

COMMUNICATION

Thérapie cellulaire et insuffisance cardiaque : ombres et lumières

MOTS-CLÉS : CELLULES SOUCHES. MYOCARDITE. INGÉNIERIE CELLULAIRE

Stem cell therapy and heart failure: hopes and disappointments

KEY-WORDS (Index medicus): STEM CELLS. MYOCARDITIS. CELL ENGINEERING

Michel DESNOS *

L'auteur déclare ne pas avoir de lien d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.

RÉSUMÉ

L'insuffisance cardiaque reste, malgré les progrès thérapeutiques, une maladie grave et fréquente, caractérisée notamment par une perte cellulaire initiale et secondaire, qui n'est actuellement prise en compte par aucun traitement. C'est pourquoi la thérapie cellulaire est apparue comme une méthode novatrice et prometteuse dans la défaillance cardiaque, d'autant plus que les études expérimentales étaient très encourageantes.

Depuis 2000, date du premier patient opéré en France, les nombreux essais cliniques menés avec des cellules souches adultes (myoblastes, cellules médullaires, cellules souches mésenchymateuses) ont donné des résultats en demi-teinte : l'efficacité inconstante et modérée est liée à des effets paracrines et non au remplacement cellulaire espéré : en effet, les cellules souches adultes ne se transforment pas en cardiomyocytes et leur taux de survie après transplantation est très faible.

Pour être efficace, la thérapie cellulaire devrait impliquer des vraies cellules musculaires cardiaques, provenant de cellules pluri ou multipotentes (cellules souches embryonnaires humaines, cellules souches pluripotentes induites, cellules souches résidentes cardiaques) et aboutir à un taux de survie élevé, alors que le milieu biologique est hostile et l'architecture tissulaire dégradée. L'ingénierie cardiaque tissulaire, aidée des nanotechnologies, aidera peut-être à répondre à ce défi.

* Département de cardiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, 20 rue Leblanc — 75015 Paris. Unité INSERM 633 — Thérapie cellulaire en pathologie cardiovasculaire (Philippe MENASCHE) PARCC, 56 rue Leblanc — 75015 Paris

Tirés à part : Professeur Michel DESNOS Département de cardiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, 20 rue Leblanc — 75015 Paris

Article reçu le 17 juin 2013, accepté le 28 octobre 2013

SUMMARY

Despite therapeutic advances, heart failure remains a common and serious event characterized by initial and progressive loss of cardiac myocytes, a loss that is currently untreatable. Cell therapy has emerged as a promising new approach to the treatment of heart failure, with very encouraging experimental results.

Since 2000, when human stem cell therapy was first attempted in France, clinical trials with adult stem cells (myoblasts, bone-marrow derived cells, mesenchymal stem cells) have given variable results. The inconsistent and modest therapeutic benefit observed in these studies is due more to paracrine effects than to the hoped-for cell replacement, as adult stem cells do not turn into cardiomyocytes and their survival rate after transplantation is very low.

In order to be effective, cell therapy should use heart muscle cells derived from pluri- or multipotent cells (human embryonic stem cells, induced pluripotent stem cells, resident cardiac cells), which are likely to have a higher survival rate in a hostile biological environment and deteriorated tissue scaffold. Cardiac tissue engineering assisted by nanotechnologies may eventually help to meet this challenge.

Reposant sur les succès cliniques en hématologie et les données précliniques convergentes dans les modèles d'insuffisance cardiaque, ce concept novateur de thérapie cellulaire [1] a suscité beaucoup d'espoir en cardiologie depuis le début des années 2000, date du premier essai clinique dans l'insuffisance cardiaque avec des cellules musculaires souches, réalisé par notre groupe.

Le principe initial était la capacité des cellules souches adultes transplantées de se différencier en cardiomyocytes remplaçant les cellules détruites [2] et permettant une amélioration de la fonction cardiaque.

RATIONNEL

L'insuffisance cardiaque est une maladie fréquente (1 à 2 % de la population) qui continue à progresser (une augmentation de 25 % est prévue dans les 20 années à venir), et qui reste grave [3] en dépit des progrès thérapeutiques des vingt dernières années avec une mortalité de l'ordre de 10 % par an. La cause la plus fréquente est la cardiopathie ischémique.

La défaillance cardiaque est caractérisée, notamment, par une perte des cardiomyocytes, résultant d'un dégât myocardique initial (en particulier l'infarctus du myocarde) et de la perte secondaire progressive des cellules musculaires cardiaques par apoptose, traduite par le remodelage ventriculaire gauche, en réponse aux activités anormales des systèmes neuro-hormonaux et inflammatoires, expliquant par ailleurs les anomalies qualitatives des cardiomyocytes restants.

Aucun traitement disponible de l'insuffisance cardiaque n'a pour cible le problème majeur de cette perte de tissu cardiaque et c'est pourquoi la thérapie cellulaire est

apparue comme une approche conceptuellement idéale et très prometteuse de la dysfonction cardiaque.

En effet, le dogme classique était que le cœur était un organe post-mitotique sans capacité d'autorégénération, c'est-à-dire sans possibilité de renouvellement cellulaire. On pense aujourd'hui qu'il existe un renouvellement musculaire cardiaque chez l'homme, même s'il reste très modéré. Une équipe suédoise [4] a montré, en étudiant les variations de quantité de carbone 14, que le renouvellement des cardiomyocytes serait de 1 % par an à l'âge de 25 ans et de 0,45 % par an à l'âge de 75 ans, c'est-à-dire que la moitié du cœur serait remplacé au cours de la vie d'un être humain. Cette étude ne permet pas de savoir si les nouveaux cardiomyocytes proviennent de cardiomyocytes adultes réentrant dans le cycle cellulaire (à noter que l'on observe jamais de mitose, même en cas d'hypertrophie cardiaque) ou d'un pool de cellules souches cardiaques [5-6] dont l'importance est probablement faible et leur existence même discutée par certains.

Quoiqu'il en soit, le fait que l'infarctus du myocarde puisse conduire à l'insuffisance cardiaque, montre que la réparation endogène est insuffisante dans la majorité des cas. Cette réponse insuffisante est aussi probablement liée au déficit dans les mécanismes de réparation (sénescence des cellules souches cardiaques ?).

LES CELLULES SOUCHES ADULTES

Résultats actuels avec les différents types cellulaires

Les données encourageantes de la thérapie cellulaire chez l'animal ont conduit à de nombreux essais cliniques dans l'insuffisance cardiaque, réalisés chez des patients restant symptomatiques malgré un traitement maximal [7]. De nombreux types cellulaires ont été utilisés en clinique, essentiellement les myoblastes, les cellules mésenchymateuses et les cellules médullaires. Ces cellules souches adultes ont en effet des avantages notables : autologues, elles ne sont pas rejetées, très différenciées, elles ne risquent pas d'induire de cancer et enfin elles ne posent pas de problème éthique. Les essais chez l'homme ont montré qu'il s'agissait d'une technique relativement sûre, mais dont l'efficacité, inconstante, est modeste. Par ailleurs, alors que l'on pensait initialement que ces cellules pouvaient se transdifférencier en cardiomyocytes, on sait aujourd'hui que leurs effets positifs, quand ils existent, apparaissent plus liés à un effet paracrine qu'au remplacement cellulaire, ces effets paracrines jouant sur l'angiogénèse, le remodelage de la matrice extracellulaire, la limitation de l'apoptose (ce que nous avons notamment montré avec les myoblastes [8]) et peut-être le recrutement de cellules souches endogènes.

Les myoblastes

Dans le muscle périphérique, les cellules souches résidentes adultes (cellules satellites) sont quiescentes à l'état normal, et peuvent, en réponse à une agression,

fabriquer des nouvelles cellules musculaires. Ces cellules satellites sont facilement isolées et peuvent être ex vivo multipliées pour un usage thérapeutique. Les essais précliniques très prometteurs ont conduit à la « première » réalisée en 2000 par Philippe Ménasché [9], qui lors d'un pontage coronaire pour insuffisance cardiaque ischémique, a injecté par voie épicaudique des myoblastes autologues dans la zone nécrosée, dont certains ont été retrouvés presque un an et demi après la transplantation [10]. Notre équipe a alors conduit une étude de phase I chez 10 patients avec le même protocole [11] et lors d'un suivi de 11 mois était notée une amélioration de la fraction d'éjection, mais sont survenus, chez quatre patients des épisodes de tachycardie ventriculaire [12]. En fonction de ces données, nous avons mis en place une étude (MAGIC) multicentrique randomisée contre placebo chez 97 patients (30 patients avec placebo, 33 patients avec faible dose de cellules i-e 400 millions, 34 patients avec 800 millions de cellules), tous appareillés par un défibrillateur automatique implantable [13, 14, 15]. À 6 mois, il n'a pas été retrouvé de modification significative de la fonction cardiaque, mais une action anti-remodelage chez les malades traités par haute dose de cellules. Par ailleurs, des arythmies ventriculaires graves ont été imputées aux injections cellulaires, mais dans une autre étude [16] avec un suivi de 4 ans, aucune mort subite arythmogène, ni aucun trouble rythmique grave n'ont été rapportés.

Les cellules mésenchymateuses

L'intérêt de ces cellules stromales, facilement isolées, en particulier de la moelle osseuse ou de la graisse, est leur forte activité sécrétoire et la possibilité d'un privilège immunologique. Par contre, leur temps de préparation et d'expansion est long, supérieur à 1 mois, limitant l'applicabilité clinique. L'étude de phase I POSEIDON [17] a comparé, chez 30 malades atteints d'insuffisance cardiaque ischémique, des cellules souches mésenchymateuses autologues et allogéniques et a montré une sécurité équivalente et une efficacité limitée mais comparable. Il s'agit d'une étude en ouvert et si ces résultats étaient confirmés, cela permettrait de régler le problème de délai des thérapies par cellules souches mésenchymateuses autologues, permettant ainsi la création de banques.

Une étude récente (C-CURE), prospective multicentrique randomisée [18], a inclus 47 patients traités par des cellules mésenchymateuses (issues de la moelle osseuse) orientées vers la cardiopoïèse, grâce à un cocktail de facteurs cardiotrophiques (TGF bêta, BMP2, cardiotrophine, etc.). Les cellules sont délivrées par injection endomyocardique guidée par une cartographie tridimensionnelle électromécanique très précise (système NOGA). Après un suivi de deux ans, il existe une amélioration significative de la fonction cardiaque et de la tolérance à l'effort. Toutefois, le bras contrôle de ce travail n'étant pas constitué de cellules souches mésenchymateuses « standard », on ne sait pas si les bénéfices sont liés aux effets paracrines connus de ces cellules ou à leur caractère cardiopoïétique.

Les cellules de la moelle osseuse

Ce sont les cellules souches adultes les plus utilisées en cardiologie [19] tant dans l'insuffisance cardiaque que dans l'infarctus du myocarde, en raison notamment de leur facilité d'accès et de leur sécurité. Une méta-analyse récente [20] a sélectionné 10 essais contrôlés, randomisés publiés entre 2005 et 2012. Elle a regroupé 519 patients avec fraction d'éjection aux alentours de 32 %. À six mois, il existait une amélioration modeste (plus 4,48 %) mais significative, de la fraction d'éjection ventriculaire gauche (en intra-myocardique 5,1 % versus 3,2 % en intracoronaire) mais, pas d'amélioration de l'état fonctionnel apprécié par le test de marche de 6 minutes. Une limite importante de cette méta-analyse est l'hétérogénéité très importante des essais [21-22], en ce qui concerne les cellules (cellules de la moelle non fractionnées ou progéniteurs CD 133 + ou CD 34 +), leur nombre (10^6 à 10^8), les méthodes d'administration et les patients (ancienneté de la cardiopathie, méthode de mesure de la fraction d'éjection). Ainsi pour le plus grand essai [23] inclus dans cette méta-analyse, les résultats sont négatifs en ce qui concerne les objectifs préspecifiés (volume télésystolique ventriculaire gauche, consommation d'oxygène à l'effort et perfusion myocardique), alors que la fraction d'éjection montre une petite amélioration significative à + 0,7 %. Enfin, bien qu'il s'agisse du plus grand essai dans l'insuffisance cardiaque ischémique (93 patients), l'échantillon est encore trop petit.

La majorité des études a été conduite dans l'insuffisance cardiaque ischémique et peu de travaux [24] ont été réalisés dans l'insuffisance cardiaque non ischémique (cardiomyopathie dilatée). Pourtant, les études précliniques montraient des résultats favorables dans ce type d'insuffisance cardiaque et en particulier nous avons montré, chez des hamsters syriens [25], ayant un phénotype de cardiomyopathie dilatée, que la greffe de cellules donnait des résultats comparables à ceux des modèles ischémiques d'animaux. Par ailleurs, ces malades représentent une bonne population cible pour la thérapie cellulaire, car il a été montré que la capacité fonctionnelle de leurs cellules médullaires est moins altérée que chez les patients ischémiques et que le nombre de leurs progéniteurs circulants est plus élevé.

Un essai récent prospectif randomisé [26] a inclus 110 sujets, atteints de cardiomyopathie dilatée, suivis 5 ans, dont la moitié a été traitée par cellules autologues CD34+ (du sang périphérique), mobilisées par GCSF et collectées par aphérèse, avant d'être injectées par voie intracoronaire. Les résultats sont favorables en termes de fonction, de remodelage et de capacité fonctionnelle.

Quel avenir pour les cellules souches adultes ?

Quelle que soit la nature de la thérapie cellulaire, de nombreuses questions restent posées [27] concernant le type de cellule idéale, la quantité cellulaire, les modalités de préparation cellulaire, la méthode d'administration, (injection intra-myocardique par voie chirurgicale ou par cathéter, injection par voie artérielle intracoronaire ou

par le sinus coronaire comme notre équipe l'avait montré expérimentalement [28]) le suivi *in vivo* (sachant que leur taux de survie est très faible de l'ordre de 1 à 2 % dans les semaines ou mois après leur implantation) [29], et enfin, les meilleurs critères d'évaluation clinique.

De nombreuses pistes [30- 32] sont explorées pour essayer d'améliorer l'efficience de la méthode, comme par exemple le prétraitement des cellules avant la greffe pour optimiser leur capacité régénératrice soit par technique pharmacologique (la mélatonine a donné des résultats positifs expérimentalement avec les cellules mésenchymateuses), soit par technique génétique (micro RNAs). Les injections répétées de cellules, les cotransplantations par des cellules ayant des propriétés synergiques, notamment angiogéniques, voire des approches combinées par thérapie cellulaire et génique, sont aussi en cours d'évaluation.

Aujourd'hui, la thérapie cellulaire dans l'insuffisance cardiaque par cellules souches adultes reste une voie de recherche. Seuls de grands essais randomisés, démontrant clairement son efficacité en terme d'amélioration de la fonction cardiaque et de diminution de la morbi-mortalité, permettraient à cette technique d'entrer dans notre arsenal thérapeutique.

ESPOIRS

On pense aujourd'hui que la vraie réparation d'un myocarde altéré ne peut se réduire à une simple administration de cellules [1], qui ne se transforment pas en cardiomyocytes, dans un environnement biologique hostile d'ischémie et au milieu d'une architecture tissulaire et matricielle détruite. C'est pourquoi les espoirs s'orientent vers des cellules multi ou pluripotentes pouvant se transformer en cardiomyocytes, accompagnés des autres cellules nécessaires au fonctionnement cardiaque, en particulier celles de l'angiogénèse. Par ailleurs l'intégration, dans le myocarde hôte de ces cellules myocytaires doit être non seulement anatomique, mais aussi fonctionnelle. Les progrès des bionatotechnologies permettent d'envisager la greffe cellulaire dans des biomatrices tridimensionnelles [33] incorporant des signaux bioactifs (permettant l'augmentation de la rétention cellulaire, la différenciation et la prolifération).

Cellules souches pluripotentes induites (cellules iPS)

À partir de cellules souches pluripotentes induites, reprogrammées à partir de fibroblastes humains, peuvent être différenciés des cardiomyocytes fonctionnels. Réimplantés dans des modèles murins, ces cardiomyocytes ont amélioré la fonction cardiaque [34]. L'avantage de ces cellules est qu'elles sont autologues et donc ne posent pas de problèmes de tolérance immunitaire et qu'elles ne suscitent pas de discussion éthique (étant obtenue sans utilisation d'embryon ni d'ovocyte). Par contre, l'introduction de vecteurs viraux oncogènes fait courir le risque de cancer, et

surtout des études récentes ont mis en évidence des anomalies chromosomiques et épigénétiques de ces cellules [35]. Aussi, même si aujourd'hui on peut exclure les oncogènes, et en raison des autres problèmes de sécurité, l'application de ces iPS n'apparaît pas immédiatement possible en clinique, alors qu'elles sont d'un apport majeur en physiopathologie et en pharmacologie.

À côté de cette technique classique *ex vivo*, une reprogrammation directe *in vivo* de fibroblastes cardiaques en cardiomyocytes [36] dans le cœur défaillant par transfert de gènes a été obtenue dans un modèle animal avec des résultats positifs.

Cellules souches embryonnaires humaines

L'utilisation de cellules souches embryonnaires humaines à visée thérapeutique, se heurte à trois obstacles [1] : le premier est éthique, ces cellules provenant d'un blastocyste congelé n'ayant plus de projet parental, le deuxième est lié au caractère allogénique des cellules, leur transplantation induisant une réponse immune. Enfin, le risque majeur est celui de tératome lié à la pluripotentialité de ces cellules.

C'est pour diminuer ces risques que notre équipe, à partir de cellules embryonnaires indifférenciées, a cherché à produire une population de progéniteurs cardiaques ayant perdu leur pluripotentialité, mais n'ayant pas encore terminé leur maturation en cardiomyocytes qui doit se produire *in vivo*. Pour ce faire, ont été reproduites les étapes normales du développement embryonnaire (sous l'effet notamment du BMP-2) puissant agent cardioinducteur et a été isolée une population CD15+ antigène membranaire marqueur le plus précoce de la différenciation des cellules souches embryonnaires humaines [37]. Cette population n'exprime plus les gènes de pluripotentialité et leur spécificité cardiaque a été confirmée. Elle donne naissance *in vitro* aux trois principales lignées cardiaques et se différencie chez l'animal en co-culture en cardiomyocytes matures et fonctionnels, sans entraîner de tératome. Leur emploi clinique pourrait être envisagé, si l'on arrive à obtenir une population pure, sous couverture d'un traitement immunosuppresseur. Une autre approche pour limiter l'immunogénéicité pourrait être la cotransplantation avec des cellules mésenchymateuses qui sont créditées d'un privilège immunologique (c'est-à-dire que ces cellules, peu immunogènes et mieux tolérées, créent un micro environnement permissif pour les autres cellules transplantées). Dans un premier travail [38], nous avons dans un modèle d'insuffisance cardiaque ischémique, transplanté 40 rats immunocompétents répartis en quatre groupes : cellules souches embryonnaires cardiospécifiées avec des cellules souches mésenchymateuses (groupe 1), cellules souches embryonnaires seules, (groupe 2), cellules souches mésenchymateuses seules (groupe 3), groupe 4 placebo. L'évaluation deux mois après la transplantation montre que le premier groupe ayant reçu une cotransplantation bénéficie d'un myocarde plus trophique (diminution de la fibrose et augmentation de l'angiogénèse), mais l'effet immunosuppresseur apparaît modeste. Notre équipe, dans une approche *in vitro* [39], avait étudié l'effet de cette même co-injection cellulaire sur les mononucléaires du sang périphérique de 40 patients atteints de cardiopathie ischémique et de 9 sujets contrôles et avait confirmé un petit effet immunomodulateur [39].

Ainsi ces résultats encourageants et d'autres travaux venant de notre groupe [40-41] et d'autres équipes [42-43] permettent à ces progéniteurs cardiaques d'être des candidats potentiels à l'application clinique.

Cellules souches cardiaques résidentes autologues

Dans le cœur post-natal humain existent ou existeraient différents types de cellules cardiaques progénitrices ou souches, classifiées par des antigènes de surface et marqueurs de transcription [5-6].

Ces cellules multipotentes pourraient se différencier dans les trois lignées cardiaques majeures, c'est-à-dire cardiomyocytes, cellules endothéliales et cellules musculaires lisses. Pourtant de nombreuses questions restent posées [1] : certaines études ne les retrouvent que dans le cœur néonatal, les marqueurs utilisés pour les identifier sont différents suivant les équipes, enfin leur capacité d'extension *in vitro* est limitée et leur fait perdre leur potentiel de différenciation.

Deux essais de phase I ont été menés récemment avec ces types cellulaires autologues qui ne posent donc aucun problème de tolérance immunitaire.

Le premier SCIPIO [44], a été conduit chez des insuffisants cardiaques ischémiques, opérés de pontage, pendant lequel est prélevé 1 g d'auricule droit, d'où sont issues, cultivées et multipliées les cellules c-Kit + qui sont réinjectées (10^6) trois mois après par voie intracoronaire. Le protocole a montré qu'il s'agissait d'une technique faisable et sans complication avec une amélioration significative de la fraction d'éjection ventriculaire gauche à 10 mois.

Le deuxième travail nord-américain, CADACEUS [45], a été réalisé chez 25 patients après avoir prélevé du muscle du ventricule droit par biopsie transjugulaire avec des résultats négatifs à 6 mois, en ce qui concerne la fraction d'éjection globale et positifs en ce qui concerne la fraction de contraction régionale, avec trois dosages différents de cellules progénitrices dérivées de cardiosphère (cellules auto adhérentes en cluster).

Ces résultats, même s'ils sont prometteurs, nécessitent des essais de phase II avant de pouvoir conclure à une efficacité réelle.

Cellules souches embryonnaires humaines par transfert nucléaire (CSEh-TN)

La réalisation du premier clonage humain en 2013 [46] ouvre la porte d'une thérapie cellulaire personnalisée, mais ne doit pas faire méconnaître les multiples problèmes techniques et éthiques que cela poserait. Le transfert d'un noyau de fibroblaste dans un ovocyte énucléé, puis activé, conduit à la production de cellules souches embryonnaires pluripotentes à partir desquelles ont été différenciés des cardiomyocytes contractiles. Des études en cours comparent les cellules iP et les CSEh-TN.

Ingénierie cardiaque tissulaire

Une des difficultés majeures de la thérapie cellulaire, est la disparition rapide de la grande majorité des cellules transplantées. L'amélioration de la prise de greffe conduit à rechercher des biomatériaux protégeant les cellules et créant un environnement favorable à leur prolifération et à leur différenciation, ainsi qu'à leur intégration dans le myocarde hôte. Le type de ces matrices (feuillettes cellulaires ou biologiques), leur nature biochimique précise, leur propriétés physiques (porosité, élasticité...) sont à l'étude [32, 33, 47]. Les nanotechnologies (par exemple les nanotubes en carbone) sont en train de révolutionner cette ingénierie cardiaque.

Des projets plus ambitieux, déjà avancés, ont pour but de fabriquer *in vitro* du muscle cardiaque humain contractile et vascularisé [48].

CONCLUSION

Plus de 10 ans après la première étude humaine, la thérapie cellulaire reste une voie de recherche dans la prise en charge de la défaillance cardiaque. Les nombreuses études cliniques réalisées avec des cellules souches adultes, malgré leur résultat mitigé, ont fait progresser de façon considérable nos connaissances.

Les découvertes biologiques récentes, associées au développement des nanotechnologies appliquées à l'ingénierie cardiaque, ouvrent des pistes prometteuses d'application clinique dans l'insuffisance cardiaque.

RÉFÉRENCES

- [1] MÉNASCHÉ P. — Cardiac cell therapy: lessons from clinical trials. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 2011, 50, 258-65.
- [2] DIMMELER S., ZEIHNER A.M., SCHNEIDER M.D. — Unchain my heart : the scientific foundations of cardiac repair. *J. Clin. Invest.*, 2005, 115, 572-583.
- [3] HEIDENREICH P.A., ALBERT N.M., ALLEN L.A., *et al.* Forecasting the impact of heart failure in the United States : a policy statement from the American Heart Association. *Circ. Heart. Fail.*, 2013, 1, 6(3), 606-19.
- [4] BERGMANN O., BHARDWAJ R.D., BERNARD S., *et al.* — Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science*. 2009, 324, 98-102.
- [5] BELTRAMI A.P., BARLUCCI L., TORELLA D., *et al.* — Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*, 2003, 114, 763-76.
- [6] KAJSTURA J., URBANEK K., PERL S., *et al.* — Cardiogenesis in the adult human heart. *Cir. Res.*, 2010, 107, 305-15.
- [7] LOUGHRAN J.H., CHUGH A.R., ISMAIL I., BOLLI R. — Stem cell therapy : promising treatment in heart failure ? *Curr. Heart. Fail. Rep.*, 2013, 10, 73-80.

- [8] PEREZ-ILZARBE M, AGBULUT O, PELACHO B, *et al.* — Characterization of the paracrine effects of human skeletal myoblasts transplanted in infarcted myocardium. *Eur. J. Heart Fail.*, 2008, 11, 1065-72.
- [9] MENASCHÉ P., HAGÈGE A., SCORSIN M., *et al.* — Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet.* 2001, 357, 279-80.
- [10] HAGÈGE A., CARRION C., MÉNASCHÉ P., *et al.* — Viability and differentiation of autologous skeletal myoblast grafts in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet.* 2003, 361, 491-2.
- [11] MÉNASCHÉ P., HAGÈGE A., VILQUIN J.T., *et al.* — Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2003, 41, 1078-83.
- [12] HAGÈGE A., MAROLLEAU J.P., VILQUIN J.T., *et al.* — Skeletal myoblast transplantation in ischemic heart failure : long-term follow-up of the first phase I cohort of patients. *Circulation.* 2006, 114(*Suppl.*), 108-113.
- [13] MENASCHÉ 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(9), 1189-200.
- [14] MENASCHÉ P., DESNOS M., HAGÈGE A. — Routine delivery of myoblasts during coronary artery bypass surgery : why not ? *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.*, 2006, 3, 90-3.
- [15] MENASCHÉ P., DESNOS M., HAGÈGE A. — Use of skeletal myoblasts for the treatment of patients with cardiomyopathy. Braunwald's Heart Disease 7th edition Online (www.braunwalds.com) update 12 april 2005.
- [16] DIB N., MICHLER R.E., PAGANI F.D., *et al.* — Safety and feasibility of autologous myoblast transplantation in patients with ischemic cardiomyopathy : four-year follow-up. *Circulation.* 2005, 112, 1748-55.
- [17] HARE J.M., FISCHMAN J.E., GERSTENBLITH G., *et al.* — Comparison of allogeneic vs autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells delivered by transendocardial injection in patients with ischemic cardiomyopathy : The POSEIDON randomized trial. *JAMA.* 2012, 308, 2369-79.
- [18] BARTUNEK J., BEHFAR A., DOLATABADI D., *et al.* — Cardiopoietic stem cell therapy in heart failure : the C-CURE (Cardiopoietic stem Cell therapy in heart failure) multicenter randomized trial with lineage-specified biologics. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2013, 61, 2329-38.
- [19] ABDEL-LATIF A., BOLLI R., TLEYJEH I.M., *et al.* — Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair : a systematic review and meta-analysis. *Arch. Intern. Med.* 2007, 167, 989-97.
- [20] KANDALA J., UPADHYAY G.A., POKUSHALOW E., *et al.* e8 Meta-analysis of stem cell therapy in chronic ischemic cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.*, 2013, 112(2), 217-25.
- [21] STRAUER B.E., YOUSSEF M., SCHANNWELL C.M. — The acute and long-term effects of intracoronary stem cell transplantation in 191 patients with chronic heart failure : the STAR-heart study. *Eur. J. Heart Fail.*, 2010, 12, 721-9.
- [22] HU S., LIU S., ZHENG Z., *et al.* — Isolated coronary artery bypass graft combined with bone marrow mononuclear cells delivered through a graf vessel for patients with previous myocardial infarction and chronic heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2011, 57, 2409-15.
- [23] PERIN E.C., WILLERSON J.T., PEPINE C.J., *et al.* — Effect of transendocardial delivery of autologous bone marrow mononuclear cells on functional capacity, left ventricular function and perfusion in chronic heart failure : the FOCUS-CCTRN trial. *JAMA.* 2012, 307, 1717-26.
- [24] SETH S., BHARGAVA B., NARANG R., *et al.* — The ABCD (autologous bone marrow cells in dilated cardiomyopathy) trial a long-term follow-up study. *J. AM. COLL. CARDIOL.*, 2010 ; 55(15):1643-44.
- [25] POULY J., HAGÈGE A., VILQUIN J.T., *et al.* — Does the functional efficacy of skeletal myoblast transplantation extend to nonischemic cardiomyopathy ? *Circulation.* 2004, 110, 1626-31.

- [26] VRTOVEC B., POGLAJEN G., LEZAIC L., *et al.* — Effects of intracoronary CD34+ stem cell transplantation in nonischemic dilated cardiomyopathy patients : 5-year follow-up. *Circ. Res.* 2013, 112, 165-73.
- [27] WOLLERT K.C., DREXLER H. — Cell therapy for the treatment of coronary heart disease: a critical appraisal. *Nat. Rev. Cardiol.*, 2010, 7, 204-15.
- [28] BRASSELET C., MORICHETTI M.C., MESSAS E., *et al.* — Skeletal myoblast transplantation through a catheter-based coronary sinus approach : an effective means of improving function of infarcted myocardium. *Eur. Heart J.*, 2005, 26, 1551-6.
- [29] MARBAN E., MALLIARAS K. — Mixed results for bone marrow-derived cell therapy for ischemic heart disease. *JAMA.* 2012, 308, 2405-6.
- [30] MOHSIN S., SIDDIQI S., COLLINS B., SUSSMAN M.A. — Empowering adult stem cells for myocardial regeneration. *Circ. Res.*, 2011, 109, 1415-28.
- [31] WINTER E.M., VAN OORSCHOT, HOGERS B., *et al.* — A new direction for cardiac regeneration therapy. Application of syngeneistically acting epicardium-derived cells and cardiomyocyte progenitor cells. *Circ. Heart Failure.*, 2009, 2, 643-53.
- [32] HABIB M., SHAPIRA-SCHWEITZER K., CASPI O., *et al.* — A combined cell therapy and *in situ* tissue-engineering approach for myocardial repair. *Biomaterials.* 2011, 32, 7514-23.
- [33] DVIR T.R., TIMKO B.P., KOHANE D.S., LANGER R. — Nanotechnological strategies for engineering complex tissues. *Nat. Nanotechnol.*, 2011, 6, 13-22.
- [34] GAI H., LEUNG E.L., COSTANTINO P.D., *et al.* — Generation and characterization of functional cardiomyocytes using induced pluripotent stem cells derived from human fibroblasts. *Cell. Biol. Int.*, 2009, 33, 1184-93.
- [35] ZHAO T., ZHANG Z.N., RONG Z., XU Y. — Immunogenicity of induced pluripotent stem cells. *Nature.* 2011, 474, 212-5.
- [36] IEDA M., FU J.D., DELGADO-OLGUIN P., *et al.* — Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell.*, 2010, 142, 375-86.
- [37] BLIN G., NURY D., STEFANOVIC S., *et al.* — A purified population of multipotent cardiovascular progenitors derived from human embryonic stem cells engrafts in post-myocardial infarcted non-human primates. *J. Clin. Invest.*, 2010, 120, 1125-39.
- [38] PUYMIRAT E., GEHA R., TOMESCOT A., *et al.* — Can mesenchymal stem cells induce tolerance to cotransplanted human embryonic stem cells ? *Mol. Ther.*, 2009 (1), 176-82.
- [39] CALDERON D., PLANAT-BENARD V., BELLAMY V., *et al.* — Immune response to human embryonic stem cell-derived cardiac progenitors and adipose-derived stromal cells. *J. Cell. Mol. Med.*, 2012, 16(7), 1544-52.
- [40] TOMESCOT A., LESCHIK J., VELLAMY V., *et al.* — Differentiation *in vivo* of cardiac committed human embryonic stem cells in postmyocardial infarcted rats. *Stem Cells.*, 2007 (9), 2200-5.
- [41] MENARD C., HAGÈGE A., AGBULUT O., *et al.* — Transplantation of cardiac-committed mouse embryonic stem cells to infarcted sheep myocardium : a preclinical study. *Lancet.*, 2005, 366, 1005-12.
- [42] CASPI O., HUBER I., KEHAT I., *et al.* — Transplantation of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes improves myocardial performance in infarcted rat hearts. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2000, 50, 1884-93.
- [43] WILLIAMS A.R., TRACHTENBERG B., VELAZQUEZ D.L., *et al.* — Intramyocardial stem cell injection in patients with ischemic cardiomyopathy : functional recovery and reverse remodeling. *Circ. Res.*, 2011, 108, 792-96.
- [44] BOLLIG R., CHUGH A.R., D'AMARIO D., *et al.* — Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO) : initial results of a randomised phase 1 trial. *Lancet.*, 2011, 378, 1847-57.

- [45] MAKKAR R.R., SMITH R.R., CHENG K., *et al.* — Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial. *Lancet.*, 2012, 379, 895-904.
- [46] TACHIBANA M., AMATO P., SPARMAN M., *et al.* — Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. *Cell.*, 2013. [Epub ahead of print].
- [47] BEL A., PLANAT-BERNARD V., SAITO A., *et al.* — Composite cell sheets : a further step toward safe and effective myocardial regeneration by cardiac progenitors derived from embryonic stem cells. *Circulation.* 2010, 122, S118-1123.
- [48] LUNDBERG M.S. — Cardiovascular tissue engineering research support at the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Circ. Res.*, 2013, 112(8), 1097-1103.

DISCUSSION

M. Yves GROSGOGEAT

A-t-on des preuves (morphologiques et dynamiques) du degré de synchronisme des cellules greffées avec les autres myocytes ?

Existe-t-il un risque arythmique de la part des cellules greffées ?

In vivo, sur le cochon d'Inde, l'équipe de M. Laflamme à Seattle (Shiba Y. *Nature.* 2012, 489, 322-5) a montré qu'il existait un couplage électrique entre les cardiomyocytes transplantés (dérivés des cellules souches embryonnaires) et les cardiomyocytes du receveur.

Il existe effectivement un risque arythmique lié à la transplantation des cellules souches, quel que soit le type des cellules, surtout si elles sont injectées dans le myocarde créant des blocs de conduction. Par contre, l'application de patch avec cellules dans la zone myocardique nécrosée diminue beaucoup ce risque et c'est pourquoi nous avons choisi cette approche pour notre essai clinique dans l'insuffisance cardiaque ischémique.

M. Jean-François ALLILAIRE

Pourriez-vous me préciser les risques épigénétiques que vous avez évoqués à propos de la greffe de certaines cellules souches ?

Les processus de reprogrammation des cellules humaines somatiques en iPS (*Induced Pluripotent Stem cells*), surtout s'ils font appel à des virus intégratifs, peuvent donner des altérations épigénétiques consistant, notamment en une reprogrammation aberrante de la méthylation de l'ADN.

M. Jean-Paul BOUNHOURE

La durée de vie des cellules transplantées est en général très brève. Cette durée de vie est-elle influencée par le type et l'origine des différentes cellules transplantées ?

Oui, en théorie la survie est plus importante lors de la transplantation de cellules autologues que de cellules souches allogéniques, mais l'immunosuppression peut favoriser la survie des cellules souches allogéniques. Les cellules souches mésenchymateuses allogéniques ont une durée de vie un peu plus longue que les autres cellules souches, car elles ne sont pas rejetées aussi rapidement.

M. Gérard MILHAUD

Observez-vous que certaines des cellules que vous avez transplantées battent simultanément, ce qui aurait un impact thérapeutique très prometteur ?

Malheureusement, nous n'avons pas accès à ce type de données car ne pouvons pas visualiser, de façon dynamique, *in vivo* les cellules souches transplantées dans le myocarde.

M^{me} Monique ADOLPHE

Vos résultats n'ont-ils pas trouvé une concurrence plus facile dans certains pays où l'utilisation de cellules embryonnaires humaines est acceptée ?

La loi française permet d'utiliser les cellules souches embryonnaires humaines, ce qui a d'abord été possible par dérogation, et actuellement par autorisation encadrée. Initialement l'interdiction, avec dérogation possible, était difficile à comprendre et à expliquer, notamment à l'étranger et ne favorisait en France ni les investisseurs ni les chercheurs. Aujourd'hui la concurrence est essentiellement scientifique et financière.

