, histologie et innervation du sphincter urétral chez la femme. In : AMARENCO G, SERMENT G. *L'insuffisance sphinctérienne urétrale de la femme*. Société internationale francophone d'urodynamique, actualités en urodynamique. Paris : Elsevier SAS, 2000, 274p, 9-24.
- (39) DUBERNARD JM, ABOU C. *Chirurgie urologique*. Paris : Masson, 2001, 730p.
- (40) DUDOGNON P, SALLE JY, MUNOZ M, GUINVARC'H S, BOURU M, LABROUSSE C. Rééducation de l'incontinence urinaire féminine. *Rev. Prat.*, 1995, **45**, 322-326.

- (41) DURAND A, SERMANT G, BLADOU F, GRISONI V. Pharmacologie du sphincter urétral chez la femme. In : AMARENCO G, SERMENT G. *L'insuffisance sphinctérienne urétrale de la femme*. Société internationale francophone d'urodynamique, actualités en urodynamique. Paris : Elsevier SAS, 2000, 274p, 35-40.
- (42) FAN Y, MALEY M, BEILHARZ M, GROUNDS M. Rapid death of injected myoblasts in myoblast transfer therapy. *Muscle nerve*, 1996, **19**, 853-860.
- (43) FASSATI A, MURPHY S, DICKSON G. Gene therapy of Duchenne muscular dystrophy. *Adv. Genet.*, 1997, **35**, 117-143.
- (44) GORTON E, STANTON S, MONGA A, WISKIND AK, LENTZ GM, BLAND DR. Periurethral collagen injection : a long-term follow-up study. *BJU Int.*, 1999, **84**, 966-971.
- (45) GROUNDS MD, WHITE JD, ROSENTHAL N, BOGOYEVITCH MA. The role of stem cells in skeletal and cardiac muscle repair. *J. Histochem. Cytochem.*, 2002, **50**, 589-610.
- (46) GUSSONI E, BLAU HM, KUNKEL LM. The fate of individual myoblasts after transplantation into muscles of DMD patients. *Nat. Med.*, 1997, **3**, 970-977.
- (47) HAAB F, CIOFU C. Place du Valsalva Leak Point Pressure (VLPP) dans l'exploration de l'incontinence urinaire de la femme. In : AMARENCO G, SERMENT G. *L'insuffisance sphinctérienne urétrale de la femme*. Société internationale francophone d'urodynamique, actualités en urodynamique. Paris : Elsevier SAS, 2000, 274p, 143-152.
- (48) HALE DS, BENSON JT, BRUBAKER L, HEIDKAMP MC, RUSSELL B. Histologic analysis of needle biopsy of urethral sphincter from women with normal and stress incontinence with comparison of electromyographic findings. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1999, **180**, 342-348.
- (49) HAWKE TJ, GARRY DJ. Myogenic satellite cells : physiology to molecular biology. *J. Appl. Physiol.*, 2001, **91**, 534-551.
- (50) HENALLA SM, HALL V, DUCKETT JRA, LINK C, USMAN F, THOMAS PM *et al.* A multicentre evaluation of a new surgical technique for urethral bulking in the treatment of genuine stress incontinence. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 2000, **107**, 1035-1039.
- (51) HENLY DR, BARRETT DM, WEILAND TL, O'LONNOR MK, MALIZIA AA, WEIN AJ. Particulate silicone for use in periurethral injections : local tissue effects and search for migration. *J. Urol.*, 1995, **153**, 2039-2043.
- (52) HERTZ D, HAFEZ A, BEGLI D, CAPOLICCHIO G, Mc LORIE G, KHOURY A. Efficacy of endoscopic subureteral polydimethylsiloxane injection for treatment of vesicoureteral reflux in children : a north american clinical report. *J. Urol.*, 2001, **166**, 1880-1886.
- (53) HES COP L, BEAUCHAMP JR, TAJBAKHSH S, BUCKINGHAM ME, PAETRIDGE TA, ZAMMIT PS. Transplanted primary neonatal myoblasts can give rise to functional satellite cells as identified using the Myf5<sup>nlacZ/+</sup> mouse. *Gene therapy*, 2001, **8**, 778-783.

- (54) HUARD J, VERREAULT S, ROY R, TREMBLAY M, TREMBLAY JP. High efficiency of muscle regeneration after human myoblast clone transplantation in SCID mice. *J. Clin. Invest.*, 1994, **93**, 586-599.
- (55) HURT WG. Stress urinary incontinence, corrective approaches. Retropubic urethropexy or colposuspension. In : ANGIOLI R, APPELL RA, BENT AE et al. *Urogynecologic surgery, the masters' techniques in gynecologic surgery*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia : Lippincott Williams and Wilkins, 2000, 214p, 80-92.
- (56) JIAO S, GUREVICH V, WOLFF JA. Long-term correction of rat model of Parkinson's disease by gene therapy. *Nature*, 1993, **362**, 450-453.
- (57) KARRAM MM, KOHLI N. Stress urinary incontinence, corrective approaches. Transvaginal needle suspension procedures. In : ANGIOLI R, APPELL RA, BENT AE et al. *Urogynecologic surgery, the masters' techniques in gynecologic surgery*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia : Lippincott Williams and Wilkins, 2000, 214p, 47-56.
- (58) KERSHEN RT, ATALA A. New advances in injectable therapies for the treatment of incontinence and vesicoureteral reflux. *Urol. Clin. North Am.*, 1999, **26**, 81-94.
- (59) KESSLER PD, BYRNE BJ. Myoblast cell grafting into heart muscle : cellular biology and potential applications. *Annu. Rev. Physiol.*, 1999, **61**, 219-242.
- (60) LAPRAY JF. Imagerie de l'insuffisance sphinctérienne. In : AMARENCO G, SERMENT G. *L'insuffisance sphinctérienne urétrale de la femme*. Société internationale francophone d'urodynamique, actualités en urodynamique. Paris : Elsevier SAS, 2000, 274p, 87-108.
- (61) LAU HT, YU M, FONTANA A, STOECKERT CJ. Prevention of islet allograft rejection with engineered myoblasts expressing FasL in mice. *Science*, 1996, **273**, 109-112.
- (62) LEE PE, KUNG RC, DRUTZ HP. Periurethral autologous fat injection as treatment for female stress urinary incontinence : a randomized double-blind controlled trial. *J. Urol.*, 2001, **165**, 153-158.
- (63) LIGHTNER D, CALLOSA C, ANDERSEN R, KLIMBERG I, BRITO CG, SNYDER J et al. A new injectable agent for the treatment of stress urinary incontinence : results of a multicentre, randomized, controlled, double blind study of duraspHERE. *Urology*, 2001, **58**, 12-15.
- (64) LIGHTNER DJ. Review of the available urethral bulking agents. *Curr. Opin. Urol.*, 2002, **12**, 333-338.
- (65) LIGHTNER DJ, ITANO NMB. Treatment options for women with stress urinary incontinence. *Mayo Clin. Proc.*, 1999, **74**, 1149-1156.
- (66) MAURO A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1961, **9**, 493-495.

- (67) Mc GUIRE EJ, O'CONNELL HE. Pubovaginal slings. In : WALSH, RETIK, VAUGHAN *et al.* *Campbell's urology*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia : WB Saunders Company, 1998, 3432p, 1103-1108.
- (68) MENASCHE P, HAGEGE AA, SCORSIN M, POUZET B, DESNOS M, DUBOC D *et al.* Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet*, 2001, **357**, 279-280.
- (69) MENDELL JR, KISSEL JT, AMATO AA, KING W, SGNORE L, PRIOR TW *et al.* Myoblast transfer in the treatment of Duchenne's muscular dystrophy. *N. Engl. J. Med.*, 1995, **333**, 832-838.
- (70) MIKLOS JR, KOHLI N. Stress urinary incontinence, corrective approaches. Innovative surgery for stress urinary incontinence. In : ANGIOLI R, APPELL RA, BENT AE *et al.* *Urogynecologic surgery, the masters' techniques in gynecologic surgery*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia : Lippincott Williams and Wilkins, 2000, 214p, 103-112.
- (71) MURRY CE, WISEMAN RW, SCHARTZ SM, HAUSCHKA SD. Skeletal myoblast transplantation for repair of myocardial necrosis. *J. Clin. Invest.*, 1996, **98**, 2512-3523.
- (72) NASR SZ, OUSLANDER JG. Urinary incontinence in the elderly. Causes and treatment options. *Drugs Aging*, 1998, **12**, 349-360.
- (73) NITTI VW, COMBS AJ. Correlation of Valsalva leak point pressure with subjective degree of stress urinary incontinence in women. *J. Urol.*, 1996, **155**, 281-285.
- (74) PANNEK J, BRANDS FH, SENGE T. Particle migration after transurethral injection of carbon coated beads for stress urinary incontinence. *J. Urol.*, 2001, **166**, 1350-1353.
- (75) PEREZ ABADIA G, VAN AALST VC, PALACIO MM, WERKER PM, REN X, VAN SAVAGE J *et al.* Gracilis muscle neosphincter for treating urinary incontinence. *Microsurgery*, 2001, **21**, 271-280.
- (76) PFISTER C, VALLANCIEN G, BOUGARAN-ANDRE J, GRISE P. Preliminary results of muscle cuff cervicoplasty in the ewe for the treatment of urinary incontinence. *Eur. Urol.*, 1997, **32**, 448-454.
- (77) PINSET C, MONTARRAS D. *Cell systems for ex vivo studies of myogenesis : a protocol for the isolation of stable muscle cell populations from newborn to adult mice*. 2<sup>nd</sup> ed. San Diego : J.E. Celis, pub Academic press, 1998.
- (78) QU Z, BALKIR L, VAN DEUTEKOM JCT, ROBBINS PD, PRUCHNIC R, HUARD J. Development of approaches to improve cell survival in myoblast transfer therapy. *J. Cell. Biol.*, 1998, **142**, 1257-1267.
- (79) QU-PETERSON Z, DEASY B, JANKOWSKY R, IKEZAWA M, CUMMINS J, PRUCHNIC R *et al.* Identification of a novel population of muscle stem cells in mice : potential for muscle regeneration. *J. Cell. Biol.*, 2002, **157**, 851-864.

- (80) REINECKE H, POPPA V, MURRY CE. Skeletal muscle stem cells do not transdifferentiate into cardiomyocytes after cardiac grafting. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 2002, **34**, 241-249.
- (81) ROBINSON SW, CHO PW, LEVITSKY HI, OSLOM JL, HRUBAN RH, ACKER MA *et al.* Arterial delivery of genetically labelled skeletal myoblasts to the murine heart : long-term survival and phenotypic modification of implanted myoblasts. *Cell Transplant.*, 1996, **5**, 77-91.
- (82) RUD T, ANDERSSON KE, ASMUSSEN M, HUNTING A, ULMSTEN U. Factors maintaining the intraurethral pressure in women. *Invest. Urol.*, 1980, **17**, 343-347.
- (83) RUTCHIK SD, REISNIK MI. The epidemiology of incontinence in the elderly. *BJU*, 1998, **82**(suppl 1), 1-4.
- (84) SENGLER J, GROSSE D. La rééducation de l'insuffisance sphinctérienne. In : AMARENCO G, SERMENT G. *L'insuffisance sphinctérienne urétrale de la femme*. Société internationale francophone d'urodynamique, actualités en urodynamique. Paris : Elsevier SAS, 2000, 274p, 237-243
- (85) SERMENT G, SAKR R, BLADOU F. Traitement chirurgical de l'insuffisance sphinctérienne (hors sphincter artificiel). In : AMARENCO G, SERMENT G. *L'insuffisance sphinctérienne urétrale de la femme*. Société internationale francophone d'urodynamique, actualités en urodynamique. Paris : Elsevier SAS, 2000, 274p, 257-264.
- (86) SMITH BF, HOFFMAN RK, GIGER U, WOLFE JH. Genes transferred by retroviral vectors into normal and mutant myoblasts in primary cultures are expressed in myotubes. *Mol. Cell. Biol.*, 1990, **10**, 3268-3271.
- (87) STENBERG A, LARSSON G, JOHNSON P, HEIMER G, ULMSTEN U. DiHA dextran copolymer, a new biocompatible material for endoscopic treatment of stress incontinent women. Short term results. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.*, 1999, **78**, 436-442.
- (88) SU TH, HSU CY, CHEN JC. Injection therapy for stress incontinence in women. *Int. Urogynecol. J.*, 1999, **10**, 200-206.
- (89) SUZUKI K, SMOLENSKI RT, JAYAKUMAR J, MURTUZA B, BRAND NJ, YACOUB MH. Heat shock treatment enhances graft cell survival in skeletal myoblast transplantation to the heart. *Circulation*, 2000, **102**, III216-21.
- (90) SWEAT SD, LIGHTNER DJ. Complications of sterile abscess formation and pulmonary embolism following periurethral bulking agents. *J. Urol.*, 1999, **161**, 93-96.
- (91) TAMUSSINO KF, ZIVKOVIC F, PIEBER D, MOSER F, HAAS J, RALPH G. Five year results after anti-incontinence operations. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1999, **181**, 1347-1352.
- (92) TAYLOR DA, ATKINS BZ, HUNGSPREVOS P, JONES TR, REEDY MC, HUTCHESON KA *et al.* Regenerating functional myocardium : improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat. Med.*, 1998, **4**, 929-934.

- (93) TREMBLAY JP, VILQUIN JT. La transplantation de myoblastes normaux ou génétiquement modifiés pour le traitement de maladies héréditaires ou acquises. *J. Soc. Biol.*, 2001, **195**, 29-37.
- (94) VAN AALST VC, WERKER PM, STREMEL RW, PEREZ ABADIA GA, PETTY GD, HEILMAN SJ *et al.* Ellectrically stimulated free-flap graciloplasty for urinary sphincter reconstruction : a new surgical procedure. *Plast. Reconstr. Surg.*, 1998, **102**, 84-91.
- (95) WEBSTER GD, KHOURY JM. Retropubic suspension surgery for female sphincteric incontinence. In : WALSH, RETIK, VAUGHAN *et al.* *Campbell's urology*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia : WB Saunders Company, 1998, 3432p, 1095-1102.
- (96) WEPIERRE S. *Variations de la pression urétrale après castration chez la chienne*. Thèse Med. Vet., Alfort, 1995, 136p.
- (97) WESTNEY OL, Mc GUIRE EJ. Stress urinary incontinence, corrective approaches. Pubovaginal slings. In : ANGIOLI R, APPELL RA, BENT AE *et al.* *Urogynecologic surgery, the masters' techniques in gynecologic surgery*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia : Lippincott Williams and Wilkins, 2000, 214p, 93-101.
- (98) YIOU R, DREYFUS P, CHOPIN DK, ABOU CC, LEFAUCHEUR JP. Muscle precursor cell autografting an a murine model of urethral sphincter injury. *BJU Int.*, 2002, **89**, 298-302.
- (99) YOKOYAMA T, HUARD J, CHANCELLOR MB. Myoblast therapy for stress urinary incontinence and bladder dysfunction. *World J. Urol.*, 2000, **18**, 56-61.
- (100) YOKOYAMA T, HUARD J, PRUCHNIC R, YOSHIMURA N, QU Z, BAOHONG C *et al.* Muscle-derived cell transplantation and differentiation into lower urinary tract smooth muscle. *Urology*, 2001, **57**, 826-831.
- (101) YOKOYAMA T, PRUCHNIC R, YOUL LEE JI, CHUANG YC, JUMON H, YOSHIMURA N *et al.* Autologous primary muscle-derived cells transfer into the lower urinary tract. *Tissue eng.*, 2001, **7**, 395-404.
- (102) YOKOYAMA T, YOSHIMURA N, DHIR R, QU Z, FRASER MO, KUMON H *et al.* Persistence and survival of autologous muscle derived cells versus bovine collagen as potential treatment of stress urinary incontinence. *J. Urol.*, 2001, **165**, 271-276.
- (103) ZAMMIT PS, BEAUCHAMP JR. The skeletal muscle satellite cell : stem cell or son of stem cell ? *Differentiation*, 2001, **68**, 193-204.
- (104) ZHANG M, METHOT D, POPPA V, FUJIO Y, WALSH K, MURRY CE. Cardiomyocyte grafting for cardiac repair : graft cell death and anti-death strategies. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 2001, **33**, 907-921.