

## **Applications thérapeutiques dans le cadre d'insuffisances cardiaques post-ischémiques.**

L'augmentation de la durée de vie d'une personne s'accompagne de problèmes cardiaques de plus en plus fréquents. Si les pronostics ont sensiblement progressé grâce à l'évolution des recherches en pharmacologie, la mortalité demeure encore très élevée et atteint plus de 60% pour les patients étant à un stade IV (d'après la classification de la *New York Heart Association*).

Dans la plupart des cas, l'insuffisance cardiaque suit un manque d'approvisionnement en dioxygène (et en nutriments) lié à un accident ischémique comme l'infarctus du myocarde. Ces anomalies engendrent la destruction des **cardiomyocytes** adultes sous tendant la capacité qu'a le muscle cardiaque de se contracter. Chez les Mammifères, la perte des cardiomyocytes est irréversible, et la zone cardiaque lésée est remplacée par un tissu cicatriciel akinétique. Dans certains cas, une insuffisance cardiaque peut résulter d'anomalies génétiques mutationnelles affectant des protéines impliquées dans la fonction de contractilité musculaire cardiaque (chaîne de la myosine, dystrophine, sarcoglycane, protéine C ...), voire d'infection virale encore inconnue.

Le traitement palliatif le plus efficace demeure la transplantation cardiaque, mais le manque important de greffon fait que cette approche est limitée. Dans ce contexte, la thérapie cellulaire constitue la voie la plus prometteuse.

Si la transplantation de cardiomyocytes fœtaux ou néonataux, chez l'animal, restaure le fonctionnement cardiaque, des problèmes de rejets immunologiques, d'éthique,... entravent cette utilisation chez l'Homme. Les cellules implantées doivent être les moins immunogènes possibles et doivent permettre : soit de remplacer la zone cicatricielle fibreuse par du tissu vivant et contractile, soit d'induire une angiogenèse locale.

*Quelles sont les cellules adultes les plus à même d'améliorer la fonctionnalité cardiaque, avec leurs problèmes potentiels corrélatifs ? Comment suivre le devenir de ces cellules et l'efficacité de ces transplantations ?*

### **A – Les catégories cellulaires adultes utilisables dans la thérapie cellulaire de l'insuffisance cardiaque.**

Il existe différents types cellulaires qui pourraient être utilisés pour améliorer les problèmes consécutifs à une ischémie cardiaque. Quel que soit le type cellulaire envisagé, il faut que ces cellules viennent reconstruire du tissu vivant au niveau de la zone lésée, soutenir les cardiomyocytes restant ou néosynthétisés, ou se différencier elles-mêmes en cardiomyocytes afin d'être ensuite transplantées.

La comparaison des différents types cellulaires utilisables, avec leur utilisation et leur problèmes potentiels, est présentée dans le tableau ci-dessous.

Types cellulaires utilisables	Spécificités et principe d'utilisation	Problèmes potentiels soulevés
<p><b>Cellules myoblastiques striées.</b></p>	<p>Les cellules myoblastiques ont une grande capacité à se régénérer en cas de destruction partielle des fibres musculaires squelettiques. Ces potentialités reposent sur la présence de cellules dites satellites présentes sous la lame basale des fibres, à l'état quiescent. Ces cellules différenciées, facilement accessibles et productibles in vivo de façon autologue constituent de bons candidats. Même si leur nombre diminue avec le temps, leur durée de vie est longue, et certaines des cellules transplantées restent satellites et donnent des néocellules squelettiques plusieurs mois après. IL semble que ces cellules, outre le renouvellement du tissu contractile, consolident la trame de collagène améliorant ainsi les adhésions des cardiomyocytes rémanants. Un effet trophique des myoblastes sur l'angiogenèse, via les <math>\beta</math>FGF et VEGF a été mis en évidence. Les myoblastes pourraient avoir une action inotropique positive (augmentation de la force de contraction cardiomyocytaire) sur les cardiomyocytes voisins, via l'IGF-1.</p>	<p>Les mécanismes qui seraient à l'origine des effets des myoblastes ne sont pas bien connus.</p> <p>Si les myoblastes possèdent la capacité de se contracter, il n'existe pas de couplage de nature électrique ou mécanique entre le tissu cardiaque et ces cellules transplantées.</p> <p>Certains problèmes d'arythmie ont été soulevés.</p>
<p><b>Cellules souches cardiaques</b></p>	<p>Ces cellules appelées cellules SP (Side Population) peuvent être isolées à partir de moelle osseuse, de muscle squelettique, de cœur, mais sans que l'on sache si elles proviennent de ces organes, ou d'un flux circulant commun. Ces cellules se différencient en cardiomyocytes lorsqu'elles sont placées en cocultures avec des cardiomyocytes.</p>	<p>Si des cellules précurseurs de cardiomyocytes existent au sein d'un cœur adulte, la régénération de la zone lésée lors d'un infarctus reste très partielle, rendant leur utilisation restreinte.</p>
<p><b>Cellules souches hématopoïétiques</b></p>	<p>Ces cellules présentes dans la moelle osseuse sont des précurseurs des cellules sanguines et immunitaires. Ces cellules favoriseraient l'angiogenèse et la cardiogenèse.</p>	<p>Des expériences sur des animaux transgéniques portant un gène marqueur sous contrôle d'un promoteur spécifique cardiaque, ont montré que les cellules injectées ne se différenciaient pas en cardiomyocytes, mais en cellules de leur lignage originel.</p>

<p><b>Cellules mésoenchymateuses.</b></p>	<p>Ces cellules souches provenant de la moelle osseuse, peuvent se différencier en cardiomyocytes in vitro en présence de 5-azacytidine, ou in vivo (mais en proportion restreinte). La partie mésoenchymateuse du tissu adipeux engendre, in vitro, des cellules dotées de capacité contractile automatique et exprimant des gènes spécifiques de cardiomyocytes. Le tissu adipeux pourrait constituer un réservoir important de cellules.</p>	<p>Problème relatif à l'efficacité de la différenciation et aux quantités tissulaires obtenues.</p>
<p><b>Cellules musculaires lisses.</b></p>	<p>Ces cellules améliorent le fonctionnement du cœur lorsqu'elles sont injectées chez des animaux ayant un cœur infarci. Elles permettent de reconstituer une zone vivante au niveau de la cicatrice fibreuse.</p>	<p>La préparation de ces cellules pose un problème en liaison avec les biopsies qui devraient être réalisées chez la personne pour les récupérer. On ne connaît pas les mécanismes qui sous tendent leur(s) action(s).</p>
<p><b>Cellules endothéliales.</b></p>	<p>Certains chercheurs ont pensé qu'il pourrait être important de restaurer une perfusion sanguine dans le cœur en induisant une néo-angiogenèse, plutôt que de restaurer la zone cardiomyocytaire détruite. Des cellules endothéliales précurseurs, présentes dans le sang et la moelle osseuse, peuvent être préparées et amplifiées in vitro. Leur injection dans des zones cardiaques ischémiques a augmenté la perfusion sanguine et ainsi le recrutement des cardiomyocytes en sommeil situés au voisinage de cette zone. Ces cellules peuvent également se différencier en cardiomyocytes, in vitro en présence de cardiomyocytes fœtaux, ou in vivo, à la suite d'une injection dans le myocarde.</p>	<p>La production de ces cellules, leur caractérisation et leur administration posent encore problème actuellement.</p>

**Cellules souches  
embryonnaires.**

Ces cellules placées dans un environnement moléculaire précis, peuvent se différencier en un grand nombre de cellules différentes, et notamment des cardiomyocytes (même si des arythmies ont été signalées) et des cellules endothéliales.

Le développement de tératomes s'est produit lors des premières études.

Ces cellules sont peu immunogènes, mais des réactions de rejet liées à l'alogénicité peuvent se produire.

Un des problèmes majeurs concerne l'autorisation des recherches sur ces cellules en liaison avec la loi en vigueur dans les différents pays. Des problèmes bioéthiques se posent bien sûr.

## **B – Des essais cliniques réalisés aux évolutions possibles.**

### **B1 - Les aspects techniques et cliniques.**

- **Les différents types de modèles animaux utilisables :** Un grand nombre d'espèces animales peut être utilisé comme modèle (rat, souris, mouton, cochon, chien, lapin, singe,...), même si aucun des modèles utilisés ne représente une évolution similaire complète de l'insuffisance cardiaque humaine. Ces animaux doivent subir une ligature des coronaires, une embolisation ou une cryogénie afin de créer une ischémie au niveau d'une zone cardiaque. Il est possible d'utiliser également des animaux présentant une insuffisance cardiaque d'origine génétique (hamster syrien développant une sarcoglycanopathie, souris transgénique,...). Des cardiopathies peuvent être aussi induites par injection d'anthracyclines.
- **Détermination du suivi des cellules transplantées ou injectées :**
  - Utilisation de coloration histologique classique afin d'obtenir des informations d'ordre morphologique.
  - Utilisation d'anticorps spécifiques si les cellules transplantées sont de nature différente du tissu cardiaque receveur.
  - Utilisation d'un marquage métabolique de mitose par exemple (BrDU), mais ce marqueur peut se diluer au cours des divisions cellulaires.
  - Utilisation de cellules transgéniques dans lesquelles un marqueur génique (gène de la  $\beta$  galactosidase) est activé par un promoteur spécifique de la différenciation cardiaque.

Quelque soit la méthode employée, des analyses avant et après la transplantation doivent être réalisées, par tomographie par émission de positrons, par Doppler, par sonomicrométrie, par tomoscintigraphie, par RMN,....

### **B2 – Analyses des essais cliniques réalisés.**

Les différents types cellulaires administrés sont injectés par voie trans-épicaudique, mais la réalisation de micro-thoracotomies est envisagée afin de diminuer le caractère invasif d'une opération à thorax ouvert. D'autres protocoles d'injection par cathéter sont en cours de validation.

- **Utilisation de cellules souches hématopoïétiques ou endothéliales.**

L'injection de cellules de moelles osseuse CD34<sup>+</sup> et CD133<sup>+</sup> a provoquée une amélioration concernant la perfusion de la zone lésée et sa contractilité, mais **XXX**caractérisation histologique. Dans certains cas, des réponses délétères ont été observées : des resténoses (rétrécissement vasculaire) liées à une endothélisation des gros vaisseaux sanguins proches ou plus éloignés, se sont produites.

L'administration des cellules par injection intracoronarienne semble favoriser des micro-embolies causant de nouveaux accidents ischémiques. Toutes les cellules injectées n'ont pas la même capacité de différenciation en cardiomyocytes. Les cellules [CD34+](#) qui présentent le meilleur potentiel cardiomyogénique et angiogénique sont peu présentes par rapport aux autres types cellulaires injectés.

Les essais actuels visent à isoler les cellules possédant le meilleur potentiel de transdifférenciation, et à trouver la voie d'administration la moins délétère.

- ***Utilisation de cellules myoblastiques.***

Les protocoles cliniques concernant ces cellules se déroulent en trois phases :

- la réalisation de la biopsie musculaire pour obtention de cellules autologues, au bloc opératoire ;
- la mise en culture des cellules en laboratoire ;
- l'acheminement des cellules au bloc et leur injection dans la zone cicatricielle.

La première greffe intramyocardique de cellules myoblastiques autologues a été réalisée le 15 juin 2000, sur 10 patients, lors d'une opération à thorax ouvert, par l'équipe du professeur *Menasché* et du docteur *Schwartz*. Des examens ultérieurs ont mis en évidence une amélioration du raccourcissement systolique et une reprise de l'activité métabolique de la zone lésée.

Sur les 10 patients, 4 ont souffert d'arythmies ventriculaires et ont dû être appareillés par un défibrillateur automatique. L'origine de ces arythmies n'est pas connue, mais des troubles rythmiques peuvent être liés au pontage, sans que l'on puisse écarter un problème causé par la greffe.

La thérapie cellulaire se révèle une solution prometteuse pour pallier les insuffisances cardiaques. De nombreux problèmes doivent néanmoins être réglés, comme les méthodes d'administration des cellules, la caractérisation des cellules possédant le meilleur potentiel de transdifférenciation, la quantité de cellules à injecter, l'amélioration du temps de survie des cellules au cours des premiers jours suivant leur injection, l'amélioration de la capacité migratoire des cellules injectées,...

Le développement d'un grand nombre d'équipe travaillant sur ces problèmes et la mise en place d'essais cliniques solides devraient ouvrir la voie à de belles perspectives pour cette histoire de cœur...