



A. HAGEGE
Service de Cardiologie,
Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS.

La transplantation cellulaire apparaît aujourd'hui comme une thérapie prometteuse dans certaines formes graves d'insuffisance cardiaque réfractaire.

A ce jour, seules les cellules somatiques adultes, musculaires squelettiques et médullaires, ont fait l'objet d'essais cliniques. La procédure a été effectuée pour la première fois chez l'Homme dans une étude française de phase I utilisant des myoblastes autologues injectés directement en intramyocardique lors d'une thoracotomie pour pontages, démontrant la faisabilité de la méthode, mais soulignant la possibilité de troubles du rythme ventriculaire induits.

En ce qui concerne les cellules souches médullaires, les études cliniques préliminaires ont suggéré que l'injection par voie intracoronaire au décours immédiat d'un infarctus du myocarde améliorerait la fonction ventriculaire gauche globale et segmentaire. Les études randomisées récentes versus placebo donnent des résultats discordants, certaines aboutissant cependant à un résultat favorable, bien que modéré, sur la fonction ventriculaire gauche.

Quels que soient les résultats des études à venir, il est réaliste d'admettre que ces cellules ne permettront pas une véritable régénération du myocarde infarcté en raison de la plasticité limitée des cellules adultes.

Cet objectif paraît en revanche pouvoir être atteint avec les cellules souches embryonnaires dont la pluripotentialité laisse espérer qu'elles puissent se différencier *in vivo* en cardiomyocytes et, dès lors, se coupler à ceux du receveur pour former un véritable syncytium, prérequis pour que le greffon contribue activement à la contraction cardiaque.

Régénération myocardique

L'insuffisance cardiaque reste un problème majeur de Santé publique en dépit des avancées thérapeutiques récentes : 1 million de patients en France (1 % de la population de plus de 65 ans), première cause d'hospitalisation du sujet âgé, plus de 60 % de décès 5 ans après le diagnostic avec plus de 50 % de réadmissions à 6 mois.

Parmi les thérapies alternatives [1-3], la régénération du myocarde par thérapie génique se heurte encore au problème du choix du gène à cibler, à la maîtrise des vecteurs et à la pérennité du transfert de gène. Un autre type de régénération fait appel à la thérapie cellulaire dont le concept est basé sur la recolonisation de zones myocardiques de fibrose irréversible par des cellules potentiellement contractiles afin d'améliorer la fonction ventriculaire gauche. La transplantation cellulaire émerge donc comme un des moyens de réparation d'un muscle cardiaque défaillant en post-infarctus. Etant donné la faible régénération cardiomyocytaire *in vivo* [4], ne pouvant spontanément pallier une perte cellulaire conséquente, les expérimentations se sont rapidement tournées vers les cellules souches autologues adultes.

■ TYPES CELLULAIRES

Différents types de cellules souches ont été expérimentalement testés dans l'insuffisance cardiaque ischémique [1] :

● **Issues d'organes adultes (en greffe autologue) :**

- myoblastes du muscle squelettique,
- cellules souches myocardiques.

● **Issues de tissus adultes (en greffe autologue) :**

- moelle osseuse : moelle totale, cellules mononucléées (progéniteurs hématopoïétiques et/ou endothéliaux, autres sous-types plus homogènes définis par marquage...), cellules stromales ou mésenchymateuses...
- cellules du sang circulant (progéniteurs hématopoïétiques, cellules pluripotentes type MAPC...).

● *Issues de tissus non adultes (avec les problèmes potentiels de rejet) :*

- cardiomyocytes fœtaux,
- cellules embryonnaires (blastocyste, sang du cordon).

■ CELLULES SOUCHES MUSCULAIRES SQUELETTIQUES ADULTES

1. – Concept et études expérimentales

Les myoblastes, cellules souches du muscle squelettique adulte, ont plusieurs avantages : un fort potentiel de division, la différenciation constante en fibres musculaires adultes (myotubes), une grande résistance à l'ischémie, et plus de 15 ans de travaux expérimentaux. Transplantées dans le myocarde chez l'animal [5], ces cellules forment un greffon viable, diminuent la taille de l'infarctus et remplacent en partie la fibrose (*fig. 1*), avec amélioration de la fonction ventriculaire gauche globale et régionale. Ces cellules restent cependant isolées, sans contraction synchrone au tissu hôte. Leurs effets bénéfiques seraient dus à la sécrétion de cytokines ayant des effets favorables sur la composition de la matrice extra-cellulaire, les cardiomyocytes en hibernation ou la mobilisation de cellules souches de l'hôte.

2. – Evaluations cliniques

Les myoblastes squelettiques ont été privilégiés pour la première application clinique, en France, en juin 2000, ouvrant la voie à la première étude de phase I [6-8]. Les résultats encourageants de cette première étude mondiale ont été corroborés par trois autres études cliniques, de faisabilité et de tolérance et ayant utilisé des myoblastes squelettiques dans une indica-

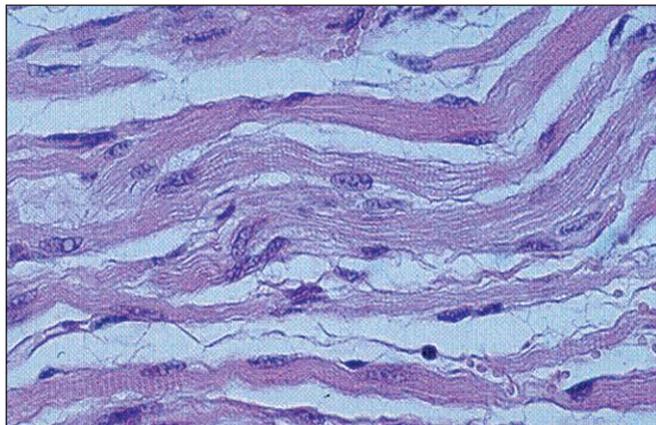


Fig. 1 : Fibres musculaires squelettiques adultes (myotubes) 2 mois après injections de myoblastes dans un modèle d'infarctus chez l'animal.

tion ischémique analogue. Deux d'entre elles, en Pologne et aux Etats-Unis (16 patients), ont comporté une implantation des cellules par voie chirurgicale au cours de pontages. La troisième, menée aux Pays-Bas et en Italie, interrompue à la suite d'arythmies ventriculaires graves, a fait appel à une technique d'injection par voie endoventriculaire gauche, après abord percutané.

Ces essais de phase I ont ainsi inclus près de 100 patients coronariens à fonction ventriculaire altérée, confirmant la faisabilité de la technique avec un risque potentiel d'arythmies ventriculaires, l'amélioration clinique et de la fraction d'éjection (+8-10 %) (mais pontages concomitants) à long terme. L'administration par la voie du sinus coronaire est également possible chez l'Homme tandis que l'administration par voie endoventriculaire est validée, mais avec un fort risque d'arythmies ventriculaires. Seul l'essai en cours MAGIC (résultats en 2007), de phase II, randomisé contre placebo, permettra de conclure sur l'efficacité de la procédure. Les myoblastes (prélevés par simple biopsie de 10-15 g à la cuisse sous anesthésie locale 3 semaines avant la chirurgie programmée, puis mis en culture au laboratoire pendant ce délai) sont injectés directement à l'aiguille dans le myocarde fibreux. L'implantation d'un défibrillateur cardiaque automatique est systématique afin de pallier les arythmies ventriculaires éventuelles.

■ CELLULES SOUCHES MEDULLAIRES AUTOLOGUES

1. – Concept et études expérimentales

Les cellules souches médullaires sont facilement accessibles par simple ponction de moelle à la crête iliaque, et ne nécessitent pas de mise en culture prolongée, ce qui permet leur utilisation dans les syndromes coronaires aigus. Plusieurs types cellulaires ont été sélectionnés [9, 10], soit les cellules souches mononucléées obtenues par simple filtration et centrifugation, soit des cellules plus immatures (CD133, CD34...).

Ces cellules sont normalement destinées à se différencier en cellules hématopoïétiques, mais il a été suggéré que certaines d'entre elles pourraient se transformer en cardiomyocytes, bien que cette transformation, en tout cas à une large échelle, soit actuellement très discutée [11]. Un faible pourcentage de cellules souches peuvent également passer dans la circulation générale et sont donc accessibles par prélèvement sanguin, éventuellement après mobilisation par GCSF.

Une autre approche consiste à sélectionner des cellules souches mésenchymateuses ou stromales, qui peuvent facilement être cultivées *in vitro* ; parmi celles-ci, une sous-population de cellules adultes mais totipotentes a été récemment isolée. La transplantation de ces cellules progénitrices améliore l'angiogénèse et fonction myocardique chez l'animal, via notamment des effets paracrines.

2. – Evaluations cliniques

En dépit du faible nombre des travaux expérimentaux, les cellules souches médullaires ont fait l'objet, en raison de leur facilité d'obtention, d'applications cliniques nombreuses, essentiellement dans l'infarctus aigu [12-14]. Elles peuvent, après préparation brève de quelques heures, être réinjectées par voie intracoronaire dans le territoire de l'infarctus peu de temps après l'épisode initial. Les études cliniques préliminaires (Congrès de l'*American Heart Association*, 2005) concernant les cellules souches médullaires autologues ont suggéré que l'injection par voie intracoronaire en phase aiguë ou au décours immédiat d'un infarctus du myocarde améliorerait la fonction ventriculaire gauche (BOOST).

L'étude REPAIR-AMI, multicentrique, prospective, randomisée, double aveugle contre placebo, a évalué l'administration de cellules progénitrices mononucléées isolées à partir de la moelle osseuse après prélèvement par ponction de hanche à la phase aiguë d'un infarctus revascularisé par angioplastie, et réinjectée 3 à 5 jours plus tard (en aval d'un ballonnet d'angioplastie gonflé dans l'artère responsable de l'infarctus) (fig. 2). Ont été inclus dans l'étude 204 patients et les prélèvements de cellules de moelle osseuse ont été réalisés sous anesthésie locale entre 3 et 5 jours après l'épisode aigu avec réinjection 3 à 5 jours plus tard. La fraction d'éjection ventriculaire gauche s'améliore à 4 mois de 5,5 % sous traitement versus 3 % dans le groupe placebo, résultat statistiquement significatif, et les bénéfices sont plus marqués chez des patients ayant une fraction d'éjection basale inférieure à 49 % (amélioration en chiffres absolus de 7,5 % contre 2,5 % pour le groupe placebo) ; de plus, les patients traités plus de 5 jours après infarctus ont également une amélioration plus importante que ceux traités plus tôt. Aucun effet indésirable particulier n'a été noté dans le groupe traité.

Ces résultats positifs sont atténués par l'absence de bénéfice à long terme dans les études BOOST et ASTAMI. ASTAMI est une étude randomisée et double aveugle comparant admi-

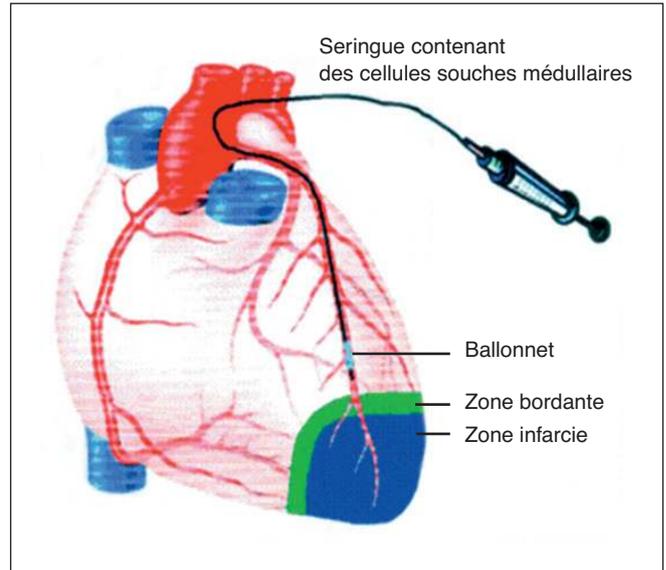


Fig. 2: Modalités d'administration des cellules souches médullaires en amont d'un ballonnet d'angioplastie gonflé dans l'infarctus aigu.

nistration intracoronaire de cellules souches médullaires mononucléées autologues 5 à 8 jours après infarctus du myocarde antérieur traité par angioplastie primaire et stent à un placebo (100 patients). Les résultats sont totalement négatifs en ce qui concerne la fraction d'éjection ventriculaire gauche ou l'étendue de la nécrose.

■ IMPLICATIONS PRATIQUES

En l'absence de preuve définitive de l'efficacité de ces techniques, elles sont pour l'instant sans objet. En France, à ce jour, seuls les patients entrant dans des protocoles thérapeutiques de type "Loi Huriet" peuvent recevoir ce type de traitement. Deux études sont en cours en France en 2006, l'une utilisant de la moelle filtrée autologue dans l'infarctus aigu et l'autre des myoblastes squelettiques autologues dans l'insuffisance cardiaque ischémique chronique.

■ CONCLUSION

Les études actuellement disponibles ne permettent pas de conclure définitivement sur l'efficacité des greffes cellulaires dans le post-infarctus, efficacité dont le mécanisme potentiel reste lui aussi indéterminé, mais les cellules souches ont certainement un avenir en cardiologie dans le post-infarctus et peut-être aussi dans les cardiomyopathies. Les cellules embryonnaires humaines sont probablement les cellules les

- La transplantation cellulaire est une thérapeutique prometteuse dans certaines formes graves d'insuffisance cardiaque réfractaires aux traitements classiques. Chez l'animal en post-infarctus elle améliore la fonction ventriculaire. Seules les cellules somatiques adultes, musculaires squelettiques et médullaires, ont fait l'objet d'essais cliniques.
- La procédure a été effectuée pour la première fois chez l'Homme (2000) dans une étude française de phase I utilisant des myoblastes autologues injectés directement en intramyocardique lors d'une thoracotomie pour pontages, démontrant la faisabilité de la méthode, mais soulignant la possibilité de troubles du rythme ventriculaire induits. L'efficacité de l'injection de myoblastes (augmentation de la contractilité, effets sur les événements cardiaques) reste à démontrer par une étude multicentrique (MAGIC) de phase II versus placebo, actuellement en cours.
- Les résultats cliniques en phase aiguë d'infarctus avec les cellules médullaires donnent des résultats fonctionnels discordants, témoignant probablement de l'imparfaite maîtrise des phénomènes d'implantation et de survie cellulaires. En effet, la perte cellulaire suivant l'administration des cellules en intramyocardique est considérable (> 90 %), par simple dégâts mécaniques lors des injections, processus inflammatoires ou apoptose post-injections.
- Quels que soient les résultats des études à venir, il est réaliste d'admettre que ces cellules ne permettront pas une véritable régénération du myocarde en raison de la plasticité limitée des cellules somatiques adultes.
- Cet objectif paraît pouvoir être atteint avec les cellules souches embryonnaires dont la pluripotentialité laisse espérer qu'elles puissent se différencier *in vivo* en cardiomyocytes et, dès lors, se coupler à ceux du receveur, prérequis pour que le greffon contribue activement à la contraction cardiaque, comme le montrent les études expérimentales menées par plusieurs équipes chez l'animal.

plus prometteuses [15], mais leur usage se heurte pour l'instant à des problèmes éthiques et légaux.

Les cellules souches médullaires autologues pourront peut-être s'imposer en phase aiguë d'infarctus en administration percoronariographique. L'injection de moelle totale filtrée en phase précoce d'infarctus pourrait avoir deux effets complémentaires : différenciation endothéliale avec vasculogénèse permettant le sauvetage des zones bordantes ischémiques et

différenciation en cellules cardiaques sous l'effet de cytokines présentes en quantité en phase aiguë de la nécrose.

Par contre, au stade tardif, ces phénomènes seraient sans intérêt (nécrose constituée, absence de signaux différenciateurs) ou dangereux (formation de fibroblastes). L'essai MAGIC permettra bientôt de répondre à la question de l'intérêt des greffes de myoblastes squelettiques autologues (obtenues par biopsie musculaire) dans l'insuffisance cardiaque chronique ischémique. ■

Bibliographie

1. MURRY CE *et al.* Cell-based cardiac repair: Reflections at the 10-year point. *Circulation*, 2005; 112: 174-83.
2. DIMMELER S *et al.* Wanted! The best cell for cardiac regeneration. *J Am Coll Cardiol*, 2004; 44: 464-6.
3. ASAHARA T *et al.* Stem cell therapy and gene transfer for regeneration. *Gene Ther*, 2000; 7: 451-7.
4. BELTRAMI AP *et al.* Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2001; 344: 1750-7.
5. GHOSTINE S *et al.* Long-term efficacy of myoblast transplantation on regional structure and function after myocardial infarction. *Circulation*, 2002; 106: I-131-6.
6. MENASCHE P *et al.* Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet*, 2001; 357: 279-80.
7. MENASCHE P *et al.* Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol*, 2003; 41: 1078-83.
8. HAGEGE A *et al.* Autologous myoblast grafting in ischemic cardiomyopathy: Clinical validation of long-term cell viability and differentiation. *Lancet*, 2003; 361: 491-2.
9. ORLIC D *et al.* Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*, 2001; 410: 701-5.
10. JIANG Y *et al.* Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 2002; 418: 41-9.
11. MURRY CE *et al.* Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature*, 2004; 428: 664-8.
12. STAMM C *et al.* Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet*, 2003; 361: 45-6.
13. WOLLERT KC *et al.* Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet*, 2004; 364: 141-8.
14. STRAUER BE *et al.* Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation*, 2002; 106: 1913-8.
15. KEHAT I *et al.* Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest*, 2001; 108: 407-14.