



A. HAGEGE  
Pôle Cardiovasculaire, Hôpital Européen Georges Pompidou,  
PARIS.

Après 10 ans d'essais cliniques (*tableau 1*), les études basées sur l'injection de cellules souches dans le myocarde pour pallier la perte de cellules contractiles en post-infarctus sont neutres ou, au mieux, faiblement positives. Les résultats favorables des essais menés chez l'animal ou des études cliniques de phase I n'ont pas été confirmés par les essais randomisés.

De manière générale, les cellules s'intègrent peu dans le tissu cardiaque et leur mortalité post-greffe est élevée, menant à considérer de nouvelles techniques pour améliorer la viabilité des cellules greffées, leur multiplication *in situ* et leur vascularisation. De plus, les cellules souches adultes actuellement utilisées, y compris les cellules souches issues de la moelle osseuse, ont une faible plasticité et il est peu probable qu'elles puissent donner naissance à de nouvelles cellules cardiaques, du moins en nombre suffisant.

Il semble que leur efficacité modérée soit essentiellement médiée par des effets paracrines. De ce fait, les espoirs de la régénération du myocarde reposent aujourd'hui sur l'utilisation de cellules souches pluripotentes, soit les cellules souches embryonnaires (*fig. 1*) qui, on l'a montré, peuvent se différencier en cardiomyocytes, soit les cellules souches pluripotentes induites (CSPi) de découverte plus récente (*fig. 2*).

### MYOBLASTES SQUELETTIQUES

Les essais cliniques utilisant la transplantation de myoblastes squelettiques, cellules souches adultes présentes dans les muscles squelettiques, accessibles par simple biopsie et pouvant être mises en culture au laboratoire, n'ont pas abouti aux

# Génétique et régénération myocardique : quoi de neuf ?

**1998 :** James Thomson (Wisconsin) crée des lignées de ESC humaines (HESC).

**2004 :** Douglas Melton (Harvard) crée 70 lignées HESC mises à disposition des scientifiques.

**2006 :** Shinya Yamanaka (Kyoto) crée une lignée CSPi à partir de fibroblastes cutanés de souris par insertion de 4 gènes spécifiques (Oct3/4, Sox2, c-Myc et Klf4) via un rétrovirus.

**2007 :** Thomson & Yamanaka créent conjointement la première lignée humaine iPS.

**2008 :**

- Kevin Eggan (Harvard) crée la première lignée humaine d'iPS à partir de 2 patientes atteintes de sclérose latérale amyotrophique.
- Melton modifie des cellules pancréatiques de souris déficientes pour produire de l'insuline.
- Hochedlinger crée des iPS de souris avec des virus classiques plutôt que des rétrovirus.
- Yamanaka crée des iPS de souris en utilisant des plasmides (brin d'ADN circulaire hébergé dans certaines bactéries) au lieu de vecteurs rétroviraux.

**2009 :**

- Richard Burt (Chicago) montre que l'autogreffe de cellules souches prélevées dans la moelle osseuse de 23 patients diabétiques insulinodépendants leur permet de produire de nouveau de l'insuline pendant 14 à 52 mois.
- Thomson parvient à reprogrammer de banales cellules humaines en ayant recours à un plasmide (brin d'ADN circulaire hébergé dans certaines bactéries) dont la présence dépend d'un antibiotique. Les iPS mises en culture sans l'antibiotique fournissent des lignées stables d'HESC disponibles pour des autogreffes.

*Tableau 1 : Cellules souches. Une décennie de découvertes.*

résultats escomptés. Ainsi, l'étude de référence dans ce domaine, l'étude française MAGIC, menée en aveugle *versus* placebo et ayant inclus des patients ayant une dysfonction ventriculaire gauche sévère, une cicatrice d'infarctus et une indication à des pontages coronaires, a permis de montrer que l'injection directe intramyocardique de myoblastes squelettiques dans la zone de l'infarctus pendant la chirurgie de pontage (97 patients) n'améliore pas, par rapport aux contrôles, la fonction régionale ou globale du ventricule

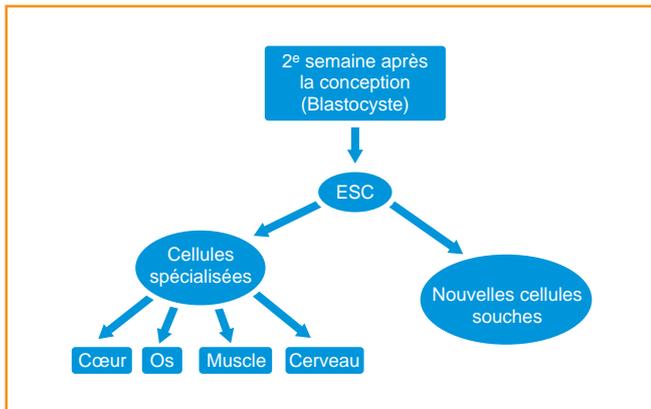


Fig. 1 : Cellules souches embryonnaires (ESC) à partir de l'embryon.

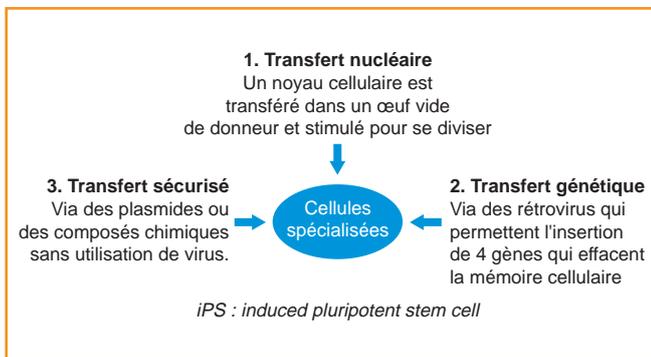


Fig. 2 : Cellules souches pluripotentes induites (CSPi) obtenues à partir de cellules adultes.

gauche en échocardiographie, bien que les doses les plus élevées aient un effet anti-remodelage ventriculaire gauche avec diminutions significatives des volumes télédiastoliques et téléstoliques (un critère de jugement secondaire présélectionné par rapport au placebo) [1].

Dans cette même étude, il existe dans le groupe traité une tendance non significative à l'augmentation des arythmies ventriculaires graves (détectées par le défibrillateur cardiaque systématiquement implanté en préopératoire), notamment dans la période postopératoire précoce. En bref, l'utilisation de ce type cellulaire est pour l'instant abandonnée.

## CELLULES SOUCHES MEDULLAIRES

Dans le cadre de l'infarctus aigu du myocarde, des cellules dérivées de la moelle osseuse ou du sang périphérique, cellules souches mononucléées, progéniteurs CD133+ ou cellules souches mésenchymateuses, ont fait l'objet de nombreuses études cliniques. La plupart ont consisté en

l'aspiration de moelle osseuse à la crête iliaque et en la réinjection par voie intracoronaire du produit de thérapie cellulaire dans la zone de l'infarctus quelques jours après la recanalisation par angioplastie et (éventuellement) stent.

Dans l'étude REPAIR-AMI [2], 204 patients avec infarctus aigu, sus-décalage de ST et indication à angioplastie ont été randomisés pour recevoir un produit de thérapie cellulaire (cellules progénitrices dérivées de la moelle osseuse) ou un placebo. Une sous-étude IRM sur 54 patients ne montre pas d'effet significatif sur les volumes ou la fraction d'éjection ventriculaires gauches à 4 et 12 mois. Chez les patients à fraction d'éjection inférieure à 49 %, l'amélioration de fraction d'éjection (+6,6 %) est significative de même que les diminutions à 12 mois des volumes télédiastolique (-29 mL) et téléstolique. Le faible nombre de patients inclus (27 dans chaque groupe) rend cependant les résultats difficiles à interpréter, d'autant qu'ils contredisent d'autres études précédemment publiées dans le même contexte (ASTAMI et BOOST). Enfin, durant les sessions 2008 de l'*American Heart Association*, deux essais randomisés dans l'infarctus aigu, l'un français (BONAMI) (Mouquet *et al.*) et l'autre dénommé HEBE (Piec *et al.*) n'ont pas montré d'effets bénéfiques sur le critère principal de jugement.

Des résultats équivalents ont été obtenus lors de l'injection dans les coronaires des cellules progénitrices issues de la moelle osseuse (CD34+ CXCR4+ et cellules mononucléées non sélectionnées) dans l'essai REGENT [3], même si là encore il y a une tendance en faveur du traitement chez les patients à fractions d'éjection les plus altérées et délais plus importants entre la revascularisation et l'administration du produit de thérapie cellulaire (il semble que cette thérapeutique soit plus efficace lorsque administrée après la première semaine). Si certains ont suggéré que, même si la fonction globale n'était pas améliorée, la fonction régionale, appréciée notamment par échographie de strain, était améliorée après la procédure [4], il apparaît que ces améliorations sont, si elles existent, très modérées et sans doute peu susceptibles d'avoir des effets cliniques majeurs.

Les cellules souches autologues issues du tissu graisseux semblent être également prometteuses, et font actuellement l'objet d'un essai clinique par injections par voie endocavitaires dans l'infarctus aigu du myocarde (APOLLO), et d'un autre essai dans l'angor chronique rebelle (PRECISE). Enfin, la plasticité des cellules souches mésenchymateuses comme des cellules issues du tissu adipeux est discutée, mais elles ont des effets favorables, notamment angiogéniques, qui pour-

raient être utiles dans ce contexte, d'autant que leur immunogénicité, notamment pour les cellules mésenchymateuses, semble réduite.

## LIMITATIONS ET VOIES D'AVENIR

### 1. – Viabilité cellulaire

Une des limitations majeures de la thérapie cellulaire cardiaque est la mortalité cellulaire précoce, probablement supérieure à 90 % dans les premiers jours, par différents mécanismes (ischémie, apoptose, inflammation, dégâts mécaniques post-injections, fuite cellulaire par voie veineuse...). Les études humaines ont montré que 2 à 5 % des cellules mononucléées administrées par voie intracoronaire sont retenues dans le myocarde après quelques heures, même si l'administration plus précoce améliore la rétention cellulaire [5].

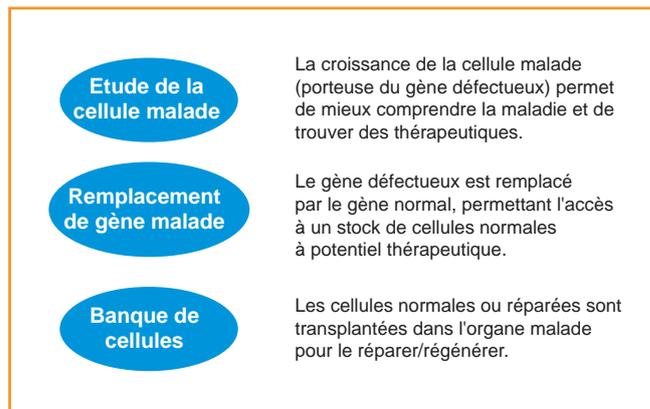
L'utilisation de matrices biologiques dans lesquelles les cellules sont engluées, ou de thérapies conjointes (génique et cellulaire) propres à améliorer la vascularisation du greffon, semblent ainsi des voies d'avenir. Ainsi, la survie cellulaire peut être améliorée par l'incorporation dans le produit de thérapie cellulaire de gènes codants pour des facteurs anti-apoptotiques comme bcl2 ou Akt.

### 2. – Problèmes liés aux cellules souches adultes

Il apparaît que, alors que le but initial de la thérapie cellulaire était le remplacement du pool de cardiomyocytes, les cellules injectées ne se transforment pas en cardiomyocytes mais agissent par des voies paracrines (sécrétion de facteurs de croissance) documentées par de multiples études, aussi bien avec les cellules souches médullaires qu'avec les myoblastes squelettiques. Ces facteurs paracrines incluent la stimulation de l'angiogenèse, la limitation de l'apoptose, le remodelage de la matrice extracellulaire avec diminution de la fibrose et peut-être le recrutement de cellules souches cardiaques.

### 3. – Cellules souches embryonnaires

L'intérêt des cellules souches embryonnaires humaines est aujourd'hui souligné, car elles peuvent être orientées *in vitro* vers la lignée cardiaque et se différencier *in situ* dans la cicatrice de l'infarctus en cardiomyocytes [6]. En dehors des problèmes que pose ce type de cellules, éthiques et techniques comme réglementaires (en partie levés aux Etats-Unis suite à la présidence de Barack Obama), le potentiel immunologique



**Fig. 3 :** Utilisations potentielles des cellules souches obtenues à partir de patients.

de ces cellules (obtenues chez l'embryon et potentiellement injectées chez un patient) reste à mieux déterminer.

### 4. – Cellules souches pluripotentes induites

L'obtention de cellules souches pluripotentes induites (iPS ou CSPi) à partir de fibroblastes humains cutanés (les cellules obtenues à partir de la peau humaine sont semblables en apparence aux cellules souches embryonnaires, se comportent de la même façon qu'elles en culture, et ont la capacité de se transformer en n'importe quel type de tissu) ouvre une voie nouvelle puisque les problèmes éthiques et immunologiques pourraient être alors gommés. Les quatre rétrovirus initialement indispensables pour reprogrammer les cellules et les faire reculer dans le temps (et qui empêchaient *a priori* toute utilisation clinique en raison du risque de cancer induit) ont été déjà remplacés avec succès par des vecteurs non viraux [7] (*fig. 3*).

Il a été de plus démontré qu'il est possible de différencier ces cellules en cardiomyocytes [8]. En décembre 2008, des chercheurs américains ont reprogrammé des cellules souches cutanées prélevées chez des souris malades de dépranocytose, les ont reprogrammées en cellules embryonnaires et les ont manipulées pour remplacer le gène malade, permettant alors la réadministration des cellules et la guérison des souris. Cependant, les problèmes liés à la création de banque de cellules autologues ne doivent pas être négligés.

## ISCHEMIE CRITIQUE DES MEMBRES INFÉRIEURS

Il y a 300000 nouveaux cas par an d'ischémie critique des membres inférieurs en France, qui se manifestent par des dou-

leurs de repos résistant aux antalgiques et évoluant vers des troubles trophiques. La mortalité est élevée, autour de 50 % à 5 ans, tandis que 30 % des patients devront subir une amputation majeure.

Dans un premier essai de thérapie cellulaire réalisé au Japon en 2002, la réinjection intramusculaire de cellules mononuclées autologues de la moelle osseuse dans une jambe ischémique a permis d'améliorer les paramètres cliniques du côté traité et d'assurer une néoangiogenèse sur les artériographies [9]. Depuis, plus de 700 patients atteints d'ischémie critique des membres inférieurs ont été traités par thérapie cellulaire.

Une telle étude en ouvert est en cours en France (*J. Emmerich, Hôpital Européen Georges Pompidou*) avec des résultats préliminaires histologiques encourageants. Une étude randomisée en double aveugle, l'étude BALI, vient de démarrer en France et devrait rassembler 120 patients traités par cellules mononuclées de la moelle.

Ainsi, la thérapie cellulaire couplée à la thérapie génique ouvre de nouvelles voies thérapeutiques en médecine cardiovasculaire qui devraient révolutionner nos approches des patients les plus graves, pour lesquels les thérapeutiques actuelles sont relativement en échec. □

## BIBLIOGRAPHIE

1. MENASCHE P *et al.* The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial: first randomized placebo-controlled study of myoblast transplantation. *Circulation*, 2008; 117: 1 189-210.
2. DILL T *et al.* Intracoronary administration of bone marrow-derived progenitor cells improves left ventricular function in patients at risk for adverse remodeling after acute ST-segment elevation myocardial infarction: results of the Reinfusion of Enriched Progenitor cells And Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction study (REPAIR-AMI) cardiac magnetic resonance imaging substudy. *Am Heart J*, 2009; 157: 541-7.
3. TENDERA M *et al.* Intracoronary infusion of bone marrow-derived selected CD34+CXCR4+ cells and non-selected mononuclear cells in patients with acute STEMI and reduced left ventricular ejection fraction: results of randomized, multicentre Myocardial Regeneration by Intracoronary Infusion of Selected Population of Stem Cells in Acute Myocardial Infarction (REGENT) Trial. *Eur Heart J*, 2009. [Epub ahead of print].
4. HERBOTS L *et al.* Improved regional function after autologous bone marrow-derived stem cell transfer in patients with acute myocardial infarction: a randomized, double-blind strain rate imaging study. *Eur Heart J*, 2009; 30: 662-70.
5. SCHACHINGER V *et al.* Pilot trial on determinants of progenitor cell recruitment to the infarcted human myocardium. *Circulation*, 2008; 118: 1425-32.
6. TOMESCOT A *et al.* Differentiation in vivo of cardiac committed human embryonic stem cells in postmyocardial infarcted rats. *Stem Cells*, 2007; 25: 2200-05.
7. OKITA K *et al.* Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science*, 2008; 322: 949-53.
8. NARAZAKI G *et al.* Directed and systematic differentiation of cardiovascular cells from mouse induced pluripotent stem cells. *Circulation*, 2008; 118: 498-506.
9. TATEICHI-YUYAMA E *et al.* Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet*, 2002; 360: 427-35.

L'auteur a déclaré ne pas avoir de conflit d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.