Génétique et régénération myocardique : quoi de neuf?

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

THERAPIE CELLULAIRE

Le concept initial de la thérapie cellulaire cardiaque, la régénération du pool de cellules contractiles par l'apport de cellules exogènes, a beaucoup évolué ces dernières années. Sur le plan expérimental, on sait aujourd'hui que les cellules souches adultes, musculaires ou médullaires, sont incapables de donner naissance à de nouveaux cardiomyocytes, suggérant que les bénéfices éventuels constatés (amélioration de fonction et/ou limitation du remodelage ventriculaires) sont médiés par des mécanismes mécaniques (limitation de la dilatation ventriculaire) ou paracrines (activation des voies de signalisation impliquées dans l'angiogenèse ou le recrutement de cellules souches présentes dans l'organisme).

Depuis la première application clinique en l'an 2000 en France, les premiers essais randomisés ont été menés dans l'infarctus du myocarde aigu, l'insuffisance cardiaque et l'angor réfractaire avec des résultats discordants et avec des bénéfices éventuels modérés et transitoires.

1. – Insuffisance cardiaque chronique

Dans ce contexte, menés le plus souvent dans les cardiomyopathies ischémiques, les essais ont le plus souvent utilisé des cellules souches musculaires squelettiques autologues (myoblastes squelettiques) après une phase préalable de culture et injectées directement dans la cicatrice de l'infarctus et à sa périphérie au cours d'une chirurgie de pontages aorto-coronaires.

Quatre essais chirurgicaux totalisant 56 patients ont été publiés à ce jour, établissant la faisabilité de la technique et sa tolérance, sous réserve d'un risque d'arythmies ventriculaires dont l'amplitude reste difficile à évaluer aujourd'hui.

L'auteur a déclaré être Consultant pour la Société Genzyme.

La première étude randomisée versus placebo contrôlée, en double aveugle, de thérapie cellulaire dans les cardiomyopathies ischémiques post-infarctus à fraction d'éjection altérée (MAGIC) initiée en France [1] a inclus près de 100 patients, et s'est révélée négative sur le critère principal (amélioration de la fonction ventriculaire gauche régionale et globale), bien que des critères secondaires préspécifiés aient été positifs (limitation de la dilatation ventriculaire gauche). Dans cette étude, un surcroît d'arythmies ventriculaires est noté en postopératoire immédiat, dont les conséquences ont été limitées par la mise en place postopératoire systématique d'un défibrillateur.

L'administration de myoblastes par cathétérisme cardiaque n'a fait l'objet que de trois essais cliniques, par voie endocavitaire ou transveineuse coronaire. L'étude CAUSMIC est basée sur la délivrance de myoblastes squelettiques autologues prélevés par biopsie à la cuisse et délivrés par cathétérisme intracardiaque avec guidage par système Noga (Dib, Congrès de l'AHA 2007). On note une amélioration de la classe NYHA et de la qualité de vie à 6 mois et 12 mois chez les patients traités par rapport au placebo, avec réapparition d'une viabilité tissulaire dans la zone nécrotique et effet anti-remodelage ventriculaire, sans surcroît d'arythmies dans le groupe traité.

2. – Infarctus du myocarde au stade aigu

Dans ce contexte, les expérimentations ont été menées avec des cellules souches médullaires chez les patients revascularisés en phase aiguë de façon conventionnelle par angioplastie. Dans le même temps est réalisée une aspiration de moelle au niveau de la crête iliaque avec une isolation des cellules mononucléées de la moelle qui sont réinjectées quelques jours plus tard (3 à 8) dans l'artère responsable de l'infarctus.

Si les études de phase I sont très positives en termes d'amélioration de la fonction ventriculaire gauche globale, de la perfusion myocardique et de la viabilité, les résultats des études randomisées et contrôlées (au nombre de 4 à ce jour, totalisant plus de 400 patients) sont plus discordants avec trois études négatives et un seul essai positif (mais avec une

amélioration de fraction d'éjection modérée de 2,5 % par rapport au groupe placebo). La tolérance aussi bien à court qu'à moyen terme semble bonne, et l'administration retardée (au-delà du 5e jour après l'infarctus) semble préférable pour l'obtention d'un résultat fonctionnel. L'étude BONAMI, menée en France, à Nantes et Toulouse, devrait permettre de clarifier les bénéfices de l'injection intracoronaire de cellules médullaires en phase aiguë d'infarctus du myocarde.

Enfin, deux méta-analyses récentes des essais menés en thérapie cellulaire cardiaque en phase aiguë d'infarctus sont en faveur d'un effet bénéfique de la thérapie cellulaire cardiaque [2, 3].

3. – Angor réfractaire

L'étude PROTECT-CAD, publiée récemment [4], a consisté en l'injection par voie endoventriculaire gauche (sous contrôle NOGA) de cellules mononucléées de la moelle chez 28 patients coronariens présentant un angor rebelle réfractaire au traitement conventionnel, avec un critère primaire de jugement basé sur l'augmentation de la durée d'effort lors du test d'effort. Cette étude démontre une augmentation significative à 6 mois de la durée d'effort (+ 53 %), de la fraction d'éjection ventriculaire gauche (+ 5,4 % par rapport au placebo) et de la classe NYHA.

4. – A la recherche du "Holy Graal"

Le problème inhérent aux techniques actuelles de thérapie cellulaire est l'absence de transdifférenciation de la plupart des cellules médullaires et des cellules musculaires en cellules capables de se contracter de manière synchrone avec le tissu hôte, c'est-à-dire l'absence d'expression de connexine-43, principale protéine des jonctions intercellulaires. On sait depuis une publication récente [5] qu'il est possible de manipuler les myoblastes squelettiques pour leur faire exprimer la connexine-43, permettant ainsi une contraction synchrone et la prévention du risque d'arythmie ventriculaire, mais la faisabilité clinique d'une telle technique reste à démontrer.

On sait également que certaines cellules médullaires (les cellules souches mésenchymateuses) ou d'autres types cellulaires (adipocytes, cellules du sang de cordon ombilical) sont susceptibles de se différencier (mais avec un très faible rendement) en cardiomyocytes. Ainsi, des cellules souches médullaires mésenchymateuses allogéniques ont été administrées par voie intracoronaire dans la semaine suivant un infarctus dans une étude randomisée double aveugle contre placebo menée sur 53 patients (étude PROVACEL, Congrès de l'AHA 2007) : le produit est bien toléré, avec même moins d'arythmies ventriculaires dans le groupe traité et une tendance à l'amélioration de la FEVG dans les infarctus antérieurs, mais il s'agissait d'une étude de tolérance uniquement.

D'autres types cellulaires peuvent se transformer en cardiomyocytes, qu'il s'agisse des cellules souches cardiaques, de découverte récente (mais leur accessibilité par biopsies endomyocardiques reste à démontrer), ou des cellules embryonnaires humaines (dont on a démontré in vivo chez l'animal la capacité à améliorer la fonction ventriculaire gauche ou à restaurer une activité électrique sinusale) possèdent ces caractéristiques. Des études récentes ont aussi souligné la plasticité et le caractère pluripotent des spermatogonies, cellules souches responsables de la spermatogenèse durant toute la vie chez l'homme, et capables de se différencier en différents types cellulaires dont les cardiomyocytes et les cellules vasculaires [6]. Un accès à ces cellules par biopsie testiculaire chez l'homme n'est pas impossible.

Ainsi, les objectifs majeurs des années à venir seront d'une part la recherche de nouveaux types cellulaires permettant réellement en clinique une transdifférenciation en cardiomyocytes (cellules embryonnaires humaines en premier lieu), et d'autre part, la mise au point de techniques permettant l'augmentation de la survie et de la greffe après implantation des cellules (très limitée actuellement).

GENETIQUE CARDIOVASCULAIRE

Alors que la thérapie génique dans les maladies myocardiques, notamment dans les cardiopathies ischémiques, semble en net retrait, l'approche par gène candidat et le dépistage des patients à risque pour différentes pathologies cardiaques par détermination du profil génétique est en plein essor.

L'équipe de Nantes s'est distinguée en 2006 pour avoir montré que la sténose aortique calcifiée – dite dégénérative – pouvait être familiale et héréditaire [7]. Mais l'insuffisance mitrale dystrophique – dite myxoïde – peut être aussi à transmission héréditaire. Le prolapsus valvulaire mitral est la forme la plus commune des valvulopathies, touchant environ 2 à 3 % de la population, et reste une des indications les plus fréquentes de chirurgie valvulaire. Des formes familiales ont été décrites, à transmission autosomale dominante, pénétrance réduite et expressivité variable. Trois loci ont été identifiés liés aux chromosomes 16, 11 et 13, mais les gènes réellement en cause n'étaient jusqu'alors pas connus.

L'équipe de Nantes [8] a mis en évidence dans une grande famille à haute fréquence de prolapsus valvulaire mitral, de type dystrophie myxoïde, une transmission liée à l'X, pour laquelle le gène muté code pour la filamine A ; la pénétrance de la maladie est complète chez l'homme et incomplète chez la femme. Les valves sont en général épaissies, et la fuite aortique associée modérée à sévère n'est pas rare. La filamine A est un composé structurel du cytosquelette, et est impliquée également dans de nombreuses voies de signalisation cellulaire. Cette protéine pourrait contribuer à l'apparition des modifications myxoïdes des valves cardiaques par la régulation de la voie de signalisation du TGF-β qui intervient dans la régulation de la croissance valvulaire. Les recherches sur la filamine A et les voies de signalisation liées au TGF-β devraient ouvrir la voie vers des nouvelles possibilités thérapeutiques pour prévenir ou traiter les dystrophies valvulaires, comme c'est aujourd'hui le cas pour les anévrysmes aortiques.

Ces mutations sont probablement peu fréquentes et les recherches s'orientent vers l'identification d'autres gènes responsables d'anomalies valvulaires mitrales. Les outils génétiques modernes (puces permettant l'analyse simultanée d'environ 500 000 polymorphismes répartis sur l'ensemble du génome) ont récemment permis d'identifier des gènes de susceptibilité dans des maladies complexes, telles que le diabète de type 2. Ces études sont basées sur la comparaison d'un grand nombre de cas et de témoins. Il est ainsi possible par analyse systématique large du génome chez des patients atteints d'une pathologie donnée (infarctus du myocarde, insuffisance cardiaque, valvulopathie…) et comparaison avec des sujets témoins non porteurs de la maladie, de mettre en évidence des gènes de susceptibilité pour l'apparition d'une maladie coronarienne ou myocardique. L'identification de gènes de susceptibilité à différentes maladies cardiovasculaires permettrait de mieux comprendre certains des mécanismes primaires à l'origine de cette pathologie. Ces gènes peuvent ensuite être testés pour voir s'ils sont réellement en cause dans cette maladie. Ces procédures ont été effectuées dans différentes affections cardiologiques avec un certain succès, sans que pour autant il y ait pour l'instant de conséquence en thérapeutique.

L'étude PVM-France qui démarre en 2008 a pour but la recherche de gènes de susceptibilité du prolapsus valvulaire mitral idiopathique grâce à l'établissement d'une collection nationale de sujets atteints et une analyse génétique globale sur l'ensemble du génome grâce aux nouvelles technologies de génotypage à haut débit, permettant d'établir les polymorphismes génétiques de susceptibilité. Cette collection menée en France sur 18 mois et 1 000 sujets atteints de PVM idiopathique et de 1 000 témoins (conjoints) à travers 30 centres nationaux de cardiologie et chirurgie cardiovasculaire sous l'égide la Société Française de Cardiologie devrait permettre d'identifier les gènes favorisant la progression de la maladie. □

BIBLIOGRAPHIE

1. Menasche P, Alfieri O, Janssens S *et al*. The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial : first randomized placebo-controlled study of myoblast transplantation. *Circulation*, 2008 ; 117 : 1 189-200.

2. Abdel-Latif A, Bolli R, Tleyjeh IM *et al*. Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair : a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med,* 2007 ; 167 : 989-97.

3. Lipinski MJ, Biondi-Zoccai GG, Abbate A *et al*. Impact of intracoronary cell therapy on left ventricular function in the setting of acute myocardial infarction : a collaborative systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *JACC*, 2007 ; 50 : 1 761-7.

4. Tse HF, Thambar S, Kwong YL *et al*. Prospective randomized trial of direct endomyocardial implantation of bone marrow cells for treatment of severe coronary artery diseases (PROTECT-CAD trial). *Eur Heart J*, 2007 ; 28 : 2 998-3 005.

5. Roell W, Lewalter T, Sasse P *et al*. Engraftment of connexin 43-expressing cells prevents post-infarct arrhythmia. *Nature*, 2007 ; 450 : 819-24.

6. Seandel M, James D, Shmelkov SV *et al*. Generation of functional multipotent adult stem cells from GPR125 + germline progenitors. *Nature,* 2007 ; 449 : 346-50.

7. Probst V, Le Scouarnec S, Legendre A *et al*. Familial aggregation of calcific aortic valve stenosis in the western part of France. *Circulation,* 2006 ; 113 : 856-60.

8. Kyndt F, Gueffet JP, Le Marec H, Schott JJ *et al*. Mutations in the gene encoding filamin A as a cause for familial cardiac valvular dystrophy. *Circulation*, 2007 ; 115 : 40-9.