UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2013 N° 218

THESE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

DES de Cardiologie et maladies vasculaires

par

Damien GUIJARRO
né le *18 février 1984 à Voiron (38)*

Présentée et soutenue à huis-clos le 14 octobre 2013

Essai clinique MESAMI de thérapie cellulaire cardiaque : résultats fonctionnels et injections endocardiques

Président : Monsieur le Professeur TROCHU Jean-Noël

Directeurs de thèse : Madame le Professeur LEMARCHAND Patricia
Monsieur le Professeur RONCALLI Jérôme

SOMMAIRE

TABLE DES ABREVIATIONS
INTRODUCTION
I. Bases théoriques de la thérapie cellulaire 6
II. Rationnel de l'essai de thérapie cellulaire MESAMI 8
A. Pathologies ciblées en thérapie cellulaire cardiaque 8
1. Cardiopathie ischémique aiguë 8
2. Cardiopathie ischémique chronique 9
3. Myocardiopathie dilatée 9
B. Types cellulaires en thérapie cellulaire cardiaque 9
C. Voies d'administration des cellules souches 12
III. Présentation de l'essai MESAMI 13
A. Hypothèse de recherche 13
B. Objectifs généraux de l'étude MESAMI 13
1. Objectif principal 13
2. Objectifs secondaires 14
C. CRITERES DE JUGEMENT 14
1. Critère principal 14
2. Critères secondaires 15
D. POPULATION ETUDIEE 16
1. Critères d'inclusion 16
2. Critères de non-inclusion 17
3. Nombre de patients inclus 18
IV. Présentation de la méthode d'injection intra-myocardique NOGA 18
A. Cathéter senseur électro-mécanique NOGA® 18
B. Principes généraux 19
C. Déroulement d'une procédure standard d'acquisition endocavitaire 19
D. Interprétation des données obtenues 22
E. Thérapie cellulaire et injections endocardiques de cellules 24
V. Objectifs de travail 25
A. Objectifs généraux 25
B. Objectifs spécifiques 25
1. Analyse globale des résultats 25

2. Etude des procédures d'injections endocardiques 25
I. Protocole de réalisation des injections 26
II. Plan de suivi des patients inclus dans le protocole MESAMI 27
III. Protocoles de réalisation des examens du suivi 27
A. Réalisation des échocardiographies de repos 28
B. Réalisation des échocardiographies-dobutamine 29
C. Recueil des données de SPECT (au Thallium 201) 30
1. Protocole d'acquisition 30
2. Acquisition des données 31
3. Interprétation des données 31
D. Recueil des données de TEP-Scan 32
IV. Analyse statistique 33
- Analyse des données quantitatives 34
- Analyse des données qualitatives 34
I. Données générales 35
A. Inclusions dans le protocole 35
B. Résultats sur le suivi des patients 35
1. Données de médecine nucléaire 35
2. Données échocardiographiques 36
II. Analyse des procédures d'injection des cellules 37
A. Analyse du mapping endocavitaire 37
B. Analyse des injections de cellules réalisées 38
III. Suivi post-injection : analyse fonctionnelle globale 40
A. Résultats du suivi en SPECT 40
1. Evaluation de l'ischémie myocardique 40
2. Evaluation de la viabilité myocardique 41
B. Viabilité évaluée en TEP-scan 42
C. Résultats du suivi en echocardiographie 42
1. Viabilité évaluée en echocardiographie - dobutamine 42
2. Analyse des échocardiographies de repos 43
IV. Méthodologie d'analyse topographique des segments injectés 45
A. Données disponibles 45
B. Problématique 45
C. Analyse primaire des bull-eyes 17 segments NOGA 46

D. Explications sur la stratégie mise en place 47
1. Première étape : vérification de l'apex ventriculaire 48
2. Deuxième et troisième étapes : reconstruction des bull-eyes SPECT et calcul de corrélation avec les données NOGA 49
3. Rotation du bull-eye NOGA, vérification de la cohérence du recalage des données 50
4. Détermination de la topographie des injections 50
V. Suivi post-injection : analyse fonctionnelle segmentaire 51
A. Analyse de l'ischémie myocardique 52
B. Evaluation de la viabilité 52
C. Analyse des échocardiographies de repos 52

DISCUSSION

Résultats fonctionnels de l'étude 55
- Analyse segmentaire 55
  - Etude du strain longitudinal 55
  - Autres modalités d'imagerie 56
- Analyse fonctionnelle globale 57

Méthodologie appliquée pour la localisation des points d'injection 57
- Principes de constitution du Bull-eye NOGA 58
- Orientation de la cartographie en 2D NOGA 59
- Limites de la méthodologie de recalage 59
- Les pistes futures pour le recalage de ces imageries 60

Evaluation des procédures d'injections 61

Limites de l'étude 62

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE
RESUME

TABLE DES ABREVIATIONS

18-FDG : 18-Fluro déoxyglucose

ADP : Adenosine di-phosphate

BD : Bidimensionnel

BiV : Voltage bipolaire

BONAMI : Bone marrow cell infusion for acute myocardial infarction

CCS : Canadian Cardiovascular Society

DAI : Défibrillateur automatique implantable

DTI : Doppler tissue imaging

ECG : Electrocardiogramme

FEVG : Fraction d'éjection ventriculaire gauche

GLS : Global longitudinal strain

IDM : Infarctus du myocarde

IRM : Imagerie par résonnance magnétique

LLS : Local linear shortening

MAGIC : Myoblast autologous grafting in ischemic cardiomyopathy

MESAMI : Mesenchymal stem cells and myocardial ischemia

NYHA : New York Heart Association

OG : Oreillette gauche

QOL : Quality of life

SDS : Summed difference score

SPECT : Single-photon emission computed tomography

SRS : Summed rest score

SSS : Summed stress score

TDM : Tomodensitométrie

TEP : Tomographie par émission de positon

UV : Voltage unipolaire

VG : Ventricule gauche

VO2 : Consommation d'oxygène

INTRODUCTION

La cardiopathie ischémique est une pathologie fréquente dont l'incidence croissante est due à la fois à l'amélioration du pronostic vital après infarctus du myocarde et au vieillissement de la population[1]. Elle représente l'étiologie principale d'insuffisance cardiaque à fonction systolique altérée dans les pays développés[2]. En effet, l'ischémie myocardique et la réponse inflammatoire associée entrainent la perte rapide et irréversible des cardiomyocytes dont les mécanismes endogènes de régénération sont insuffisants pour empêcher la formation d'une cicatrice fibreuse avasculaire. Cette cicatrice altère la fonction globale du ventricule conduisant à son remodelage délétère[3].

La survenue de cette forme d'insuffisance cardiaque est de mauvais pronostic[4], associée à une morbi-mortalité accrue. Il s'agit d'un enjeu majeur de santé publique avec d'importantes conséquences médico-économiques puisque les dépenses ne font que croître eu égard au vieillissement de la population[5].

I. Bases théoriques de la thérapie cellulaire

A long terme, le pronostic des patients après une phase aiguë d'infarctus du myocarde est directement corrélé à la masse myocardique nécrosé[4]. Malgré les efforts des dernières décennies pour réduire les délais de revascularisation (fibrinolyse, angioplastie), la mortalité à un après un évènement coronaire reste élevée (7,2%)[6].

Le socle médicamenteux de la cardiopathie ischémique chronique avec altération de la fonction systolique ventriculaire inclut suivant les recommandations actuelles, la thérapie antithrombotique (aspirine, bloqueurs du récepteur à l'ADP), les statines pour la stratégie hypocholesterolémiante ainsi que les traitements anti-ischémique et du remodelage ventriculaire : bêtabloquants et bloqueurs de l'angiotensine II qui ont montré un bénéfice sur la survie sur de larges essais thérapeutiques[72]. Le développement de la resynchronisation biventriculaire a démontré un bénéfice sur la mortalité mais ses indications demeurent restreinte[82]. Enfin, dans les cas les plus sévères, les bons résultats de la transplantation cardiaque souffrent d'un manque de donneurs[9].

Au-delà de cette thérapeutique médicamenteuse, le dogme bien répandu selon lequel le cœur est un organe post-mitotique incapable de se régénérer a été ébranlé par les travaux d'Anversa[10]. Bien que les mécanismes adaptatifs principaux du myocarde passent par une hypertrophie des cardiomyocytes, plusieurs études ont démontré un renouvellement des cardiomyocytes résidents au cours de la vie adulte[11]. On estime que 45% de ces derniers seraient renouvelés au cours de la vie humaine. Enfin, chez 13 patients décédés d'un infarctus, il a été détecté une activité mitotique cardiomyocytaire dans les régions adjacentes et à distance des territoires nécrosés. Les mécanismes d'activation des cellules souches cardiaques résidentes ne sont pas encore identifiés et donc pas encore inductible d'un point de vue thérapeutique.

Ces mécanismes de régénération spontanée du myocarde sont néanmoins dépassés en cas d'infarctus du myocarde[12] et les outils thérapeutiques actuels demeurent insuffisants et palliatifs dans un grand nombre de cas[13].

La thérapie cellulaire naît de l'espoir de pouvoir régénérer le myocarde nécrosé et ainsi restaurer une fonction myocardique normale. Les objectifs de cette thérapeutique peuvent se résumer ainsi[14] :

- Remplacer le tissu akinétique cicatriciel par du tissu vivant aux propriétés physiques et électriques compatibles avec l'activité contractile du ventricule ;
- Bloquer ou faire régresser le remodelage délétère initié dès la phase aiguë de l'infarctus du myocarde ;
- Restaurer une contractilité myocardique régionale normale ;
- Améliorer l'angiogénèse et la perfusion régionale ;
- Recruter les cardiomyocytes hibernants.

Les moyens de ces objectifs concentrent les efforts selon deux stratégies principales : favoriser le remplacement du tissu cicatriciel par des cellules cardiaques endogènes (progéniteurs cardiaques) ou la transplantation de cellules souches dont l'action thérapeutique attendue passe plus vraisemblablement par des effets paracrines bénéfiques[15] que par la différencientiation en cardiomyocytes fonctionnels[16] (**Fig. 1**).

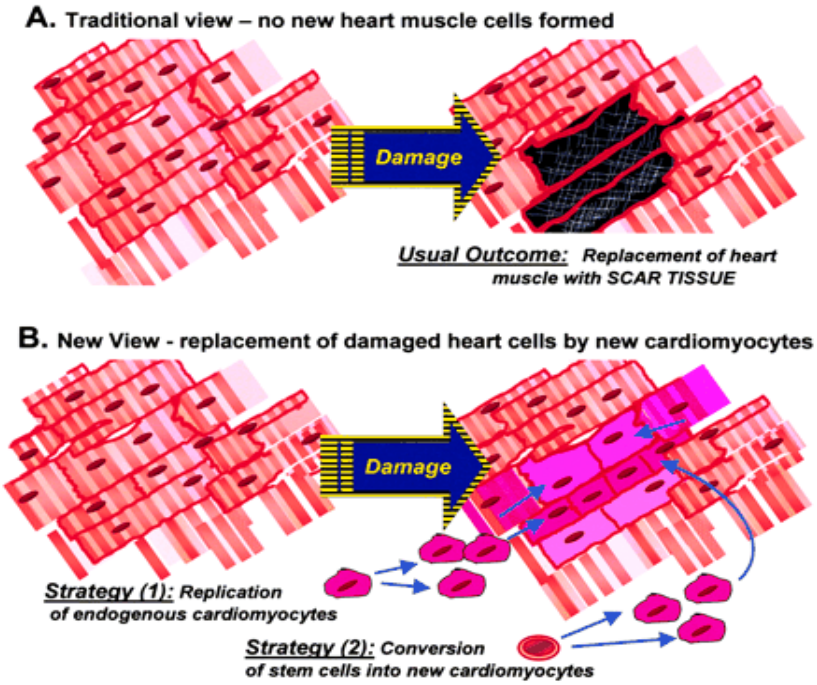

***Figure 1** : Principes généraux de la thérapie cellulaire cardiaque. A : schéma d'une cicatrice fibreuse post-infarctus ; B : Stratégies de la thérapie cellulaire cardiaque (tiré de Grounds et al. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 2002).*

II. Rationnel de l'essai de thérapie cellulaire MESAMI *(Mesenchymal Stem Cells And Myocardial Ischemia)*

Depuis les essais pré-cliniques sur des modèles animaux de thérapie cellulaire et jusqu'aux essais cliniques chez l'homme, les principaux axes de travail de thérapie cellulaire pour répondre aux objectifs précédemment cités ont concerné :

- La recherche du meilleur délai d'injection des cellules à partir de la lésion ischémique
- Le choix des cellules (origine et type) avec la détermination des avantages et inconvénients de chaque population cellulaire
- Parallèlement, le nombre de cellules à injecter et le développement de stratégies pour améliorer la survie et la rétention cellulaire
- La recherche d'efficacité et sureté dans la technique d'injection des cellules
- Depuis récemment, les résultats fonctionnels obtenus dans les populations traitées

Il est donc important de situer chaque travail et chaque étude vis-à-vis du but précis poursuivi et dans le contexte de la pathologie ciblée.

A. Pathologies ciblées en thérapie cellulaire cardiaque

Il existe progressivement un socle croissant de preuves plaidant pour l'efficacité de la thérapie cellulaire dans la cardiopathie ischémique aiguë et chronique. Pour le moment, peu d'essais ont concerné l'insuffisance cardiaque chronique non-ischémique[17].

1. Cardiopathie ischémique aiguë

Malgré l'hétérogénéité des méthodologies d'utilisation des cellules souches issues de la moelle osseuse au cours des nombreux essais cliniques réalisés dans ce domaine, la thérapie était appliquée le plus souvent dans la semaine suivant un évènement ischémique avec revascularisation coronaire.

Une méta-analyse combinant l'étude de 13 essais randomisés incluant 811 patients au total rapporte une amélioration de la fraction d'ejection ventriculaire gauche de 2,99% comparée aux patients contrôles[18]. En parallèle, l'essai REPAIR-MI (*Reinfusion of Enriched Progenitor Cells and Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction*), incluant 204 patients traités par voie intra-coronaire démontre à 2 ans une réduction du nombre d'évènements majeurs cardiaques[19]. Cependant, l'étude **SCAMI** (*Stem Cell therapy in patients with Acute Myocardial Infarction*) avec une méthodologie similaire à REPAIR-MI et rigoureuse dans son application[20] ne met pas en évidence en IRM d'amélioration significative des volumes, fraction d'ejection ventriculaire gauche (FEVG) et taille d'infarctus chez 29 patients traités (13 contrôles).

Enfin, l'étude BONAMI (BONe marrow cell infusion for Acute Myocardial Infarction), travail multicentrique français coordonné par le CHU de Nantes n'a pas montré d'amélioration de la viabilité myocardique en analyse univariée[21]. L'ensemble de ces résultats demeure contradictoire et alors

qu'il ressort d'une autre méta-analyse récente des résultats positifs sur la FEVG à court et long terme des patients traités en phase sub-aiguë, il est souligné par les auteurs la nécessité récurrente[20] d'une standardisation de la méthodologie et d'un plus grand nombre de patients inclus dans les essais[22].

2. Cardiopathie ischémique chronique

Dans le domaine de la cardiopathie ischémique chronique, là encore les résultats sont très divers[13]. En effet, les protocoles d'études et surtout les types cellulaires utilisés sont une nouvelle fois très variés, souvent sans randomisation et dont les effectifs sont généralement limités. Chaque résultat devant être interprété selon l'ensemble des données méthodologiques.

D'un point de vue simple et global sur l'ensemble des résultats tirés des principaux essais réalisés ces dernières années, il existe un vrai espoir thérapeutique de la thérapeutique dans cette indication.

Au moment de la mise en place de son protocole en 2007, il faut souligner l'originalité de l'essai MESAMI. En effet, peu de travaux étaient alors en cours ou publiés utilisant les cellules souches mésenchymateuses pour le traitement de la cardiopathie ischémique[23].

3. Myocardiopathie dilatée

Une méta-analyse récente[24] rapporte les résultats de 44 études pré-cliniques et cliniques. De façon assez similaire aux travaux concernant la cardiopathie ischémique, la diversité des protocoles rend difficile une conclusion définitive. Néanmoins, pour un total de 513 patients traités, il est rapporté une augmentation significative de la FEVG concomitamment des améliorations de la classe fonctionnelle NYHA et de la qualité de vie. Comme pour la cardiopathie ischémique, la thérapeutique semble sûre sans mortalité surajoutée, néanmoins les durées de suivi ont souvent été faibles et variables (2 semaines à 4 ans).

B. Types cellulaires en thérapie cellulaire cardiaque

Les cellules souches sont par définition indifférenciées, capables d'auto-renouvellement et de différenciation vers plusieurs lignées cellulaires. Les origines des cellules utilisées dans le domaine de la thérapie cellulaire cardiaque sont schématisées dans la **figure 2**. Les caractéristiques principales de chacune sont rappelées dans le **tableau 1**.

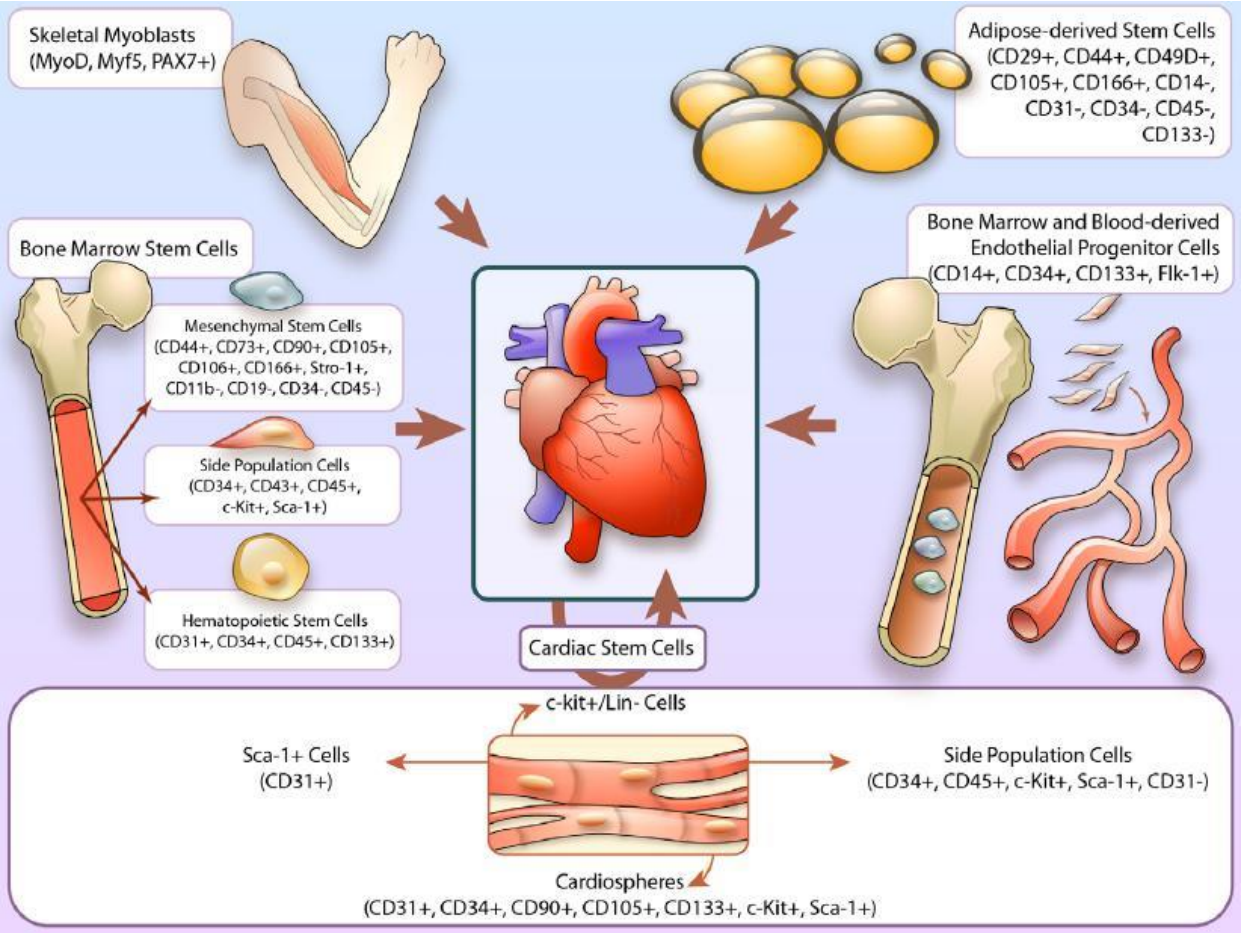

***Figure 2** : Sources des cellules souches en thérapie cellulaire cardiaque. A noter que les cellules progénitrices (ex : les myoblastes) ne sont pas des cellules souches au sens propre du terme car unipotentes et déjà orientées dans une voie de différenciation. (Tiré de Sanganalmath et al. Circ Res 2013).*

Les cellules souches mésenchymateuses, utilisées dans notre protocole, sont des cellules progénitrices capables de différenciation en de multiples types cellulaires : chondrocytes, adipocytes, ostéoblastes, cellules musculaires et par ailleurs cardiomyocytes et cellules endothéliales[13,25,26]. Leurs capacités d'expansion et clonage in vitro ont permis leur transplantation in vivo sur des modèles animaux de cardiopathie ischémique.

Plusieurs travaux ont montré l'intégration dans le myocarde de ces cellules et leur différenciation en cellules semblables aux cardiomyocytes[27,28]. Cette greffe cellulaire s'accompagnant d'un effet positif sur la fonction ventriculaire avec réduction en taille de la zone infarcie[29], une amélioration de la fonction systolique (modèle d'infarctus chez le rat[27], réduction de la fibrose myocardique et effet favorable sur l'angiogénèse[13]. Plus qu'une expression phénotypique fonctionnelle cardiomyocytaire, c'est le rôle paracrine favorable de ces cellules qui a été mis en évident dans le travail de Dai et d'autres auteurs, spécifiquement en condition d'hypoxie[27,30].

Types cellulaires	Caractéristiques positives	Caractéristiques négatives	Principaux essais	Résultats
Myoblastes squelettiques				
	Facilité de prélèvement Rapidité d'expansion in vitro Resistance à l'hypoxie Remodelage VG favorable	Absence de couplage électrique Pas de trans-différenciation Troubles du rythme ventriculaire	MAGIC (Menasche et al. [31])	Absence d'amélioration de la fonction VG
C. de la moelle osseuse				
-non fractionnées	Facilité de prélèvement Culture facilitée	Résultats inconstants Pas de larges essais disponibles	TOPCARE-CHD (Assmus et al. [32])	Amélioration de la survie Diminution NT-ProBNP
-progéniteurs endothéliaux (CD34+)	Améliore la perfusion Activation de cardiomyocytes hibernants Effets soutenus dans le temps	Essais de petites envergures	Stamm et al.[33] Vrtovec et al.[34]	Amélioration FEVG Amélioration Perfusion ↑ Test de marche 6min
-cellules mesenchymateuses	*voir texte*	*voir texte*	*voir texte*	*voir texte*
C. souches adipeuses				
	Capacité de différenciation en cardiomyocytes et cellules endo--théliales Facilité de prélèvement Facilité de culture	Risque de différenciation indésirable? Absence d'essais	PRECISE (Perin et al.[35])	Augmentation pic VO2 *résultats préliminaires*
C. souches cardiaques				
-Cellules souches c-Kit+	Multipotentes Différenciation en cardiomyocytes en cellules endothéliales Remodelage VG favorable Effet paracrine	Intérêt d'essais de phase II Prélèvement invasif (BEM, auricule)	SCIPIO (Bolli et al.[36])	Amélioration FEVG Réduction taille IDM Amélioration NYHA, QOL
-Cardiosphères	Multipotentes Cardiomyocytes stables électriquement	Nature hétérogène Effets incertains Absence d'essais de phase II	CADUCEUS (Makkar et al.[37])	Réduction de la cicatrice d'infarctus en IRM ? Absence d'effet sur FEVG, les volumes et QOL

***Tableau 1** : Principales cellules souches utilisées en thérapie cellulaire cardiaque. Avantages et problèmes soulevés pour chaque type cellulaire, résultats des principaux essais cliniques. C : Cellules ; FEVG : Fraction d'éjection Ventriculaire Gauche ; IDM : Infarctus Du Myocarde ; QOL : Quality Of Life ; VG : Ventricule Gauche ; VO2 : consommation d'oxygène.*

Chez l'homme, peu de données cliniques sont disponibles concernant l'utilisation de ces cellules en thérapie cellulaire cardiaque. Des résultats encourageants en période sub-aiguë d'infarctus du myocarde ont été publiés par Chen et al.[23] Ils rapportent en effet une amélioration de FEVG à 3 et 6 mois comparativement au groupe de patients contrôles, concordantes avec une augmentation du voltage et de l'activité mécanique myocardique à 3mois (évalué par l'exploration endocavitaire NOGA). Enfin, l'équipe de Joshua M. Hare rapporte des résultats fonctionnels intéressants d'utilisation des cellules souches mésenchymateuses par voie intra-veineuse pour la cardiopathie ischémique aiguë (amélioration de la FEVG mesurée par IRM, amélioration des données respiratoires en spirométrie)[38].

C. Voies d'administration des cellules souches

Les essais de thérapie cellulaire ont utilisé plusieurs voies d'administration des cellules souches.

La voie la moins invasive est bien évidemment la voie intraveineuse. Malheureusement, celle-ci ne permet pas d'obtenir un taux élevé de rétention cellulaire. Par ailleurs elle ne permet de sélectionner les sites propices aux injections cellulaires[13].

La voie intra-coronaire utilisée dans de nombreux essais (ex : BONAMI[21]) procède de la diffusion des cellules durant une courte occlusion coronaire au ballonnet. Elle présente plusieurs intérêts : la distribution des cellules est uniforme[39], elle est techniquement plus aisée et ne nécessite pas d'entrainement ou appareil technique particulier. Ceci la rendant plus accessible à une diffusion large de la thérapie cellulaire[13].

Malheureusement cette technique a également plusieurs inconvénients :

- La rétention cellulaire est faible (dans le travail de Hou et al. par exemple, celle-ci est estimée de 2,6% par cette voie contre 11% par la voie intra-myocardique[40]).
- Il a été rapporté la survenue de micro-occlusions vasculaires[13].
- Enfin, elle n'est possible que dans les territoires myocardiques comportant une circulation coronaire épicardique perméable.

Les voies intra-myocardiques sont plus directes mais plus invasives. La voie d'injection trans-épicardique est réalisée durant une chirurgie cardiaque (ex : de revascularisation par pontage). Elle permet un contrôle visuel direct des territoires myocardiques nécrosés. Son inconvénient principal résidant dans son caractère très invasif. Ceci ne permettant pas sa réalisation chez la plupart des patients.

L'autre voie intra-myocardique utilisée dans le protocole MESAMI concerne l'injection intra-myocardique des cellules par la voie endocavitaire trans-endocardique, guidée par le système de cartographie électro-mécanique NOGA®.

Cette technique permet la réalisation sélective[41] des injections dans des territoires myocardiques correctement caractérisés comme viables, hibernants, nécrosés ou sains[42]. Il s'agit d'une technique désormais largement répandue dans l'aire des essais cliniques de thérapie cellulaire[13]. Elle s'affranchit de la nécessité de perméabilité des troncs épicardiques coronaires et est moins invasive que la voie d'injection chirurgicale.

Quelques études ont comparé les différentes voies d'injection des cellules souches en thérapie cellulaire. La question n'apparaît pas encore clairement tranchée[13]. Néanmoins quelques travaux suggèrent une meilleure homogénéité de greffe cellulaire par la voie intra-coronaire[13,41,43]. Cependant, la voie endomyocardique apparait plus efficace sur un modèle animal de cardiopathie ischémique chronique avec injections de cellules souches mésenchymateuses autologues[43]. Enfin, compte tenu de la sécurité apportée par cette méthode[43], la moindre dissémination systémique des cellules[41], elle a pu être considérée comme plus favorable pour l'injection des cellules par certains auteurs[41].

III. Présentation de l'essai MESAMI

Les caractéristiques principales de MESAMI peuvent se résumer ainsi :

Essai conduit depuis 2009 – fin prévue 2014

- *Pathologie ciblée*
  - Insuffisance cardiaque chronique d'origine ischémique
  - Non revascularisable

- *Type cellulaire employé*
  - Cellules souches mésenchymateuses autologues

- *Nombre de cellules*
  - 4.10^6 cellules par injection dans un volume de 200µL

- *Modalité d'injection des cellules*
  - Injections trans-endocardiques guidées vers les zones bordantes infarcies

L'étude est menée grâce à la collaboration de deux centres experts dans le domaine de la thérapie cellulaire cardiaque française.

Investigateur principal : CHU de Toulouse (Pr. RONCALLI).

Centre collaborateur : CHU de Nantes (Pr. LEMARCHAND).

A. Hypothèse de recherche

L'hypothèse est que les CSM de la moelle osseuse injectées par voie intra-myocardique dans le territoire bordant de l'infarctus vont favoriser la réparation vasculaire et musculaire de cette zone.

B. Objectifs généraux de l'étude MESAMI

1. Objectif principal

L'objectif principal de l'étude est d'apprécier la faisabilité et la tolérance des injections intramyocardiques trans-endocardiques, guidée par le système électromécanique NOGA, de cellules mésenchymateuses cultivées issues de la moelle osseuse dans la cardiomyopathie ischémique chronique non revascularisable par les techniques classiques (angioplastie ou pontage aorto-coronaire).

2. Objectifs secondaires

Les objectifs secondaires sont d'évaluer l'efficacité et les effets indésirables jusqu'à 24 mois sur 3 plans :

- Clinique
- Biologique
- Morphologique et fonctionnels

C. CRITERES DE JUGEMENT

1. Critère principal

Faisabilité et sécurité évaluées par le critère combiné suivant, 1 mois après la procédure d'injection des cellules regroupant :

La faisabilité = *procédure complète*, définie comme la capacité à réaliser la ponction de moelle, la culture cellulaire et les injections intramyocardiques.

La sécurité = *absence de complication* de l'ensemble de la procédure :

- Embolie systémique (accident vasculaire cérébral, embolies organes pleins)
- Hémorragies majeures
- Décès et événements cardiaques majeurs jusqu'au 1er mois après les injections

Définition des événements cardiaques majeurs :

- infarctus du myocarde avec ou sans sus décalage du segment ST et CPK-MB supérieure à 2 fois la normale ou augmentation de la troponinémie.
- arythmies : tachycardies ventriculaires et/ou fibrillation ventriculaire nécessitant un traitement par le défibrillateur (réduction ou choc électrique), nécessitant une hospitalisation ou aggravation de troubles du rythme ventriculaire. Arythmie auriculaire avec passage en fibrillation auriculaire nécessitant une réduction médicamenteuse ou électrique.
- aggravation de l'insuffisance cardiaque : œdème aigu du poumon, changement de stade de NYHA/CCS, hospitalisation pour aggravation de l'insuffisance cardiaque, choc cardiogénique.

Définition des hémorragies majeures :

- Toutes hémorragies nécessitant une transfusion sanguine secondaire à la procédure (ponction de moelle osseuse, ou réinjection des cellules par voie percutanée), accident vasculaire cérébral hémorragique, perforation myocardique compliquée d'épanchement péricardique, tamponnade.

- La tolérance fera l'objet d'une analyse régulière par le comité des évènements cliniques, composé de 3 experts totalement indépendants de l'étude et des CHU de Toulouse et de Nantes ainsi que de 2 experts en vigilance indépendants des CHU de Toulouse et de Nantes.

2. Critères secondaires

Les critères secondaires serviront à évaluer l'efficacité et les effets indésirables jusqu'à 24 mois sur le plan clinique, biologique et morphologique.

a) Clinique

- Suivi du critère de jugement principal à 3, 6, 12 et 24 mois ;

- Décès et événements cardiaques majeurs à 3, 6, 12 et 24 mois ;

- Stade NYHA (classification fonctionnelle de l'insuffisance cardiaque) ;

- Stade CCS (sévérité de l'Angor) ;

- Distance au test de marche des 6 minutes ;

- Pic de VO_2 max au cours d'un test d'effort avec mesure des échanges gazeux ;

- Questionnaire de qualité de vie Minnesota à 3, 6, 12 et 24 mois.

b) Biologique

Etude des dosages avant et après procédure (H8 et H24) réalisés aux laboratoires de biochimie des CHU de Toulouse et de Nantes :

- Troponine et/ou CPK-MB (marqueurs d'ischémie cardiaque) ;

- CRP (marqueur inflammatoire) ;

- BNP (marqueur de remplissage ventriculaire gauche) ;

Etude de la cinétique du BNP avant puis à 1, 3, 6, 12 et 24 mois. L'usage du BNP est devenu courant dans la surveillance des patients insuffisants cardiaques.

c) Morphologique

- Fraction d'éjection par gamma-angiographie isotopique du VG à 1, 3, 6, 12 et 24 mois.

- Analyse cinétique et segmentaire du ventriculaire gauche et de la viabilité (échographique repos/dobutamine ; scintigraphie myocardique au thallium; tomographie par émission de positons (TEP-Scan).

D. POPULATION ETUDIEE

1. Critères d'inclusion

- Age : 18-75 ans

- Sexe : Homme ou Femme

- Le sujet doit avoir signé le consentement éclairé

- Le sujet doit être affilié à un régime de sécurité sociale

- Cardiomyopathie ischémique chronique symptomatique stable depuis au moins 1 mois en stade NYHA≥2 et/ou angor classe III et IV (CCS)

- Non revascularisable par angioplastie ou pontage

- Fraction d'éjection ≤ 35% à l'échographie cardiaque

- Présence d'une ischémie myocardique à la scintigraphie myocardique (au moins 2 segments contigus/17)

- Traitement médical optimal (doses maximum tolérées d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion, β-bloquants, antagonistes de l'angiotensine 2, statines, et/ou antialdostérone)

- Patient porteur d'un défibrillateur automatique implantable avec ou sans fonction de resynchronisation. Par contre il contre-indique la surveillance par IRM, ce qui explique notre choix de la scintigraphie double isotope et de la tomographie par émission de positrons pour évaluer la viabilité cardiaque

Dans les recommandations françaises les patients coronariens non revascularisables aux antécédents d'infarctus du myocarde, avec dysfonction VG estimée par une FEVG entre 31% à 35% ont une indication de DAI classe 2b niveau de preuve C. De plus, les patients avec une FEVG <30% doivent tous avoir bénéficié de la mise en place d'un défibrillateur automatique implantable compte tenu de l'origine ischémique à leur cardiomyopathie selon les résultats de l'étude MADIT II.
Ainsi l'ensemble des patients inclus dans cette étude ont eu une indication de défibrillateur comme cela a été réalisé dans l'étude MAGIC même si les résultats de cette étude n'ont pas rapportés d'effets arythmogènes liés à l'implantation de myoblastes par voie intramyocardique. Néanmoins, le défibrillateur qui aura été implanté pour une raison purement liée à la pathologie sous-jacente et non à la procédure de thérapie cellulaire elle-même aura pour mérite d'évaluer de potentiels effets arythmiques.

2. Critères de non-inclusion

- Age < 18 ans ou > 75 ans
- Femme enceinte, ou en âge de procréer sans contraception efficace
- Refus du patient de participer à l'étude
- IDM de moins de 3 mois
- Syndrome coronarien aigu de moins de 3 mois
- Revascularisation (angioplastie ou pontage aorto-coronaire) de moins de 3 mois
- Indication actuelle de revascularisation. L'absence d'indication à la revascularisation sera évaluée sur une coronarographie datant de moins de 6 mois au moment de l'inclusion
- Fraction d'éjection ventriculaire gauche supérieure à 35%
- Thrombus intraventriculaire gauche et/ou anévrysme ventriculaire détecté à l'échographie transthoracique
- Epaisseur minimale de la paroi du ventricule gauche < 8mm dans la zone d'injections (échocardiographie)
- Accès artériel périphérique non réalisable pour procédure percutanée
- Rétrécissement aortique serré (<1cm²) ou insuffisance aortique (>2+)
- Patient transplanté d'organe
- Patient insuffisant rénal chronique avec une créatininémie ≥ 250 µmol/L
- Insuffisance hépatique sévère
- Fibrillation auriculaire chronique
- Insuffisance cardiaque décompensée
- Troubles du rythme ventriculaire non contrôlés
- Indication de resynchronisation cardiaque par stimulateur multisite, ou resynchronisation cardiaque datant de moins de 3 mois
- Absence de défibrillateur automatique implantable
- Obésité gênant le prélèvement de moelle osseuse ou la compression manuelle de la zone de ponction après prélèvement
- Pathologie infectieuse non contrôlée

- Prise d'un traitement immuno-modulateur (ciclosporine, mycophénolate, mophéthyl, azathioprine, tacrolimus, anthracyclines, hydréa, etanercept, interférons, prednisolone, methylprednisolone, colchicine)
- Antécédent de chimiothérapie anti-cancéreuse
- Hémopathie, pathologie hématopoïétique
- Syndrome hémorragique
- Maladie chronique ou néoplasie évolutive susceptible de modifier le pronostic vital dans les 3 mois
- Sérologies hépatite B (sauf profil vaccinal), hépatite C, VIH 1, VIH 2, HTLV1 et HTLV2 positives
- Allergie à la xylocaïne
- Patient sous sauvegarde de justice, sous tutelle ou curatelle
- Patient participant à un autre essai thérapeutique

3. Nombre de patients inclus

Dans ce type d'étude de phase 1 où l'objectif est d'étudier la faisabilité et la tolérance d'une intervention, il n'est pas possible d'effectuer un calcul d'effectif en lien avec une hypothèse quantitative.

Le nombre moyen de patients inclus dans les études de phase I en thérapie cellulaire cardiaque était autour de 10 dans les études de phase 1.

IV. Présentation de la méthode d'injection intra-myocardique NOGA

A. Cathéter senseur électro-mécanique NOGA®

L'utilisation d'un cathéter de navigation intra-cavitaire cardiaque, non fluoroscopique, a débuté en 1996. Le système NOGA (d'un nom hébreux signifiant « lumineux ») a été développé par Schlomo Ben-Haïm en association avec les ingénieurs de la société Biosense Webster (désormais Johnson&Johnson Company©).

Aujourd'hui c'est un outil très utile de cartographie myocardique endocavitaire permettant de distinguer durant la navigation les zones de myocarde sain, fibrosé ou encore hibernant. Il représente à l'heure actuelle le seul outil d'injection endocardique de cellules lors des procédures et protocoles de thérapie cellulaire.

B. Principes généraux

Le système est constitué d'une station de travail reliée au cathéter spécifique NOGA.

Pour la reconstruction 3D en temps réel avec la détermination spatiale de la position du cathéter, le système comprend 3 plots en triangle émetteurs d'un champ magnétique de très basse intensité. Cet élément est complété d'un patch externe de référence (QWIKPATCH, *External reference patch, Biosense Webster*) (**Fig. 3**). A chaque instant la position du cathéter est définie par rapport à sa distance avec ce référentiel spatial.

Les informations fournies par le cathéter à chaque point d'acquisition sont les suivantes : la valeur du voltage uni-polaire et bi-polaire (*Unipolar Voltage, UV et Bipolar Voltage, BiV*) exprimés en mV à l'extrémité du cathéter au contact de l'endocarde et le raccourcissement myocardique local (*Local Linear Shortening, LLS*) exprimé en % de raccourcissement au cours du cycle cardiaque, équivalent de la fraction de raccourcissement en échocardiographie par l'analyse du mouvement myocardique en référence avec la position initiale du cathéter. Une cartographie couleur 3D complète est obtenue.

On obtient donc simultanément et en temps réel des informations électro-anatomiques (déjà employées pour le diagnostic et le traitement des arythmies cardiaques via le système dérivé CARTO®) et les caractéristiques mécaniques du tissu myocardique exploré.

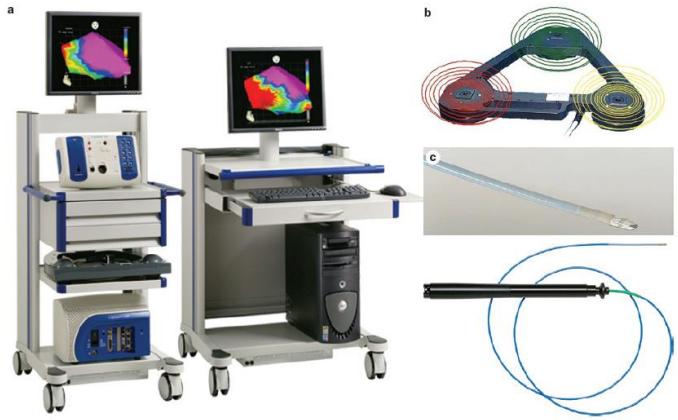

***Figure 3** : Les composants du système navigation intra-cavitaire NOGA®. a) Console de travail et d'exploitation des données. b) Triangle émetteur du champ magnétique pour la localisation du cathéter endocavitaire. c) Cathéter diagnostique permettant les acquisitions point à point du mapping endocardique et la reconstruction 3D du ventricule gauche.*

C. Déroulement d'une procédure standard d'acquisition endocavitaire

Le patch QWIKPATCH est positionné dans le dos du malade en regard des cavités cardiaques.

Le cathéter nécessite un abord artériel fémoral 8F avec anti-coagulation efficace curative tout le long de la procédure. Le cathéter est amené jusqu'à l'arche aortique sous fluoroscopie avant une introduction trans-aortique dans le ventricule gauche.

La première étape, cruciale, est d'amener avec la plus grande précaution l'extrémité du cathéter à l'apex du ventricule gauche constituant ainsi un point de référence pour l'ensemble de la procédure.

Sont acquis ensuite plusieurs points de la chambre de chasse ventriculaire, de la paroi latérale, de la base ventriculaire avec notamment le plan de l'anneau mitral (déterminé notamment par les informations électriques avec l'obtention d'une activité atriale en plus de l'activité ventriculaire à la pointe du cathéter).

La silhouette 3D du VG est ainsi obtenue. Il s'agit ensuite de recueillir un maximum de points des différentes parois myocardiques avec un espacement le plus harmonieux possible pour une cartographie complète. Il faut noter que la position du cathéter est renseignée avec une précision de ±1mm. Enfin, un filtre post-procédure permettra d'éliminer les points instables dus à l'anatomie interne du VG ou des arythmies per-procédure.

A la fin de la procédure on obtient donc plusieurs cartographies 3D correspondant au type d'information recueillie (activité électrique ou raccourcissement local). Le code couleur rend compte des mesures réalisées dans les différentes régions myocardiques. On peut observer un mis-match de valeurs entre les cartographies mécaniques et électriques rendant compte des différentes atteintes du myocarde : normal, hibernant ou infarci et fibrosé (**Fig. 4**).

Critères de qualité de la cartographie électro-mécanique réalisée

En per-procédure, plusieurs paramètres spécifiques sont étudiés pour garantir un recueil de données optimal (**Table 2**).

CRITERES DE QUALITE DE LA CARTOGRAPHIE ELECTRO-MECANIQUE NOGA
- Pas d'acquisition pendant ou en post-extrasystolie - Stabilité de la localisation du catheter (<5mm de différence entre 2 battements) - Stabilité de la boucle du catheter (<5mm de distance moyenne entre 2 battements) - Temps de cycle ne déviant pas de plus de 10% du temps de cycle médian - Morphologie similaire de l'ECG local entre 2 battements - Temps d'activation local <5ms entre 2 battements consécutifs - Morphologie de QRS similaire entre l'acquisition NOGA et de surface - Un minimum de 3 points acquis dans chaque segment myocardique

***Table 2** : Critères de qualité à remplir durant la procédure de cartographie endocavitaire NOGA® (tiré de Gyongyosi et al.[42]).*

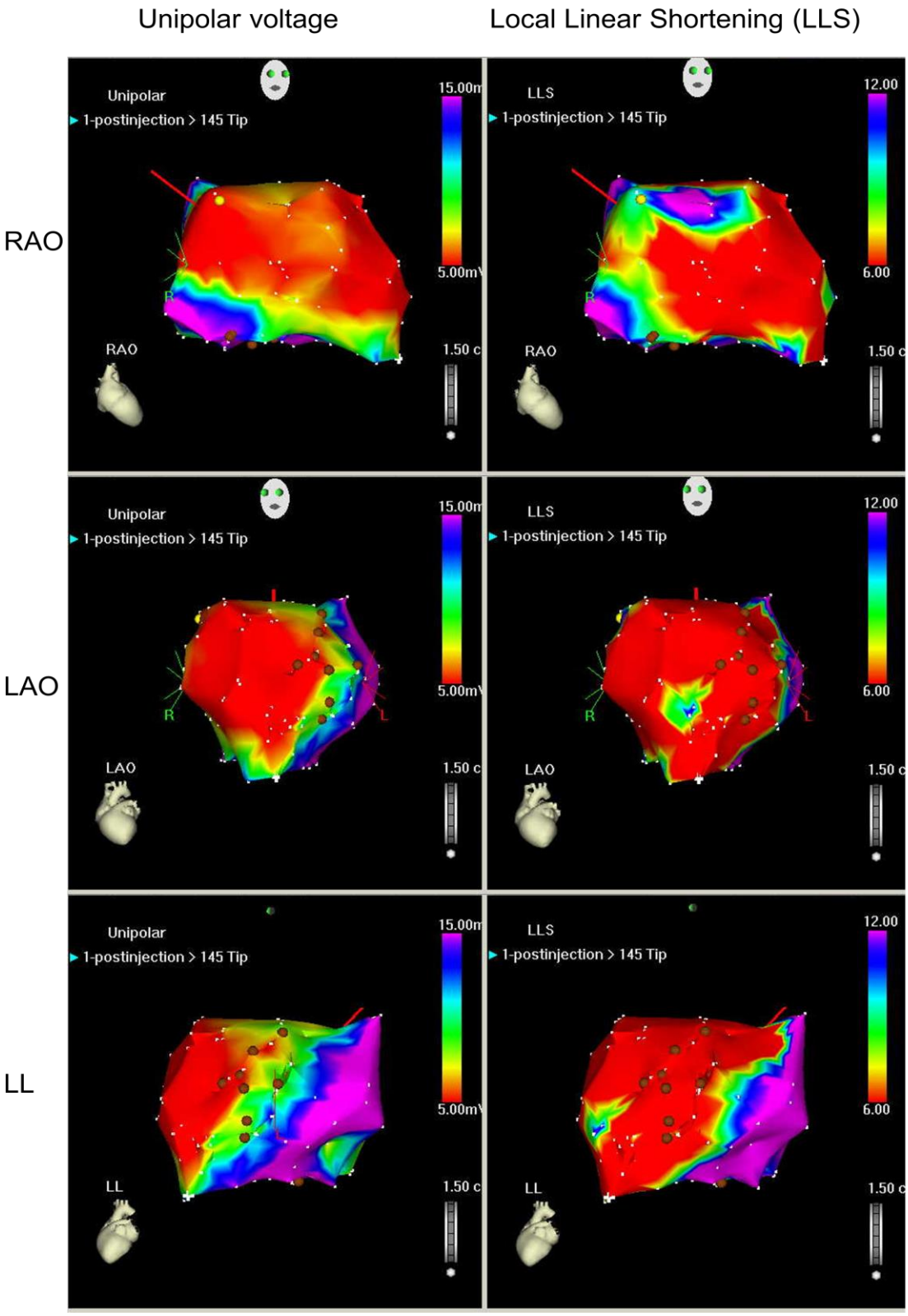

Figure 4 *: Exemple du volume ventriculaire reconstruit par le système NOGA selon différentes incidences. La cartographie couleur représente ici le voltage unipolaire recueilli en chaque point par le cathéter diagnostique. En rouge, les zones de bas-voltage témoignant d'un territoire nécrotique antéro-septal.*

La cartographie 3D peut ensuite être retravaillée pour obtenir une vue polaire 2D 9, 12 ou 17 segments du VG pour une représentation simplifiée et globale du VG (**Fig. 5**).

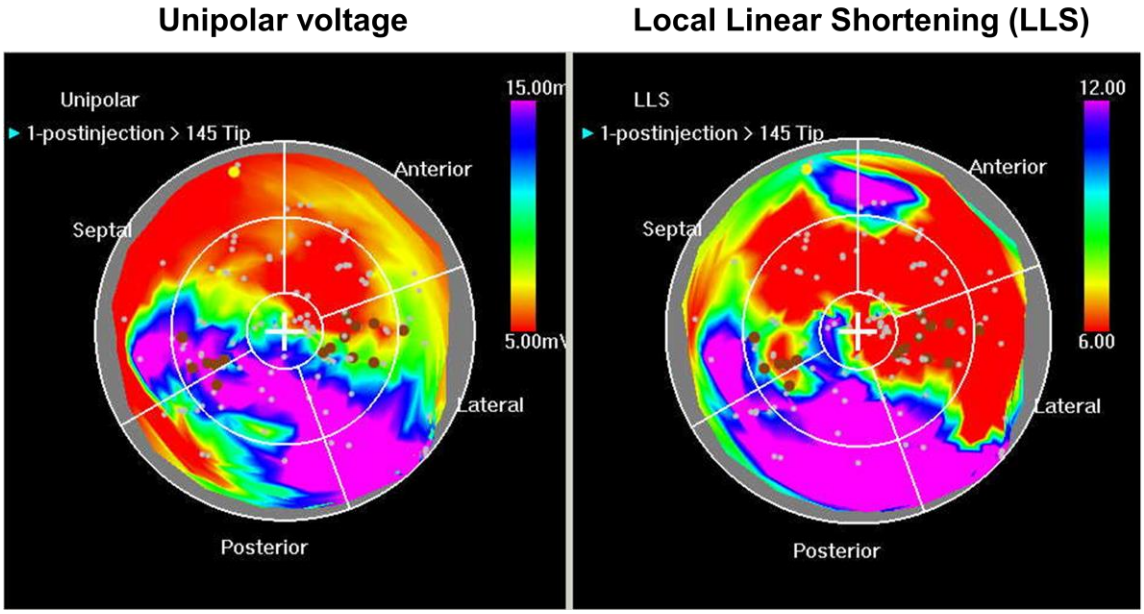

***Figure 5** : Représentation polaire des données volumiques précédemment acquises. On reconnait les zones de bas-voltage (à gauche) antéro-septales évocatrices d'une séquelle de nécrose myocardique. La faible activité mécanique (à droite) de ces territoires confortent le diagnostic endocavitaire d'infarctus antéro-septo-apical.*

D. Interprétation des données obtenues

Le myocarde sain est caractérisé par des activités électriques et mécaniques fortes. Les valeurs de LLS et UV sont donc élevées (LLS >6%, UV>12mV). A contrario, le myocarde nécrosé et fibrosé n'a plus d'activité contractile (LLS bas, considéré akinétique si inférieur à 2%) et une activité électrique minime (UV bas <6mV). Les territoires dyskinétiques pourront également être mis en évidence lorsque les valeurs de LLS seront négatives (<-2%) témoignant d'un profil contractile inverse à celui du myocarde sain.

Enfin, une activité électrique conservée au sein de territoires ayant une activité contractile altérée témoigne d'un myocarde ischémique ou sidéré (notion de « stunning ») ou hibernant.

Diagnostic de la viabilité myocardique

Obtenir une information sur la viabilité myocardique en per-procédure est essentielle pour pouvoir guider les thérapeutiques endocavitaires géniques ou cellulaires vers les territoires infarcis et bordants les zones d'infarctus.

L'utilité des cartographies myocardiques en voltage NOGA a été bien validée en comparaison avec d'autres tests non-invasifs de viabilité : l'imagerie SPECT, TEP et IRM. La bonne concordance obtenue entre le mapping NOGA et ces examens indiquent que des valeurs de voltage élevées correspondent à des territoires myocardiques où l'intégrité cardiomyocytaire est préservée avec un métabolisme local normal. Comme mentionné précédemment, le myocarde normal est caractérisé par un UV élevé, supérieur à 12mV. La valeur cut-off pour le seuil de viabilité est établie entre 4 et 8mV selon les techniques et les études réalisées[42].

Comparaison par rapport au SPECT

La ^{201}Tl-*late rest* SPECT permet l'obtention de données semi-quantitatives, relatives, de fixation du traceur selon la viabilité du territoire myocardique exploré. A contrario, la technique NOGA permet l'obtention de données absolues du voltage local myocardique. Une autre différence majeure réside dans l'exploration du myocarde entier par technique tomographique scintigraphique alors que les données NOGA sont obtenues ponctuellement et seront dépendantes de la qualité du mapping réalisé.

Néanmoins, les études ont montré de fortes corrélations entre les données SPECT et NOGA. Pour exemple, Gyöngyösi et al.[44] objective un coefficient de corrélation (r) = 0,744 entre les données de voltage UV et l'intensité de fixation du traceur sur les clichés tardifs sur une population de patients coronariens connus (avec antécédent d'infarctus du myocarde ou angor stable). Dans cette étude, les valeurs cut-off pour le voltage unipolaire, dans la détermination du myocarde sain ou non-viable sont respectivement de 12,0mV (sensibilité et spécificité à 81%) et 6,4mV (sensibilité et spécificité à 82%).

Détermination du myocarde hibernant

L'existence d'une activité électrique myocardique préservée alors que l'activité mécanique contractile estimée par le LLS suggère la présence d'un myocarde hibernant.

Dans une étude portant sur une population de patient coronarien avant et après revascularisation, les segments améliorant leur contractilité en post-procédure (c'est-à-dire les segments de myocarde hibernant) avaient des valeurs de voltage unipolaire significativement plus grandes que les segments ne s'améliorant pas. L'étude conclut que l'existence d'UV >9mV dans les territoires hibernants prédit la récupération fonctionnelle après revascularisation[45].

La valeur du UV permet donc de déterminer le myocarde viable hibernant du myocarde viable fonctionnellement non réversible.

Mesure de taille d'infarctus et transmuralité

De bonnes corrélations ont été rapportées concernant les tailles d'infarctus estimées en histologie et selon le mapping NOGA[46].

Alors que les données de voltage unipolaires ne permettent pas de déterminer de façon fiable l'extension en profondeur d'un territoire infarci, les données de voltage bipolaires permettent de détecter la transmuralité de l'infarctus de façon inversement proportionnelle à la valeur mesurée. Ainsi, un infarctus sous-endocardique (transmuralité <30%) se caractérise par une valeur de voltage bipolaire supérieure à 1,5mV. Un voltage inférieur à 0,5mV caractérise un infarctus étendu entre 61 et 100% de transmuralité[42].

En résumé

Pour conclure sur l'interprétation des données obtenues en NOGA, dans le cadre de la thérapie cellulaire, la thérapeutique doit donc être dirigée vers des zones de myocarde viable dont les valeurs en amplitude de voltage bipolaire seraient supérieures à 1,5mV avec un UV supérieur à 9mV (des valeurs intermédiaires entre 6 et 9mV se situant dans une zone grise où la récupération fonctionnelle serait incertaine). Enfin, certains auteurs préconisent des valeurs de LLS supérieures à 6% dans les territoires ciblés par le traitement[42].

E. Thérapie cellulaire et injections endocardiques de cellules

Après le mapping diagnostique, par un cathéter dédié aux injections intramyocardiques (MyoStar®, *Biosense Webster*) un pool cellulaire peut-être injecté dans le myocarde endocardique.

En pratique, le cathéter a un calibre de 8 French avec une aiguille de taille 27 Gauge (**Fig. 6**). Le volume injecté est d'environ 0,2-0,3mL selon un débit d'injection constant de l'ordre de 0,5mL.min^{-1}. Durant la procédure d'injection, le cathéter doit avoir un positionnement stable (sur les critères précédemment décrits) et perpendiculaire à l'endocarde.

Les injections sont guidées vers les zones adéquates selon la cartographie préalablement réalisée. Durant les procédures d'injection, une analyse de la propagation électrique myocardique est faite afin d'éviter d'injecter près des voies de conduction ventriculaires (risque de bloc de branche gauche iatrogène).

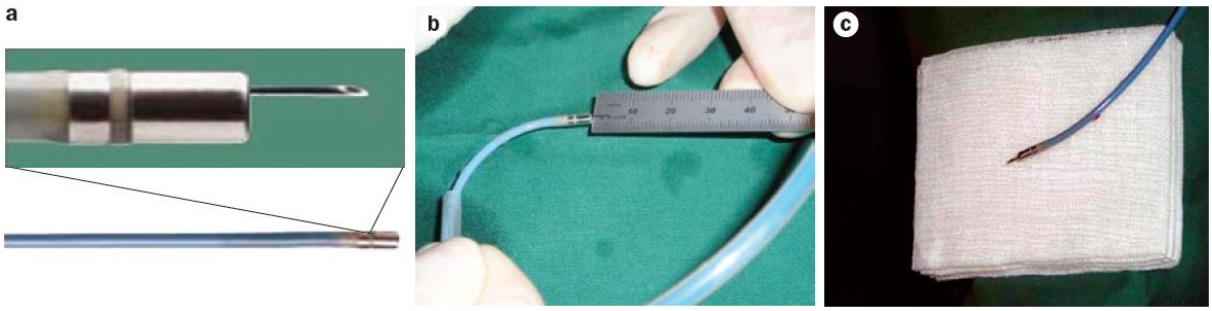

***Figure 6** : Cathéter et aiguille d'injection endocardique des cellules souches (tiré de Rev. Nature)*

V. Objectifs de travail

A. Objectifs généraux

L'objectif de mon travail s'intégrait dans les objectifs secondaires de l'essai MESAMI. Mon rôle a été d'évaluer les résultats fonctionnels de l'étude obtenus chez les patients inclus, en analysant les résultats des études d'imagerie.

B. Objectifs spécifiques

1. Analyse globale des résultats

Recueil et analyse des données obtenues à partir des échocardiographies de repos et de viabilité (perfusion de dobutamine). Analyse des données obtenues en SPECT et TEP.

2. Etude des procédures d'injections endocardiques

- En premier lieu, étude et analyse des données issues des procédures de cartographie et d'injection guidée par le système NOGA®.

- Détermination de la topographie territoires myocardiques injectés au cours des procédures NOGA : mise en place d'une méthodologie d'analyse.

- Application de cette méthodologie pour une analyse du suivi fonctionnel multimodal des sites injectés.

MATERIEL ET METHODES

Sont décrits dans ce chapitre les éléments correspondant aux objectifs du travail de thèse énoncés précédemment. Les spécificités liées notamment au suivi clinique, biologique des patients ainsi que les détails sur les préparations cellulaires ne sont pas abordées.

I. Protocole de réalisation des injections

Les procédures d'injection intramyocardique sont guidées par le système NOGA (17 ±1 jour après le prélèvement) et correspondent au J0.

Une échographie cardiaque de repos était réalisée le matin même.

Le cathétérisme cardiaque est réalisé par voie trans-fémorale rétrograde en 8F, pour l'injection des cellules mésenchymateuses cultivées, dans les 6 heures qui suivent le conditionnement des cellules. Le système de cartographie électromécanique NOGA est nécessaire pour le repérage intraventriculaire des injections intramyocardiques. Une injection intraveineuse de 5000 unités d'héparine standard est réalisée en début de procédure.

La première partie de la procédure consiste en la réalisation de la cartographie endocavitaire. Sa réalisation technique suit les principes décris dans le paragraphe dédié (Cf. Introduction – NOGA).

La seconde partie consiste en l'injection à l'aide du cathéter Myostar® des cellules souches mésenchymateuses, dans les zones d'ischémie du myocarde grâce à ce repérage préalable. Pour cela une zone d'injection est au préalable définie sur la cartographie afin d'orienter les injections dans les zones d'intérêts. En moyenne 14 à 16 injections sont réalisées.

Les injections sont dirigées vers les territoires ischémiés en évitant les zones d'infarctus à intervalles réguliers sur l'ensemble de cette zone afin de favoriser le processus d'angiogénèse.

Chaque injection est guidée selon les données recueillies par le cathéter diagnostique (voltage uni et bipolaire, LLS).

Fin de procédure

Enfin, une échographie cardiaque de repos est réalisée pour s'assurer de l'absence de complication (épanchement, hématome, perforation…) en fin de procédure. A l'issue du geste, le patient retourne dans le service d'hospitalisation de cardiologie en soins intensifs ou en soins continus, où il reçoit la surveillance habituelle pour les patients hospitalisés.

A l'issue d'une surveillance de 3 jours comprenant un bilan clinique, ECG, biologique (troponine, BNP et CRP), le contrôle du défibrillateur et une dernière échocardiographie de repos à J3, le patient peut ressortir du service en l'absence de contre-indication.

II. Plan de suivi des patients inclus dans le protocole MESAMI

Au cours de l'étude, des rendez-vous et examens de suivi ont été planifiés pour rendre de compte de l'évolutivité des paramètres initiaux après l'application de la thérapeutique (**Tableau 3**).

Le calendrier des examens d'imagerie était :

	Sélection		Période d'injection			Période de suivi				
Visite	**V1**	**V2**	**V3**	**V4**	**V5**	**V6**	**V7**	**V8**	**V9**	**V10**
Mois				M0		M1	M3	M6	M12	M24
ETT (repos)		X	X		X	X	X	X	X	X
Echographie de stress		X					X		X	X
SPECT (Thallium)		X					X		X	X
TEP-Scan		X					X		X	

Tableau 3 *: Plan de suivi des différents examens d'imagerie*

III. Protocoles de réalisation des examens du suivi

Référentiel pour la segmentation myocardique

Chacune des différentes modalités d'imagerie analysée a été interprétée selon les recommandations pour une analyse standardisée des résultats éditées par l'American Heart Association[47]. Ainsi, la cartographie myocardique 17-segments employée a été la suivante (**Fig. 7**) :

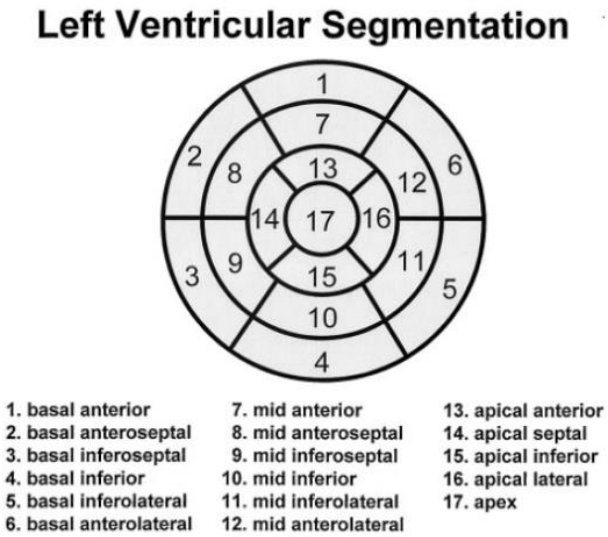

Figure 7 *: Représentation polaire des 17 segments myocardiques avec leur numérotation associée*

-tiré de Cerqueira et al. Circulation 2002 [47]

A. Réalisation des échocardiographies de repos

Un tracé ECG était systématiquement enregistré sur l'appareil d'échocardiographie durant tout l'examen. En cas de fibrillation atriale, les enregistrements seront répétés pour chaque incidence.

L'examen était réalisé en décubitus latéral gauche pour l'essentiel.

Les séquences vidéo (3 battements cardiaques ou 3 séquences d'un battement) et les images arrêtées étaient les suivantes (liste non exhaustive, complétée par d'autres coupes en cas de besoin selon le libre arbitre de l'opérateur) :

1. Boucle parasternale grand axe en mode bidimensionnel sur le VG et l'OG

2. Boucle parasternale grand axe en mode doppler couleur sur le VG et l'OG

3. Boucle parasternale grand axe en mode BD en ZOOM sur la chambre de chasse VG

4. Coupe parasternale grand axe en mode TM sur l'extrémité des feuillets mitraux. Coupe réalisée suivant les recommandations de l'ASE, perpendiculaire au septum.

5. Coupe parasternale grand axe en mode TM sur la valve aortique et l'oreillette gauche

6. Boucle parasternale petit axe en mode bidimensionnel au niveau de la valve mitrale (en mode 2D strain, cadence image $\geq$ 50Hz)

7. Boucle parasternale petit axe en mode doppler couleur au niveau de la valve mitrale

8. Boucle PSPA en mode BD au niveau des piliers (2D strain, cadence image $\geq$ 50Hz)

9. Boucle PSPA en mode BD au niveau de l'apex du VG (2D strain, cadence image $\geq$ 50Hz)

10. Boucle parasternale petit axe sur la valve aortique, la chambre de chasse et la valve pulmonaires

11. Coupe parasternale petit axe avec enregistrement Doppler pulsé sur la valve pulmonaire

12. Boucle apicale 4 cavités en mode bidimensionnel incluant l'OG et l'OD

13. Boucle apicale 4 cavités en mode bidimensionnel centrée sur le VG (en mode 2D strain, cadence image $\geq$ 50Hz)

14. Boucle apicale 2 cavités en mode BD centrée sur le VG (2D strain, cadence $\geq$ 50Hz)

15. Boucle apicale 3 cavités en mode BD centrée sur le VG (2D strain, cadence $\geq$ 50Hz)

16. Boucle apicale 4 cavités en mode bidimensionnel zoomée sur les valves mitrales (pour étude du tenting)

17. Boucle apicale 4 cavités en mode doppler couleur sur la mitrale et sur la tricuspide

18. Coupe apicale 5 cavités en mode bidimensionnel et en mode Doppler couleur pour visualiser une fuite mitrale

19. Coupe apicale 4 cavités en mode Doppler pulsé sur la mitrale (extrémité des valves)

20. Coupe apicale 5 cavités en mode Doppler pulsé sur la région sous-aortique (ch de chasse)

21. Coupe apicale 5 cavités en mode Doppler continu sur la valve aortique

21. Coupe apicale 5 cavités en mode Doppler continu ou sinon pulsé à cheval sur la chambre de chasse et la mitrale (pour la mesure du TRIV)

22. Coupe apicale 4 cavités en mode Doppler continu sur la tricuspide (ou autre coupe permettant l'obtention de la meilleure enveloppe d'IT)

23. Coupe apicale 4 cavités zoomée sur les veines pulmonaires avec enregistrement en mode Doppler pulsé du flux veineux pulm

24. Coupe apicale 4 cav. Mode DTI : Doppler pulsé sur l'anneau mitral septal

25. Coupe apicale 4 cav. Mode DTI : Doppler pulsé sur l'anneau mitral latéral

26. Coupe apicale 4 cav. Mode DTI : Doppler pulsé sur l'anneau tricuspide

27. Coupe apicale 2 cavités en mode bidimensionnel VG-OG

28. Coupe apicale 3 cavités en mode bidimensionnel VG-OG

29. Boucle sous costale (3-6 complexes RR) montrant la veine cave inférieure et sa variation avec la respiration

B. Réalisation des échocardiographies-dobutamine

Lors des visites dédiées, l'échocardiographie trans-thoracique était couplée à une étude de viabilité par épreuve de stress à la dobutamine.

Plusieurs études ont démontré l'intérêt de l'échocardiographie sous dobutamine à faibles doses pour démasquer la réversibilité d'une dysfonction ventriculaire gauche après un infarctus du myocarde revascularisé ou non[48].

La viabilité est définie par l'amélioration de la contraction segmentaire d'au moins 1 grade (> ou = 1) intéressant au moins deux segments myocardiques contigus.

Ces constatations permettent de prédire une amélioration de la contraction qui sera observée quelques semaines plus tard.

Le protocole d'étude de viabilité par augmentation régulière des débits de dobutamine par étapes était le suivant : débit de départ de 5 gamma/kg/min puis 7,5 ; 10 et 15 gamma/kg/min. La

cinétique segmentaire et l'épaississement des parois du VG étaient évalués en divisant le VG en 17 segments avec évaluation semi-quantitative utilisant 1 score de 5 niveaux :

1 = cinétique segmentaire normale ou hyperkinésie

2 = hypokinésie modérée

3 = hypokinésie sévère

4 = akinésie

5 = dyskinésie.

Un segment dyskinétique (score = 5) devenant akinétique (score = 4) sous dobutamine n'était pas considéré comme viable.

C. Recueil des données de SPECT (au Thallium 201)

Le matériel utilisé est une gamma-caméra (Siemens-Ecams) double détecteurs, équipée de 2 collimateurs très haute résolution, positionnés à 90°.

1. Protocole d'acquisition

Le protocole est ci-dessous concerne l'analyse d'ischémie/viabilité

- Examen réalisé sur deux jours
- Patient non à jeun mais pas de café pas de thé pas de chocolat ou apparenté (interférant avec les molécules utilisables pour induire un stress pharmacologique).

- **1er Jour :** Protocole de stress choisi en fonction des capacités fonctionnelles du patient, en privilégiant toujours l'effort seul (ou en combinaison avec un stress pharmacologique par injection de dipyridamole ou adénosine + effort modéré à charge constante).

Puis, injection de 1.66MBq/kg de thallium 201 à l'acmé de l'effort ou au moment optimal du protocole pharmacologique

Acquisition tomoscintigraphique dans les minutes qui suivent (< 10min)

Réinjection systématique 30 min plus tard de 0.74MBq/Kg de Thallium 201.

Deuxième enregistrement scintigraphique à 3-4 H (clichés de repos).

- **2ème jour** : Troisième enregistrement scintigraphique à 20-24 H utilisé pour la recherche de viabilité, sans réinjection de traceur au préalable.

2. Acquisition des données

Les images sont enregistrées sur un calculateur Siemens e-soft. La fenêtre d'énergie est centrée pour le ^{201}Thalium. On pratique 43 projections par tête sur une amplitude angulaire de 120°. La durée de chaque projection est de 25 secondes. Les images sont acquises sur une matrice de 64 x 64 avec un zoom à l'acquisition de 1,46.

La reconstruction des images est réalisée par rétroprojection et filtrage de type Low-Pass-Cosine (cutt off 1,2).

Les coupes sont ensuite réorientées selon le petit axe et le grand axe dans le plan transversal et dans le plan sagittal afin que ce grand axe soit antéro-postérieur et horizontal.

Les coupes sont ensuite comparées côte à côte après centrage entre les temps précoce et tardif.

3. Interprétation des données

- **Analyse qualitative d'ischémie**

Chaque examen scintigraphique a été interprété en aveugle par un médecin scintigraphiste expert.

Un segment myocardique pouvait être considéré :

- N : normal, en l'absence d'ischémie
- R : ischémie réversible, en cas d'hypofixation du traceur réversible entre les clichés de stress et de repos (4h plus tard).
- NR : non réversible, si le segment concerné ne voit pas d'amélioration de l'hypofixation post-stress.

- **Analyse quantitative d'ischémie**

L'étude de la perfusion myocardique est réalisée de manière automatique et quantitative sur un modèle de segmentation 17 secteurs du ventricule gauche. Pour chaque segment est calculé un score de fixation allant de 0 (fixation normale) à 4 (absence de fixation):

0 = perfusion normale (80 à 100 %)

1 = perfusion douteuse (70 à 79% du maximum de fixation)

2 = perfusion anormale (50-69% du maximum de fixation)

3 = perfusion sévèrement anormale (20 à 49% du maximum de fixation)

4 = absence de fixation (0-19% du maximum de fixation)

La somme de ces scores permet de calculer pour l'ensemble du ventricule gauche un score de stress (SSS ou Summed Stress Score), un score de repos (SRS ou Summed Rest Score) ainsi qu'un score de réversibilité des défauts de fixation (SDS ou Summed Difference Score).

- **Analyse de la viabilité myocardique**

L'appréciation de la viabilité dans le territoire mal vascularisé est définie sur les clichés de la 24^{éme} heure selon le même modèle de segmentation myocardique à 17 secteurs.

On considère :

- Territoire viable = lacune irréversible avec une fixation ≥ 50 % du maximum

- Territoire non viable = lacune irréversible avec une fixation < 50 % du maximum

D. Recueil des données de TEP-Scan

La recherche de viabilité est appréciée en imagerie TEP après injection de 18-fluoro-déoxyglucose (18-FDG). Cet examen est réalisé à 3 reprises (en période peri-injection, M3, M9).

- **Préparation du patient**

Patient à jeun depuis 6 h, boisson non sucrée autorisée.

Le jour de l'examen :

Pour optimiser la fixation du 18 FDG qui dépend à la fois du métabolisme cardiaque mais également de la glycémie et de l'insulinémie, une prémédication par acide nicotinique en accord avec les recommandations de la société européenne de médecine nucléaire.

A l'arrivée du patient :

Contrôle de la glycémie capillaire avec 2 scénarios selon le résultat :

Si glycémie < 7 mmol/l

T0 (min) : 250 mg d'acide nicotinique per os + 500 mg d'aspirine per os

T60 : 250 mg d'acide nicotinique per os

T 120 : injection du FDG (3.5 MBq/kg)

T160 : Acquisition des images

Si glycémie > 7 mmol/l

T0 : 250 mg d'acide nicotinique per os + 500 mg d'aspirine per os

T60 : 250 mg d'acide nicotinique per os

Si la glycémie reste supérieure à 7 mmol/l :

7-8 mmol/l => injection SC insuline rapide 2 UI

8-10 mmol/l => injection SC insuline rapide 3 UI

> 10 mmol/L => injection SC insuline rapide 5 UI

T 115 contrôle de la glycémie

T120 injection FDG (3.5 MBq/kg)

T160 : Acquisition des images

Si la qualité des images reste sous-optimale, une injection de 2-5 UI d'insuline IV peut être réalisée suivie d'une nouvelle acquisition TEP 60 min plus tard accompagnée d'un contrôle de la glycémie.

Dans tous les cas, T180 : contrôle de la glycémie, repas.

- **Acquisition des données**

Les images sont enregistrées sur une caméra hybride TEP/TDM. Tous les patients sont positionnés en décubitus dorsal sur la table d'examen. Dans un premier temps, l'acquisition TDM est réalisée avec les paramètres suivants : 80 mA, 140 keV, rotation tube 0,5 seconde, et 4,25 mm d'épaisseur de coupe. L'acquisition est réalisée en ventilation spontanée et dure moins d'une minute.

Immédiatement après cette acquisition, l'enregistrement des images d'émissions en TEP est effectué après centrage sur la région cardiaque. Cette acquisition comprend deux « steps » d'une durée de 10 minutes chacun. Les données de la TDM sont utilisées pour la correction d'atténuation des informations d'émissions. Ces données sont traitées à l'aide d'un algorithme de reconstruction itérative standard (Ordered Subset Expectation Maximization) sur une matrice de 128*128.

- **Interprétation des données**

La valeur seuil définissant la viabilité en TEP est de plus de 50% de fixation du traceur dans le segment considéré (analyse semi-quantitative) et selon la segmentation 17 secteurs commune à l'ensemble des techniques d'imagerie employée.

IV. Analyse statistique

Les données échocardiographiques ont été acquises en aveugle du suivi du patient. La relecture des examens était réalisée de façon indépendante par plusieurs echographistes.

Les examens scintigraphiques ont été réalisés par des techniciens et experts extérieurs au protocole. La relecture qualitative de chaque examen SPECT a été faite par un expert indépendant. Les données quantitatives ont été colligées de façon prospective et analysées selon le protocole dédié.

L'ensemble de l'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel Prism 5, Graphpad Software®.

- **Analyse des données quantitatives**

Test t de Student (données gaussiennes) ou de Wilcoxon, appariés ou non pour les comparaisons de groupes. Réalisations de test ANOVA une voie avec mesures répétées pour les données de suivi dans le temps. Réalisation de test ANOVA-2-voies avec mesures répetées pour les comparaisons inter-groupes. L'utilisation de modèles mixtes a été nécessaire lorsque des données de suivi étaient manquantes.

- **Analyse des données qualitatives**

Réalisation de test de Fisher à partir de tableaux de contingences.

Pour chaque test statistique réalisé une valeur de $p<0,05$ était considérée comme significative.

RESULTATS

I. Données générales

A. Inclusions dans le protocole

10 patients ont pu être inclus par les 2 centres (6 patients à Toulouse et 4 patients à Nantes) avec 9 hommes et une femme. Chaque patient a pu recevoir les injections de cellules souches au cours des procédures endocavitaires NOGA.

Les caractéristiques cliniques des patients inclus sont rapportées dans le **tableau 4**. Brièvement, l'âge moyen des patients au moment des injections est de 57,2 ± 6,6 ans avec une ancienneté de la maladie coronaire de 12,8 ±6,8 ans.

Le premier patient de la cohorte a été inclus au mois de novembre 2009. Le suivi est actuellement toujours en cours avec une patiente dont les injections de cellules souches ont été réalisées le 20 février 2012. Nous avons donc analysé les données disponibles du suivi à un an post-injection.

	Nantes (n=4)	**Toulouse (n=6)**	**TOTAL (n=10)**	
Age (ans)	55,00 ±6,63	58,67 ±5,24	57,20 ±6,63	*p=0,356*
IMC (Kg/m²)	29,85 ±6,48	29,35 ±3,90	29,55 ±4,75	*p=0,881*
Classe NYHA	3,00 ±0	2,50 ±0,55	2,70 ±0,48	*p=0,200*
Angor	60% (3)	33% (2)	50% (5)	
Diabète	50% (2)	50% (3)	50% (5)	
Dyslipidémie	50% (2)	83% (5)	70% (7)	
HTA	25% (1)	50% (3)	40% (4)	
Tabac	100% (4)	83% (5)	90% (9)	
Ancienneté (ans)	13,00 ±8,6	12,67 ±6,28	12,80 ±6,83	*p=0,945*

***Tableau 4** : Caractéristiques cliniques au moment de l'inclusion dans le protocole*

B. Résultats sur le suivi des patients[1]

1. Données de médecine nucléaire

[1]Seules les données du suivi des examens d'imagerie sont considérées dans ce paragraphe et dans le reste des résultats à venir.

Concernant l'analyse SPECT, il existe des données manquantes dans le suivi des malades. L'ensemble des données présentes et manquantes sont rapportées dans le **tableau 5.**

Quatre patients dont les données sont manquantes lors de l'évaluation initiale pré-injection n'ont pas pu être considérés dans les analyses du suivi fonctionnel post-injection (PEC JP, non considéré pour l'évaluation de l'ischémie ; AUX. P., ABD. A., GIS.M., PEC. JP. non considérés pour l'analyse de viabilité en SPECT).

Concernant l'analyse en TEP, la technique n'était disponible qu'à Nantes. Par conséquent l'analyse présentée ci-dessous ne concerne que les 4 patients nantais inclus. Les données sont complètes à un an.

Identifiant	N° Inclusion	Pré-injection		V7 (3mois)		V9 (12mois)	
TOULOUSE		Ischémie	Viabilité	Ischémie	Viabilité	Ischémie	Viabilité
LYT. D.	01			DM			
AUX. P.	02		fiabilité				DA
PEC. JP.	03	Aucune donnée			DA	Aucune donnée	
DIE. JP.	05			DM	DA		
GIS. M.	07		DA	DM	DA		
ABD. A.	08	DM	DA	DM	DA		
NANTES							
JOB. JP.	04						
BRE. D.	06						
HOD. F.	09						
MAR. E.	10						

***Tableau 5** : Examens de médecine nucléaire du suivi des patients inclus et disponibles pour les analyses. Les examens dont on dispose et dont les résultats sont fiables sont symbolisés par les cases vertes (pâles et foncées). Les cases orange symbolisent les données manquantes (DM : données manquantes). Les cases rouges symbolisent les données absentes (DA : données absentes).*

2. Données échocardiographiques

Sont rapportées dans le **tableau 6** les données disponibles pour les analyses d'échocardiographie de repos et dobutamine (analyse de viabilité myocardique). Il existe également plusieurs données non exploitables au cours du suivi des malades.

Toutes les échocardiographies de repos étaient disponibles avec parfois des paramètres d'analyse manquants. En revanche, les examens notés en rouge dans le tableau n'étaient soit pas disponibles soit ininterprétables.

Identifiant	N° Inclusion	Pré-injection		V7 (3mois)		V9 (12mois)	
TOULOUSE		Repos	Dobu	Repos	Dobu	Repos	Dobu
LYT. D.	01		DA				DA
AUX. P.	02				DA	DM	DA
PEC. JP.	03						
DIE. JP.	05		DA				
GIS. M.	07				DA		
ABD. A.	08				DA	DM	DA
NANTES							
JOB. JP.	04						
BRE. D.	06						
HOD. F.	09						
MAR. E.	10						

***Tableau 6** : Echocardiographies de suivi des patients inclus. Les examens dont on dispose et dont les résultats sont fiables sont symbolisés par les cases vertes (pâles et foncées). Les cases orange symbolisent les données manquantes (DM). Les cases rouges symbolisent les données absentes (DA).*

II. Analyse des procédures d'injection des cellules

Préalablement aux analyses recherchant un résultat fonctionnel cardiaque, le déroulement et la qualité des procédures réalisées ont été évalués.

A. Analyse du mapping endocavitaire

L'ensemble des données des procédures d'injection NOGA était disponible et analysable pour chacun des 10 patients inclus dans le protocole. On disposait à la fois des données des cartographies exploratrices préalables aux injections et des données des points myocardiques injectés.

Pour rappel, les injections de cellules intra-myocardique sont précédées d'une phase exploratrice de cartographie endocardique, point à point, permettant une reconstruction volumique du ventricule et le ciblage des injections vers les territoires myocardiques susceptibles de récupérer une activité contractile efficace (Cf. Introduction – Chapitre IV). Les données issues de ces « mappings » sont présentées dans le **tableau 7**.

	Nantes	**Toulouse**	**Total**	
Nombre moyens de points	174,3 ±13,1	206,6 ±20,7	192,2 ±13,4	*p=0,286*
Nombre moyens de points/segments	10,3 ±0,8	12,2 ±1,2	11,3 ±0,8	*p=0,286*
Segments < 3 points de mesure	3,8 (22%)	4,6 (27%)	4,2 (24,8%)	*p=0,573*

***Tableau 7** : données du mapping endocavitaire réalisé grâce au cathéter d'exploration NOGA®. (Résultats exprimés par la moyenne +/-déviation standard).*

Le nombre moyen de points acquis per-procédure est de 192,2 ±13,4 sans différence inter-centre. En moyenne, 24,8% des segments myocardiques explorés ont moins de trois points enregistrés. Il s'agit dans 84% des cas des segments basaux du ventricule (segment 1 à 6).

Ces segments étaient moins accessibles techniquement et plus rarement concernés par les zones d'intérêts lors de la cartographie (territoires nécrosés et frontières).

B. Analyse des injections de cellules réalisées

14,10 ±2,56 injections étaient réalisées en moyenne lors des procédures (min : 9 ; max : 19). Le nombre de cellules injectées était, chez 6 patients, compris entre 30 et 100 millions ($61,49.10^6$ ±$22,20.10^6$). Seulement 4 patients ont reçu une dose injectée de plus de 60 millions de cellules conforme au protocole.

Les données fonctionnelles comparant les segments injectés et non-injectés (**tableau 8**) retrouvent des segments demeurant viables en SPECT (fixation>50%) et de moindre cinétique en échocardiographie (2,76 ±1,28 vs 3,57 ±1,12, *p=0,016* ; Cf. **Fig 8**). Ces données semblant indiquer un ciblage adéquat des cellules.

Lors de l'évaluation initiale, les segments injectés n'ont pas d'amélioration significative de leur cinétique en échocardiographie lors de l'injection de dobutamine (au repos : 3,57 ±1,12 ; dobutamine : 3,35 ±1,47 ; *p=0,285*).

	Injectés (n=36)	**Non-injectés (n=66)**	
Voltage unipolaire (mV)	9,78 ±4,11	9,45 ±3,24	*p=0,975*
Ischémie (SPECT, %)	55,53 ±18,42	60,30 ±17,09	*p=0,194*
Viabilité (SPECT, %)	61,08 ±14,91	64,70 ±16,44	*p=0,316*
Cinétique (échographie)	**3,57 ±1,12**	**2,76 ±1,28**	***p=0,016***

***Tableau 8** : Comparaison des caractéristiques fonctionnelles des segments myocardiques injectés et non-injectés, recueil au repos lors de l'évaluation initiale de chaque patient (résultats exprimés par la moyenne +/-écart-type). A noter : Les valeurs de fixation du thallium 201, cinétique et voltage endocavitaire des segments non-injectés comprennent la moyenne de territoires sains et fibrosés.*

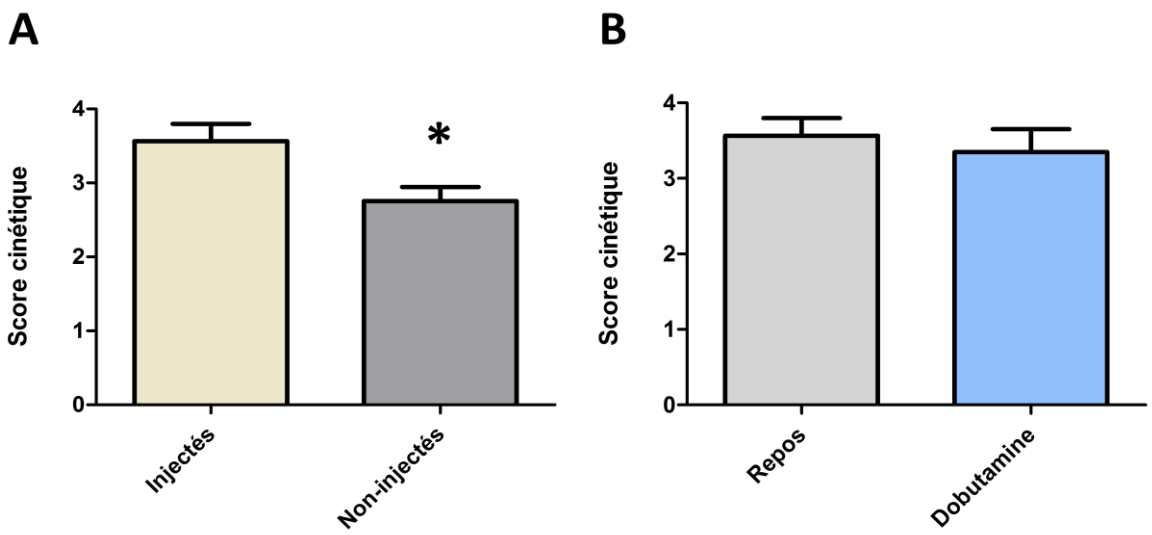

Figure 8 *: Analyse des données de cinétique segmentaire en échocardiographie.* ***A :*** *comparaison de la cinétique des segments injectés vs segments non-injectés au cours de l'évaluation initiale des patients (*p<0,05).* ***B :*** *Réponse cinétique des segments injectés au cours de l'épreuve de stress par faible dose de dobutamine (évaluation initiale).*

Analyse des zones d'injectées selon les paramètres recueillis per-procédures (NOGA)

Chaque point d'injection a été repéré sur les cartographies NOGA. Pour chacun, les données de la cartographie initiale ont permis de définir une zone injectée caractérisée par des données de voltage et LLS moyens selon les points enregistrés les plus proches du point d'injection (**Fig. 9**).

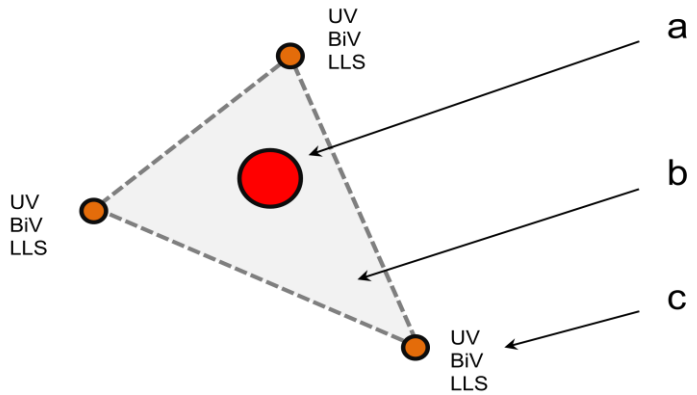

Figure 9 *: Schéma représentant une zone d'injection.* ***a.*** *Point d'injection ;* ***b.*** *Zone myocardique injectée ;* ***c.*** *Point de la cartographie NOGA préalable aux injections. UV : Voltage unipolaire ; BiV : Voltage bipolaire ; LLS : Local linear shortening*

Il est apparu que 62,12% des points d'injection réalisés lors des 10 procédures thérapeutiques remplissaient les critères électrique et mécanique de ciblage des territoires à traiter (Cf. Introduction – Chapitre IV). Les valeurs de voltage et d'activité mécanique contractile des 141 zones injectées sont rapportées dans le **tableau 9** et la **figure 10**.

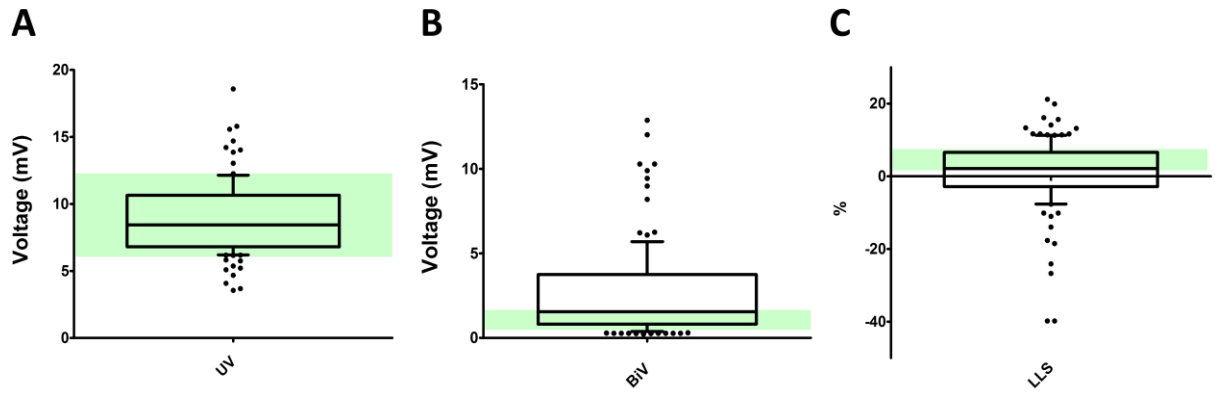

Figure 10 *: Données électromécaniques des zones injectées acquises en per-procédure. A : répartition des zones injectées selon leur valeurs de voltage unipolaire ; B : répartition selon le voltage bipolaire ; C : selon le pourcentage de raccourcissement local (LLS). La bande verte représente les intervalles des valeurs théoriques idéales pour le ciblage des zones à injecter. Représentation par boites à moustache entre les 10^{e} et 90^{e} percentiles.*

	UV (mV)	BiV (mV)	LLS (%)
Moyenne	9,04	2,62	1,22
Ecartype	3,19	2,58	9,30
Mediane	8,43	1,55	2,14
25e percentile	6,82	0,82	-2,80
75e percentile	10,60	3,74	6,50

Tableau 9 *: Données de voltage et d'activité mécanique des 141 points d'injection des 10 patients inclus dans l'essai. UV : voltage unipolaire ; BiV : voltage bi-polaire ; LLS : local linear shortening.*

Les données de voltage unipolaire indiquent un ciblage majoritairement adéquat des zones à injecter. Les données de voltage uni et bi-polaire sont complémentaires pour l'analyse d'activité électrique des territoires cibles. Conformément au protocole établi, 68,18% des zones injectées avaient une activité mécanique réduite (LLS <6%).

III. Suivi post-injection : analyse fonctionnelle globale

A. Résultats du suivi en SPECT

1. Evaluation de l'ischémie myocardique

a) Analyse quantitative

A un an de suivi, alors que les SRS et SDS ne connaissent pas d'évolution significative (respectivement Summed Rest Score, *p=0,21* ; Summed Difference Score, *p=0,10*), le SSS diminue significativement à 3 mois des injections, signifiant une ischémie myocardique moyenne moins profonde. Ce résultat est transitoire et le SSS retrouve à un an une valeur comparable à son niveau initial (*p=0,01 ; M0 vs M3 : p=0,02 ; M3 vs M12 : p=0,01 ; M0 vs M12 : p=0,99*) (**Fig. 11**).

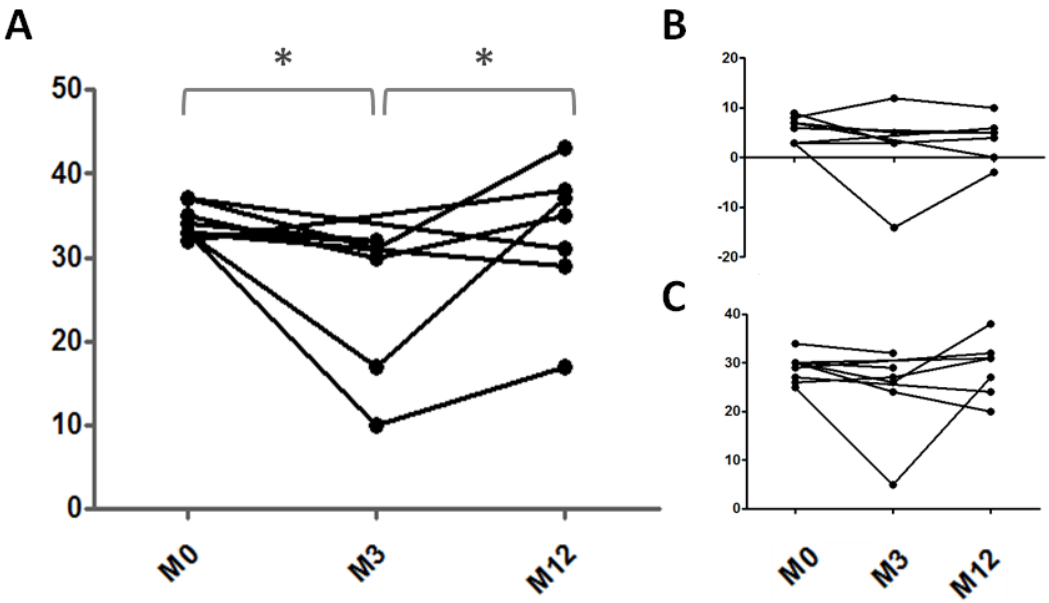

Figure 11 *: Evolution au cours du temps des valeurs des scores de fixation du traceur en SPECT Thallium 201 pour la recherche d'ischémie myocardique.* ***A :*** *Evolution du SSS, diminution significative de la profondeur de l'ischémie à 3 mois.* ***B :*** *Pas d'évolution significative du SDS.* ***C :*** *Pas d'évolution significative du SRS. (*p<0,05 ; comparaison par rapport à la précédente évaluation).*

b) Analyse qualitative

Au cours du suivi à un an, il n'a pas été mis en évidence d'évolution significative du nombre de segments myocardiques sans ischémie (p=0,07) ; du nombre de segments avec une ischémie réversible (p=0,44); du nombre de segments avec une ischémie non réversible (p=0,09).

2. Evaluation de la viabilité myocardique

A 3 mois, les clichés tardifs de viabilité ne montrent pas d'évolution de fixation entre M0 et M3. A un an des injections, la fixation du traceur est en revanche significativement abaissée par rapport à M3 et M0.

Néanmoins, le nombre de segments myocardiques considérés comme viables (fixation >50%) ne connait pas de diminution significative au cours du temps, à un an de suivi post-injection (p=0,234) (Cf. **Fig. 12** et **Tableau 10**).

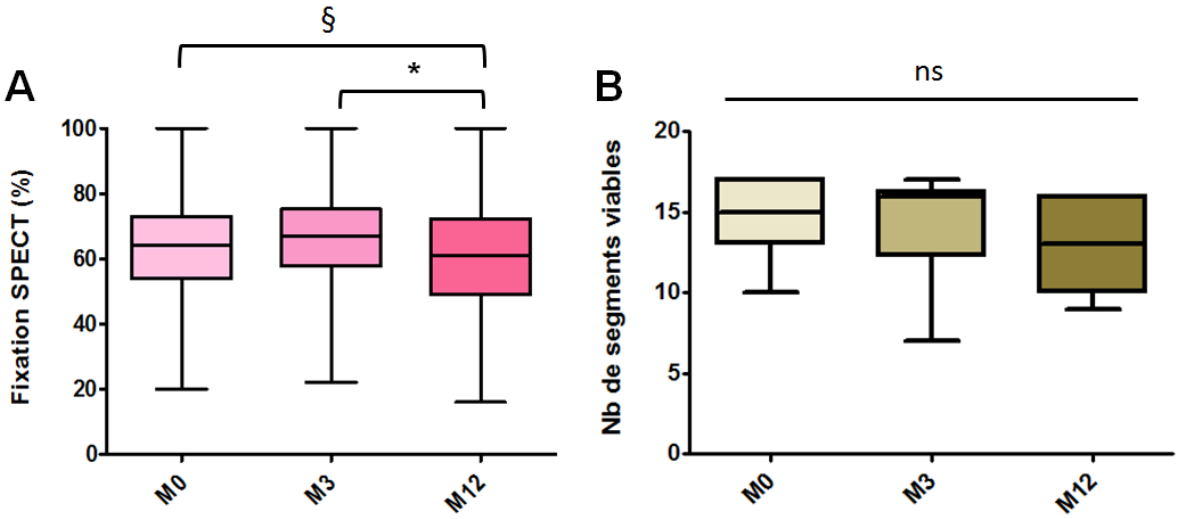

Figure 12 *: Evolution de la viabilité myocardique au cours du temps.* ***A :*** *La valeur moyenne de fixation du traceur est plus basse à un an (p=0,001 ; M0 vs M3 : 0,443 ; M3 vs M12 : *p<0,001 ; M0 vs M12 : §p=0,045 ; n=102 segments).* ***B :*** *Absence d'évolution significative du nombre de segments myocardiques viables (fixation du traceur >50%).*

	M0	M3	M12	
Fixation SPECT	63,42 ±15,93	65,07 ±17,28	**61,05 ±16,30*§**	***p=0,001***
Nombre de segments viables	14,67 ±2,66	13,80 ±3,49	12,67 ±2,94	*p=0,234*

Tableau 10 *: Evolution de la viabilité myocardique estimée en SPECT au cours du temps (*p<0,05 ; comparaison par rapport à M3 ; §p<0,05 ; comparaison par rapport à M0)*

B. Viabilité évaluée en TEP-scan

A 3 mois, il n'y a pas d'évolution significative de la valeur globale de fixation du traceur (18-FDG) (64,60 ±19,03% vs 64,67 ±21,04%, *p=0,976 ; n=68*) (**Fig. 13**).

C. Résultats du suivi en echocardiographie

1. Viabilité évaluée en echocardiographie - dobutamine

Durant le suivi à un an, il n'y a pas d'évolution significative de la valeur du score cinétique global, traduisant l'absence d'évolution de la viabilité des territoires hibernants *(M0 : 44,80 ±6,65 ; M3 : 43,20 ±6,61 ; M12 : 43,40 ±6,43 ; p=0,802 ; n=5)* (**Fig. 13**).

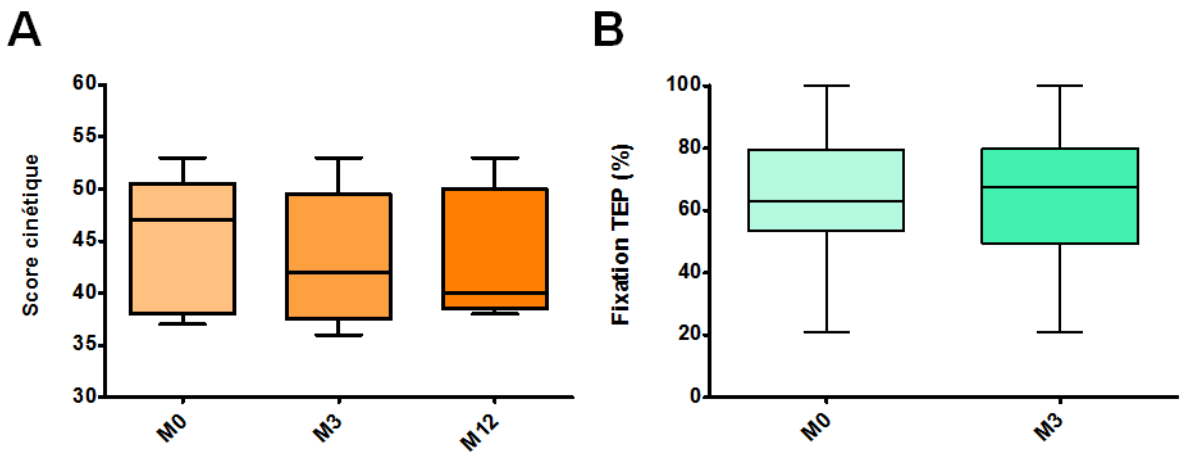

Figure 13 *: Evolution de la viabilité myocardique au cours du temps.* ***A :*** *Absence d'évolution significative du score cinétique en échocardiographie-dobutamine.* ***B :*** *Absence d'évolution significative de la fixation du traceur en TEP-scan (tous segments myocardiques, n=68).*

2. Analyse des échocardiographies de repos

Lors de l'évaluation initiale, les patients ont des paramètres de fonction systolique ventriculaire sévèrement altérés (FEVG<30% ; Onde S mitrale <6cm/s ; GLS = -5,43%). La fonction diastolique est également altérée avec un rapport E/Ea supérieur à 15.

L'ensemble des données collectées et analysées au cours du suivi sont incluses dans le **tableau 11**.

La FEVG moyenne des patients augmente de près de 7 points, significativement à 3 mois post-injection (29,04 ±6,73 vs 35,89 ±6,67 ; p=0,018). L'augmentation se maintient dans le temps, restant à un an significativement plus élevée par rapport à l'évaluation initiale (34,86 ±8,91 vs 29,04 ±6,73, p=0,007).

On note également une tendance à l'augmentation du strain longitudinal global (GLS) et des itv sous-aortique à 3 mois (respectivement p=0,094 et p=0,080). Néanmoins elles ne s'accompagnent pas d'une majoration du débit ou de l'index cardiaque de manière significative.

Enfin, on retrouve une augmentation transitoire à 3 mois du TAPSE semblant indiquer une amélioration de la fonction systolique ventriculaire droite à 3 mois (16,76 ±5,70 vs 20,60 ±4,30 ; p=0,021). Cependant, le diamètre ventriculaire droit estimé en para-sternal grand axe et l'onde S en DTI à l'anneau tricuspide ne voient pas d'évolution significative de leurs valeurs au cours du temps (respectivement p= 0,369 et p=0,426).

	M0	M3	M12	
DTdVG (mm)	61,72 ±5,25	64,93 ±7,83	61,35 ±7,47	*p=0,168*
DTsVG (mm)	52,70 ±5,83	53,87 ±7,13	51,18 ±7,64	*p=0,324*
SIVdVG (mm)	11,37 ±2,63	10,94 ±3,15	10,19 ±1,53	*p=0,570*
PPdVG (mm)	9,03 ±2,85	8,32 ±1,27	7,49 ±1,33	*p=0,246*
VTdVG (mL)	232,24 ±59,36	235,28 ±65,04	232,34 ±82,88	*p=0,448*
VTsVG (mL)	167,76 ±56,53	151,89 ±55,96	156,07 ±80,87	*p=0,116*
FEVG (%)	29,04 ±6,73	**35,89 ±6,67***	**34,86 ±8,91***	***p=0,021***
ItvssAo (cm)	14,66 ±5,76	18,35 ±5,38	15,76 ±4,62	*p=0,080*
FC (bpm)	73,00 ±17,34	69,75 ±17,47	70,63 ±11,50	*p=0,713*
DC (L/min)	3,96 ±1,41	4,27 ±0,67	4,13 ±1,40	*p=0,249*
IC (L/min/m²)	2,01 ±0,79	2,13 ±0,52	2,12 ±0,74	*p=0,358*
Onde E (cm/s)	69,00 ±18,97	74,33 ±30,52	70,00 ±25,67	*p=0,744*
Onde A (cm/s)	70,00 ±25,67	69,11 ±24,54	69,22 ±30,19	*p=0,992*
Rapport E/A	1,19 ±0,76	1,35 ±1,09	1,65 ±1,73	*p=0,453*
TDM (ms)	198,69 ±68,69	205,68 ±71,27	212,52 ±79,73	*p=0,872*
Onde S mitral (cm/s	5,20 ±1,13	5,20 ±1,40	5,40 ±1,49	*p=0,551*
Onde E' mitral (cm/s)	5,75 ±2,09	4,90 ±1,26	5,43 ±1,51	*p=0,429*
Onde A' mitral (cm/s)	7,69 ±2,71	7,20 ±2,46	7,00 ±2,71	*p=0,379*
Rapport E/Ea	15,28 ±5,34	17,59 ±14,51	16,93 ±10,95	*p=0,578*
Vol. OG (4 cav) (mL)	94,25 ±34,06	94,50 ±26,18	108,03 ±52,38	*p=0,591*
DTdVD (mm)	30,21 ±6,67	32,15 ±5,73	30,24 ±5,34	*p=0,369*
TAPSE (mm)	16,76 ±5,70	**20,60 ±4,30***	17,40 ±4,90	***p=0,019***
Onde S tric. (cm/s)	9,29 ±2,36	9,71 ±2,42	9,14 ±2,67	*p=0,426*
GLS (%) *(n=4)*	-5,43 ±4,27	-9,65 ±2,88	7,70 ±2,44	*p=0,094*

Tableau 11 *: Données échocardiographiques (de repos), acquises au cours du temps. On notera une augmentation à 3 mois de la FEVG et du TAPSE.*
*DC : Débit cardiaque ; DTdVD : Diamètre télédiastolique VD ; DTdVG : Diamètre télédiastolique VG ; DTsVG : Diamètre télésystolique VG ; FC : Fréquence cardiaque ; FEVG : Fraction d'éjection VG ; GLS : Global longitudinal strain ; IC : Index cardiaque ; ItvssAo : intervalle temps-vitesse sous-aortique ; PPdVG : Paroi postérieure du VG en télédiastole ; SIVdVG : Septum inter-ventriculaire VG en télédiastole ; TDM : Temps de décélération mitral ; VTdVG : Volume télédiastolique VG ; VTsVG Volume télésystolique VG. (*p<0,05 comparaison par rapport à la valeur M0).*

IV. Méthodologie d'analyse topographique des segments injectés

A. Données disponibles

Pour chaque patient, le nombre de points acquis per-procédure et le nombre d'injections réalisées était connu.

Pour chaque point du mapping, les coordonnées spatiales x,y,z étaient connues. Le point « apex » était repéré pour chacune des procédures. **Il n'y a pas eu d'autre repère spatial intra-ventriculaire défini per-procédure sur les données brutes NOGA disponibles (Fig.14).**

Chaque volume acquis peut être représenté par un disque 2D selon une reconstruction polaire des coordonnées spatiales x,y,z (**Fig. 14**).

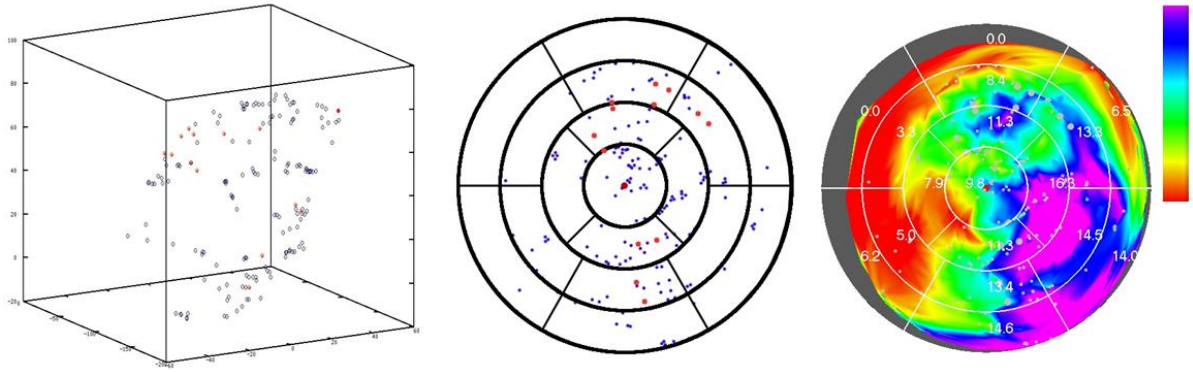

***Figure 14** : A gauche : représentation en trois dimensions des points acquis durant la procédure de mapping endocavitaire, on reconnait la forme ellipsoïde du ventricule gauche. Au centre, reconstruction 2D des points du mapping, centrée par le point apex repéré per-procédure (les points rouges représentent les sites d'injection). A droite, carte du voltage unipolaire à partir des données de chaque point recueillis.*

Les valeurs de voltage (UV ou BiV) ou d'activité mécanique myocardique (LLS) peuvent être représentées sur le disque selon une vue dite en « bull-eye » du myocarde. Grâce à la collaboration de nos équipes de Toulouse et Nantes avec les ingénieurs de la société Biosense Webster©, une cartographie sectorielle en 17 segments a pu être obtenue moyennant les données des points inclus dans chacun de ces segments (**Fig. 14**).

Chaque point du mapping et chaque site d'injection est matérialisé sur cette carte.

B. Problématique

L'objectif poursuivi est de déterminer pour chaque injection réalisée le segment myocardique concerné, de façon à en suivre l'évolution fonctionnelle au cours du temps et selon chacune des modalités d'examen précédemment citées.

A partir des données dont nous disposons, l'objectif est donc de vérifier ou déterminer l'orientation en rotation autour de l'apex du disque 17 segments NOGA. Une fois cela obtenu, il est aisé de dénombrer les injections qui ont eu lieu et leur topographie segmentaire.

C. Analyse primaire des bull-eyes 17 segments NOGA

Les données de la littérature ont établi que les données acquises au cours des procédures NOGA permettaient l'évaluation de la viabilité myocardique avec une bonne corrélation avec les autres imageries classiques (SPECT et TEP).

Pour chaque patient, le bull-eye NOGA était comparé visuellement au bull-eye obtenu en SPECT à partir des acquisitions tardives de viabilité.

Il existait visuellement d'importants mismatchs entre les profils de viabilité NOGA et les profils de viabilité SPECT (**Fig. 15**). Ceci était confirmé par les calculs de corrélation réalisés entre les topographies segmentaires SPECT et NOGA (selon les reconstructions par les ingénieurs de la société Biosense Webster®). En effet, aucune corrélation significative n'était retrouvée (**tableau 12**).

Il est important de noter qu'en raison des données manquantes de SPECT, les analyses de corrélation n'ont pu être réalisées que chez 6 patients de l'étude MESAMI (4 nantais et 2 toulousains). De plus, les données NOGA issues de segments dont le nombre de points du mapping était inférieur à 3 n'étaient pas prises en compte (Cf. les critères de qualité du mapping NOGA).

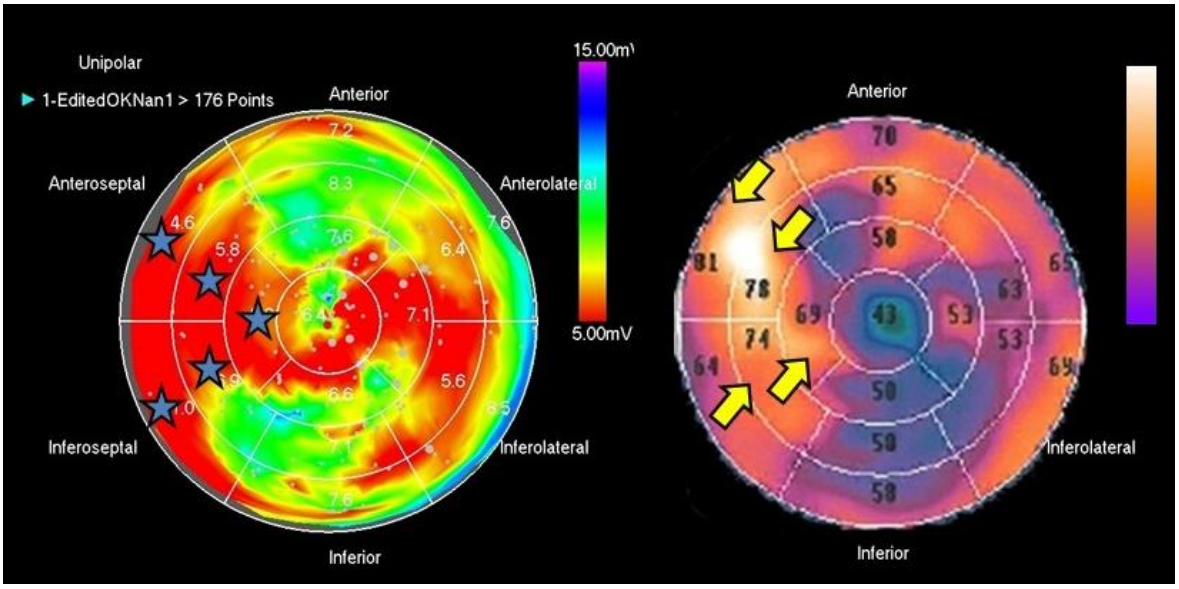

Figure 15 *: Analyse visuelle de la correspondance des données de viabilité acquises en SPECT et NOGA (voltage uni-polaire). Cas de JOB. JP, exemple de mismatch visuel des données SPECT et NOGA : les étoiles du bull-eye NOGA (à gauche) indiquent une large zone de myocarde fibreux (séquelle) en position septale. Les flèches du bull-eye SPECT (à droite) montrent a contrario que le myocarde du même territoire garde une bonne viabilité.*

D. Explications sur la stratégie mise en place

L'analyse primaire semble révéler des erreurs de rotation du disque 2D (bull-eye NOGA), rendant impossible une analyse fonctionnelle segmentaire fiable.

La stratégie d'analyse mise en place a donc cherché à réaliser la réorientation adaptée du bull-eye NOGA. L'absence de données anatomiques intra-myocardiques acquises lors des procédures NOGA ne permet pas une réorientation sur des critères morphologiques.

En revanche, nous disposons des données fonctionnelles de viabilité NOGA et SPECT dont il a été montré la bonne corrélation dans la littérature[44].

La reconstruction du bull-eye de viabilité en SPECT sur la console SEGAMI® dont nous disposons à Nantes nécessite une réorientation du ventricule selon les 3 plans de l'espace. Ainsi, lorsque les plans sagittal et axial sont correctement déterminés, il est nécessaire d'orienter selon un angle de rotation donné le ventricule dans son plan coronal (**Fig. 16**), équivalent d'une vue para-sternale petit-axe en échocardiographie.

Il est donc possible de recréer un bull-eye SPECT selon l'angle souhaité à 360° autour de l'axe base/apex avec une nouvelle détermination de la valeur de fixation du traceur pour chacun des 17 segments.

La stratégie pour établir la bonne orientation du bull-eye NOGA est donc la suivante :

1/ Vérification de la qualité du mapping NOGA

2/ Reconstruction de 36 bull-eyes SPECT tous les 10° d'angle à partir de la position de référence (correctement réorientée en SPECT selon les critères de reconstruction de médecine nucléaire).

3/ Détermination de la corrélation entre les données NOGA et SPECT selon chacune des 36 cartes recalculées. Recherche de la meilleure corrélation possible.

4/ Réorientation du bull-eye NOGA selon le degré angle amenant à la meilleure corrélation des données.

5/ Vérification visuelle de la cohérence de la réorientation obtenue.

6/ Détermination de la topographie segmentaire des injections NOGA.

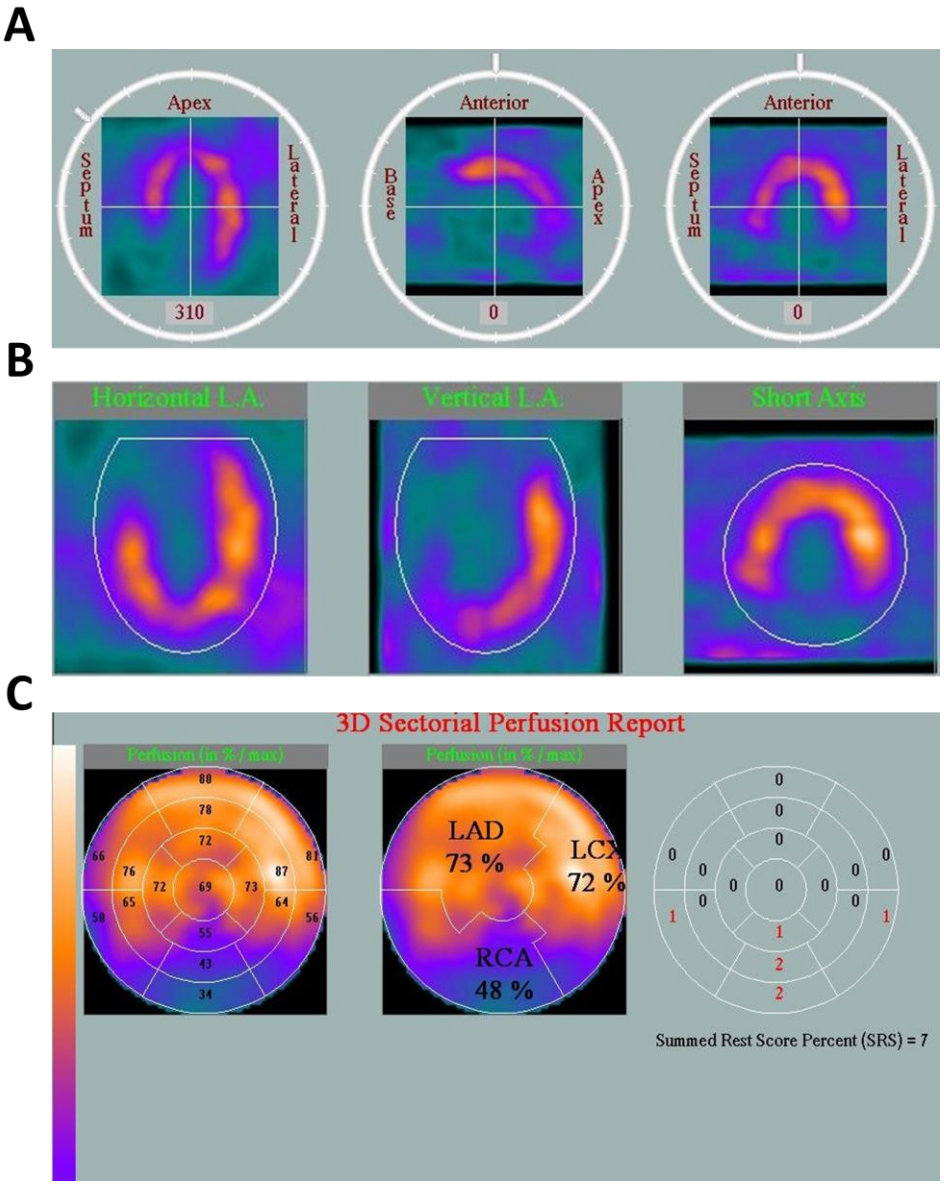

Figure 16 *: Etapes de la reconstruction semi-automatique des bull-eyes SPECT.* ***A :*** *Détermination de la rotation du ventricule dans les 3 plans de l'espace. A droite, rotation selon l'axe base/apex.* ***B :*** *Détermination du masque établissant les données incluses dans le calcul sectoriel. Au-delà, la base du ventricule est déterminée manuellement.* ***C :*** *Vue finale obtenu : le myocarde est représenté par son bull-eye 17 segments. On note dans l'exemple l'existence d'une séquelle non viable inférieure.*

1. Première étape : vérification de l'apex ventriculaire

La position de l'apex indique le centre du bull-eye. Chaque apex ventriculaire a été vérifié visuellement sur la console informatique NOGA à partir du volume 3D ventriculaire pour les 4 patients nantais.

Une analyse visuelle 3D a été réalisée pour les patients toulousains à partir des coordonnées spatiales x,y,z en reconstituant le volume 3D (utilisation du logiciel GNU-Octave ; *station UNIX*). (**Fig. 14**).

2. Deuxième et troisième étapes : reconstruction des bull-eyes SPECT et calcul de corrélation avec les données NOGA

Pour chaque reconstruction réalisée, la valeur de fixation de chacun des 17 segments myocardiques est colligée. Le calcul de corrélation est ensuite réalisé. L'angle de rotation proposant la meilleure corrélation des données est ainsi déterminé.

Le **tableau 12** rapporte pour chacun des 6 patients analysables les valeurs des meilleures corrélations obtenues par la méthode.

	Avant rotation		**Après rotation**		**Angle de rotation**
JOB. JP.	-0,332	*p=0,072*	0,603	***p=0,010***	**-130°**
BRE. D.	0,102	*p=0,707*	0,287	*p=0,280*	**-160°**
HOD. F.	-0,129	*p=0,760*	0,593	*p=0,121*	**-130°**
MAR. E.	0,449	*p=0,124*	0,687	***p=0,009***	**-50°**
LYT. D.	-0,304	*p=0,364*	0,452	*p=0,163*	**+110°**
DIE. JP.	-0,374	*p=0,208*	0,852	***p<0,001***	**-110°**

Tableau 12 *: Coefficients de corrélation des données de viabilité SPECT et NOGA (voltage unipolaire) avant et après application de la rotation de recalage. Après rotation, plusieurs bull-eyes sont très significativement corrélés suggérant une bonne concordance des données.*

Après rotation, les données NOGA et SPECT concernant les 6 patients étudiés sont significativement corrélés entre elles : r=0,514 ; p<0,001 (**Fig. 17**).

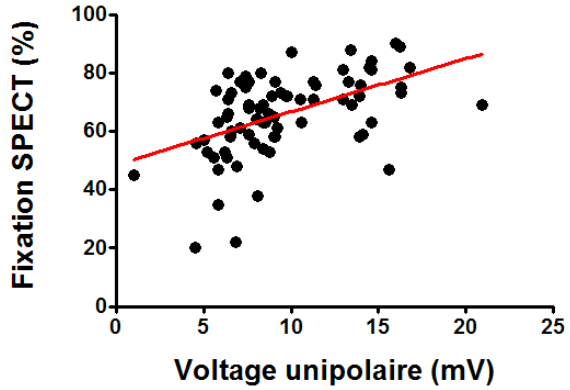

Figure 17 *: Courbe de régression linéaire et corrélation des données SPECT et NOGA (après rotation et recalcul des bull-eyes SPECT). r=0,514 ; p<0,001*

3. Rotation du bull-eye NOGA, vérification de la cohérence du recalage des données

Une vérification visuelle de la rotation de chaque bull-eye était réalisée. Le recalage apparait satisfaisant subjectivement pour les 6 patients inclus dans l'essai (**Fig. 18**).

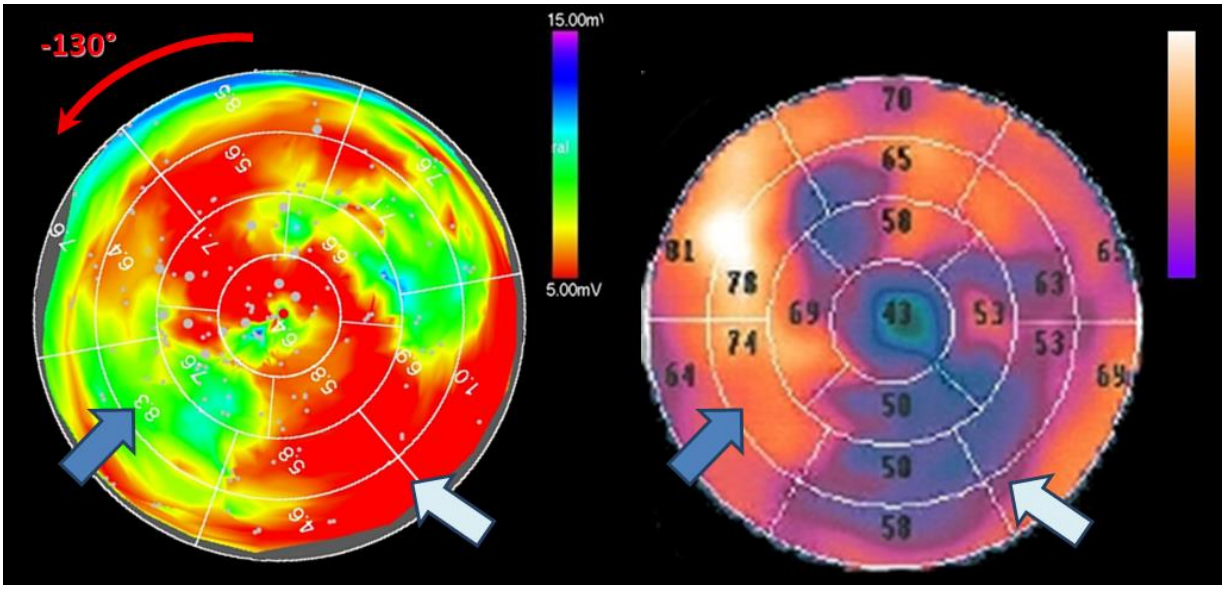

Figure 18 *: Cas de JOB. JP. après rotation du bull-eye NOGA (-130°) selon la méthodologie proposée. Il existe une bonne concordance visuelle des données de viabilité. On notera que la paroi septale montre désormais une viabilité préservée en NOGA. L'analyse de corrélation rapporte un coefficient r=0,60 (p=0,01).*

4. Détermination de la topographie des injections

Le **tableau 13** rapporte pour chaque patient analysable les segments injectés et le nombre d'injection réalisée dans chacun de ceux-ci.

Les segments distaux sont les plus segments les plus souvent ciblés par les injections. En effet, les 4 segments distaux + l'apex représentent 54,3% des sites injectés (p<0,001 ; comparaison par rapport au reste du myocarde).

Les segments moyens et de la base représentent 37,1% et 8,6% des sites injectés respectivement (**Fig. 19**).

Figure 19 *: Répartition moyenne des injections de cellules au sein du myocarde*

	JOB. JP	BRE. D.	HOD.F.	MAR. E.	DIE. JP.	LYT. D.
Segment	Injection	Injection	Injection	Injection	Injection	Injection
1	1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	1	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	1
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	1	0	0	1
8	1	0	1	0	4	0
9	0	2	0	2	1	0
10	0	1	0	1	0	0
11	0	0	0	0	0	5
12	0	0	2	1	2	0
13	3	0	0	3	1	0
14	4	2	0	0	1	0
15	0	4	6	4	1	0
16	0	1	2	3	1	5
17	3	3	3	2	0	0
Somme	**12**	**14**	**15**	**16**	**11**	**12**

Tableau 13 *: Répartition des injections au sein des 17 segments myocardiques pour chacun des patients dont la topographie est analysable.*

V. Suivi post-injection : analyse fonctionnelle segmentaire

Connaissant les segments injectés lors des procédures NOGA, une analyse comparative des segments injectés (traités) avec les segments non-injectés (contrôles) a été réalisée à partir des données issues des examens d'imagerie réalisés au cours du suivi.

A. Analyse de l'ischémie myocardique

De façon similaire à l'analyse globale, on met en évidence que les segments injectés et non injectés connaissent une évolution similaire de leur fixation du traceur post-stress (p=0,140) : à 3 mois, la fixation du traceur est significativement plus importante par rapport à M0 avant de diminuer à un an pour revenir ainsi à sa valeur initiale (p<0,001) (**Fig.21**).

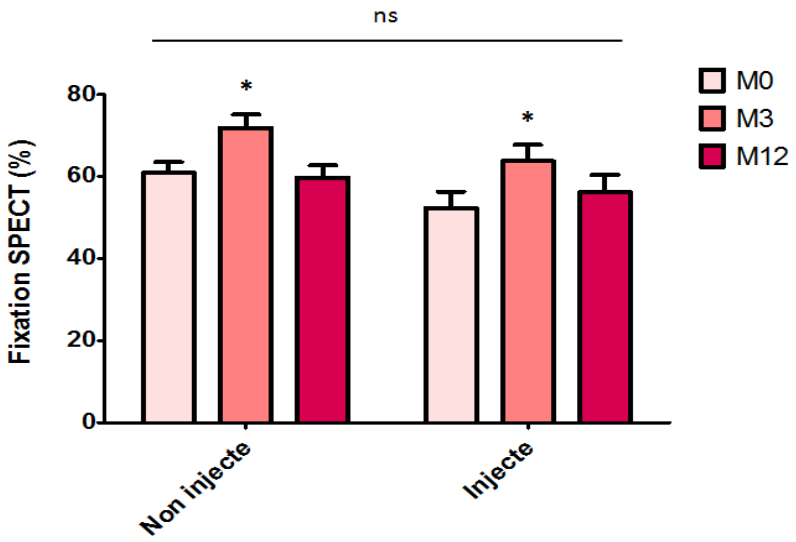

Figure 21 *: Evolution au cours du suivi de la fixation du traceur sur les clichés post-stress immédiat. Les segments injectés et non-injectés connaissent une évolution similaire avec une augmentation transitoire à 3 mois de la fixation du traceur (ns : non significatif).*

B. Evaluation de la viabilité

Quelque soit la modalité d'imagerie, on ne met pas en évidence de gain ou perte de viabilité myocardique au cours du suivi à un an des segments myocardiques injectés seuls ou en comparaison avec les segments non-injectés (contrôles) (**Fig. 21**).

C. Analyse des échocardiographies de repos

La fonction contractile des segments myocardiques injectés voyait une amélioration significative à 3 mois et maintenue à un an.

En effet, alors que le score cinétique segmentaire moyen ne voyait pas de variation au cours du temps (p=0,917), la fonction longitudinale des parois myocardiques injectées s'améliorait sous la forme d'une augmentation significative des valeurs de strain longitudinal alors qu'on ne retrouvait pas d'amélioration de la déformation des segments contrôles (respectivement p<0,001 et p=0,157) (**Fig 22**).

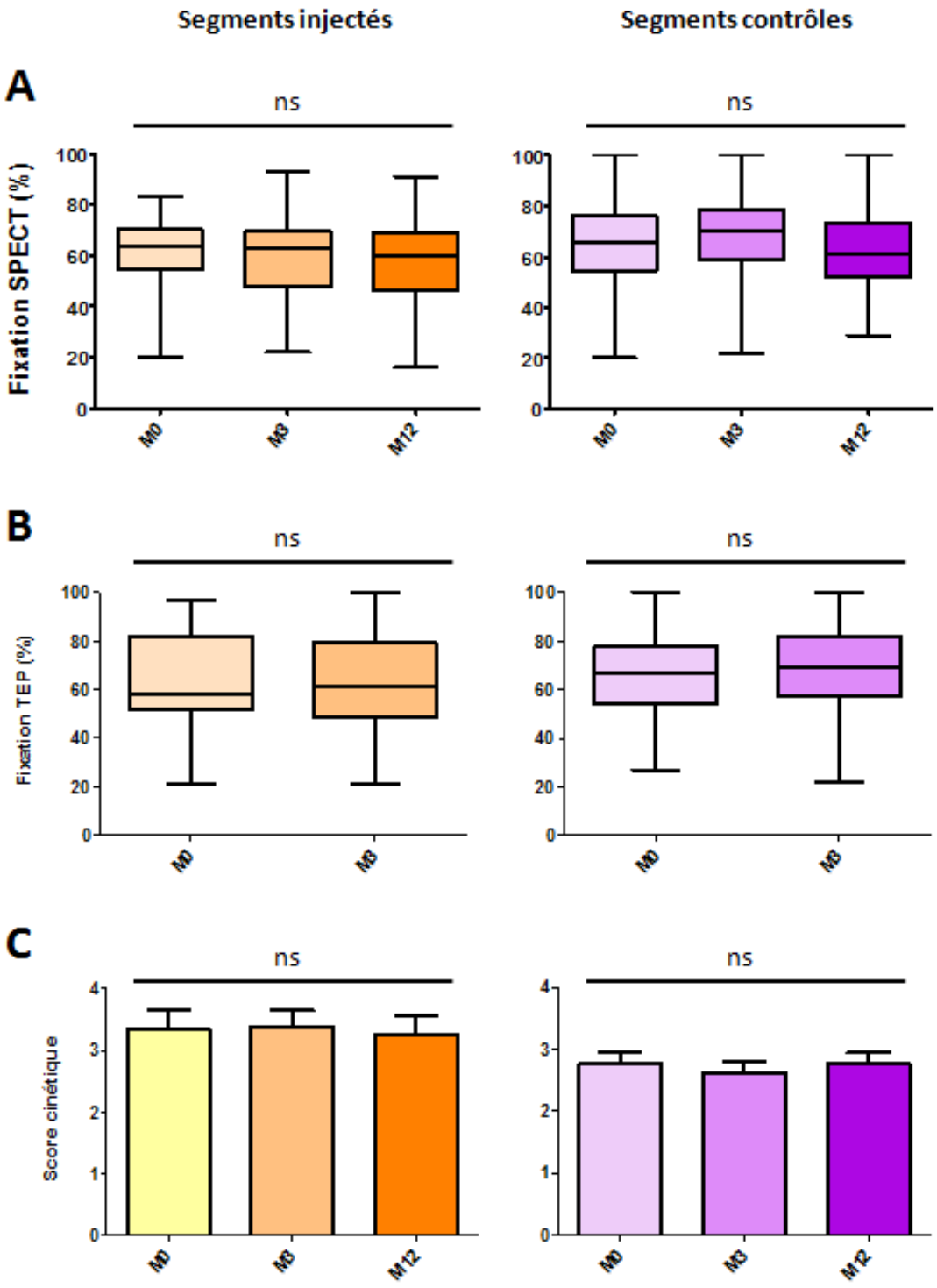

Figure 21 *: Evolution des données d'imagerie pour l'évaluation de la viabilité myocardique, comparaison des données des segments injectés et contrôles (non-injectés). A : Données acquises en SPECT, évolution non significative de la fixation de segments injectés (p=0,146) ; B : Données acquises en TEP, évolution non significative de la fixation des segments injectés à 3 mois (p=0,908) ; C : Absence de variation à un an du score cinétique moyen des segments injectés en échocardiographie-dobutamine (p=0,754). (ns : non significatif).*

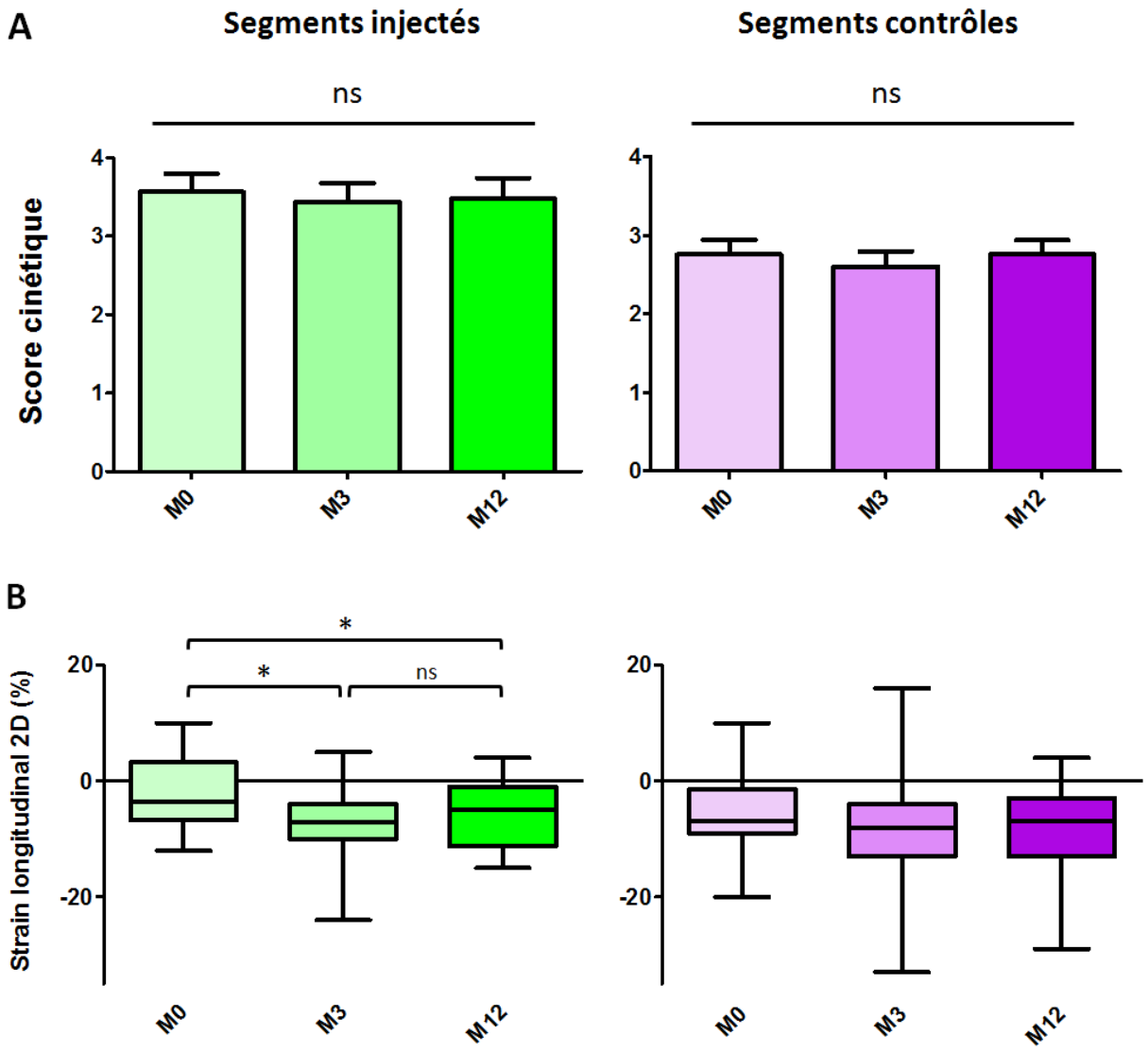

Figure 22 *: Evolution des paramètres échocardiographiques de fonction systolique ventriculaire au cours du temps. A : absence de variation du score cinétique segmentaire au repos, au cours du temps ; B : Amélioration du strain longitudinal des segments injectés à 3 mois et un an. Pas de variation du strain longitudinal des segments contrôles. (ns : non significatif).*

DISCUSSION

L'étude présentée et ses résultats sont tirés des données acquises en imagerie de l'essai de phase 1 de thérapie cellulaire MESAMI, au cours du suivi à un an. Dans notre cohorte de 10 patients porteurs d'une cardiopathie ischémique chronique non revascularisable, traités grâce au dispositif de navigation intra-cavitaire NOGA® par des injections endocardiques de cellules souches mésenchymateuses, nous ne mettons pas en évidence d'amélioration globale de la viabilité myocardique évaluées en SPECT, TEP et échocardiographie. En revanche, on observe une réduction transitoire de la profondeur de l'ischémie myocardique à 3 mois évaluée en SPECT, et une amélioration significative de la FEVG des patients, durable à un an.
Grâce à la mise au point d'une méthodologie originale de localisation des points d'injection endocardique, basée sur la corrélation des données de viabilité des données SPECT et NOGA, une analyse fonctionnelle des segments myocardiques a été possible. On constate une amélioration de la déformation longitudinale (*strain*) myocardique des segments injectés comparativement aux segments non-injectés.

Résultats fonctionnels de l'étude

- ### Analyse segmentaire

  - #### Etude du strain longitudinal

Grâce à la méthodologie mise au point, au-delà de l'analyse globale, nous avons pu étudier les résultats fonctionnels segmentaires liés aux injections de cellules souches. Ainsi, il était possible de réaliser de façon pertinente la comparaison des segments myocardiques traités avec les segments non-injectés contrôles. Ceci a le grand avantage de s'affranchir d'un éventuel effet thérapeutique lié au suivi rapproché et l'optimisation du traitement médical des patients inclus dans le protocole en plus d'aider à la compréhension des mécanismes physiologiques locaux induits par les injections.

En échocardiographie, alors que le profil de contraction segmentaire évalué de façon semi-quantitative ne montre pas d'amélioration au cours du suivi, nous rapportons pour la première fois une amélioration du strain longitudinal myocardique liée aux injections cellulaires. En effet, à 3 mois et à un an, la valeur moyenne du strain des segments injectés s'améliore significativement pour se maintenir à un an alors qu'on ne met pas en évidence d'évolution du strain longitudinal des segments contrôles.

L'analyse des déformations myocardiques au cours du cycle cardiaque est une technique d'analyse échocardiographique récente accompagnant les progrès des dernières années dans le domaine de l'imagerie ultra-sonore cardiaque (imagerie d'harmonique, échocardiographie 3D[49]). Brièvement, les analyses anatomiques et histologiques du ventricule gauche ont montré qu'il était composé de multiples couches de fibres musculaires d'orientation différentes[50]. Cette architecture rend compte des multiples déformations myocardiques au cours du cycle en systole et en diastole : mouvement de torsion, rotation et raccourcissement des parois myocardiques[51]. L'analyse dite de 2D-Speckle

tracking utilisée ici, affranchie des contraintes d'alignement du doppler tissulaire, permet l'étude de ces déformations par le suivi du mouvement de « speckles » ou grains acoustiques composant à l'image le myocarde. Le strain longitudinal explore le raccourcissement en longueur du myocarde lorsqu'en systole la base se déplace vers l'apex. Cette valeur est exprimée négativement puisque cette longueur diminue au cours de la contraction du muscle[51].

Plusieurs publications rapportent l'intérêt de cet outil dans la pathologie cardiaque. L'étude des profils de déformations permet la mise en évidence des différences caractéristiques entre diverses situations cliniques là où l'analyse de cinétique classique n'est pas discriminante[52,53,54,55]. Par ailleurs, au-delà de la valeur diagnostique de la technique, l'analyse de déformations myocardiques longitudinales fournit également une information pronostique forte chez le patient insuffisant cardiaque[56].

Dans le domaine de la cardiopathie ischémique, la valeur du pic de strain longitudinal est directement corrélée avec la transmuralité d'un territoire infarci[57]. Ainsi, Gjesdal et al. retrouvent une sensibilité et spécificité de respectivement 80 et 83% de la technique pour la détermination de territoires sains, avec une nécrose sous-endocardique ou transmurale (l'IRM cardiaque est prise en gold-standard). Des résultats similaires sont retrouvés par Roes et al. : Une valeur cut-off de -4,5% pour le strain longitudinal déterminant un segment myocardique viable avec une sensibilité de 81,2% et une spécificité de 81,6%[58]. Dans notre étude, le strain moyen des segments injectés s'améliore significativement à 3 mois et un an (*M0 : -2,1% ±6,3 ; M3 : -7,3% ±5,8 ; M12 : -5,5% ±5,4 ; p=0,0005*). Cette évolution du profil de déformation myocardique des segments injectés suggérant un effet favorable sur la viabilité myocardique des injections de cellules souches.

○ Autres modalités d'imagerie

Compte tenu du petit effectif des patients dans cette étude de phase 1, il est peu étonnant que l'analyse semi-quantitative visuelle en échocardiographie-dobutamine dont l'amplitude de valeur de cinétique demeure faible n'ait pas mis en évidence d'amélioration significative de la viabilité des segments myocardiques injectés. Ce résultat souligne une plus grande sensibilité du strain longitudinal, dont les données quantitatives objectives sont robustes et très reproductibles[51].

Il est plus étonnant de constater que les analyses SPECT et TEP segmentaires n'aient pas mis en évidence d'amélioration significative au cours du temps de la fixation du traceur radio-actif. En effet, ces techniques ont montré une très bonne sensibilité (respectivement 88 et 93% en SPECT et TEP-FDG) dans la prédiction des territoires myocardiques susceptibles d'une amélioration après revascularisation (définition du concept de viabilité[59]). Comme souligné précédemment, les valeurs de fixation segmentaire du traceur sont soumises à un calcul relatif au voxel de plus forte fixation. On pourrait émettre l'hypothèse qu'une progression globale de la fixation du traceur étendue à l'ensemble des parois myocardiques pourrait ainsi masquer un éventuel effet local des injections cellulaires au cours du temps. Ceci pouvant éventuellement rendre compte de l'amélioration significative de la FEVG constatée en echocardiographie. Cependant, ce résultat n'en resterait pas moins discordant avec les données acquises en 2D Speckle-Tracking où il est clairement mis en évidence une amélioration de la déformation myocardique des territoires injectées en comparaison des segments contrôles.

Cependant, même si les deux techniques permettent une évaluation de la viabilité myocardique, les paramètres mesurés n'en demeurent pas moins fondamentalement différents. Il faut enfin souligner l'existence de travaux comparant les performances diagnostiques de la SPECT et de l'analyse 2D-Speckle tracking pour la recherche de viabilité myocardique[60]. L'analyse du strain longitudinal semblant plus précise que la SPECT (MIBI) pour la détermination de territoires myocardiques sans viabilité (définie selon une transmuralité >75% en IRM avec clichés de réhaussement tardif)[60].

Au delà de ces considérations sur la valeur du strain longitudinal pour l'évaluation de la viabilité myocardique, l'amélioration constatée de ce paramètre ouvre surtout sur des pistes à explorer dans l'analyse des effets mécaniques locaux après injections endocardiques de cellules souches mésenchymateuses. On rappelle par exemple que les fibres myocardiques sous-endocardiques sont généralement les plus vulnérables aux processus pathologiques ceci se traduisant par une détérioration précoce du strain longitudinal avant celles du strain radial et circonférentiel[51]. Ainsi, on peut suggérer dans notre travail une restauration de fonction et/ou tissu sous-endocardique grâce aux injections de cellules qui n'est pas détectable par les autres imageries utilisées (SPECT, TEP).

- ### Analyse fonctionnelle globale

La plupart des essais de thérapie cellulaire dans le cadre de la cardiopathie ischémique chronique évalue les effets des injections cellulaires par échocardiographie ou les examens de médecine nucléaire cardiaque à 3 ou 6 mois[61,62,63,64,65]. L'analyse réalisée dans ce travail a été portée jusqu'à un an. On constate tout d'abord une amélioration significative de la FEVG des patients dès 3 mois et jusqu'à 12 mois. Bien que quelques essais ne rapportent pas d'évolution de la fonction systolique des patients traités selon des protocoles thérapeutiques semblables (cardiopathie ischémique chronique, cellules souches issues de la moelle osseuse, injections intra-myocardiques)[61,62,66], d'autres travaux, randomisés, confortent nos résultats[64,65].

L'analyse échocardiographique retrouve également une amélioration de la fonction systolique du ventricule droit sous la forme d'une augmentation isolée du TAPSE à 3 mois. Néanmoins, l'absence d'évolution significative de la géométrie du ventricule droit, de l'onde S tricuspide (doppler tissulaire), du débit cardiaque au cours du suivi demeurent discordants avec ce résultat.

Les données d'ischémie myocardique, évaluée en SPECT ne retrouvent fréquemment pas d'amélioration de la perfusion des patients traités[62,63,64,67].

Méthodologie appliquée pour la localisation des points d'injection

Injecter des cellules souches par la voie endocardique dans le myocarde implique intuitivement une nidation focale de celles-ci avec un effet thérapeutique par conséquent localisé, associé possiblement à une diffusion paracrine de cytokines aux régions myocardiques adjacentes[13,30].

C'est à partir de ce postulat que le cathéter de navigation intra-cavitaire NOGA montre un grand intérêt pour le ciblage des injections dans des zones de myocarde susceptibles de s'améliorer sur le

plan fonctionnel[45]. Les valeurs de voltage uni et bipolaires recueillis ainsi que les mesures d'activité mécanique contractile (LLS) permettent en effet de caractériser per-procédure le myocarde cicatriciel, viable et/ou hibernant et sain[44,42,45]. Sur des modèles animaux, il a par exemple été mis en évidence que la délivrance dirigée de cellules souches dans les zones bordantes d'un territoire infarci permet une réduction de la taille de la cicatrice et un remodelage ventriculaire favorable à 6 mois[68].

Ainsi, au-delà de l'analyse globale de fonction et viabilité, il est apparu intéressant de localiser au sein du myocarde les territoires myocardiques ayant reçu les injections afin de suivre leurs évolutions fonctionnelles dans le temps.

Comme d'autres travaux de la littérature, une imagerie multimodale a servi de base dans notre évaluation fonctionnelle des patients au cours du suivi post-injection[66,64]. Conformément aux recommandations actuelles en imagerie cardiaque, nous nous sommes basés sur la segmentation en 17-secteurs myocardiques pour harmoniser et comparer les résultats de chaque modalité d'examen[47].

Au total il s'agissait donc de localiser avec précision chaque point d'injection dans le segment myocardique concerné.

- ## Principes de constitution du Bull-eye NOGA

De façon inhérente à la technique, la cartographie réalisée au cours de la procédure d'injection en NOGA fournit en per-procédure une image en volume de l'endocarde, chaque point de cette cartographie est caractérisé par ses coordonnées spatiales (x,y,z) et ses valeurs électro-mécaniques locales (UV, BiV, LLS) (Cf. Introduction – chapitre IV).

Le repérage de l'apex au cours de la procédure de cartographie permet d'extrapoler les données 3D sur une carte 2D circulaire en « bull-eye » représentant l'ensemble du myocarde[69,44]. Lors de la cartographie, l'apex du ventricule apparait comme étant le point le plus distal par rapport au centre de masse (barycentre) ventriculaire directement calculé par la console à partir de l'ensemble de la cartographie[69]. La fluoroscopie per-procédure peut également être utile lors de cette étape de repérage.

L'extrapolation des données 3D sur une carte 2D dite polaire, est basée sur le postulat anatomique d'une géométrie ellipsoïdale du ventricule gauche et suit un principe appliqué initialement en médecine nucléaire pour une simplification d'exploitation des résultats[70] (**Fig. 23**). Alors qu'en SPECT, TEP, IRM et échocardiographie, le repérage spatial est aisé par les différentes structures anatomiques disponibles à l'image (septum inter-ventriculaire, parois du ventricule droit, racine aortique, piliers mitraux etc…), la cartographie NOGA est aveugle d'autres repères anatomiques que l'endocarde du ventricule gauche.

Il est important de noter que, dans les cardiopathies ischémiques chroniques, des structures anévrysmales cicatricielles peuvent gêner la détermination de l'apex à partir duquel l'ensemble du bull-eye est dérivé. C'est dans ce souci d'exactitude que l'apex utilisé et son influence sur la

topographie des points d'injection étaient préalablement vérifiés à partir des données échocardiographiques et les volumes 3D NOGA.

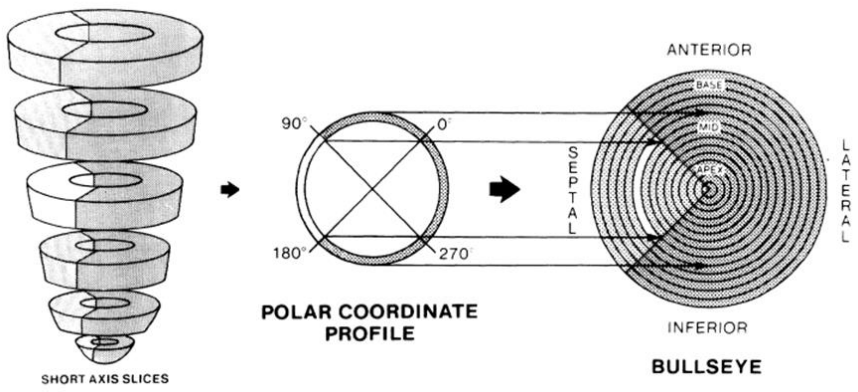

***Figure 23** : Principes de la représentation polaire 2D du ventricule gauche. (Tiré de DePascale et al. Circulation 1988[70]).*

- ## Orientation de la cartographie en 2D NOGA

En post-procédure, il a été possible grâce à notre collaboration avec l'équipe des ingénieurs de la société Webster Biosense© d'obtenir pour chaque patient inclus dans l'essai les cartographies 2D 17 segments pour chaque type de mesure endocavitaire effectuée (UV, BiV, LLS).

De nombreux travaux ont montré une bonne corrélation entre les données du mapping NOGA et les données de viabilité myocardique obtenus en SPECT ou TEP-scan cardiaque[44,71,72,42]. Cependant, dans notre étude, il est apparu en première analyse d'importantes discordances entre les bull-eyes NOGA (voltage uni-polaire) et les bull-eyes 17 segments de viabilité obtenus en SPECT, ceci soulignant la difficulté d'orientation anatomique des cartographies NOGA.

Les informations fournies par les deux cartes, étant supposées corrélées entre elles, la solution retenue a consisté à déterminer tous les profils de viabilité SPECT à 360°, tous les 10 degrés d'angle autour de l'axe base-apex. Ensuite, on déterminait le profil dont la corrélation avec la cartographie NOGA était la meilleure. L'angle ainsi défini devenant l'angle de correction en rotation de la carte NOGA.

- ## Limites de la méthodologie de recalage

D'importantes limites existent dans cette méthodologie.

Tout d'abord, les données obtenues lors de la cartographie endocavitaire correspondent à un recueil des voltages en valeurs absolues réelles. A contrario, les valeurs de chaque segment en SPECT sont de type semi-quantitatives, relatives au(x) voxel(s) de plus forte fixation du traceur au repos

(établissant le 100% de fixation déterminant alors la valeur relative de fixation pour chacun des autres voxels).

Ensuite, le mode de recueil des données est très différent selon la technique. En SPECT, les données sont obtenues à partir de tomographies rotationnelles répétées de l'ensemble du myocarde. En NOGA, la valeur moyenne en voltage d'un segment est établie à partir d'un nombre limité de points depuis un cathéter diagnostique déplacé arbitrairement dans la cavité ventriculaire. De plus, le nombre de points étudiés et la qualité globale de la cartographie va directement influencer la qualité de la carte 17-segments finale. On considère en effet, qu'un minimum de 3 points est nécessaire pour une cartographie de qualité[42]. Ainsi les segments comportant moins de 3 mesures étaient exclus de notre analyse de corrélation SPECT/NOGA. Il s'agissait dans 84% des cas des segments basaux du ventricule.

Les étapes de reconstruction d'un bull-eye 17 segments à partir des données SPECT tomographiques souffrent également d'imprécisions. La limite principale concerne la définition de la base du ventricule gauche dont la détermination s'effectue sous contrôle de l'opérateur. Une imprécision de cette étape pouvant influencer les valeurs de fixation du traceur des segments basaux[73]. Néanmoins, puisque la plupart des segments non considérés pour l'analyse de corrélation SPECT/NOGA étaient les segments basaux, cette marge d'erreur a pu avoir une moindre influence sur notre analyse. De plus, on peut estimer que l'effet thérapeutique des cellules injectées n'est pas strictement ponctuel et la diffusion des cellules ou des facteurs paracrines au myocarde adjacent peut atténuer les conséquences de ces imprécisions dans l'analyse.

Enfin, recaler les deux types d'image selon la meilleure corrélation calculable implique que cette dernière soit parfaite pour une réorientation optimale. Les données de la littérature rapportent en effet une bonne corrélation entre les données SPECT et NOGA. Néanmoins, celle-ci reste imparfaite : Gyongyosi et al retrouve par exemple un coefficient de corrélation r de 0,74 entre les valeurs de voltage unipolaire NOGA et les valeurs de fixation du thallium sur des clichés tardifs de viabilité[44]. D'autres travaux rapportent une bonne concordance des données SPECT et NOGA pour la catégorisation du myocarde en territoires sains, ischémiques, de façon réversible ou fixée[72]. Dans notre étude, avec le souci de mise en correspondance optimale des imageries NOGA et SPECT, le coefficient de corrélation calculé est de 0,51. Le faible effectif de patients considéré (6) et une certaine homogénéité de valeurs SPECT et NOGA recueillies dûe à la sévérité des cardiopathies peuvent expliquer ce coefficient assez bas.

- ## Les pistes futures pour le recalage de ces imageries

Au fur et à mesure de la progression des techniques d'imagerie médicale, un intérêt grandissant est né de la possibilité de combiner par les outils informatiques de recalage les données anatomiques, morphologiques et fonctionnelles d'un même malade[74]. Il a bien été montré que la combinaison de ces informations (scanner, IRM, médecine nucléaire) pouvait améliorer aussi bien l'évaluation diagnostique (ex : cancérologie[75]) mais également pronostique des malades avant d'éventuelles procédures thérapeutiques (ex : neuro-chirurgie[76]). L'intérêt de cette imagerie multimodale a bien été montré en cardiologie[74].

Dans le domaine du recalage multimodal et de la fusion des différentes techniques d'imagerie, il apparaît plus précis d'utiliser une acquisition anatomique et fonctionnelle en volume (et les données portées par chaque voxel) plutôt que de passer par des formes segmentés de l'organe considéré[77]. (étant donné les éventuelles erreurs lors des étapes de reconstruction (déjà abordées)). Ceci soulignant une nouvelle fois les limites de notre analyse 17-segments qui a néanmoins l'avantage de permettre une analyse rapide et comparative des examens de routine réalisés dans le suivi.

Une problématique similaire de recalage anatomique et fonctionnel existe dans le domaine de l'ablation endocavitaire de substrat arrythmogène. Dans le traitement de la fibrillation atriale par exemple, plusieurs travaux ont montré qu'il était possible de fusionner des images anatomiques scanner avec des images de cartographie électro-anatomique de l'oreillette gauche[78]. On citera notamment l'intérêt du logiciel d'analyse CARTO-merge[79].

Concernant la thérapie cellulaire cardiaque, puisque la voie endocardique a montré le meilleur taux de rétention cellulaire[68], il apparait également essentiel de cibler la thérapie selon une topographie la plus précise possible.

Sur le plan théorique, il est capital pour effectuer un recalage de deux volumes acquis sur différentes modalités d'examen de disposer de 3 paires de points dont la position serait repérable[78]. Lors de la procédure de cartographie NOGA, il est possible d'obtenir les positions de l'apex, l'anneau mitral (selon ses caractéristiques électro-mécaniques[42]). L'axe apex/base est obtenue et fiable si la cartographie réalisée est exhaustive. Un troisième point repère pouvant être le faisceau de His, repérable électriquement et dont la position anatomique antéro-septal basal, près de la racine aortique est très peu variable. On pourrait ainsi proposer pour les futurs projets de thérapie cellulaire par injection endocardique guidée par la NOGA que soient repérés (« taggés ») per-procédure le maximum de points anatomiques particuliers.

Un récent travail rapporte la fusion d'un volume 3D représentant l'anatomie endocardique de cœurs de porc (modèle animal expérimental de cardiopathie ischémique) acquis en IRM avec un volume acquis par cathéter électro-mécanique NOGA[68]. La correspondance de points « taggés » avec des données morphologiques TDM et/ou IRM permetteraient un recalage optimal des données.

Le TEP-scan apportant à la fois ces informations mais également des données de viabilité de référence[59], corrélées à celles de la NOGA[71], semble être la technique la plus adaptée pour remplir ces objectifs.
On soulignera par ailleurs qu'il s'agit d'un examen de référence pour le diagnostic de viabilité qui, contrairement à l'IRM, peut être réalisé en présence d'un défibrillateur implantable.

Evaluation des procédures d'injections

Chacune des procédures d'injection a pu être complète pour chacun des patients respectant la première phase de cartographie endomyocardique et la deuxième phase d'injection. Ces procédures ont été similaires dans leurs réalisations dans nos deux centres.

Le nombre d'injections est resté strictement conforme au protocole établi (14,1 ±2,56) et concordants avec d'autres travaux de thérapie cellulaire avec injections endomyocardiques[64,65,67]. Néanmoins, le nombre de cellules injectées n'a pas été dans les objectifs fixés initialement et 4 patients seulement ont reçu des doses de plus de 60 millions de cellules.
La dose minimale reçue était de 30 millions. Il est important de souligner que malgré des doses injectées plus faibles que prévu, des travaux récents rapportent des résultats fonctionnels positifs et plus marqués avec des doses moindres (20 millions) que chez des patients ayant reçu un nombre supérieur de cellules (200 millions)[80].

Les zones d'injection définies par un moyennage des points directement adjacents au site d'injection ont montré un respect des critères électriques et mécaniques de guidage dans près de 2/3 des cas. Ceci étant corroboré par les données fonctionnels échocardiographiques et SPECT des segments injectés. De façon subjective, le contrôle visuel des sites injectés pour chaque des procédures semble également montrer un ciblage correct vers les zones bordantes des territoires infarcis.

Limites de l'étude

La limite la plus évidente concerne le faible effectif de patients traités dont on a analysé l'évolution fonctionnelle. Il est important de rappeler que l'objectif primaire de l'étude MESAMI I concerne la faisabilité et la sécurité de la technique d'injection endocardique. Ces résultats ne sont pas connus à ce stade, en effet, le suivi longitudinal des patients reste en cours. L'analyse fonctionnelle réalisée souffre d'un manque de puissance, rendant délicate une extrapolation de ses résultats. Néanmoins, on pourra également souligner l'absence d'aggravation des malades sur les imageries analysées.

Nos résultats souffrent également de nombreuses données manquantes qui limitent leurs portées. L'analyse topographique des sites d'injection, par exemple, n'a été possible que chez 6 patients sur les 10 inclus et traités. En effet, pour suivre la méthodologie mise en place, le recours aux données scintigraphiques brutes était nécessaire. Néanmoins, malgré ce faible nombre d'individus, les statistiques concernent pour chacun 17 segments où chaque patient est son propre contrôle. Au total, alors que l'analyse globale souffre du faible effectif des malades, l'analyse segmentaire semble avoir une validité accrue de ses résultats.

Le caractère multicentrique de l'étude est un point fort de l'essai MESAMI. Il a permis la diversité des inclusions et un recrutement plus rapide des patients répondant aux critères d'inclusions. Cependant, quelques différences de suivi inter-centre ont pu compliquer l'analyse fonctionnelle présentée. Par exemple, alors que l'analyse du strain longitudinal est un résultat pertinent de l'analyse segmentaire, les différences de matériel (échographes fournis par des firmes concurrentes avec algorithmes de calcul de la déformation différents et donc peu comparables) ont restreint cette étude aux données homogènes disponibles.

Enfin, il est important de signaler que le design de l'essai MESAMI n'a pas inclus initialement la réalisation de l'analyse topographique des injections. La méthodologie décrite dans ce travail a donc été pensée et adaptée rétrospectivement à partir des données existantes. Les données de cartographie endocavitaire NOGA, notamment, ont pu être partielles et les efforts en salle ont souvent été concentrés sur une exploration exhaustive des régions bordantes des territoires infarcis.

Les segments sains ou cicatriciels ont peut-être été moins bien explorés. Ceci rend compte d'un pourcentage notable de segments dont le mapping ne répond pas strictement aux critères de qualité que l'on retrouve dans la littérature (24,8%)[42]. De plus, comme précédemment énoncé, quelques points de repérage endocavitaires auraient pu être recherchés (faisceau de His, racine aortique, meilleure définition de l'anneau mitral) et repérés (« taggés ») per-procédures pour une orientation anatomique des cartographies NOGA, en complément de l'étude fonctionnelle.

L'ensemble de la méthodologie décrite de recalage des bull-eyes NOGA à partir des données de viabilité obtenues en SPECT, pour garantir les résultats obtenus, va nécessiter une phase de validation a posteriori.

CONCLUSION

La thérapie cellulaire cardiaque, après plus de dix ans de recherche active, a mis en évidence la possibilité d'améliorer la fonction cardiaque dans diverses situations pathologiques. Les enjeux actuels concernent la recherche de la meilleure stratégie thérapeutique : type cellulaire, doses, modalités d'injection et évaluation en pratique clinique du traitement.

L'essai pré-clinique MESAMI 1 s'inscrit intégralement dans cette démarche. Au-delà de l'objectif prioritaire de sécurité de l'étude, notre première expérience de faisabilité de la technique a montré la possibilité de réalisation des injections pour l'ensemble des patients avec un ciblage adéquat dans la majorité des cas.

Les résultats fonctionnels retrouvés dans ce travail sont très prometteurs. En effet, malgré ses limites et le faible effectif de patients, la progression de la FEVG dans le temps et la réduction de l'ischémie myocardique constatées sur l'analyse fonctionnelle globale sont concordantes avec les espoirs mis dans le projet de recherche clinique de phase 2.

Enfin, il est vraisemblable que l'expérience acquise avec la technologie d'injection endocardique par voie endocavitaire NOGA nous permette d'appréhender à l'avenir plus précisément les effets locaux de la thérapeutique. Grâce à la méthodologie d'analyse segmentaire des effets fonctionnels liés aux injections des cellules souches mésenchymateuses, nous avons mis en évidence une amélioration du strain longitudinal des segments injectés. Cette première approche est à développer mais il semble qu'une analyse multimodale morphologique et fonctionnelle locale soit désormais indispensable pour une meilleure compréhension des mécanismes physiologiques mis en jeu en thérapie cellulaire.

BIBLIOGRAPHIE

1. Jessup, M. & Brozena, S. Heart failure. *N. Engl. J. Med.* **348,** 2007–2018 (2003).
2. McMurray, J. J. V. *et al.* ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur. J. Heart Fail.* **14,** 803–869 (2012).
3. Pfeffer, M. A. & Braunwald, E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation* **81,** 1161–1172 (1990).
4. Cleland, J. G. F., Torabi, A. & Khan, N. K. Epidemiology and management of heart failure and left ventricular systolic dysfunction in the aftermath of a myocardial infarction. *Heart Br. Card. Soc.* **91 Suppl 2,** ii7–13; discussion ii31, ii43–48 (2005).
5. Heidenreich, P. A. *et al.* Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States: a policy statement from the American Heart Association. *Circulation* **123,** 933–944 (2011).
6. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet* **353,** 2001–2007 (1999).
7. Minicucci, M. F., Azevedo, P. S., Polegato, B. F., Paiva, S. A. R. & Zornoff, L. A. M. Heart failure after myocardial infarction: clinical implications and treatment. *Clin. Cardiol.* **34,** 410–414 (2011).
8. Cleland, J. G. F. *et al.* The effect of cardiac resynchronization on morbidity and mortality in heart failure. *N. Engl. J. Med.* **352,** 1539–1549 (2005).
9. Mancini, D. & Lietz, K. Selection of cardiac transplantation candidates in 2010. *Circulation* **122,** 173–183 (2010).
10. Anversa, P., Leri, A. & Kajstura, J. Cardiac regeneration. *J. Am. Coll. Cardiol.* **47,** 1769–1776 (2006).
11. Mias, C., Genet, G., Pathak, A., Sénard, J.-M. & Galés, C. [Adult resident cardiomyocytes wake up: new axis for cardiac tissue regeneration]. *Médecine Sci. MS* **28,** 1103–1109 (2012).
12. Rosenthal, N. & Tsao, L. Helping the heart to heal with stem cells. *Nat. Med.* **7,** 412–413 (2001).
13. Sanganalmath, S. K. & Bolli, R. Cell therapy for heart failure: a comprehensive overview of experimental and clinical studies, current challenges, and future directions. *Circ. Res.* **113,** 810–834 (2013).
14. Menasché, P. [Perspectives in cardiac cell therapy]. *Presse Médicale Paris Fr. 1983* **36 Spec No 1,** 1S55–58 (2007).
15. Deutsch, M.-A., Sturzu, A. & Wu, S. M. At a crossroad: cell therapy for cardiac repair. *Circ. Res.* **112,** 884–890 (2013).
16. Grounds, M. D., White, J. D., Rosenthal, N. & Bogoyevitch, M. A. The role of stem cells in skeletal and cardiac muscle repair. *J. Histochem. Cytochem. Off. J. Histochem. Soc.* **50,** 589–610 (2002).
17. Donndorf, P., Strauer, B.-E., Haverich, A. & Steinhoff, G. Stem cell therapy for the treatment of acute myocardial infarction and chronic ischemic heart disease. *Curr. Pharm. Biotechnol.* **14,** 12–19 (2013).
18. Martin-Rendon, E. *et al.* Autologous bone marrow stem cells to treat acute myocardial infarction: a systematic review. *Eur. Heart J.* **29,** 1807–1818 (2008).
19. Assmus, B. *et al.* Clinical outcome 2 years after intracoronary administration of bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *Circ. Heart Fail.* **3,** 89–96 (2010).
20. Menasche, P. Cardiac cell therapy: lessons from clinical trials. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **50,** 258–265 (2011).
21. Roncalli, J. *et al.* Intracoronary autologous mononucleated bone marrow cell infusion for acute myocardial infarction: results of the randomized multicenter BONAMI trial. *Eur. Heart J.* **32,** 1748–1757 (2011).
22. Clifford, D. M. *et al.* Stem cell treatment for acute myocardial infarction. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2,** CD006536 (2012).

23. Chen, S. *et al.* Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* **94,** 92–95 (2004).
24. Gho, J. M. I. H. *et al.* Cell therapy, a novel remedy for dilated cardiomyopathy? A systematic review. *J. Card. Fail.* **19,** 494–502 (2013).
25. Pittenger, M. F. & Martin, B. J. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ. Res.* **95,** 9–20 (2004).
26. Makino, S. *et al.* Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J. Clin. Invest.* **103,** 697–705 (1999).
27. Dai, W. *et al.* Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in postinfarcted rat myocardium: short- and long-term effects. *Circulation* **112,** 214–223 (2005).
28. Tomita, S. *et al.* Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation* **100,** II247–256 (1999).
29. Schuleri, K. H. *et al.* Autologous mesenchymal stem cells produce reverse remodelling in chronic ischaemic cardiomyopathy. *Eur. Heart J.* **30,** 2722–2732 (2009).
30. Gnecchi, M. *et al.* Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells. *Nat. Med.* **11,** 367–368 (2005).
31. Menasché, P. *et al.* The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial: first randomized placebo-controlled study of myoblast transplantation. *Circulation* **117,** 1189–1200 (2008).
32. Assmus, B. *et al.* Transcoronary transplantation of functionally competent BMCs is associated with a decrease in natriuretic peptide serum levels and improved survival of patients with chronic postinfarction heart failure: results of the TOPCARE-CHD Registry. *Circ. Res.* **100,** 1234–1241 (2007).
33. Stamm, C. *et al.* Intramyocardial delivery of CD133+ bone marrow cells and coronary artery bypass grafting for chronic ischemic heart disease: safety and efficacy studies. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **133,** 717–725 (2007).
34. Vrtovec, B. *et al.* Effects of intracoronary CD34+ stem cell transplantation in nonischemic dilated cardiomyopathy patients: 5-year follow-up. *Circ. Res.* **112,** 165–173 (2013).
35. Abstracts from the American Heart Association scientific sessions 2010. *Circulation* **122,** A1 (2010).
36. Bolli, R. *et al.* Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO): initial results of a randomised phase 1 trial. *Lancet* **378,** 1847–1857 (2011).
37. Makkar, R. R. *et al.* Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial. *Lancet* **379,** 895–904 (2012).
38. Hare, J. M. *et al.* A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* **54,** 2277–2286 (2009).
39. Li, Q. *et al.* Intracoronary administration of cardiac stem cells in mice: a new, improved technique for cell therapy in murine models. *Basic Res. Cardiol.* **106,** 849–864 (2011).
40. Hou, D. *et al.* Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: implications for current clinical trials. *Circulation* **112,** I150–156 (2005).
41. Freyman, T. *et al.* A quantitative, randomized study evaluating three methods of mesenchymal stem cell delivery following myocardial infarction. *Eur. Heart J.* **27,** 1114–1122 (2006).
42. Gyöngyösi, M. & Dib, N. Diagnostic and prognostic value of 3D NOGA mapping in ischemic heart disease. *Nat. Rev. Cardiol.* **8,** 393–404 (2011).
43. Van der Spoel, T. I. G. *et al.* Transendocardial cell injection is not superior to intracoronary infusion in a porcine model of ischaemic cardiomyopathy: a study on delivery efficiency. *J. Cell. Mol. Med.* **16,** 2768–2776 (2012).
44. Gyöngyösi, M., Sochor, H., Khorsand, A., Gepstein, L. & Glogar, D. Online myocardial viability assessment in the catheterization laboratory via NOGA electroanatomic mapping: Quantitative comparison with thallium-201 uptake. *Circulation* **104,** 1005–1011 (2001).

45. Gyöngyösi, M. *et al.* Characterization of hibernating myocardium with NOGA electroanatomic endocardial mapping. *Am. J. Cardiol.* **95,** 722–728 (2005).
46. Wolf, T. *et al.* Detailed endocardial mapping accurately predicts the transmural extent of myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* **37,** 1590–1597 (2001).
47. Cerqueira, M. D. *et al.* Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart. A statement for healthcare professionals from the Cardiac Imaging Committee of the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association. *Circulation* **105,** 539–542 (2002).
48. Hoffer, E. P., Dewé, W., Celentano, C. & Piérard, L. A. Low-level exercise echocardiography detects contractile reserve and predicts reversible dysfunction after acute myocardial infarction: comparison with low-dose dobutamine echocardiography. *J. Am. Coll. Cardiol.* **34,** 989–997 (1999).
49. Donal, E. [The significance and development of quantitative study of the myocardium with echocardiography]. *Arch. Mal. Coeur Vaiss.* **100,** 1037–1041 (2007).
50. Greenbaum, R. A., Ho, S. Y., Gibson, D. G., Becker, A. E. & Anderson, R. H. Left ventricular fibre architecture in man. *Br. Heart J.* **45,** 248–263 (1981).
51. Biswas, M. *et al.* Two- and three-dimensional speckle tracking echocardiography: clinical applications and future directions. *Echocardiogr. Mt. Kisco N* **30,** 88–105 (2013).
52. Richand, V. *et al.* An ultrasound speckle tracking (two-dimensional strain) analysis of myocardial deformation in professional soccer players compared with healthy subjects and hypertrophic cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.* **100,** 128–132 (2007).
53. Wang, J., Khoury, D. S., Yue, Y., Torre-Amione, G. & Nagueh, S. F. Preserved left ventricular twist and circumferential deformation, but depressed longitudinal and radial deformation in patients with diastolic heart failure. *Eur. Heart J.* **29,** 1283–1289 (2008).
54. Koyama, J. & Falk, R. H. Prognostic significance of strain Doppler imaging in light-chain amyloidosis. *JACC Cardiovasc. Imaging* **3,** 333–342 (2010).
55. Choi, J.-O. *et al.* Longitudinal 2D strain at rest predicts the presence of left main and three vessel coronary artery disease in patients without regional wall motion abnormality. *Eur. J. Echocardiogr. J. Work. Group Echocardiogr. Eur. Soc. Cardiol.* **10,** 695–701 (2009).
56. Nahum, J. *et al.* Impact of longitudinal myocardial deformation on the prognosis of chronic heart failure patients. *Circ. Cardiovasc. Imaging* **3,** 249–256 (2010).
57. Gjesdal, O. *et al.* Global longitudinal strain measured by two-dimensional speckle tracking echocardiography is closely related to myocardial infarct size in chronic ischaemic heart disease. *Clin. Sci. Lond. Engl. 1979* **113,** 287–296 (2007).
58. Roes, S. D. *et al.* Validation of echocardiographic two-dimensional speckle tracking longitudinal strain imaging for viability assessment in patients with chronic ischemic left ventricular dysfunction and comparison with contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Am. J. Cardiol.* **104,** 312–317 (2009).
59. Bax, J. J., van der Wall, E. E. & Harbinson, M. Radionuclide techniques for the assessment of myocardial viability and hibernation. *Heart Br. Card. Soc.* **90 Suppl 5,** v26–33 (2004).
60. Hutyra, M. *et al.* Speckle tracking echocardiography derived systolic longitudinal strain is better than rest single photon emission tomography perfusion imaging for nonviable myocardium identification. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacký Olomouc Czechoslov.* **157,** 12–21 (2013).
61. Rodrigo, S. F. *et al.* Intramyocardial injection of bone marrow mononuclear cells in chronic myocardial ischemia patients after previous placebo injection improves myocardial perfusion and anginal symptoms: an intra-patient comparison. *Am. Heart J.* **164,** 771–778 (2012).
62. Hendrikx, M. *et al.* Recovery of regional but not global contractile function by the direct intramyocardial autologous bone marrow transplantation: results from a randomized controlled clinical trial. *Circulation* **114,** I101–107 (2006).
63. Losordo, D. W. *et al.* Intramyocardial transplantation of autologous CD34+ stem cells for intractable angina: a phase I/IIa double-blind, randomized controlled trial. *Circulation* **115,** 3165–3172 (2007).
64. Tse, H.-F. *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.* **28,** 2998–3005 (2007).

65. Van Ramshorst, J. *et al.* Intramyocardial bone marrow-derived mononuclear cell injection for chronic myocardial ischemia: the effect on diastolic function. *Circ. Cardiovasc. Imaging* **4,** 122–129 (2011).
66. Fuchs, S. *et al.* Safety and feasibility of transendocardial autologous bone marrow cell transplantation in patients with advanced heart disease. *Am. J. Cardiol.* **97,** 823–829 (2006).
67. Haack-Sørensen, M. *et al.* Direct intramyocardial mesenchymal stromal cell injections in patients with severe refractory angina: one-year follow-up. *Cell Transplant.* **22,** 521–528 (2013).
68. Williams, A. R. *et al.* Durable scar size reduction due to allogeneic mesenchymal stem cell therapy regulates whole-chamber remodeling. *J. Am. Heart Assoc.* **2,** e000140 (2013).
69. Kornowski, R., Hong, M. K. & Leon, M. B. Comparison between left ventricular electromechanical mapping and radionuclide perfusion imaging for detection of myocardial viability. *Circulation* **98,** 1837–1841 (1998).
70. DePasquale, E. E. *et al.* Quantitative rotational thallium-201 tomography for identifying and localizing coronary artery disease. *Circulation* **77,** 316–327 (1988).
71. Graf, S. *et al.* Electromechanical properties of perfusion/metabolism mismatch: comparison of nonfluoroscopic electroanatomic mapping with 18F-FDG PET. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **45,** 1611–1618 (2004).
72. Keck, A. *et al.* Electromechanical mapping for determination of myocardial contractility and viability. A comparison with echocardiography, myocardial single-photon emission computed tomography, and positron emission tomography. *J. Am. Coll. Cardiol.* **40,** 1067–1074; discussion 1075–1078 (2002).
73. Berman, D. S., Hayes, S. W., Shaw, L. J. & Germano, G. Recent advances in myocardial perfusion imaging. *Curr. Probl. Cardiol.* **26,** 1–140 (2001).
74. Van der Hoeven, B. L., Schalij, M. J. & Delgado, V. Multimodality imaging in interventional cardiology. *Nat. Rev. Cardiol.* **9,** 333–346 (2012).
75. Townsend, D. W. Positron emission tomography/computed tomography. *Semin. Nucl. Med.* **38,** 152–166 (2008).
76. Risholm, P., Golby, A. J. & Wells, W., 3rd. Multimodal image registration for preoperative planning and image-guided neurosurgical procedures. *Neurosurg. Clin. N. Am.* **22,** 197–206, viii (2011).
77. Slomka, P. J. & Baum, R. P. Multimodality image registration with software: state-of-the-art. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **36 Suppl 1,** S44–55 (2009).
78. Kuklik, P., Szumowski, L., Zebrowski, J. J. & Sanders, P. Integration of the data from electroanatomical mapping system and CT imaging modality. *Int. J. Cardiovasc. Imaging* **25,** 425–432 (2009).
79. Dong, J. *et al.* Integrated electroanatomic mapping with three-dimensional computed tomographic images for real-time guided ablations. *Circulation* **113,** 186–194 (2006).
80. Hare, J. M. *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 J. Am. Med. Assoc.* **308,** 2369–2379 (2012).

NOM : GUIJARRO PRENOM : Damien

Titre de Thèse :

Essai clinique MESAMI de thérapie cellulaire cardiaque : résultats fonctionnels et injections endocardiques.

RESUME

L'essai clinique bi-centrique de thérapie cellulaire cardiaque MESAMI (étude de phase 1, *NCT01076920*) évalue la faisabilité et la sécurité d'injections de cellules souches mésenchymateuses autologues par voie endocardique pour les patients atteints de cardiopathie ischémique chronique non revascularisable. Le présent travail rapporte les résultats fonctionnels obtenus en imagerie cardiaque au cours du suivi à un an et fait l'évaluation des procédures d'injections réalisées chez les 10 patients inclus.

14,10 ±2,56 injections ont été réalisées par patient ciblant correctement les segments myocardiques demeurés viables. A 3 mois et un an, la FEVG des patients est significativement plus élevée avec une amélioration du strain longitudinal des segments myocardiques injectés et une réduction de l'ischémie myocardique en SPECT à 3 mois.

L'expérience acquise et les résultats obtenus sont très encourageants pour la phase 2 de MESAMI.

MOTS-CLES

Thérapie cellulaire cardiaque ; cardiopathie ischémique chronique ; cellules souches mésenchymateuses ; injection endocardique