

UNIVERSITÉ MOHAMMED V-RABAT
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT

ANNÉE : 2016

THÈSE N° :31

APPROCHE DE LA THÉRAPIE CELLULAIRE :
CAS DE LA MALADIE DE PARKINSON
REVUE DE LA LITTÉRATURE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mlle. Gnon Sounon Isabelle Isibath OROU SÈGO

Née le 26 Septembre 1993 à N'Dali (BENIN)

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLÉS : Cellules souches – Thérapie cellulaire – Maladie de Parkinson

JURY

Mr. M. ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

Mr. O. CHOKAIRI

Professeur d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique

Mme. M. BARKIYOU

Professeur d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique

Mme. W. REGRAGUI

Professeur de Neurologie

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES



**UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE – RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ – HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI

Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT

Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA

Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK

Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Mai et Octobre 1981

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih
Pr. TAOBANE Hamid*

Chirurgie Cardio-Vasculaire
Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

Pr. BENOSMAN Abdellatif

Chirurgie Thoracique

Novembre 1983

Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI

Rhumatologie

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz

Médecine Interne – *Clinique Royale*

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Anesthésie -Réanimation
pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima
Pr. BENSAID Younes
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali
Pr. CHAHED OUAZZANI Houria
Pr. EL YAACOUBI Moradh
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie
Gastro-Entérologie
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida
Pr. HERMAS Mohamed

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali*
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne –**Doyen de la FMPR**
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation –**Doyen de la FMPO**
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – **Dir. du Centre National PV**
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil

Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation

Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DAOUDI Rajae
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL AOUAD Rajae
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. MOUDENE Ahmed*
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BRAHMI Rida Slimane
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. EL ABBADI Najia
Pr. HANINE Ahmed*
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz

Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie **Inspecteur du SS**
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique

Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. MOHAMMADI Mohamed
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAOUIR Souad*
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. OUAHABI Hamid*
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. EZZAITOUNI Fatima
Pr. LAZRAK Khalid *
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*
Pr. LABRAIMI Ahmed*

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*

Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation – **Dir. HMIM**
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - **Directeur ERSM**
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neurologie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Gastro-Entérologie
Neurologie – **Doyen Abulcassis**
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Traumatologie Orthopédie
Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Pneumophtisiologie

Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-ptisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-ptisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AIT OURHROUI Mohamed
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. HSSAIDA Rachid*
Pr. LAHLOU Abdou
Pr. MAFTAH Mohamed*
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. NASSIH Mohamed*
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil
Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid

Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-ptisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie

Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBABH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. EL MANSARI Omar*
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. IKEN Ali
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. LAGHMARI Mina
Pr. MABROUK Hfid*
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
Pr. NAITLHO Abdelhamid*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RACHID Khalid *
Pr. RAISS Mohamed
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation

Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Pédiatrie
Chirurgie Générale

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHABOUZE Samira
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. LEZREK Mohammed*
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie Orthopédie
Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Nouredine*
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENHALIMA Hanane
Pr. BENYASS Aatif
Pr. BERNOUSSI Abdelghani
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. EL HAMZAOUI Sakina*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*
Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Cardiologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie (mise en disponibilité)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. AKJOUJ Saïd*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. ESSAMRI Wafaa
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. GHADOUANE Mohammed*
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SEKKAT Fatima Zahra
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saïda*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie
Radiologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Gastro-entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Urologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leïla
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AMMAR Haddou*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
ORL
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale

Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GANA Rachid
Pr. GHARIB Noureddine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MOUTAJ Redouane *
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMAHZOUNE Brahim*
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. AZENDOUR Hicham*

Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Neuro chirurgie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologique
Parasitologie
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Médecine interne
Pédiatre
Chirurgie Générale
Neurologie
Neuro-chirurgie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Rhumatologie
Neuro-chirurgie
Anesthésie Réanimation

Pr. BELYAMANI Lahcen*
 Pr. BJIJOU Younes
 Pr. BOUHSAIN Sanae*
 Pr. BOUI Mohammed*
 Pr. BOUNAIM Ahmed*
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
 Pr. CHAKOUR Mohammed *
 Pr. CHTATA Hassan Toufik*
 Pr. DOGHMI Kamal*
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. EL OUENNASS Mostapha*
 Pr. ENNIBI Khalid*
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. KARBOUBI Lamyia
 Pr. L'KASSIMI Hachemi*
 Pr. LAMSAOURI Jamal*
 Pr. MARMADÉ Lahcen
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. MESSAOUDI Nezha *
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
 Pr. ZOUHAIR Said*

Anesthésie Réanimation
 Anatomie
 Biochimie-chimie
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Traumatologie orthopédique
 Hématologie biologique
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Hématologie clinique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Médecine interne
 Gynécologie obstétrique
 Rhumatologie
 Gastro-entérologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Microbiologie
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Pédiatrie
 Hématologie biologique
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Cardiologie
 Pneumo-phtisiologie
 Microbiologie

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. CHADLI Mariama*
 Pr. CHEMSI Mohamed*
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. LEZREK Mounir
 Pr. MALIH Mohamed*
 Pr. MOSADIK Ahlam
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. NAZIH Mouna*

Anesthésie réanimation
 Médecine interne
 Physiologie
 ORL
 Microbiologie
 Médecine aéronautique
 Biochimie chimie
 Radiologie
 Chirurgie pédiatrique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Urologie
 Gastro entérologie
 Anatomie pathologique
 Ophtalmologie
 Pédiatrie
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie générale
 Hématologie

Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSEFFAJ Nadia
Pr. BENSGHIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria
Pr. EL KHANNOUSSI Basma
Pr. EL KHLOUFI Samir
Pr. EL KORAICHI Alae
Pr. EN-NOUALI Hassane*
Pr. ERRGUIG Laila

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique
Immunologie
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie
Anatomie Pathologie
Anatomie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Physiologie

Pr. FIKRI Meryim
Pr. GHANIMI Zineb
Pr. GHFIR Imade
Pr. IMANE Zineb
Pr. IRAQI Hind
Pr. KABBAJ Hakima
Pr. KADIRI Mohamed*
Pr. LATIB Rachida
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
Pr. MEDDAH Bouchra
Pr. MELHAOUI Adyl
Pr. MRABTI Hind
Pr. NEJJARI Rachid
Pr. OUBEJJA Houda
Pr. OUKABLI Mohamed*
Pr. RAHALI Younes
Pr. RATBI Ilham
Pr. RAHMANI Mounia
Pr. REDA Karim*
Pr. REGRAGUI Wafa
Pr. RKAIN Hanan
Pr. ROSTOM Samira
Pr. ROUAS Lamiaa
Pr. ROUIBAA Fedoua*
Pr. SALIHOUN Mouna
Pr. SAYAH Rochde
Pr. SEDDIK Hassan*
Pr. ZERHOUNI Hicham
Pr. ZINE Ali*

Radiologie
Pédiatrie
Médecine Nucléaire
Pédiatrie
Endocrinologie et maladies métaboliques
Microbiologie
Psychiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Pharmacologie
Neuro-chirurgie
Oncologie Médicale
Pharmacognosie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie Pathologique
Pharmacie Galénique
Génétique
Neurologie
Ophtalmologie
Neurologie
Physiologie
Rhumatologie
Anatomie Pathologique
Gastro-Entérologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gastro-Entérologie
Chirurgie Pédiatrique
Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
Pr. GHOUNDALE Omar*
Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Urologie
Médecine Interne

**Enseignants Militaires*

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. BARKYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootchnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbès	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 09/01/2015 par le
Service des Ressources Humaines*

- 9 JAN 2015



DEDICACES



TO MY ONLY GOD

Oh hallølujah, Hallølujah, Oh hallølujah
I found Your love, When I lost my heart to You
You have my heart oh God and i have this love in you





À ma Mère

OUOROU BOURO Dèrou

Il est difficile de trouver les mots exacts pour t'exprimer tout mon amour et toute ma reconnaissance. L'une des plus belles leçons que tu m'as apprises est : « si tu veux faire quelque chose, assure-toi de le faire très bien sinon laisse tomber ». Elle m'a permis de me donner à fond dans tout ce que j'entreprends. Merci **ma Valentine** de tous les temps.

À mon père

OROU SEGO Orou Gabé

L'époque où je sautais sur tes cuisses me manque, mais je suis réconfortée par le fait de savoir que je te rends fier. Mon cher honorable, j'ai appris d'une amie proche que les papayers ne font pas des pommes. Tout ça pour te dire que je tiens de toi...Merci

À mes belles mères

Clarisse et Awaou

Il faut de tout pour faire l'éducation d'un enfant. Je vous remercie pour votre présence et votre affection.

À mes grands parents

Que Dieu vous prête encore longue vie





À mes frères et soeurs :

TITI M. Chérifath ; OROU SÉGO Inès ; OROU SÉGO Ismaël ; OROU SÉGO Igor ; OROU SÉGO Ingrid ; OROU SÉGO Ignace ; OROU SÉGO Ida

On ne choisit pas sa famille mais je n'aurais pas pu rêver mieux pour être comblé.

À mes cousins et cousines :

Je ne pourrai pas citer le nom de chacun mais vous savez que je vous porte tous dans mon cœur. Merci pour votre présence dans ma vie.

À mon oncle

Mr Bio Toro OROU GUIWA et à toute sa famille

Vous avez été ma boussole dans ce pays qui m'était inconnu. Merci pour votre présence et votre affection.

À tous mes oncles et tantes

Vous avez été chacun présents pour moi, chacun à sa manière, et je vous suis infiniment reconnaissant

À mes neveux et nièces

Le chemin sera long mais parsemé de belles surprises





Au Docteur Fouad DERROUÏ et à son personnel

Merci à vous pour l'accueil que vous m'avez fait dans votre pharmacie.

A ma promotion en Pharmacie

Spécialement aux amis que j'ai trouvé en chemin : A. Fatima-Zahra, A. Gèneviève, A. Skévié, Amadou S. B., D. Zeynab, G. Rosemonde, K. Mantala, N. Inès, N. Christiana, S. Mamadou Saliou, S. Pascal, S. Fahimatou, S. Hadjaratou

A ma petite famille formée au Maroc

KORA Christine, KORA Lafia, SAKA Castro Serges, DOSSOU Jacqueline, SARE MIZI Abdoulaye, NEGBANE Abdel-Wadjidou, AKAKPO Prisca, OLA Gloria

A tous mes ami(e)s

Vous qui avez accepté monter dans le train de ma vie pour partager mes peines et mes joies ; l'aventure continue





REMERCIEMENTS



À notre maître et Président du jury de thèse

Monsieur le professeur Mimoun ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

C'est un immense honneur que vous nous faites en siégeant dans
notre jury et en le présidant.

Malgré vos multiples sollicitations, vous vous êtes aimablement
montré disponible.

Veuillez accepter, cher maître, l'expression
de notre profonde gratitude, de notre grand respect et de
nos remerciements.





À notre Maître et Rapporteur de Thèse
Monsieur le professeur Omar CHOKAÏRI
Professeur d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique

Maître de thèse, ce travail n'aurait jamais pu aboutir sans votre implication et votre supervision.

C'est votre excellente pédagogie qui m'a motivé à vouloir être encadré par vous afin de bénéficier de vos qualités et votre professionnalisme.

Veuillez voir à travers ce travail le témoignage notre profonde gratitude et de notre grand respect. Nous vous remercions pour toute la peine que vous vous êtes donné.





À notre Maître et juge,

Madame le Professeur Malika BARKIYOU

Professeur d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique

Professeur, nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail de thèse.

Veuillez trouver ici, cher maître, le témoignage de notre reconnaissance et de nos sincères remerciements.





À notre Maître et juge de thèse
Madame le Professeur Wafa REGRAGUI
Professeur agrégé de Neurologie

Vous avez aimablement accepté de juger notre thèse, malgré vos multiples occupations.

Nous vous remercions de l'attention que vous portez à ce travail.

Trouvez ici cher maître, le témoignage de notre reconnaissance et de nos sincères remerciements





SOMMAIRE

LISTE DES ILLUSTRATIONS

INTRODUCTION.....	1
NOTION GENERALE SUR LES CELLULES SOUCHES	3
I. Préambule.....	4
II. Le développement biologique de l’homme.....	4
A. La fécondation.....	5
B. La segmentation	6
C. La blastulation : formation du blastocyste et implantation utérine.....	8
D. La nidation et la pré-gastrulation	9
E. La gastrulation.....	11
F. L’organogenèse.....	12
III. Les cellules souches.....	13
A. Définitions.....	13
1. La cellule	13
2. Cellules souches	14
B. Caractéristiques des cellules souches.....	15
C. Les types de cellules souches.....	17
1. Les cellules souches embryonnaires.....	17
2. Les cellules souches pluripotentes induites	23
3. Cellules souches fœtales.....	26
4. Cellules souches adultes ou tissulaires	29
IV. Chronologie et dates des importantes recherches.....	49
LA THERAPIE CELLULAIRE	53
I. Définitions.....	54
1. Enjeux et perspectives	55
II. Les cellules souches en thérapie cellulaire.....	56
A. Principe et procédé de thérapie cellulaire	56
B. Présentation d’un laboratoire de thérapie cellulaire.....	57
C. Sources et prélèvements des cellules souches.....	58
1. Sources des cellules souches embryonnaires.	58

2.	Sources des cellules souches fœtales.....	59
3.	Sources des cellules souches adultes.....	60
4.	Le clonage thérapeutique.....	62
D.	Culture et amplification des cellules souches	63
1.	Les conditions optimales pour la culture.....	63
2.	Les limites de culture des cellules souches	64
3.	Cas de culture des cellules souches adultes.....	67
4.	Cas de culture des cellules souches embryonnaires	68
E.	Banque des cellules souches	69
III.	Applications.....	71
A.	Les différents domaines thérapeutiques visés.....	71
B.	Les travaux réalisés.....	72
1.	Accomplissements depuis 2007 influencés par l'avancé de la thérapie.....	72
2.	Applications médicales courante.....	74
3.	Les avancées de la thérapie cellulaire	77
IV.	Aspects éthiques, juridiques et religieux de la recherche sur les cellules souches humaines	81
A.	Contexte éthique	81
1.	Pour le stade embryonnaire	82
2.	Le prélèvement fœtal.....	83
3.	Les prélèvements post natals ou les CSA.....	83
4.	Le clonage thérapeutique.....	83
B.	Le contexte juridique	84
1.	Situation juridique du Maroc.....	84
2.	Situation juridique dans les pays européens.....	85
3.	Situation juridique aux Etats -Unis.....	86
C.	Contexte religieux	87
1.	Islam	87
2.	Le Judaïsme	88
3.	Le Catholicisme.....	89

LA MALADIE DE PARKINSON.....	91
I. Historique.....	92
II. Les statistiques sur la maladie.....	94
III. Anatomie fonctionnelle des noyaux gris centraux	95
IV. Physiopathologie et anatomopathologie.....	101
V. Les étiologies	104
A. Les facteurs génétiques	104
B. Les facteurs environnementaux	106
C. Le stress oxydatif	107
VI. Les signes cliniques.....	108
A. Les signes avant-coureurs	109
B. Les symptômes moteurs.....	110
1. La triade.....	110
2. Les troubles de la marche	113
3. Autres symptômes moteurs	114
C. Les symptômes non moteurs.....	121
VII. L'évolution	124
A. Les formes cliniques	124
B. Les phases d'évolution.....	125
VIII. Le diagnostic	126
IX. Les traitements de la maladie de Parkinson	132
A. Traitement pharmacologique	132
1. Anticholinergiques	133
2. Antiparkinsoniens dopaminergiques	133
3. La L- 3,4-Dihydroxyphénylalanine	134
B. Traitements neurochirurgicaux	139
C. Perspectives thérapeutiques	141
LA THERAPIE CELLULAIRE DANS LA MALADIE DE PARKINSON	142
I. Les débuts des recherches	143
II. Les cellules souches candidates	145

A.	Les cellules souches embryonnaires	145
1.	Cellules embryonnaires murines	145
2.	Cellules embryonnaires humaines	148
3.	Vérification de l'efficacité thérapeutique	151
B.	Les cellules souches neurales NSCs	152
1.	Les NSCs issues du fœtus.....	153
2.	Les NSCs du cerveau adulte.....	154
C.	Les cellules souches mésenchymateuses	155
D.	Les cellules souches pluripotentes induites iPSC	156
III.	Les essais réalisés chez l'homme	158
A.	Les neurones fœtaux	158
	Protocole	161
B.	Bilan.....	162
	CONCLUSION	164
	RESUMES	
	REFERENCES	



*Liste des
illustrations*

LISTE DES ABBREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique

BASCs : Bronchioalveolar Stem Cell(s)

BDNF : Brain-derived neurotrophic factor

BMP : Bone Morphogenic Protein

Brd U : Bromodésoxyuridine

COBRA-FISH : COmbined Binary RAtio labelling - Fluorescence in situ hybridization

CSC(s) : Cardiac Stem Cell(s)

CSA : Cellules Souches Adultes

DG : Dental Gyrus

DPC : Doublement de population cumulé

EB : Embryoid body

EGF : Epidermal Growth Factor

EMA : European Medicines Agency

ES : Embryonic Stem cells

FDA : Food and Drug Administration

(b)FGF : (basic) Fibroblast Growth Factor

FIV : Fécondation In Vitro

GABA : Gamma aminobutyric Acid

G-CSF : Granulocyte-colony stimulating factor

GDNF : Glial cell line Derived Neurotrophic Factor

GPe : Globus Pallidus externe

GPi : Globus Pallidus interne

hES : Human Embryonic Stem cells

HLA : Human Leukocyte Antigen (CMH en français)

HO : Hypotension Orthostatique

HSC(s) : Hematopoietic Stem Cell(s)

ICOMT : Inhibiteurs de la Catéchol-O-Méthyl Transférase (COMT : Catéchol-O-Méthyl Transférase)

ICM : Inner Cell Mass

IDDC : Inhibiteurs de la Dopa-Décarboxylase

IMAO : Inhibiteurs de la monoamine oxydase (MAO : Monoamine oxydase)

INSERM : Institut national de la santé et de la recherche médicale

iPSC : induced Pluripotent Stem Cells

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

IRS : Inhibiteurs de la Recapture de la Sérotonine

IVG : Interruption Volontaire de la Grossesse

LIF : Leukemia Inhibitor Factor

L-DOPA : Lévo-3,4-Dihydroxyphénylalanine

MAPC : Multipotent Adult Progenitor Cells

MIAMI : Marrow isolated adult multipotent inducibles

MSC(s) : Mesenchymal Stem Cell(s)

NIH : National Institutes of Health

NCAM : Neural cell adhesion molecule

NGC : Noyaux gris centraux

NST : Noyau sous-thalamique

NSC(s) : Neural Stem Cell(s)

PDGF : Platelet-derived growth factor

SHH : Sonic Hedgehog

SN/SNc/SNr: Substance Noire/ SN pars compacta/ SN pars reticulata

SP : Side Population (cells)

SVZ : Subventricular Zone

TEP : Tomographie par émission de positons (PET en anglais)

TH : Tyrosine Hydroxylase

VA/ VL: Ventral Antérieur / Ventral Latéral (noyau)

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Le développement de l'œuf.....	5
Figure 2 : Les étapes de la fécondation humaine.....	6
Figure 3 : Segmentation- blastulation – gastrulation.....	7
Figure 4 : Le blastocyste tardif.....	8
Figure 5 : De la fécondation à l'implantation.....	8
Figure 6 : La nidation du blastocyste.....	10
Figure 7 : Disque embryonnaire didermique au 14 ^{ème} jour.....	11
Figure 8 : Différenciation des trois feuilletts en différents tissus humains.....	12
Figure 9 : Auto-renouvellement et différenciation d'une cellule souche.....	14
Figure 10 : Différenciation des cellules souches hématopoïétiques.....	16
Figure 11 : La différenciation en feuilletts embryonnaires.....	18
Figure 12 : Le caryotype des ES après un certain nombre de passage.....	20
Figure 13: Potentiel de différenciation des cellules hES et extension thérapeutique.....	22
Figure 14 : Le sang placentaire dit « sang de cordon ».....	27
Figure 15 : Localisation anatomique des cellules souches dans les différents tissus de l'organisme.....	31
Figure 16 : La plasticité des cellules souches adultes.....	32
Figure 17 : Le phénomène de trans-différenciation.....	33
Figure 18 : Le phénomène de dédifférenciation.....	34
Figure 19 : Mécanismes de la plasticité.....	34
Figure 20 : Fusion cellulaire.....	35
Figure 21 : Cellules souches et leur niches.....	37
Figure 22 : Populations de cellules souches dans la moelle osseuse.....	39
Figure 23 : Les cellules souches hématopoïétiques.....	40
Figure 24 : Différenciation des NSCs.....	45
Figure 25 : Thérapie cellulaire et médecine régénératrice.....	54
Figure 26 : Principe de la thérapie cellulaire.....	56

Figure 27 : Exemple de manipulations dans un système clos.....	58
Figure 28 : FIV, source de cellules ES.....	59
Figure 29 : La cryopréservation.....	61
Figure 30 : Le clonage thérapeutique.....	62
Figure 31 : Etablissement de la limite de Hayflick.....	66
Figure 32 : Production de cellules différenciées à partir des cellules ES.....	69
Figure 33 : Greffe d'îlots de Langerhans dans la veine porte du foie.....	76
Figure 34 : Radiographie de la moelle épinière de Darek Fidyka.....	77
Figure 35 : Thérapie cellulaire de lésions de brûlure cutanée radio-induite.....	80
Figure 36 : Pays autorisant la recherche sur les cellules souches embryonnaires.....	87
Figure 37 : <i>Mucuna pruriens</i> , plante utilisée dans les sociétés hindouistes antiques dans le traitement de la Kampavata.....	92
Figure 38 : Coupe frontale idéalisée du cerveau ainsi qu'une coupe transversale du mésencéphale.....	96
Figure 39 : Circuit neuronal formant une boucle fermée entre le cortex cérébral, les ganglions de la base, le thalamus et le cortex cérébral.....	97
Figure 40 : Circuit des NGC indiquant leur action inhibiteur ou excitateur.....	98
Figure 41 : La voie directe avec effet stimulant de la dopamine.....	99
Figure 42 : La voie indirecte avec l'effet inhibiteur de la dopamine.....	100
Figure 43 : Organisation fonctionnelle des NGC dans la maladie de Parkinson.....	102
Figure 44 : Dépigmentation de la SN et corps de Lewy.....	104
Figure 45 : Expression figée et posture fléchie caractéristiques d'un patient souffrant de la maladie de Parkinson.....	113
Figure 46 : Modélisation des différentes fonctions du système de production de la voix et de la parole.....	115
Figure 47 : Sites d'action des médicaments antiparkinsoniens dopaminergiques.....	132
Figure 48 : Système de perfusion duodénale de L-DOPA.....	139
Figure 49 : Dispositifs implantés : neuro-stimulateur, sondes, extension.....	141
Figure 50 : Télécommande pour le patient et programmeur permettant le réglage du neuro-stimulateur par le médecin.....	141

Figure 51 : Sources potentielles de cellules souches destinées au traitement de la maladie de Parkinson.....	145
Figure 52 : Différenciation des cellules ES en cellules neurales.....	146
Figure 53 : La différenciation des cellules ES en neurones dopaminergiques.....	147
Figure 54 : Induction neurale des cellules ES humaines déclenchée par des cellules stromales de moelle osseuse.....	150
Figure 55 : Analyse du comportement des rats parkinsoniens après greffe des cellules ES.....	152
Figure 56 : Les régions qui contiennent les cellules souches (en noir).....	154

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Récapitulatif sur les types de cellules souches.....	49
Tableau II : Les tests d'évaluation de la transformation cellulaire.....	65
Tableau III : Les principales applications en thérapie cellulaire.....	71
Tableau IV : L'avis des grandes religions dominantes dans le monde.....	89
Tableau V : Loci impliqués dans la maladie de Parkinson.....	105
Tableau VI : Critères cliniques utilisés par la banque de cerveaux « Queen Square » pour diagnostiquer la maladie de Parkinson.....	131
Tableau VII : Comparaison des différentes cellules candidates au traitement de la maladie de Parkinson.....	157



Introduction

La thérapie cellulaire et la médecine régénératrice inondent actuellement les publications scientifiques et même les médias. Le domaine le plus sollicité est la thérapie par les cellules souches. Elle a commencé à envahir le monde des traitements à cause de leur capacité aussi bien à s'auto-renouveler qu'à s'engager dans une ou plusieurs voies de différenciation.

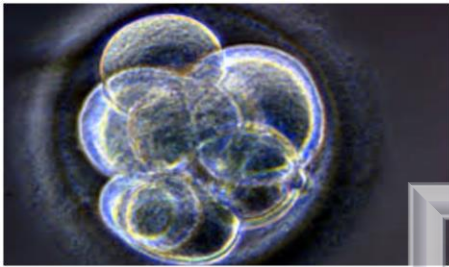
Il existe plusieurs types de cellules souches autant intéressantes les unes que les autres mais avec leurs lots d'avantages et d'inconvénients. Bien que la plupart des projets sur ces cellules souches soit encore au stade expérimental, leur utilisation est entreprise pour pallier à plusieurs pathologies comme l'insuffisance cardiaque, le diabète, **la maladie de Parkinson**, la maladie de Huntington, des brûlures, etc...

La maladie de Parkinson est une pathologie fréquente. Elle arrive en deuxième position des affections neurodégénératives, après la maladie d'Alzheimer. Sa fréquence ne fait que s'élever d'années en années à cause du vieillissement de la population. Il existe plusieurs traitements aussi bien médicamenteux que neurochirurgicaux pour cette maladie, cependant aucun ne semble être complètement efficace contre la pathologie. C'est sans doute ce qui a motivé les chercheurs à se pencher sur le traitement par la thérapie cellulaire, plus précisément par les cellules souches.

Notre étude qui est une revue de la littérature qualitative, a pour objectif de faire l'état de l'utilisation de la thérapie cellulaire dans la maladie de Parkinson. Elle ne peut être bien faite qu'en passant:

- d'abord par une présentation explicite des cellules souches qui fera l'objet de la première partie de notre travail ;
- puis une explication de la thérapie cellulaire et ses applications actuelles qui seront la deuxième partie ;
- et aussi une présentation de la maladie de Parkinson qui sera faite dans la troisième partie.

L'objectif principal de notre étude sera donc abordé dans la quatrième partie de notre travail.



***Première Partie :
Notion Générale Sur
Les Cellules Souches***

I. Préambule

Notre corps est composé de plusieurs dizaines de milliards de cellules, quantité maintenue constante, malgré le phénomène d'apoptose : suicide cellulaire normal. L'exemple le plus palpable est celui des globules rouges estimés entre 4 et 5 millions par mm^3 de sang alors que la durée de vie de chaque globule rouge est de 120 jours. Ce stock de cellules est donc nécessairement renouveler en permanence pour assurer l'oxygénation des tissus ; mais où et comment ? Ces questions ont conduit les histologistes à la conclusion que la moelle osseuse est «l'usine à fabriquer les cellules sanguines», et la rate également.[1]

Mais il fallut les événements tragiques d'Hiroshima et de Nagasaki pour comprendre ce qui se passait. Les pauvres gens qui avaient échappé à la mort immédiate au moment de l'explosion, mourraient une dizaine de jours après, quand ils avaient été exposés aux rayonnements, dans un état d'aplasie (plus de cellules dans leur moelle osseuse et leur rate réduite). C'est à partir de ce sinistre constat et de la comparaison avec la biologie d'individus normaux que des travaux scientifiques plus poussés ont conduits :

- au concept de **cellules « souches »**, capables de se diviser en cas de diminution du taux des cellules circulantes et de donner des lignées de cellules filles. Par un message intercellulaire, chaque division de cellule souche permet de maintenir constant le capital global des cellules et celui des cellules souches. [1, 2]
- au concept de **capacité de régénération cellulaire** de la peau et du foie en particulier. [2]
- au concept de **transfert par transfusion des cellules souches médullaires** [3]

II. Le développement biologique de l'homme

L'embryologie est la science qui étudie le développement de l'être vivant depuis la fécondation de l'œuf jusqu'à la fin du stade embryonnaire (fin du 2^{ème} mois chez l'être humain), qui marque l'acquisition de la forme définitive. [5]

L'œuf humain naît de la fusion de deux cellules : le spermatozoïde et l'ovule. Il subit une série de divisions produisant d'abord des cellules qui se répartissent en deux groupes, les uns formant l'embryon, et les autres les annexes protectrices et nourricières (futur placenta, cavité amniotique, cordon ombilical). A la troisième semaine apparaît une cavité liquidienne : les annexes forment sa paroi, et l'embryon est un bouton, puis un disque accroché à la paroi, suspendu dans le liquide. Le disque se creuse, individualisant deux feuillets, puis trois, à partir desquels les différents organes s'ébauchent au cours de transformations complexes (organogenèse). A la huitième semaine, l'embryon est devenu un fœtus. [5]



Figure 1 : Le développement de l'œuf [4]

A. La fécondation

C'est la formation d'un œuf ou zygote par l'union d'un ovule et d'un spermatozoïde. Il s'agit d'une interaction complexe qui a lieu le plus souvent dans le tiers externe de la trompe de Fallope quelques heures après l'ovulation. La pénétration d'un spermatozoïde à travers la paroi de l'ovule entraîne une cascade de réactions qui aboutit à la fusion des noyaux ou

pronuclei mâle et femelle et à la formation d'une cellule œuf à 2n chromosomes dite **totipotente** car à l'origine d'un nouvel individu humain. [6, 7]

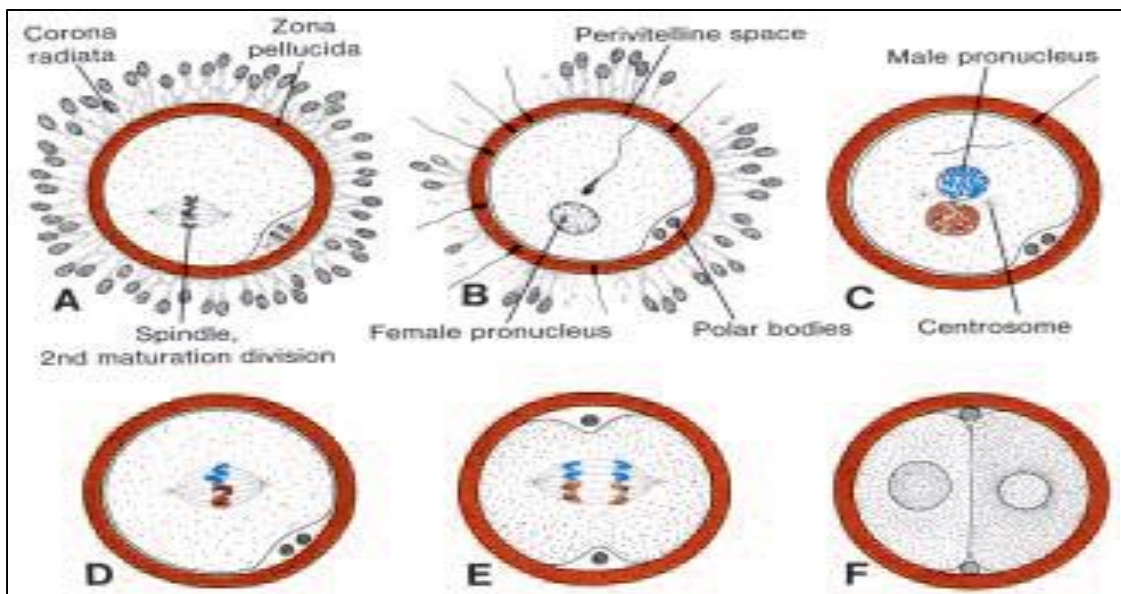


Figure 2 : Les étapes de la fécondation humaine [8]

B. La segmentation

Dans les 24 heures qui suivent la fécondation, le zygote commence à subir une série de divisions mitotiques au cours de sa migration dans la trompe utérine dont l'ensemble est appelé segmentation. Ce processus porte aussi le nom de clivage, terme parfaitement évocateur puisque le zygote n'augmente pas, ou peu, de volume au cours de ces premières divisions successives et reste inclus dans la zone pellucide. Les cellules-filles obtenues portent le nom de **blastomères**. [6, 8]

La première division partage le zygote suivant un plan perpendiculaire à l'équateur et dans l'alignement des globules polaires. La seconde division dans un plan vertical et perpendiculaire à la première est achevée à peu près 40 heures après la fécondation et fournit quatre blastomères égaux. Après 3 jours, l'embryon compte environ 8 cellules et après 4 jours, 16 à 32. A ce stade, il ressemble à une petite mûre et est appelé **morula** (du latin *morum*, mûre). Les cellules de cette morula sont non seulement à l'origine de l'embryon et de ses membranes mais également du placenta et ses structures annexes. Pour initier cette

différenciation à partir du stade 8 à 16 cellules va s'opérer la **compaction**. Elle génère une nouvelle répartition des blastomères de la future morula en sollicitant leurs éléments cytosquelettiques (figure 3):

- les cellules périphériques vont subir une polarisation et se répartissent en une couche qui entoure toute la surface de l'œuf fécondé. Ces cellules polarisées constituent le trophoblaste primitif. [8]
- les cellules plus internes et initialement non polarisées se regroupent pour constituer la masse de l'embryoblaste. A la fin du quatrième jour après la fécondation, la morula commence à se creuser d'une cavité à contenu liquidien (futur blastocœle). [8]

Les cellules obtenues les 3 premiers jours sont capables chacune d'aboutir au développement d'un individu complet à condition d'être placé in-vivo pour permettre une orientation de l'embryon impossible in-vitro ; elles sont donc **totipotentes**. A partir du stade de morula, les cellules sont **pluripotentes**, elles sont donc capables de se différencier en tout type cellulaire qui compose l'organisme, mais elles ne peuvent plus donner les annexes embryonnaires. [7, 9, 10]

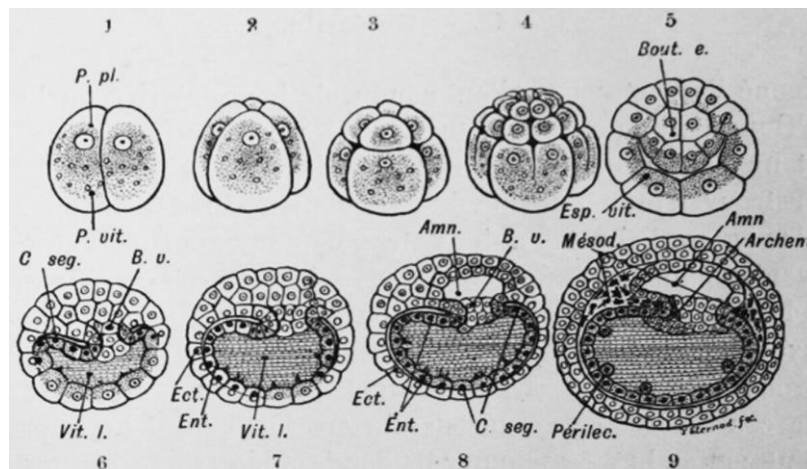


Figure 3 : Segmentation- blastulation - gastrulation [11]

C. La blastulation : formation du blastocyste et implantation utérine

Le 5^{ème} jour, la cavité à contenu liquidiens devient plus grande et permet d'obtenir un blastocyste précoce encore dans la zone pellucide (figure 3). Avant l'implantation, le 6^{ème} jour la zone pellucide se rompt par le forage enzymatique d'un orifice et l'embryon est alors libéré. Des phénomènes de transferts ioniques et liquidiens provoquent une augmentation de volume du blastocœle. L'embryon devient alors le **blastocyste** ou **blastula**. Le blastocyste est caractérisé par :

- une couche de cellules périphériques jointives et en couronne : c'est le **trophoblaste**, il est la première source des membranes du placenta
- une cavité centrale volumineuse résultant de l'augmentation de volume au cours de la transformation de la morula en blastocyste : le **blastocœle**
- une masse de cellules regroupées à un pôle du blastocœle c'est l'**embryoblaste** ou **bouton embryonnaire**.

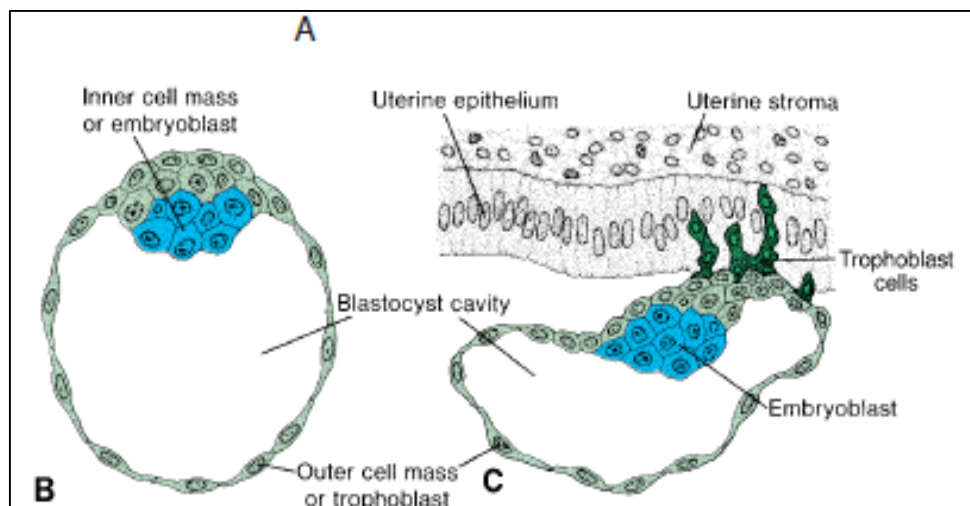


Figure 4 : Le blastocyste tardif [8]

Le blastocyste va s'implanter dans la paroi utérine et se différencier en embryon didermique au cours de la 2^{ème} semaine. [8]

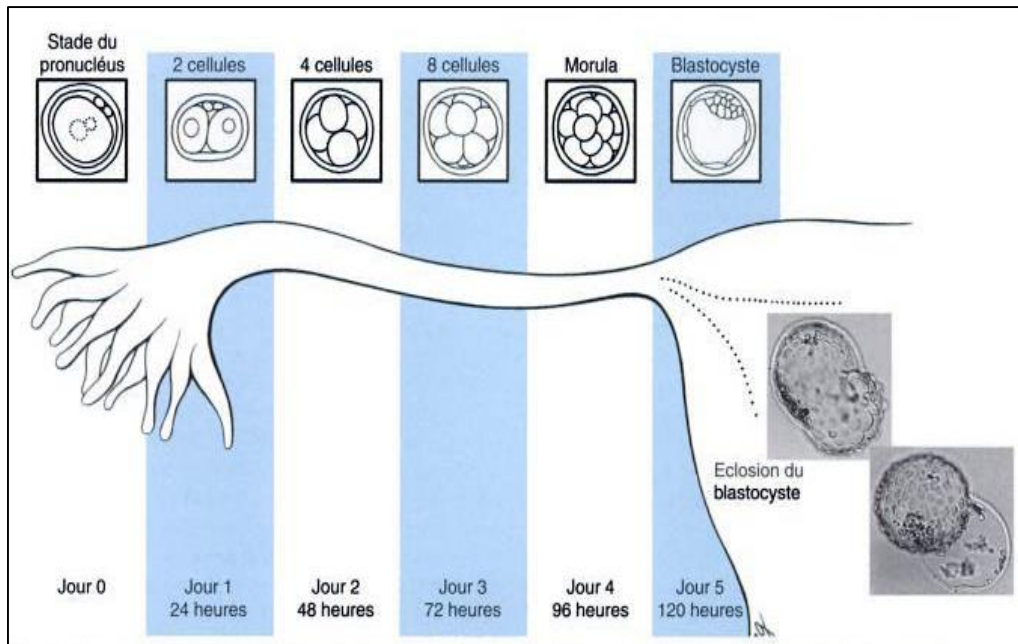


Figure 5 : De la fécondation à l'implantation [6]

D. La nidation et la pré-gastrulation

Au septième jour intervient la fixation du blastocyste à l'épithélium de l'endomètre par son pôle embryonnaire. Le trophoblaste va proliférer à partir du point de fixation:

- Des divisions nucléaires successives interviennent sans division cytoplasmique aboutissant à un syncytium dérivé du trophoblaste : le **syncytiotrophoblaste**. Il va envahir progressivement la totalité de la paroi de l'endomètre et permettre la pénétration complète de l'embryon. [12]
- La couche des cellules internes (les plus proches du centre du blastocyste) reste compacte et les cellules sont bien individualisées et forme le **cytotrophoblaste**. [12]

Par la suite le cytotrophoblaste, le syncytiotrophoblaste et une composante du mésoderme extra-embryonnaire formeront des expansions : les villosités chorales pénétrant les sinus sanguins maternels, à l'origine de formation du **placenta**. [8]

Au même moment l'embryoblaste se différencie en 2 couches distinctes : l'**épiblaste**, le plus proche du cytotrophoblaste et l'**hypoblaste**, en regard direct du blastocœle. Un peu plus tard, l'épiblaste prolifère latéralement puis s'incurve pour former une couche de cellules (cellules amnioblastiques) en contact avec le cytotrophoblaste. Une nouvelle cavité se creuse et s'agrandit éloignant l'embryoblaste du cytotrophoblaste : la future **cavité amniotique**. Dès la formation de la cavité amniotique, le disque embryonnaire didermique est parfaitement individualisé (épiblaste + hypoblaste) entre cavité amniotique et blastocœle. L'hypoblaste quant à lui va proliférer pour fournir une couche de cellules (**membrane de Heuser**) qui vont tapisser le blastocœle. Le blastocœle se transforme alors en **vésicule vitelline primitive**. La succession des événements aboutit à la formation au 11^{ème} jour du **mésoderme extra-embryonnaire**, au 12^{ème} jour de la **cavité choriale**, au 13^{ème} jour de la **vésicule vitelline définitive** et au 14^{ème} jour à l'individualisation de l'embryon en **disque embryonnaire didermique** (deux feuillets). [6, 8, 12]

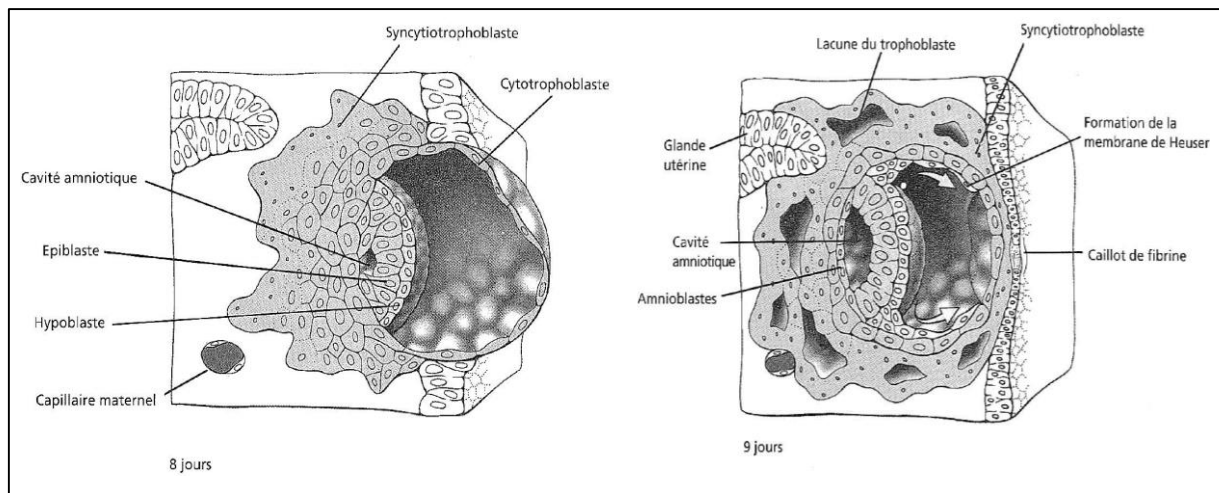


Figure 6 : La nidation du blastocyste [6]

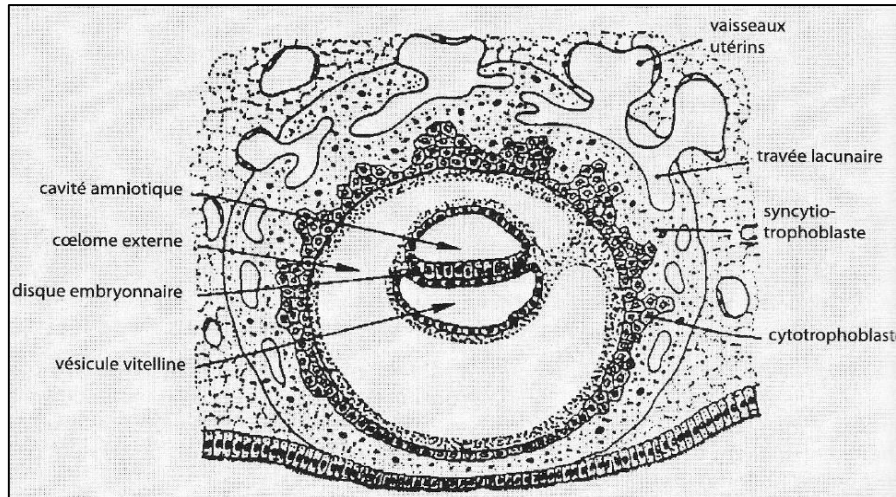


Figure 7 : Disque embryonnaire didermique au 14^{ème} jour [13]

E. La gastrulation

La gastrulation constitue un évènement majeur de la troisième semaine. Il s'agit d'un mécanisme complexe, programmé dans le temps et dans l'espace, associant prolifération et migration cellulaires à partir de l'épiblaste. La gastrulation détermine l'orientation future de l'embryon et sa symétrisation. [8]

Au cours de cette phase, se fait la mise en place d'un 3^{ème} feuillet : le **mésoderme intra-embryonnaire**, le disque embryonnaire devient donc tridermique, l'épiblaste et l'hypoblaste précédemment formés deviennent respectivement ectoderme et endoderme. En outre la gastrulation se poursuit par la mise en place de la corde et par la neurulation. Simultanément, et dès la mise en place de la corde, le mésoblaste intra-embryonnaire va se segmenter dans le sens cranio caudal par un processus de métamérisation. [6, 7, 8]

La gastrulation représente davantage qu'une conversion du disque embryonnaire didermique en un disque embryonnaire tridermique, elle permet de rapprocher des sous-groupes de cellules qui peuvent agir les unes sur les autres, par induction, et donner naissance aux précurseurs tissulaires ou aux ébauches embryonnaires à l'origine des organes du corps [6]. A ce stade, les cellules sont **multipotentes**, car elles se sont engagées dans un feuillet précis, leur potentialité de différenciation est donc plus basse. [14]

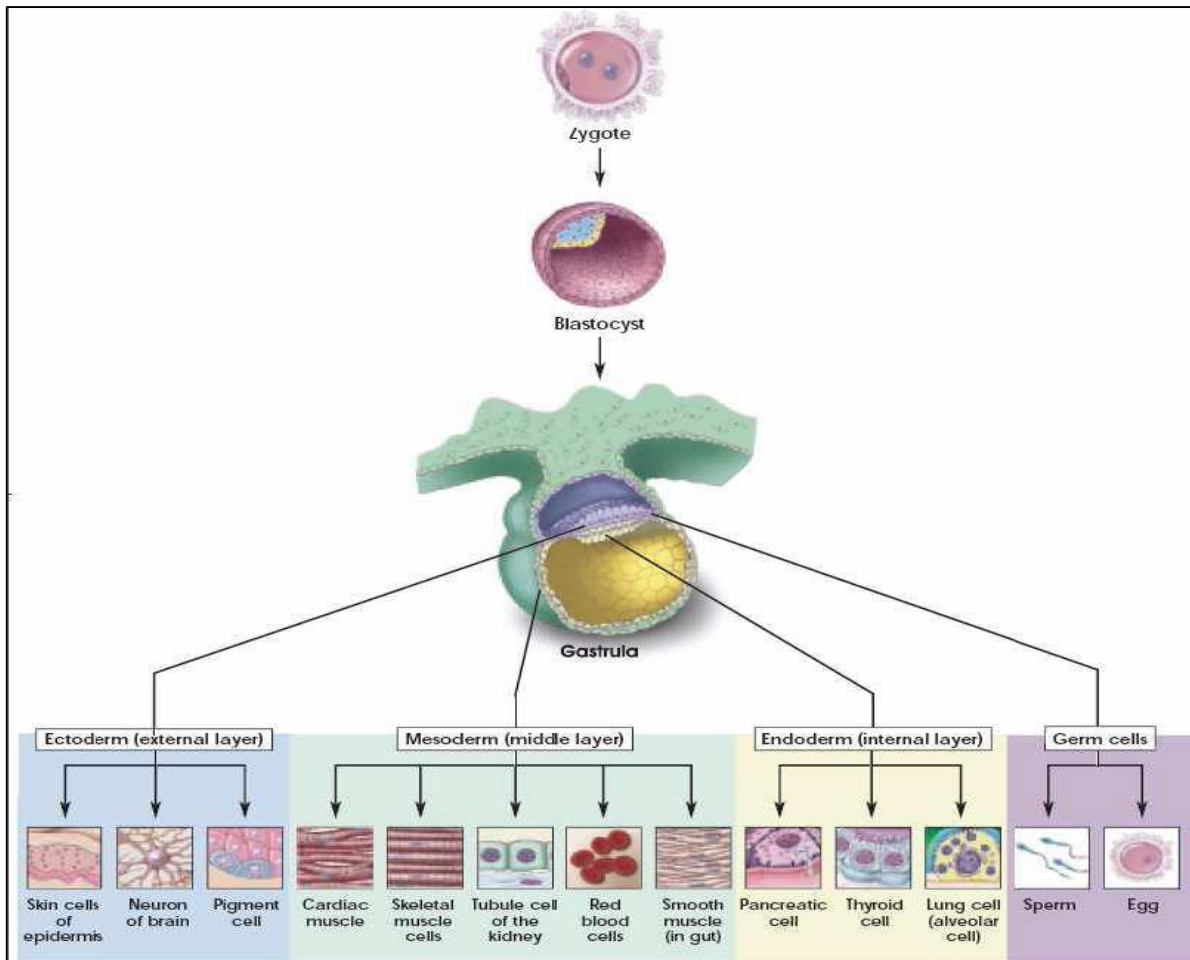


Figure 8 : Différenciation des trois feuilletés en différents tissus humains [14]

F. L'organogénèse

Elle s'étend de la 4^{ème} à la 8^{ème} semaine. La formation des organes se fait progressivement au cours du développement de l'embryon. Elle nécessite une parfaite coordination dans la différenciation. La majorité des cellules durant cette étape perdent leur potentialité ; elles deviennent **unipotentes**, c'est à dire qu'elles ne peuvent se différencier qu'en un seul type cellulaire. Durant cette étape, les annexes embryonnaires se mettent en place ; elles permettent le développement de l'embryon, elles donnent le futur **placenta** et le **cordon ombilical**. Des cellules souches sont présentes dans ces deux structures, et sont pour la plupart multipotentes.

A la 8^{ème} semaine, l'embryon est constitué. Il a déjà acquis les caractéristiques de l'espèce humaine (membres, face), tous les organes sont formés mais ils doivent maintenant se développer pour devenir véritablement fonctionnels. A partir de ce moment on passe de l'embryon au **foetus**. [7, 8, 15]

❖ Avec la période foétale, on entre dans une phase de maturation et de croissance volumique. Les mécanismes spécifiques de l'embryologie (hyperprolifération cellulaire, migrations cellulaires, différenciation cellulaire à partir de cellules souches) tendent à s'estomper même si certains perdureront toute l'existence. [8]

III. Les cellules souches

A. Définitions

1. La cellule

La cellule est l'élément constitutif fondamental de tout être vivant. Il s'agit de la structure de base du corps, le plus petit élément ayant les attributs de la vie. Sa taille varie de 7 micromètres (hématies) à plus de 1 mètre (neurones). Elle se compose de plusieurs éléments dont trois principaux [5, 16]:

- **Le noyau** (à l'exception des Procaryotes, et quelques cellules particulières tels les globules rouges), qui contient la majorité de l'information génétique
- **Le cytoplasme**, matière fluide contenant de nombreux organites (mitochondries, ribosomes...) impliqués dans toutes les activités fonctionnelles (métabolisme) de la cellule
- **La membrane cellulaire**, enveloppe externe qui sépare la cellule du milieu extérieur et joue un rôle majeur dans les échanges

Un être humain est composé d'environ cent mille milliards de cellules, appartenant à environ deux cent types différents, dont la plupart ne se divise plus, alors que, à peu près vingt millions de cellules de notre organisme se divisent pour maintenir constant le nombre

de cellules (remplacement des cellules disparaissant par vieillissement ou par lésion), ces cellules sont appelées : cellules souches. [17]

2. Cellules souches

Le corps est fait de divers types de cellules spécialisées qui sont organisées en tissu, sang et organes. Toutes les cellules spécialisées proviennent de populations de cellules non spécialisées appelées « **cellules souches** ». Bien que les cellules souches n’accomplissent pas de fonctions cellulaires spécifiques comme telles, elles ont le potentiel de devenir des types de cellules spécialisées matures qui orchestrent des fonctions cellulaires spécifiques du corps. [18]

Une cellule souche est donc une cellule non spécialisée capable de s’auto renouveler indéfiniment par division cellulaire et de donner naissance sous certaines conditions physiologiques ou expérimentales à plusieurs types de tissus différenciés. La division d'une cellule souche produit une nouvelle cellule souche ; cellule de « réserve » et une cellule qui acquiert une morphologie et une fonction spécifiques du tissu (différenciation). Une cellule souche n’exprime, quant à elle, aucune spécialisation, on la dit “ indifférenciée ”. [19, 20]

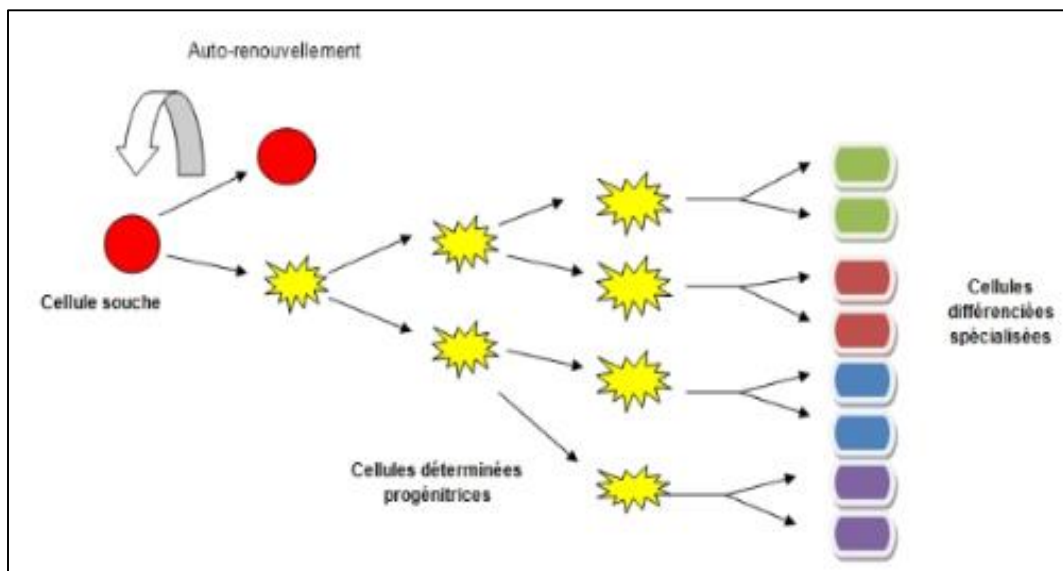


Figure 9 : Auto-renouvellement et différenciation d’une cellule souche [19]

B. Caractéristiques des cellules souches

Les cellules souches sont définies par deux propriétés caractéristiques: l'**auto-renouvellement** et la **différenciation**. (Figure 9).

L'auto-renouvellement est le processus où, par l'entremise de la mitose, une cellule souche se divise pour produire au moins une cellule fille qui demeure une cellule souche indifférenciée. On a deux types de divisions possibles : **une classique** donnant naissance à deux cellules souches indifférenciées (en cas de forte demande par l'organisme) et **une asymétrique** aboutissant à une cellule différenciée et une cellule souche indifférenciée. Par l'entremise de l'auto-renouvellement, on peut élargir ou maintenir une population de cellules souches tout au long de la vie d'un organisme. Par exemple, quand notre corps a besoin de plus de globules blancs pour combattre une infection, nos cellules souches sanguines s'auto-renouvellent pour fabriquer plus de cellules souches sanguines qui peuvent alors se différencier en globules blancs spécialisés.

La différenciation est le processus par lequel des cellules non spécialisées acquièrent des traits cellulaires spécifiques, qui les convertissent en types de cellules spécialisées. Par exemple, une cellule souche sanguine a la capacité de se différencier en tous les types de cellules spécialisées de la lignée de cellules sanguines : les globules rouges, les globules blancs, les plaquettes (figure 10)...De stade en stade de la différenciation, les cellules deviennent plus restreintes dans les types de cellules spécialisées qu'elles peuvent engendrer. Au fur et à mesure que les cellules souches se différencient, on dit qu'elles deviennent déterminées, ce qui signifie qu'elles ne peuvent plus se différencier en des types de cellules à l'extérieur de la lignée spécifiée. Le nombre de types différents de cellules spécialisées que peut engendrer une cellule souche définit sa potentialité.

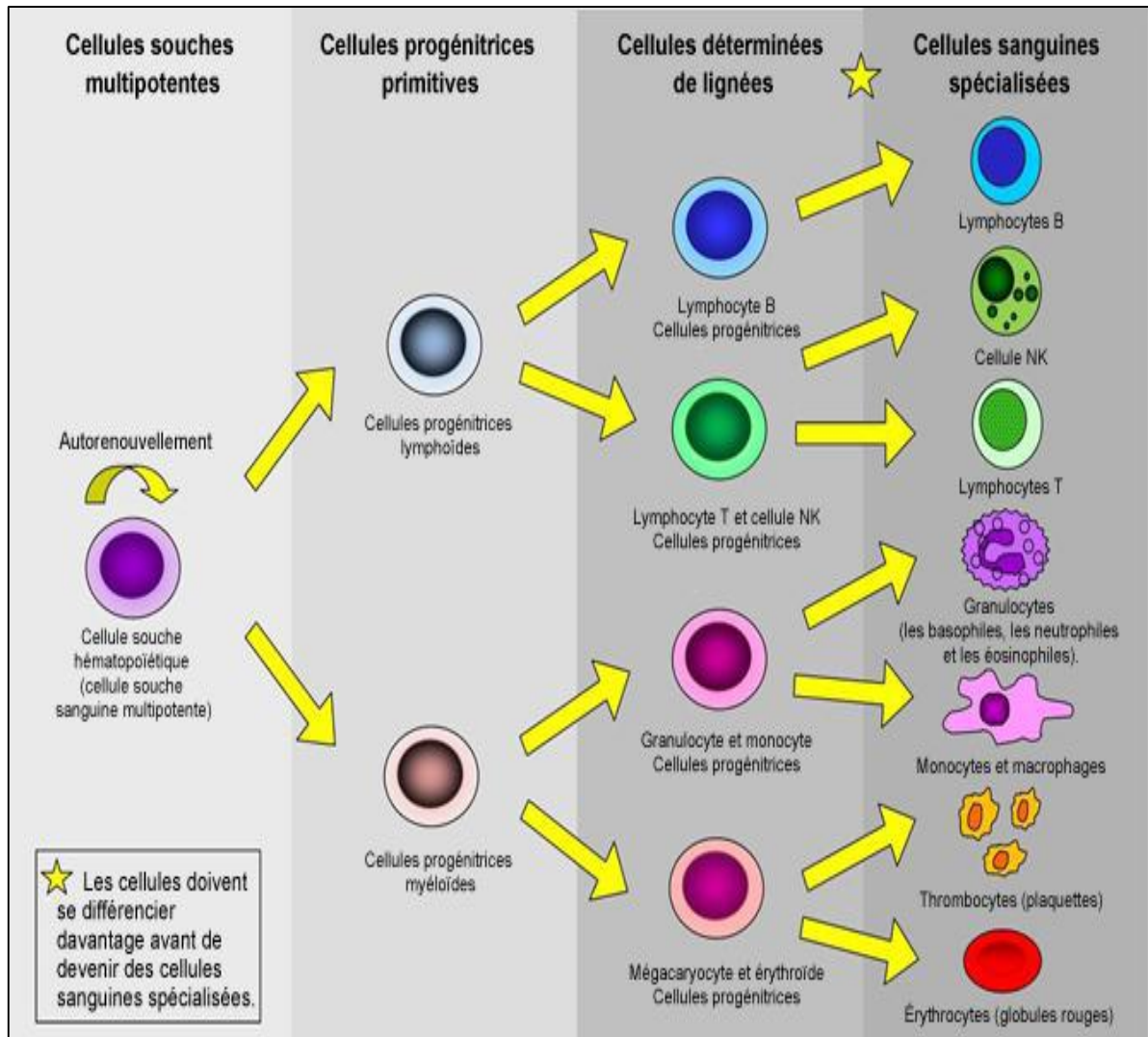


Figure 10 : Différenciation des cellules souches hématopoïétiques [18]

Suivant leur potentialité de différenciation, on distingue :

➤ **Les cellules souches totipotentes** (toti = tout, potentes = puissantes): présentes dans les quatre premiers jours de l’embryon, elles sont les seules à permettre le développement d’un organisme entier (embryon et annexes embryonnaires). Si, à ce stade, l’embryon se sectionne, les cellules totipotentes peuvent continuer de se développer normalement afin de mener à de vrais jumeaux (ou Jumeaux monozygotes). Elles survivent seulement quand elles sont in vivo.

➤ **Les cellules souches pluripotentes** (pluri = plusieurs, potentes = puissantes): présentes du 5^e au 7^e jour suivant la fécondation, elles ont le potentiel de se différencier en toutes les cellules de l'embryon proprement dit, mais pas en cellules des tissus de soutien extra-embryonnaires. Cependant, comparativement à d'autres populations de cellules souches, on considère que le potentiel de développement des cellules souches pluripotentes n'a pas de restrictions car elles conservent la potentialité de se spécialiser en tous les types de cellules de l'organisme adulte mature. Ce stade de pluripotence est normalement transitoire, et les potentialités des cellules embryonnaires se restreignent progressivement au cours de l'embryogenèse, alors que se forment les feuillets ; puis elles deviennent des cellules souches un peu plus spécialisées.

➤ **Les cellules souches multipotentes** (multi = beaucoup, potentes = puissantes): Ce sont les cellules souches fœtales et adultes pouvant se différencier en un grand nombre de types de cellules spécialisées d'un organisme, mais pas tous. La potentialité de développement de ces cellules souches comporte des restrictions, puisqu'elles peuvent produire toutes les cellules spécialisées du tissu où elles résident, mais pas les cellules d'un autre type de tissu.

➤ **Les cellules souches unipotentes** : ne pouvant engendrer que des cellules différenciées d'un seul type tissulaire mais conservent néanmoins certaines capacités d'auto-renouvellement et de prolifération. [18, 20, 34]

C. Les types de cellules souches

Selon leur origine, on distingue :

1. Les cellules souches embryonnaires

a) Définition

Chez l'Homme, les cellules souches embryonnaires (ES) proviennent de la masse cellulaire interne du blastocyste préimplantatoire, aussi appelée bouton embryonnaire. (Figure 4) [21, 22]

Au stade de blastocyste (5^{ème} jour de développement), chacune des cellules de la masse interne du blastocyste (ES) est pluripotente, puisqu'elle peut produire tous les feuillets

embryonnaires (mésoblaste, endoblaste, ectoblaste) et les tissus qui en dérivent, ainsi que les cellules germinales. (Figure 8 et 11)

Par culture des cellules souches pluripotentes dans une boîte de Pétri et dans les bonnes conditions, on peut les guider vers une différenciation en divers types de cellules spécialisées de l'organisme (érythrocytes, cardiomyocytes...). Pour cette raison, les scientifiques se servent de cellules souches pluripotentes comme outil pour comprendre le processus de la différenciation cellulaire et avec un peu d'espoir, pour les utiliser comme source renouvelable de cellules spécialisées pour les thérapies cellulaires.

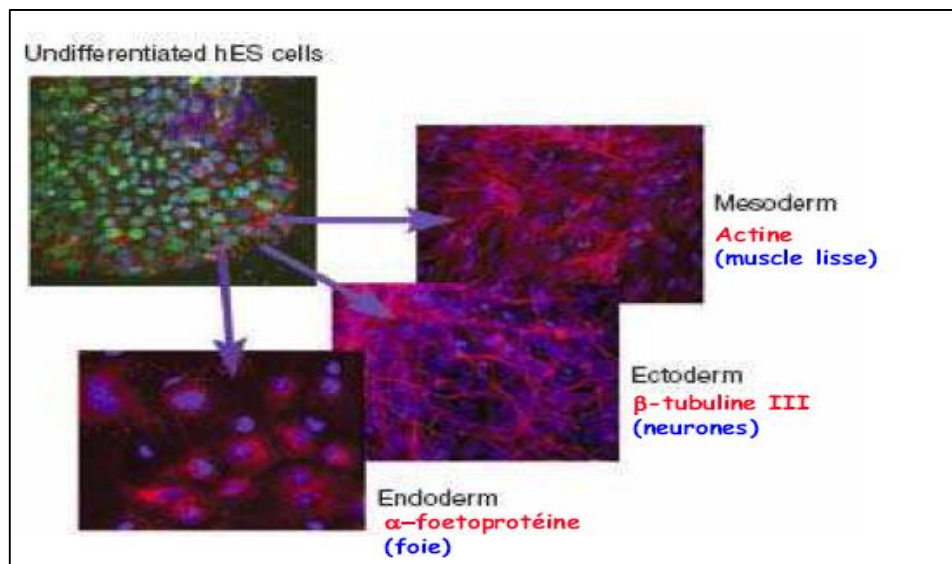


Figure 11 : La différenciation en feuillets embryonnaires [14]

b) Obtention des cellules ES

Les cellules souches embryonnaires ont le plus gros potentiel parmi les cellules souches pluripotentes. Elles peuvent donner naissance à presque tous les types de cellules du corps humain. Mais elles sont incapables, en l'état actuel des connaissances, de développer un organisme complet. C'est en novembre 1998, que des chercheurs ont réussi pour la première fois à cultiver des cellules souches embryonnaires humaines. Les cellules souches embryonnaires sont isolées aujourd'hui de trois manières différentes [31]:

➤ Embryons avortés ou expulsés prématurément

On isole des cellules germinales primaires (cellules précurseurs de l'ovule et des spermatozoïdes) à partir de fœtus expulsés prématurément ou avortés puis on les amène à donner des cellules souches.

➤ **Embryons provenant de fécondations in vitro**

On les isole à partir de blastocystes (l'embryon au stade des 100 cellules) devenus surnuméraires lors de fécondations in vitro (en éprouvette). Il s'agit d'embryons qui étaient destinés à une insémination artificielle mais qui, pour diverses raisons, n'ont pas pu être utilisés – peut-être parce que la femme est tombée malade, décédée ou a changé d'avis.

➤ **Transfert nucléaire (clonage thérapeutique)**

On retire le noyau (contenant le matériel génétique) d'un ovule fécondé et on le remplace par le noyau d'une cellule spécialisée du corps (cellule d'un patient donneur). Une courte décharge électrique stimule l'ovule à se développer conformément aux instructions génétiques de la cellule donneuse. Après plusieurs divisions cellulaires, l'ovule se sera transformé en blastocyste à partir duquel des cellules souches embryonnaires pourront être isolées. Ces dernières seront génétiquement identiques à celles du donneur et ne seront donc pas rejetées par le système immunitaire du patient après la transplantation. On appelle cette méthode «transfert nucléaire» ou «clonage thérapeutique» en jargon technique. Elle n'a pas pour but de reproduire un être humain complet (le clonage reproductif étant interdit dans le monde entier), mais d'isoler des cellules souches embryonnaires à des fins thérapeutiques, par exemple pour le traitement de maladies du système hématopoïétique ou pour la régénération de tissus ou d'organes.

c) **Propriétés des cellules ES**

Une fois le blastocyste dissocié, les cellules ES qui en sont extraites perdent toute possibilité de se développer ultérieurement en un embryon. Cependant, elles peuvent être cultivées au laboratoire à l'infini tout en conservant leur caractère de pluripotence et en gardant un génome intact.

- **Auto-renouvellement** : La caractéristique majeure définissant les cellules ES est leur capacité à se diviser sans se différencier pour obtenir une descendance pluripotente identique. On parle alors d'auto-renouvellement permanent. Cette propriété confère aux cellules ES un potentiel prolifératif illimité tout en conservant un phénotype normal et un caryotype euploïde. [22, 23]
- **Caryotype** : Le caryotype des cellules ES est analysé par la technique de marquage des bandes « G-banding ». De nombreux rapports montrent qu'après la culture de cellules à long terme, un caryotype normal est maintenu. Rosler et ses collègues ont cultivé pendant une centaine de passages plusieurs lignées de cellules hES, ils ont montré qu'elles conservaient un caryotype euploïde au cours du temps. Cependant, d'autres auteurs ont rapporté la présence de caryotypes anormaux (aneuploïdes) dans des lignées de cellules ES, comme une trisomie 12 et une trisomie 17. La comparaison d'études cytogénétiques à long terme de lignées de cellules hES euploïdes et d'autres contenant des cellules hES aneuploïdes sera donc nécessaire pour évaluer réellement la stabilité cytogénétique des cellules ainsi transformées. Les chercheurs aussi se demandent si la fréquence d'aneuploïdie ou le type d'anomalies chromosomiques observées affectent la capacité des cellules ES à se différencier. [24, 25]

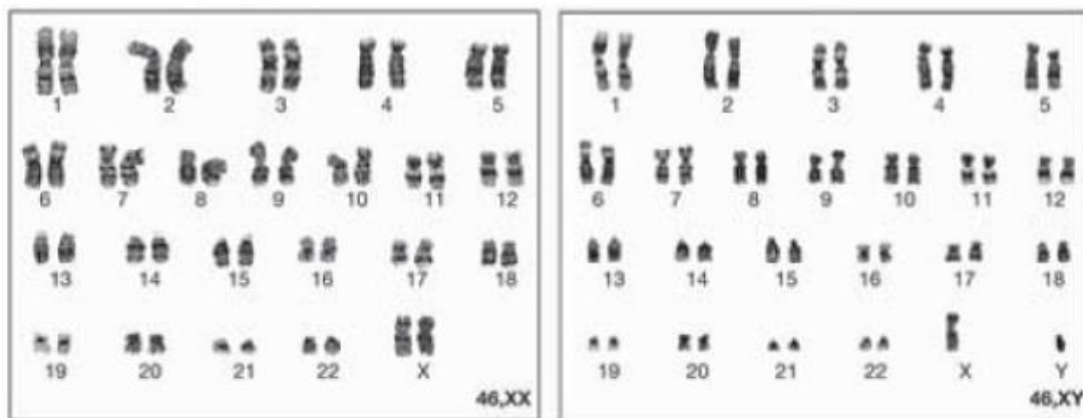


Figure 12 : Le caryotype des ES après un certain nombre de passage [24]

d) Avantages et inconvénients :

➤ **Les avantages des cellules souches embryonnaires**

- *Une source potentiellement illimitée et aisément accessible* : Compte tenu des milliers d'embryons surnuméraires actuellement disponibles aux laboratoires et de la possibilité d'obtenir des lignées des cellules extraites de ces embryons donnés à la recherche, les cellules souches embryonnaires paraissent accessibles et en nombre illimité, permettant ainsi plusieurs recherches. [23]
- *Grande capacité de proliférer in vitro* : La capacité de prolifération des cellules souches embryonnaires est grande, ce qui permet d'obtenir des lignées plus facilement qu'avec les cellules souches adultes. Ainsi les cellules ES offriront la perspective d'un produit thérapeutique allogénique immédiatement disponible et de grand rendement autant en culture qu'en conservation, ce qui représente un avantage certain pour les pathologies touchant un nombre élevé de patients. [22, 25]
- *Immortelles en culture* : Les cellules ES sont beaucoup plus spontanément capables de survivre et de se multiplier in vitro de façon illimitée que les cellules souches récoltées chez des adultes. [25]
- *Le déclenchement de leur différenciation s'opère à la demande* : Les cellules ES se différencient en tel ou tel tissu grâce à l'ajout de molécules régulatrices et des facteurs de croissance adéquats (cardiomyocytes, hépatocyte, neurones, astrocytes, oligodendrocytes, cellules hématopoïétiques, kératinocytes, cellules musculaires...) [26, 27]

Les cellules embryonnaires constituent *certainement une source privilégiée de signaux inducteurs* puisque c'est au stade embryonnaire que se décide l'organogenèse, c'est-à-dire la mise en place des différents organes/tissus qui constitueront l'organisme adulte. Ces signaux pourraient être (chimiquement) identifiés et "purifiés" à partir de ces cellules ES ou de leur descendance, puis utilisés pour la spécification de cellules souches tissulaires adultes. [62]



Figure 13 : Potentiel de différenciation des cellules hES et extension thérapeutique [115]

➤ **Les inconvénients des cellules souches embryonnaires**

- *Un questionnement éthique problématique* : Ces cellules sont isolées d'embryons surnuméraires ou issues d'avortements, leur utilisation soulève donc des problèmes d'éthique. Notamment, pour certains groupes, religieux ou non, qui considèrent l'extraction de cellules souches embryonnaires comme une atteinte à l'intégrité de l'embryon. La diversité de la réglementation, dans la seule Europe, montre à quel point cette question est difficile à trancher pour les pouvoirs publics. [28]
- *L'expression des marqueurs HLA* : Les cellules souches embryonnaires, implantées dans un autre organisme que celui dont elles sont originaires, peuvent induire une réponse immunitaire car elles sont reconnues comme du non-soi. On peut donc voir apparaître des phénomènes de rejet. [22, 29]
- *Le risque carcinogène* : Des études sur la souris ont montré que l'utilisation de ces cellules ES a engendré l'apparition de tumeurs. En effet, ces cellules possèdent une grande capacité de prolifération qui peut, à terme, être incontrôlable. Le risque de cancérogenèse après administration de cellules ES pourrait être proportionnel à leur

capacité de prolifération. Ce risque proviendrait des possibilités accrues de mutation lorsque la cellule est plus indifférenciée et qu'elle subit un nombre de divisions élevé. [22, 30]

Plusieurs problèmes ont été soulevés à cause de l'utilisation des cellules ES. Certains sont d'ordre éthique et d'autres d'ordre pratique (un rejet immunologique). Ces difficultés sont en voie d'être résolues grâce à une nouvelle avancée technologique qui a été mise au point en 2006–2007 par un chercheur japonais, **Shinya Yamanaka** [32, 33].

2. Les cellules souches pluripotentes induites

a) Définition et Obtention

Ces cellules sont obtenues à partir de la reprogrammation de cellules adultes vers un stade indifférencié. Cette découverte majeure rend possible la «régression» d'une cellule adulte déjà spécialisée vers un état de pluripotence, à l'instar des cellules souches embryonnaires. [35]

Au début des années 2000, plusieurs groupes de chercheurs se sont posés la question de savoir quels étaient les gènes actifs dans les cellules souches capables de les maintenir dans l'état de cellules ES. Le groupe de Shinya Yamanaka a identifié vingt-quatre gènes généralement activés ensemble dans les cellules ES. Une fois introduits dans des cellules en culture de fibroblastes de la peau de souris adultes à l'aide de vecteurs rétroviraux, certaines régions de la culture présentaient des cellules modifiées (rondes au lieu de la forme allongée des fibroblastes) et en voie de prolifération rapide. Ces cellules isolées présentaient les caractères morphologiques des cellules ES. En fait, elles en présentaient aussi les propriétés : pluripotence, état indifférencié et auto-renouvellement. Ils les ont appelées **induced Pluripotent Stem Cells**, ou **iPSC**.

Ensuite, les chercheurs du groupe de Yamanaka ont réduit le nombre de gènes capables de produire cet effet à seulement quatre : **Oct4**, **c-Myc**, **Sox2** et **Klf4**. Ces quatre gènes sont donc capables de reprogrammer le noyau d'une cellule différenciée en celui d'une cellule embryonnaire précoce. En 2007, le même résultat était obtenu avec des cellules

fibroblastiques humaines. Ces gènes sont des facteurs de transcription qui sont capables de contrôler l'activité d'autres gènes. Il est donc évident que la reprogrammation cellulaire reste un phénomène universel qui peut être obtenu à partir de cellules des trois feuillets embryonnaires. [34, 35]

Ces travaux suggèrent donc que l'obtention de cellules pluripotentes ne passera peut-être désormais plus par le recours aux cellules souches embryonnaires, évitant le problème éthique posé par l'utilisation de ces cellules et les problèmes de rejet lors des greffes. Une application des nouvelles cellules souches iPSC a déjà été démontrée chez la souris pour vaincre la drépanocytose [63]. Les premières lignées de iPSC suscitent déjà l'espoir de pouvoir traiter, la sclérose latérale amyotrophique ou d'autres maladies génétiques ou dégénératives [64].

b) Applications potentielles des iPSC

Il s'agit d'un type de cellule très prometteur. Ses applications peuvent s'étendre à plusieurs domaines [116]:

Applications en médecine régénératrice

- ❖ Les cellules générées peuvent être utilisées pour remplacer des cellules lésées ou *via* la modification des cellules porteuses de maladies
 - Une équipe barcelonaise a corrigé des cellules progénitrices hématopoïétiques porteuses de l'anomalie génétique responsable de l'anémie de Fanconi (Nature, mai 2009)
- ❖ Ces applications, en routine, ne devraient être disponibles qu'à long terme (dans plus de dix ans)

Applications en recherche et développement

- ❖ Les applications en recherche sont nombreuses *via* la production de **modèles cellulaires**

- Ces modèles cellulaires peuvent intéresser de nombreux acteurs, aussi bien en recherche fondamentale qu'appliquée (laboratoires académiques, industries pharmaceutique et cosmétique)
- ❖ Les iPSC permettront de produire des modèles cellulaires jusqu'alors impossibles à créer comme des modèles provenant de **patients adultes** (maladies ne se déclenchant qu'à l'âge adulte)
- ❖ Les modèles cellulaires générés à partir d'iPSC permettront la **réalisation de tests d'efficacité et de toxicité des molécules**
 - Ces modèles provenant d'un grand nombre de patients reflèteront la diversité génétique présente dans la population
 - Tests cellulaires individualisés préalables à l'inclusion des patients dans un essai clinique

c) Avantages et inconvénients

- Le principal avantage des iPSC est qu'elles peuvent provenir d'un patient adulte. Il n'y a donc aucun problème éthique lié à un travail sur l'embryon et on peut éviter les problèmes de rejet.
- Actuellement, les iPSC humaines ont été générées à partir de divers types cellulaires adultes (ou embryonnaires) dont
 - Des fibroblastes cutanés
 - Des kératinocytes (des cellules très différenciées)
 - Des cellules progénitrices sanguines
- Cette possibilité de produire n'importe quelle cellule à partir d'une cellule prélevée sur un patient laisse envisager de nombreuses applications en médecine personnalisée : si le patient est porteur d'une maladie génétique, les iPSC peuvent servir de modèles cellulaires proches de la «réalité physiologique» du patient.

Les iPSC présentent deux inconvénients principaux :

- *le risque de reprogrammation incomplète*

- Une reprogrammation incomplète risque d'empêcher la différenciation des cellules dans la voie désirée...voire d'accroître le risque de formation de tératome
 - Il est actuellement difficile d'évaluer précisément si une cellule est correctement reprogrammée ou non, ce qui engendre la nécessité de cultiver en parallèle de nombreux clones (coût important et perte de temps)
- *les méthodes les plus efficaces pour produire des iPSC nécessitent une **modification génétique***
- Parmi les gènes utilisés figure *c-Myc*, qui est un **oncogène**
 - De même, l'intégration des transgènes dans le génome peut aussi favoriser le «réveil» d'autres oncogènes
 - L'expression non contrôlée peut engendrer **l'émergence de cancers**

3. Cellules souches fœtales

a) Définition

Les cellules souches fœtales sont issues de tissus fœtaux (cordon ombilical, placenta, liquide amniotique...) à un stade beaucoup plus tardif (5-9 semaines) que le stade de blastocyste embryonnaire. Elles sont souvent isolées à partir de fœtus résultant d'avortements. [36]

b) Classification

On distingue comme cellules souches fœtales : [36]

➤ *Cellules somatiques fœtales* : Ce sont des cellules sont multipotentes. En effet, ces cellules possèdent un caractère plus différencié que les cellules ES. Deux de ces cellules sont particulièrement importantes dans une perspective thérapeutique : Les cellules souches des zones germinatives du système nerveux central, dans le traitement de certaines pathologies neurodégénératives (maladie de Parkinson ou de Huntington) [37 ,38] et les hépatocytes fœtaux qui font l'objet d'une recherche active en vue de transplantation [39].

➤ *Cellules germinales (EG)* : Elles proviennent de la lignée germinale de fœtus avortés à la huitième semaine. En effet, elles sont isolées à partir des cellules germinales primitives des crêtes gonadiques du fœtus. Ces cellules sont pluripotentes comme les cellules ES. La culture des cellules souches fœtales est plus difficile que celle des cellules ES car elles ne présentent pas les mêmes propriétés de division et de prolifération que les cellules embryonnaires. Leur génome est moins stable que celui des ES, ce qui les rend, pour l'instant, inutilisables dans une perspective thérapeutique, alors qu'elles ouvrent d'importantes perspectives en recherche fondamentale. [40]

➤ *Le sang de cordon* : Le sang présent dans le cordon ombilical du nouveau-né est très précieux en médecine parce qu'il contient les cellules souches. (Figure 14)

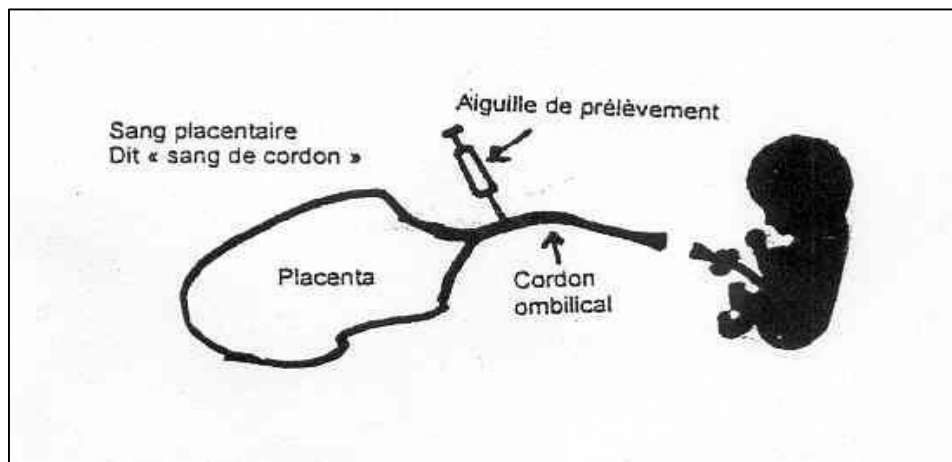


Figure 14: Le sang placentaire dit « sang de cordon » [36]

Les cellules souches du cordon se caractérisent d'une part par une potentialité intermédiaire entre celles de l'embryon et celles de l'adulte, pouvant se différencier en cellules précurseurs hématopoïétiques qui à leur tour donnent les cellules du sang. Ces cellules sont d'ailleurs greffées de façon autologue ou allogénique chez l'enfant mais aussi chez l'adulte. Cependant ces cellules ne se divisent pas spontanément et lorsqu'elles se divisent, elles se différencient et meurent très rapidement. Leur culture est donc très difficile à obtenir. Dans le sang ombilical d'autres cellules souches comme celles du foie, des muscles, du myocarde, des vaisseaux ou des cartilages ont été découvertes. A l'heure

actuelle beaucoup d'études sont menées sur ces cellules. Il a été montré qu'elles peuvent proliférer en culture sans perdre de leur pluripotence et se différencier en groupes homogènes d'adipocytes, hépatocytes, ostéoblastes, chondroblastes, cellules cardiaques et cellules neurales. Ces résultats sont encourageants ceci a donc incité de nombreux pays à développer des banques de sang de cordon ombilical qui remplaceraient celles de moelle car elles offrent des avantages inégaux comparés aux registres de moelle, car les greffons sont recueillis sans risque et conservables près de 20 ans [41]. Et d'autre part, elles expriment moins d'antigènes du système HLA_à leur surface, évitant ainsi les problèmes de rejet. [42]

➤ *Les cellules souches amniotiques* : Des cellules souches peuvent être isolées à partir du liquide amniotique dans lequel baigne le bébé. Les cellules souches amniotiques sont considérées comme représentant un intermédiaire entre les cellules ES et les cellules souches adultes, exprimant les marqueurs cellulaires de ces deux types de cellules. Elles peuvent se différencier en un grand nombre de lignées cellulaires (adipocytaires, endothéliales, hépatiques, neurogénique, ...), et également les lignées germinales embryonnaires. Ces cellules ont un énorme potentiel de multiplication, restant phénotypiquement et génétiquement stable au bout de plus de 250 divisions. Elles n'induisent pas de tumeurs. Leur prélèvement n'implique aucune manipulation de l'embryon et ne met aucunement en danger la mère et le fœtus. Il suffit de prélever un peu de liquide amniotique lors d'examen prénataux, ou de placenta à la naissance, pour constituer une réserve de cellules souches amniotiques. Les cellules souches amniotiques ne représentent que 1 à 2 % des cellules présentes dans le liquide amniotique. [44]

c) Avantages et inconvénients :

Ces cellules comportent assez d'avantages multipliant ainsi les recherches afin de pouvoir les utiliser dans des protocoles de thérapie cellulaire. [36]

- Leur potentiel de différenciation se rapproche des cellules souches embryonnaires [43].
- Ces cellules n'induisent pas un développement de tumeur après transplantation. [30]

- Dans les cas des greffes de cellules issues de sang de cordon et même en situation allogénique, les risques de rejet sont nettement plus faibles en raison de la faible expression des antigènes HLA à la surface membranaire de ce type de cellules. [42]

- L'utilisation des cellules souches du cordon ombilical ne soulève aucun problème d'éthique. [28]

Très peu de cellules souches sont présentes dans le sang du cordon ombilical. Il est donc primordial de mieux connaître ces cellules et leur besoin afin d'améliorer leur rendement et leur disponibilité pour des fins thérapeutiques. [36]

4. Cellules souches adultes ou tissulaires

a) Définition

Les cellules souches adultes sont des cellules indifférenciées présentes au sein de presque tous les tissus du corps à l'exclusion des tissus germinaux. Elles sont rassemblées dans des microenvironnements improprement appelés « **niches** ».

Les cellules souches adultes sont **multipotentes** ou **unipotentes**. Elles ont donc un potentiel de différenciation limité par rapport aux autres cellules souches mais elles sembleraient doter d'une certaine plasticité. [45, 46]

b) Fonction

Une cellule souche tissulaire (dite somatique pour la distinguer des cellules souches germinales) assure l'homéostasie, c'est-à-dire le maintien physiologique d'un organe ou d'un tissu, en remplaçant les cellules mortes, que ce soit naturellement ou après une lésion, assurant ainsi la pérennité de la fonction de l'organe pendant la vie de l'individu. Elle remplit cette fonction, d'une part en se multipliant à l'identique (ce qui évite le tarissement du réservoir de cellules souches) et d'autre part en se différenciant, acquérant ainsi les caractéristiques du tissu à réparer. [45]

c) Localisation anatomique

Les cellules souches qui ont été identifiées avec certitude chez l'homme sont : les cellules souches nerveuses, hématopoïétiques, épidermiques, intestinales, osseuses, pancréatiques, hépatobiliaires, musculaires lisses et musculaires squelettiques [45]. Les cellules souches du sang, de la peau et de l'intestin ont un renouvellement rapide (1-2 mois): les cellules souches y fonctionnent ainsi en permanence pour renouveler les cellules de la peau (et du système pileux), des villosités intestinales et du système hématopoïétique. Dans la peau et la crypte intestinale, les cellules souches ont été localisées de façon précise (pointes de flèche rouges, figure 15) sur coupes histologiques, notamment grâce à leur capacité de rétention d'un intercalant de l'ADN (BrdU) [47]. Hormis celles de l'intestin, les deux autres sont déjà utilisées avec succès en thérapeutique. Quant à celles des autres tissus, elles ne sont activées que lorsque la nécessité d'une réparation se fait sentir. [45]

Dans les tissus quiescents, à faible renouvellement, des cellules souches sont présentes, leur localisation est également précise, mais leur fonction est moins bien définie. On en distingue deux types dans le muscle (les cellules satellites, peut-être distinctes des cellules interstitielles SP) ainsi que dans le foie (les cellules ovales et les hépatocytes, si l'on admet que les hépatocytes ont une fonction de cellule souche). Dans le cerveau, le marquage BrdU a localisé des cellules souches dans le plancher du quatrième ventricule et dans le gyrus denté de l'hippocampe... [45, 46]

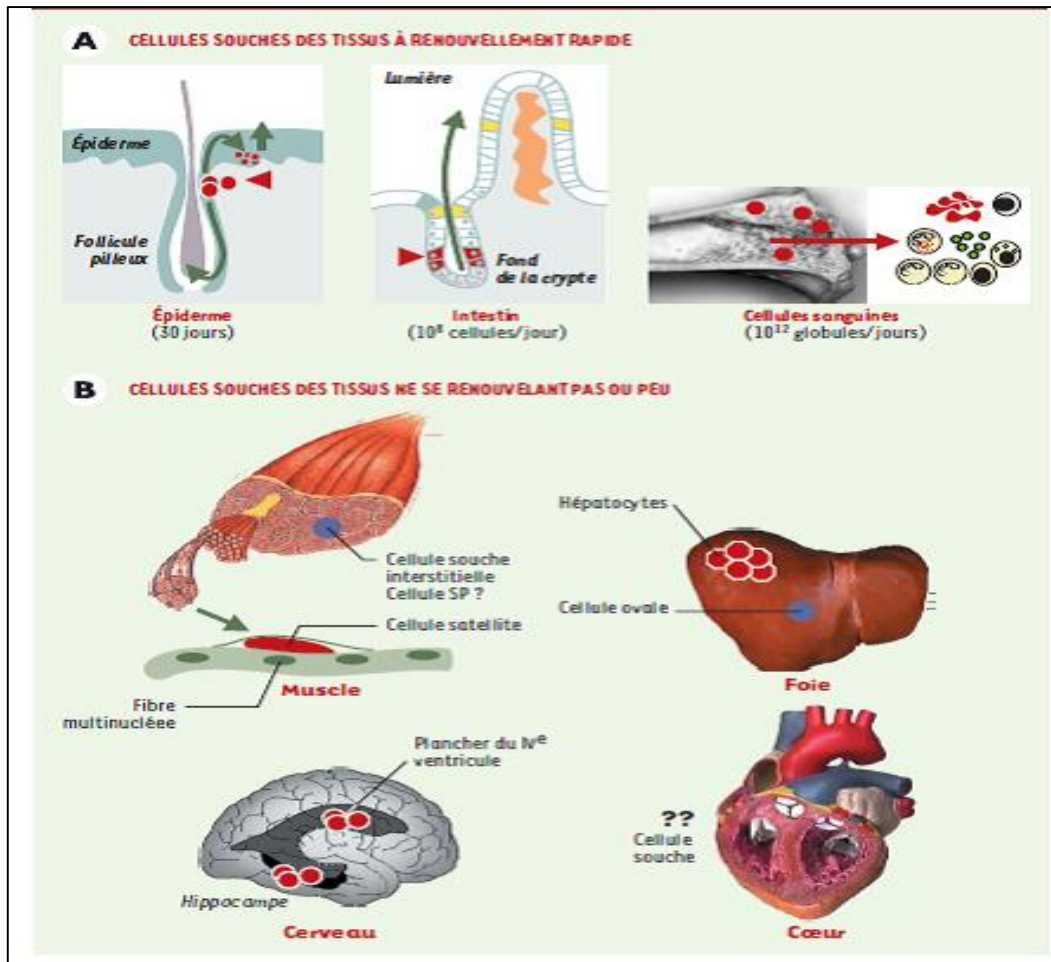


Figure 15 : Localisation anatomique des cellules souches dans les différents tissus de l'organisme. [45]

d) Caractéristiques

Les très nombreux travaux expérimentaux réalisés *in vitro*, ou après transplantation chez l'animal, permettent d'attribuer aux cellules souches adultes les caractéristiques suivantes qui les distinguent des cellules ES : [48]

- Elles ne se multiplient pas à l'infini à l'état indifférencié
- Elles sont très hétérogènes, compte tenu de la diversité des tissus de l'organisme auxquels elles appartiennent.

- Certaines sont “*multipotentes*” : C’est le cas des cellules souches hématopoïétiques, et nerveuses.
- D’autres sont plutôt “*unipotentes*”, exemple : les cellules de l’épiderme qui ne produisent que des kératinocytes.
- D’autres enfin ont un “*potentiel intermédiaire*” : c’est le cas des cellules souches mésenchymateuses, localisées dans la moelle osseuse et qui produisent des cellules osseuses, cartilagineuses, et peut-être musculaires ; ou encore des hépatocytes fœtaux, qui produisent des hépatocytes et des cellules biliaires. [49]
- **La plasticité**

Jusqu’à une date récente, les cellules souches adultes, définies classiquement par leurs propriétés d’auto-renouvellement et de différenciation, étaient considérées comme étant spécifiques d’organes. Cette notion a été défiée par des expériences montrant que la greffe de certains tissus, notamment la moelle osseuse, pouvait générer chez l’animal létalement irradié, non seulement des cellules hématopoïétiques mais aussi des cellules musculaires, hépatiques et même neuronales. Ce phénomène est désigné par le terme de « plasticité ». [51]

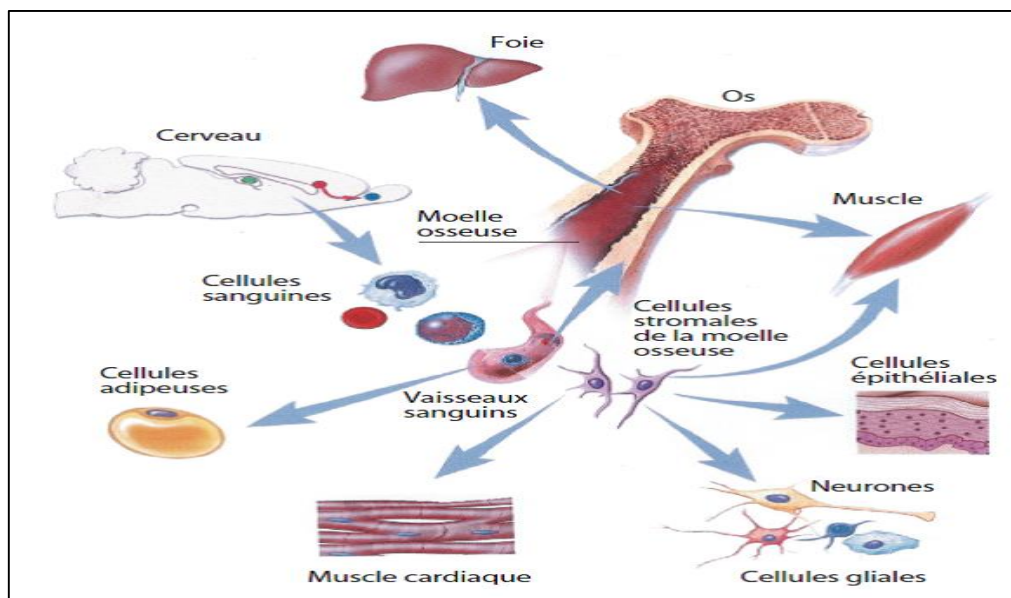


Figure 16 : La plasticité des cellules souches adultes. [14]

La plasticité cellulaire est la capacité de certaines cellules à se différencier en types cellulaires dont le phénotype est différent, voire sans rapport avec celui des cellules de leur tissu d'origine. On parle de plasticité « orthodoxe » lorsque les cellules souches se différencient en cellules ayant la même origine embryonnaire (par exemple : cellules souches stromales de moelle → adipocyte) et de plasticité « non-orthodoxe » lorsque les cellules souches se différencient en cellules d'origine embryonnaire différente (cellules souches stromales de moelle → neurone). [50]

À la lumière des expériences de greffe, des mécanismes de la plasticité ont été évoqués dans lesquels sont inclus la pluripotence et la multipotence des cellules souches. [43, 51, 55].

On retrouve principalement trois mécanismes de plasticité des cellules souches adultes : la trans-différenciation, la dédifférenciation et la fusion cellulaire. [43]

i. Plasticité par trans-différenciation

La plasticité par « trans-différenciation » caractérise le processus par lequel un précurseur voire une cellule différenciée se transforme en une cellule différenciée d'un autre type cellulaire. Ce phénomène paraît peu probable, malgré la documentation des phénomènes de trans-différenciation essentiellement *in vitro*. [51, 53]

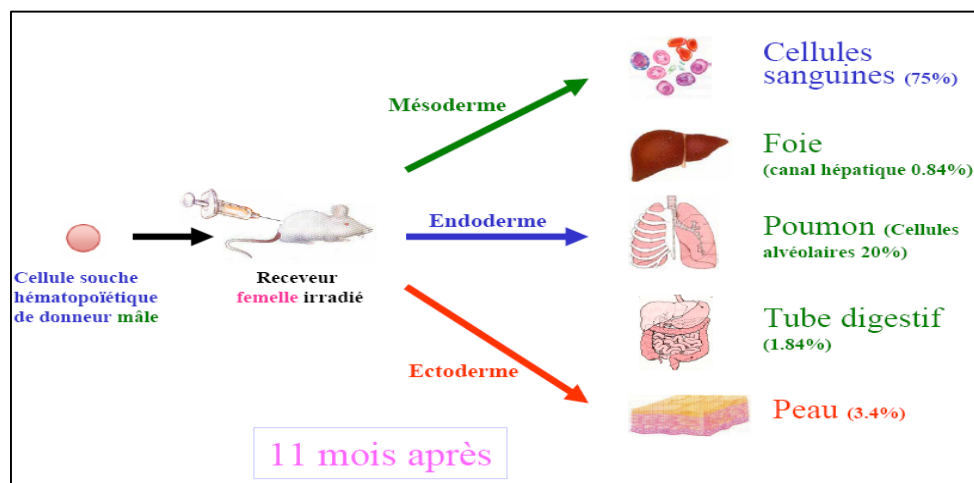


Figure 17 : Le phénomène de trans-différenciation. [53]

ii. *Plasticité par dédifférenciation*

La dédifférenciation caractérise le processus par lequel une cellule différenciée se transforme en une cellule différenciée d'un autre type cellulaire à condition qu'elle se dédifférencie en progéniteur. [54]

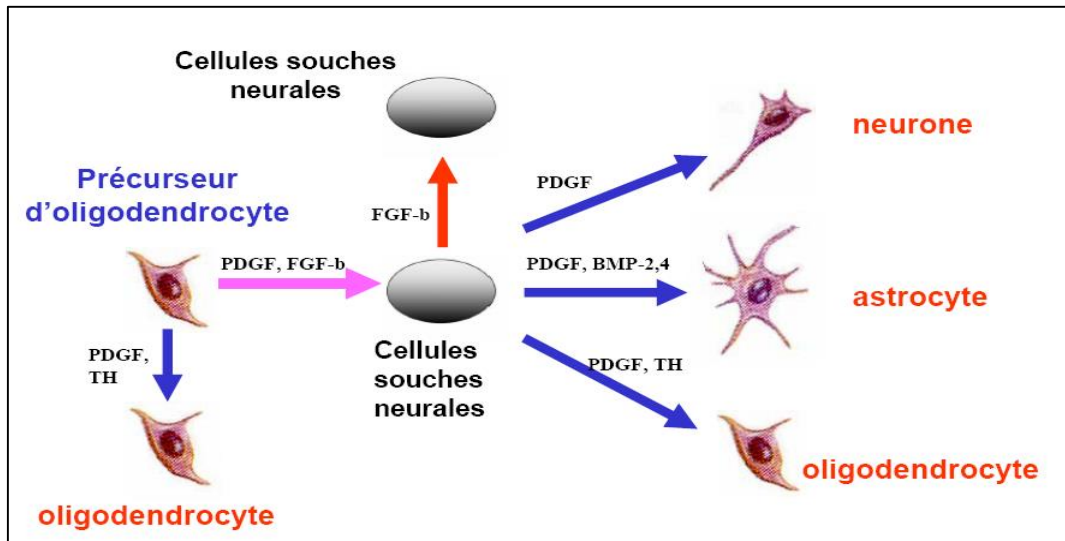


Figure 18 : Le phénomène de dédifférenciation. [54]

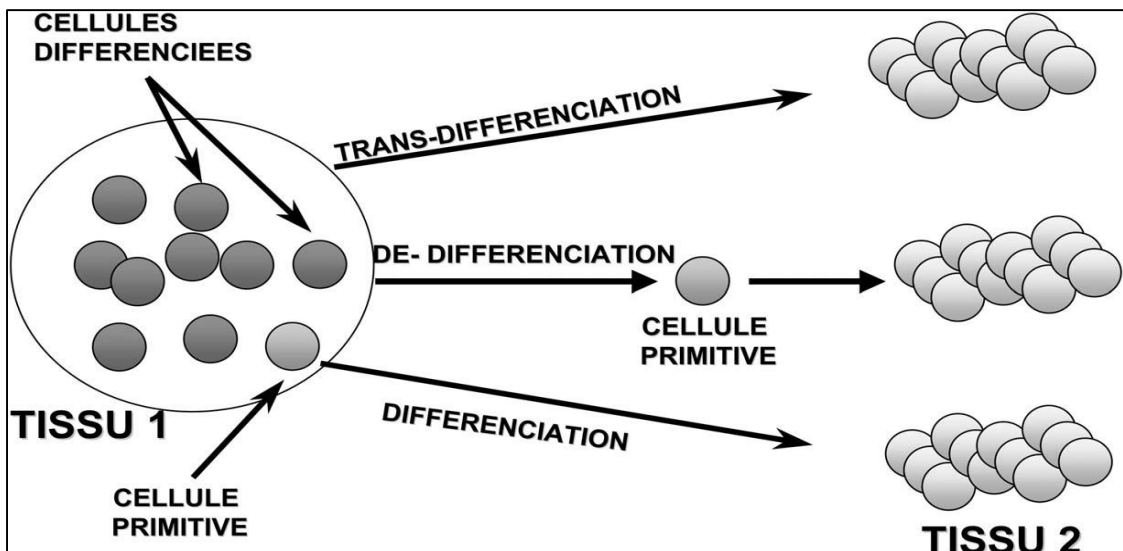


Figure 19 : Mécanismes de la plasticité [51]

iii. Le mécanisme de fusion cellulaire.

Le mécanisme de fusion cellulaire s'observe couramment dans l'organisme : par exemple, les myoblastes fusionnent les uns avec les autres pour constituer des fibres musculaires possédant un grand nombre de noyaux. Lorsqu'une cellule différenciée fusionne avec une cellule indifférenciée, celle-ci est comme « reprogrammée » par la cellule différenciée.

La confusion peut donc s'installer entre le phénomène de la plasticité suspecté et les phénomènes de fusions observées. En effet, des cellules souches transplantées ont présenté une fréquence de fusion élevée avec les cellules du parenchyme tout en acquérant le phénotype de ces dernières, donnant l'illusion d'une plasticité ou d'une «trans-différenciation ». Comme exemple, il s'agit du repeuplement du foie d'une souris malade par des cellules souches hématopoïétiques d'une souris normale. Néanmoins, les chercheurs estiment que la fréquence spontanée des phénomènes de fusion cellulaire apparaît très faible, au moins dans les tissus normaux et ne semble pas en mesure d'expliquer tous les résultats publiés. [52, 53]

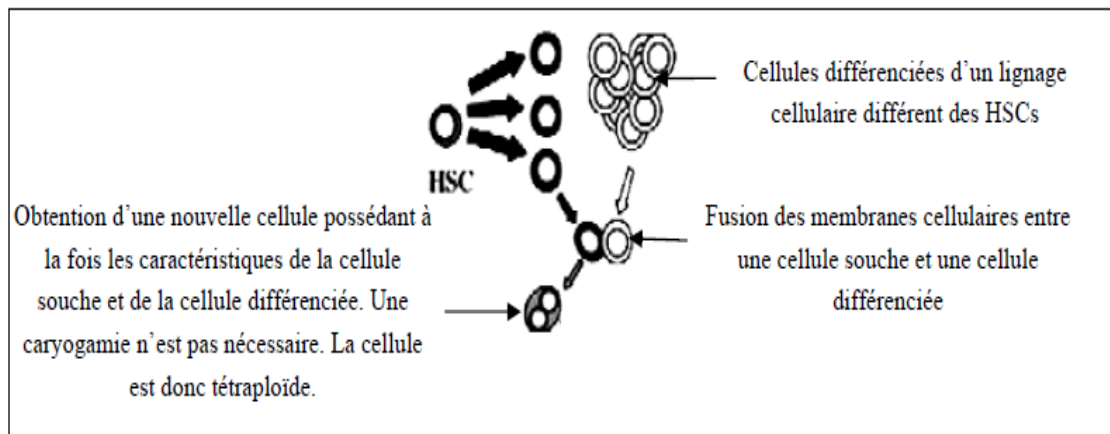


Figure 20 : Fusion cellulaire [60]

e) Notion de niche cellulaire

Les cellules souches adultes sont localisées dans des microenvironnements cellulaires qui les protègent, appelés **niches**. Ces niches sont composées non seulement des cellules souches elles-mêmes, mais également d'autres types cellulaires de soutien qui génèrent un environnement riche en facteurs et molécules servant à maintenir l'état indifférencié des cellules souches. Cependant, dans des conditions nécessitant une régénération tissulaire ou une réparation tissulaire, les facteurs dans la niche favorisent l'auto-renouvellement afin d'élargir le nombre de cellules souches qui sont alors en mesure de se différencier en types de cellules spécialisées.

La plupart des cellules souches adultes sont localisées dans des niches complexes (qu'il s'agisse des cellules stromales de la moelle osseuse, ou des cellules des cryptes intestinales) tandis que certaines ne sont pas entourées de cet environnement cellulaire particulier. On cite les cellules satellites du muscle adulte, qui sont quiescentes et se positionnent sous une membrane basale accolée à la fibre musculaire. [18, 78]

Les cellules souches cancéreuses partagent certaines propriétés avec les cellules souches normales : elles s'auto-renouvellent et donnent naissance à des progéniteurs hautement prolifératifs. On sait que la niche inhibe les divisions des cellules souches : une mutation qui les rendrait insensibles au contrôle de la niche ou une modification des signaux émis par la niche pourraient peut-être contribuer au développement d'un cancer. [78]

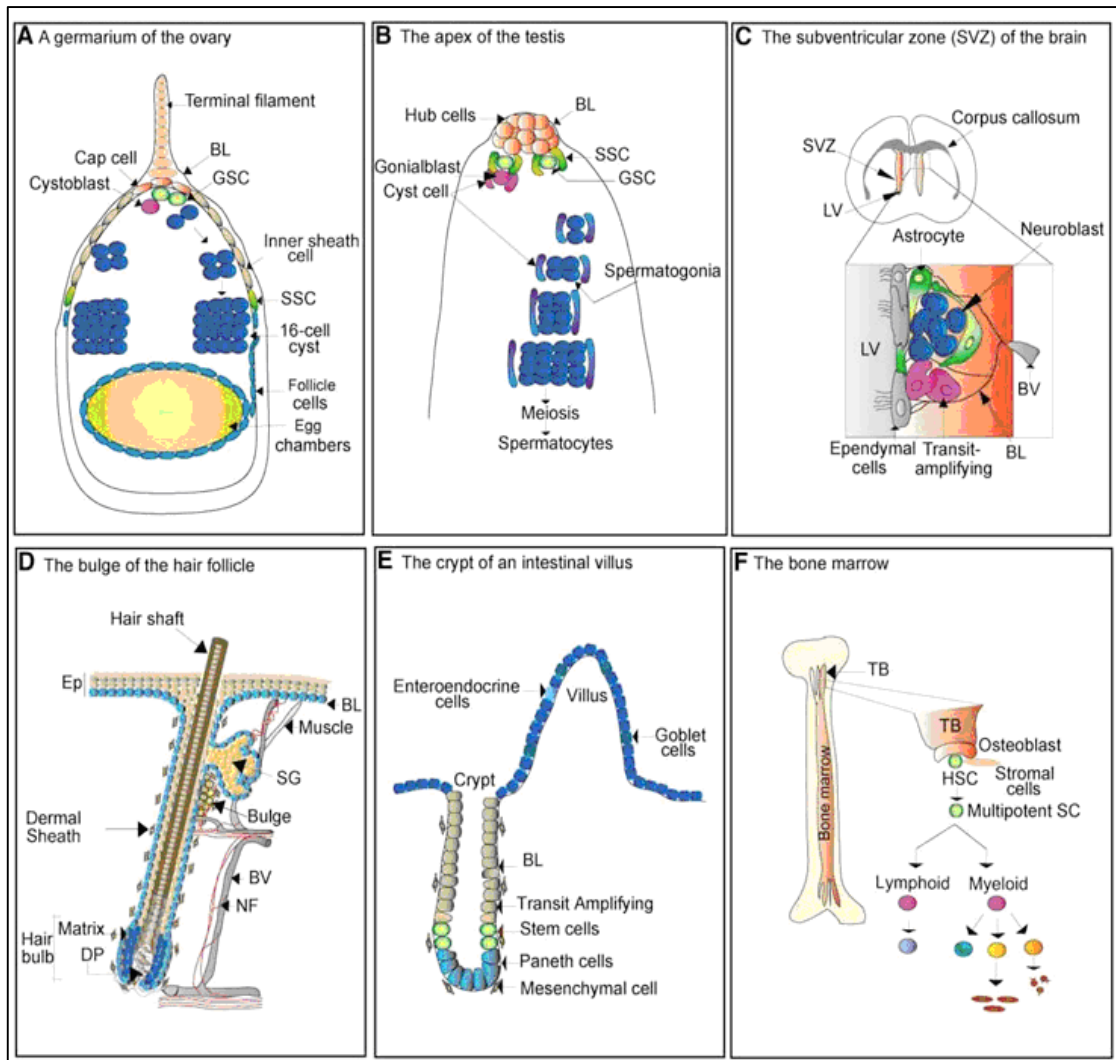


Figure 21 : Cellules souches et leur niches [78]

Chaque niche est très spécifique du lignage cellulaire auquel elle appartient et donc à certains types de cellules souches. Il est possible de dégager les caractéristiques communes d'une niche malgré leur grande diversité [79]:

- Elle est constituée par un groupe de cellules dont le rôle est le maintien des cellules souches. La composition de ces cellules est variable d'un tissu à l'autre.
- La niche a un rôle de support physique et nutritif, également un rôle dans le maintien de la vitalité des cellules souches. C'est elle qui sécrète les facteurs responsables de la dégradation d'une cellule souche en cas de dommage au niveau de l'ADN.

- Elle sécrète des facteurs extrinsèques qui contrôlent le devenir des cellules souches et leur nombre. Ces facteurs sont très nombreux. Certaines molécules se retrouvent chez tous les mammifères comme BMP (bone morphogenic protein). Les cellules souches sont ainsi régulées à la fois par un programme intrinsèque et à la fois par des facteurs extrinsèques provenant de la niche. Les programmes intrinsèques contrôlant l'auto-renouvellement et la différenciation des cellules souches sont très variés.

- Chez les invertébrés comme chez les vertébrés, la niche possède une structure asymétrique. A la suite d'une division, une cellule est maintenue dans la niche et devient une cellule souche (auto-renouvellement) tandis que l'autre cellule quitte la niche, prolifère et s'engage dans une voie de différenciation.

- Dans les conditions normales, la niche, en contrôlant le renouvellement et donc la division des cellules souches, a un rôle anti-tumoral. Cependant, en cas de mutations des cellules souches, devenant ainsi réfractaires aux signaux envoyés par la niche, il peut y avoir apparition d'une tumeur. De la même façon, si c'est la niche qui devient anormale, c'est elle qui entrainera la formation d'une tumeur en dérégulant les cellules souches.

Il est aussi à noter que certaines cellules souches peuvent migrer d'une niche à l'autre ou se localiser provisoirement dans des niches dites facultatives. [80]

f) Les différentes cellules souches adultes

i. *Les cellules souches adultes mises en évidence*

La moelle osseuse renferme une diversité de cellules souches adultes et représente donc une source précieuse de ces cellules.

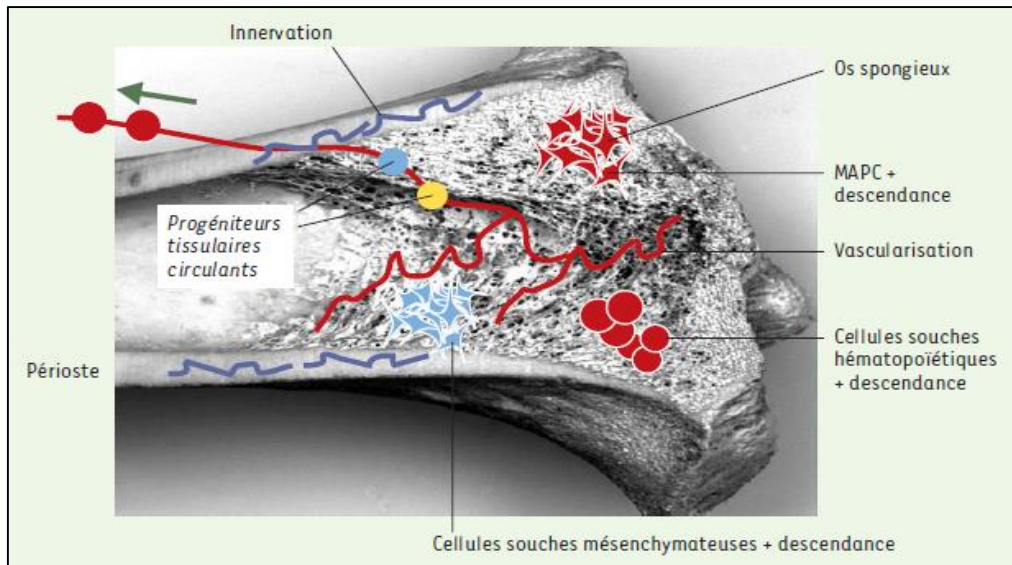


Figure 22: Populations de cellules souches dans la moelle osseuse [45]

➤ **Les cellules souches hématopoïétiques (HSCs)**

Elles sont les plus connues. Elles sont capables de se différencier en globules blancs, en globules rouges et en plaquettes. Les cellules souches hématopoïétiques sont prélevées dans la moelle osseuse, dans le sang périphérique ou le sang du cordon ombilical. On peut envisager la même pratique à partir d'un donneur apparenté ou non, et mieux à partir de sang de cordon.

Elles peuvent être utilisées pour rétablir des lignées cellulaires sanguines perturbées par certaines pathologies malignes comme celles du sang (lymphomes, leucémies...) ou se manifestant par des tumeurs solides. Elles représentent aujourd'hui la majorité des cellules souches adultes utilisées dans la pratique médicale courante ou les essais cliniques. Les premières greffes consistaient à ponctionner les os et à les retirer de la moelle osseuse mais à partir des années 90, il est devenu possible d'utiliser un facteur de croissance (G-CSF ou Granocyte® ou Neupogen®) qui incite les cellules souches à se détacher de la moelle osseuse, à se relocaliser et à circuler dans le sang. C'est **la mobilisation des cellules souches**. Leur collecte se fait ensuite par technique d'**aphérèse**.

De nouvelles potentialités thérapeutiques apparaissent, telles que la restauration du tissu musculaire du cœur en post infarctus, qui restent néanmoins à valider dans le cadre d'essais cliniques. De plus les chercheurs ont mis en évidence le fait que ces cellules peuvent engendrer du muscle, du foie ou des cellules nerveuses. [14, 45, 53, 118]

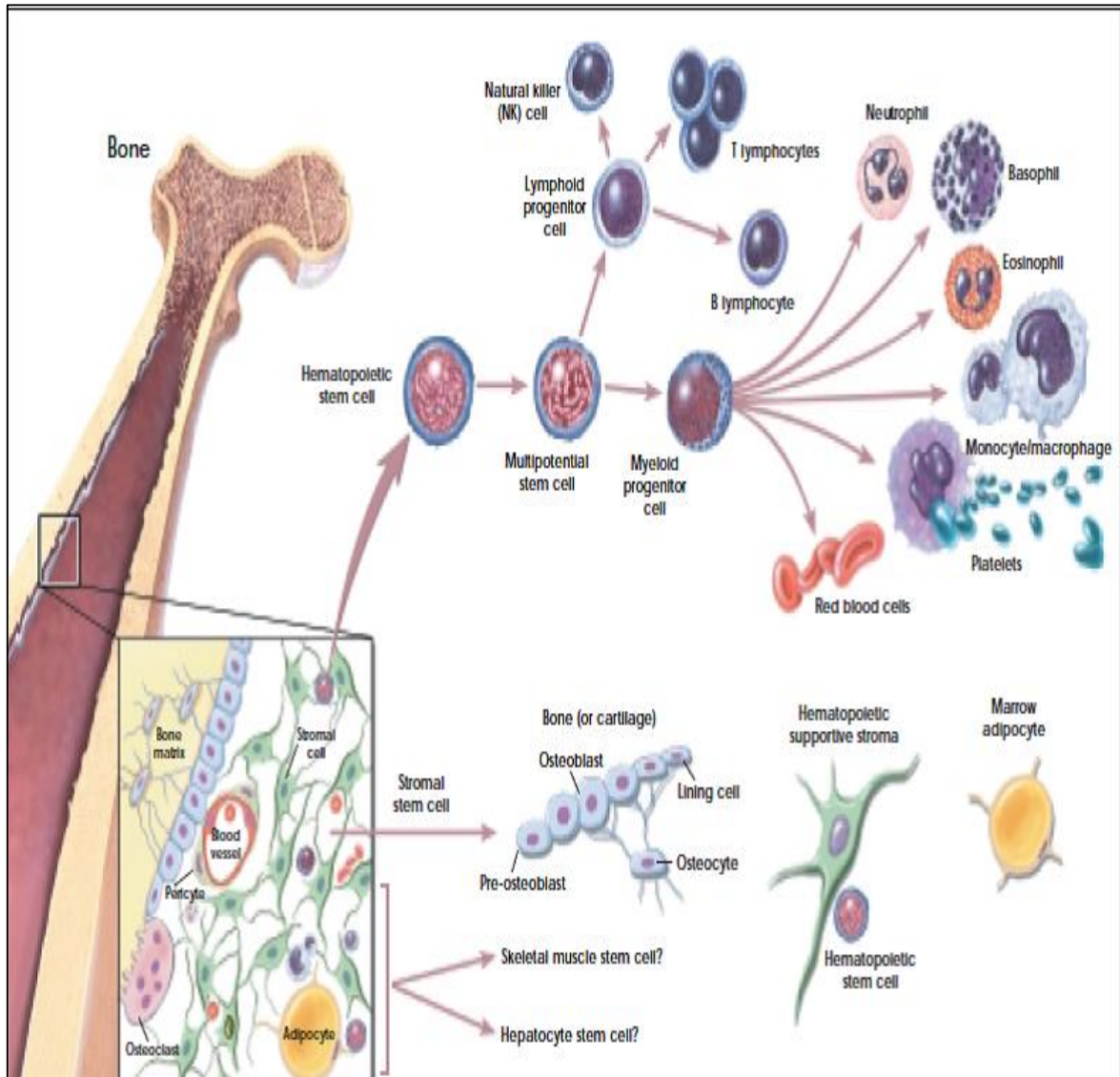


Figure 23 : Les cellules souches hématopoiétiques. [14]

➤ **Les cellules souches mésenchymateuses (MSCs)**

Ces cellules se trouvent dans le tissu qui sert de soutien aux autres tissus du corps (moelle osseuse), en assurant leur nutrition et en participant au mécanisme de défense immunitaire de l'organisme. Ce sont des cellules d'origine embryonnaire. Elles proviennent de cette structure particulière de l'embryon que l'on appelle le mésenchyme, elles ont été découvertes également récemment dans le cordon ombilical lui-même. A la différence des cellules hématopoïétiques, les MSCs ne circulent pas dans le sang périphérique. Elles stimulent la formation des vaisseaux sanguins, produisent des *chimiokines* et *facteurs de croissance*, et inhibent fortement l'activation des lymphocytes T, cellules essentielles pour le système immunitaire, notamment impliquées dans le rejet d'organes. Cette dernière propriété a encouragé l'utilisation des MSCs pour la lutte contre les maladies auto-immunes comme la maladie de Crohn. Ces cellules peuvent aussi se différencier en différents tissus tels que le muscle, le tissu conjonctif ou le sang. On sait aussi depuis un article publié en 1999, qu'elles peuvent engendrer du cartilage, de l'os, des tendons et même du tissu adipeux et permettre la reconstitution du microenvironnement médullaire. [45, 58, 115, 116].

➤ **Les progéniteurs des cellules endothéliales**

Il semble aussi que des progéniteurs des cellules endothéliales aient été identifiés dans la moelle. Néanmoins, un nombre d'expériences chez l'animal confirment les possibilités ouvertes pour leur utilisation. Ainsi, chez l'animal, l'injection des cellules souches médullaires, contenant par conséquent ces progéniteurs endothéliaux, s'est montrée bénéfique pour favoriser la revascularisation, soit le rétablissement de la circulation sanguine, dans des lésions cérébrales, rétinienne et cardiaques. [45, 59]

➤ **Les précurseurs de cellules épithéliales de la peau et du système digestif**

La **peau** illustre parfaitement l'activité de régénération permanente de notre organisme. La couche superficielle de la peau, l'épiderme, fait l'objet d'une régénération rapide qui part d'une population de cellules souches localisées dans la couche la plus profonde de l'épiderme et les bulbes pileux. Ces cellules souches ont un potentiel de prolifération important qui s'élève à $1,7 \times 10^{38}$. Elles ont pour rôle de renouveler non seulement les

cellules défectueuses de l'épiderme mais aussi celles des glandes sudoripares, des glandes sébacées et des phanères (poils, ongles). Certains kératinocytes, appelés **kératinocytes clonogéniques** (Keratinocyte colony-forming cells, K-CFCs), sont capables de former des clones en culture. Cette propriété est utilisée pour fabriquer les épithéliums de culture qui sont transplantés chez les grands brûlés. Les kératinocytes clonogéniques sont présents dans l'épiderme et les follicules pileux. C'est à partir des cellules souches de la peau que le Professeur Yamanaka a obtenu les iPSC en 2007. [34, 45]

La population de cellules qui renouvelle l'épithélium de l'intestin grêle est localisée dans les cryptes intestinales (des invaginations profondes dans la paroi de l'intestin). Les cellules des cryptes sont souvent considérées comme des cellules souches ; et peuvent s'organiser en « grappe » de cellules appelée unité structurelle proliférative [14, 69]. La présence des cellules souches dans la muqueuse de l'intestin permet probablement la régénération des entérocytes, des glandes muqueuses et des autres structures de l'intestin. [45]

➤ **Les cellules souches qui renouvèlent le muscle**

À ce jour, au moins trois populations de cellules souches du muscle squelettique ont été identifiées: les **cellules satellites**, les cellules de la paroi de l'aorte dorsale, et les cellules SP dites "*side population cells*". [14]

Les cellules satellites, qui ne sont pas à proprement parler des cellules souches sont immédiatement activées en cas de lésion traumatique ou pathologique, et représentent un moyen de réponse à ces traumatismes très rapide et très efficace, dans la mesure où elles sont déjà déterminées vers la voie de différenciation musculaire. Par contre, leur capacité proliférative, qui diminue avec l'âge et surtout en pathologie dégénérative, reste toujours limitée. Le nombre de divisions disponible reste suffisant pour assurer leur fonction chez un individu "normal" tout au long de sa vie, et ce malgré l'allongement de l'espérance de vie. Par contre, il n'est pas suffisant pour répondre soit à des situations pathologiques ou des cycles de régénération successifs sont nécessaires ou à un choc septique. [65, 66]

➤ **Les cellules souches dans le foie et le pancréas**

Le statut de cellules souches dans le pancréas adulte et le foie n'est pas encore très clair.

Les capacités de régénération des hépatocytes adultes, des progéniteurs du foie et des cellules souches sont actuellement en étude et suscitent un grand intérêt pour pallier à la transplantation de l'organe lui-même [46]. Il a été montré que la masse du foie est restaurée principalement par l'activation des hépatocytes, suggérant que les hépatocytes matures pourraient servir eux-mêmes de précurseurs physiologiques. Il a été découvert une région susceptible d'être une niche pour des cellules souches : il s'agit des canaux biliaires dans la région péri-portale nommés canaux de Hering. [67, 68]

Les cellules souches dans le pancréas adulte se produisent dans les canaux pancréatiques ou dans les îlots eux-mêmes. Plusieurs rapports récents indiquent que des cellules souches qui expriment la nestine, qui est habituellement considéré comme un marqueur de cellules souches neurales, peuvent générer tous les types de cellules dans les îlots [14, 70]. Les recherches montrent que les meilleures sources de cellules souches ou progénitrices pancréatiques adultes sont : les cellules canalaire, le tissu exocrine, les cellules progénitrices nestine-positives dérivées des îlots, les cellules neurogénine -3- positives, et les cellules β matures [46]

➤ **Les cellules souches de l'œil**

L'épithélium de la surface des yeux comprend la cornée, le limbe, et l'épithélium stratifié conjonctival.

La cornée humaine est claire et transparente et ne contient aucun vaisseau sanguin pour sa nutrition. Ce sont les cellules souches de la cornée qui se différencient et se déplacent vers le centre de la cornée afin d'assurer le renouvellement tous les quatre mois. Ces cellules sont localisées au niveau du limbe, qui est entre la partie colorée et la partie blanche de l'œil. Elles jouent un rôle unique et important dans le maintien de la fonction de la cornée et interviennent pour la réparation de divers traumatismes. En cas de déficience limbique de cellules souches, soit en raison de blessures ou de maladies, la réparation et la régénération de la cornée oculaire reste impossible. [46]

Il existe également une petite population de cellules souches neurales quiescentes située dans l'épithélium ciliaire, qui pourrait proliférer à la suite d'un traumatisme de la rétine in vivo ou après stimulation par des facteurs de croissance in vitro. Ces cellules souches sont aussi désignées sous le terme de cellules souches rétiniennes et sont capables de s'auto-renouveler et d'exprimer de multiples marqueurs comme la télomérase, la Nestine et PAX-6, spécifique des cellules précurseurs de la rétine. [71]

ii. Des découvertes récentes et recherches en cours

Poumon : L'existence de cellules souches multipotentes résidant dans l'épithélium pulmonaire, capables de se différencier en cellules ciliées et en cellules mucipares des glandes sous-muqueuses, a été supposée très tôt par des chercheurs. Ceci a permis plus tard l'identification des cellules souches bronchio-alvéolaires multipotentes (*bronchioalveolar stem cells* ou BASCs) capables d'auto-renouvellement, localisées à la jonction bronchio-alvéolaire. Ces BASCs contribuent certainement au maintien des cellules bronchiques de Clara et des cellules alvéolaires distales du poumon. [72]

Rein : Le rein adulte est reconnu comme ayant une certaine capacité de régénération et de réparation. Il faut alors déterminer si cette réparation est due à une simple prolifération de cellules in situ ou/et s'il y a intervention de cellules souches adultes rénales ou extrarénales. Dans la plupart des modèles, il semblerait qu'il y ait intervention à la fois des cellules différenciées et à la fois des cellules souches rénales et extra-rénales. [73]

Cœur : Des observations des myocytes ont prouvées l'existence de plus d'un mécanisme de formation des myocytes dans le cœur adulte. Ces données ainsi que des expériences de transplantations cardiaques de mâle à femelle ont permis d'identifier des cellules souches cardiaques (*cardiac stem cells* ou CSCs). La découverte des CSCs résidant dans le myocarde et donnant naissance aux myocytes, aux cellules musculaires lisses des vaisseaux et aux cellules endothéliales du cœur a permis la création d'une nouvelle perspective concernant la biologie du cœur et les mécanismes de son homéostasie tissulaire et de sa régénération[74]. Néanmoins les essais cliniques actuels pour trouver une thérapeutique à

des maladies cardiaques tel que l'infarctus, utilisent des cellules souches adultes de **moelle osseuse**. [75]

Cerveau : La neurogenèse survient dans deux zones du cerveau : le gyrus dentel (dental gyrus **DG**) de l'hippocampe et la zone sub-ventriculaire (**SVZ**) du ventricule latéral. Il existe une hypothèse selon laquelle les nouvelles cellules nerveuses sont obtenues à partir de cellules souches neurales (neural stem cells ou NSCs) dans le cerveau adulte. Ces NSCs ont été démontrées comme étant multipotentes puisque les trois grands phénotypes de cellules nerveuses à savoir les neurones, les astrocytes et les oligodendrocytes peuvent être générés à partir d'une seule NSC. Ces cellules sont également capables d'auto-renouvellement. Il existe deux types de cellules dérivées des NSCs : les cellules progénitrices neurales (neural progenitor cells) et les cellules progénitrices gliales (glial progenitor cells) qui sont des cellules indifférenciées avec une capacité de prolifération limitée et une incapacité à s'auto-renouveler.

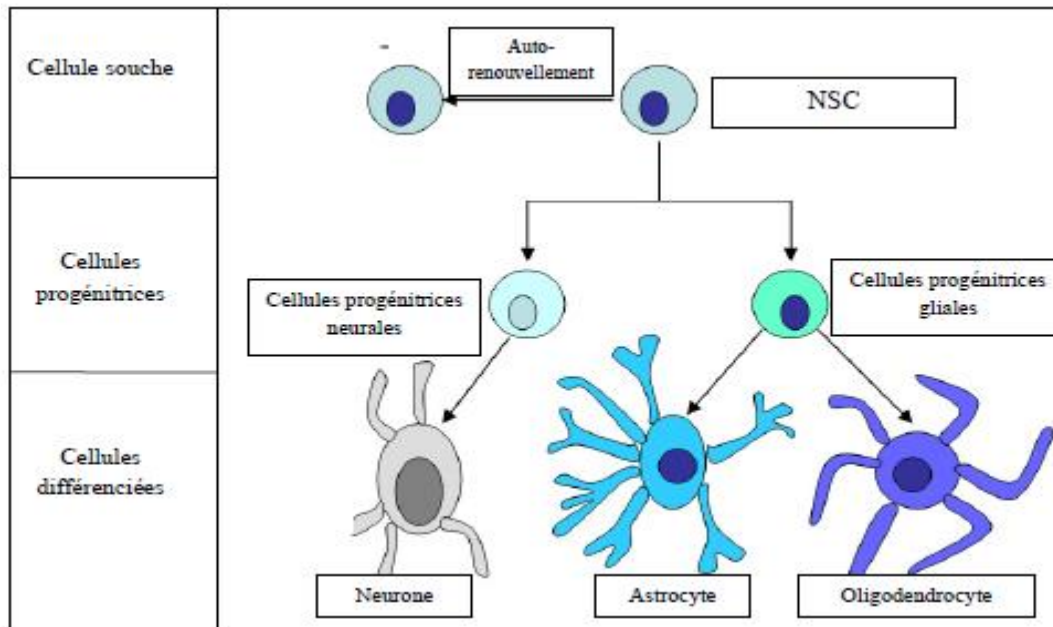


Figure 24 : Différenciation des NSCs [76]

L'isolement social, l'alcoolisme, le stress et le manque de sommeil diminuent la neurogenèse. Le taux de renouvellement dans le DG et la SVZ décroît également avec l'âge. [76]

Tissu adipeux : Les chercheurs se sont intéressés aux cellules souches stromales du tissu adipeux. Il y a effectivement des cellules souches dans le tissu adipeux qui prennent le nom de cellules stromales dérivées du tissu adipeux (adipose tissue-derived stromal cells). [77]

g) Des cellules souches adultes au potentiel pluripotent

Récemment, des cellules souches très primitives de type embryonnaire qui correspondent à la définition d'une cellule souche « somatique » ont été découvertes dans plusieurs tissus chez la souris et dans la moelle osseuse humaine. La pluripotente de ces cellules souches adultes semble avoir été mise en évidence par un certain nombre d'équipes. Les résultats les plus notables sont ceux obtenus par l'équipe d'une biologiste belge à l'université de Minneapolis, Catherine Verfaillie. Dans un article paru en 2002, son équipe démontre qu'il existe dans la moelle osseuse, voire dans tous les organes, un type de cellules précurseurs qui ne peuvent pas vraiment être distinguées des MSCs. Ces cellules souches, ne sont pas seulement multipotentes mais bien **pluripotentes**, comme les cellules souches embryonnaires. Elles ont été nommées donc les *Multipotent Adult Progenitor Cells* (**MAPC**).

A la différence des MSCs, elles peuvent se multiplier indéfiniment dans des milieux de culture relativement pauvres. Les MAPCs sont capables d'un potentiel d'amplification majeure avec la possibilité de réaliser *in vitro* 120 doublements et de générer ainsi théoriquement, 1036 cellules. Lorsqu'elles sont analysées après plusieurs doublements, ces cellules possèdent des télomères longs et surtout expriment des quantités faibles de Rex-1 et d'Oct-4, facteurs de transcription caractéristiques des cellules souches embryonnaires.

Cette découverte bien que très difficilement reproductible a suscité un vif intérêt dans la communauté scientifique, militant en faveur de la recherche sur les cellules souches adultes

dont les potentialités sont peut-être plus importantes que prévu. Elles représentent donc de formidables perspectives pour la médecine régénératrice dans l'avenir. [53, 60, 81, 82]

Plus récemment un autre type de cellule souche a été identifié : il s'agit de cellules dérivées de la moelle osseuse adulte pouvant, grâce à une induction, donner une multitude de lignées cellulaires in vitro (*marrow-isolated adult multilineage inducible* ou **MIAMIs**). Ces cellules expriment la télomérase, oct-4 et rex-1 et peuvent se différencier en cellules d'origine mésodermique ainsi qu'en cellules neurales. [82]

h) Avantages et inconvénients :

Les cellules souches adultes ont un potentiel de remplacement et pourraient s'avérer être le meilleur choix pour la thérapie cellulaire, vu leurs multiples avantages :

- *Une meilleure tolérance immunitaire dans certains cas* : L'utilisation de cellules souches d'organes peut se concevoir : de façon autologue (les cellules provenant du patient lui sont administrées) ou de façon allogénique (les cellules provenant d'autrui sont administrées au patient). Tout processus de greffe allogénique de cellules souches adultes comporte des risques de rejet mais la greffe autologue n'en présente pas. [29]
- *Une plus grande stabilité chromosomique* : Les cellules souches embryonnaires possèdent un fort potentiel régénérateur mais leur instabilité chromosomique tolérée pose un problème pour l'efficacité thérapeutique. Les cellules souches adultes ne se heurtent pas aux mêmes difficultés du fait de leur plus grande différenciation. Il est techniquement plus facile de maîtriser leur évolution. [83]
- *Des réticences éthiques moins problématiques* : Les techniques de récolte comme les lieux d'obtention de la majeure partie des cellules souches adultes ne posent pas problème : les procédures d'application étant codifiées, le prélèvement de telles cellules relève légalement du don d'un adulte informé et consentant. [28]
- *Possibilités de reprogrammation des cellules souches adultes* : leur plasticité représente un atout majeur. Il existe aussi la possibilité de les reprogrammer pour qu'elles abandonnent leur spécialisation et redeviennent des cellules souches (iPSC). [43]

L'utilisation des cellules souches adultes se heurte à une série de difficultés non négligeables liée à l'insuffisance des connaissances sur leurs propriétés biologiques comme sur leurs mécanismes de différenciation, de spécialisation etc... qui seront donc les grands défis de la recherche dans l'avenir :

- *Les difficultés de localisation des cellules souches dans les tissus et les organes* : La difficulté première posée par la récolte des cellules souches adultes concerne leur localisation et leur rareté. L'absence de marqueurs spécifiques de ce type de cellules complique leur identification. Même si l'on pré suppose leur présence dans l'ensemble des organes du corps humain, les recherches sont encore dans l'impossibilité de le démontrer. [45]
- *La faible capacité de prolifération in vitro* : Il apparaît très difficile, à ce jour, de produire de bons milieux favorables à la prolifération des cellules souches adultes. Ces cellules perdent, en culture *ex vivo* une part de leur potentiel d'auto-renouvellement mais aussi de leur caractère multipotent. Elles sont, en plus, très difficiles à conserver.
- *Une moindre efficacité* : Elles ne permettent pas de couvrir l'ensemble des pathologies potentiellement accessibles à la thérapie cellulaire ; elles paraissent efficaces pour traiter des lésions peu étendues mais elles se révèlent décevantes pour les maladies neurodégénératives graves. Elles ont **une faible** capacité de homing (aptitude des cellules greffées et redifférenciées à se diriger et à se localiser dans les **zones tissulaires ou organiques** à traiter). Elles diminuent en nombre au fur et à mesure du vieillissement du sujet. [45, 84]
- *Un risque cancérigène faible mais présent* : Le risque de développement d'un cancer après greffe autologue de cellules souches est souvent lié leur culture : la probabilité de faire apparaître en culture des cellules cancéreuses est vraisemblablement proportionnelle au nombre de divisions successives auxquelles on doit soumettre ces cellules pour en récolter des nombres suffisants pour l'action thérapeutique envisagée. La cancérogenèse dépend peut être de l'emballement incontrôlé de cette multiplication. Ce risque semble moins élevé avec des cellules souches adultes différenciées, qu'avec

des cellules souches embryonnaires. En situation de greffe allogénique adulte, il existe un risque carcinogène spécifique se traduisant par la transmission au receveur de cellules malades éventuellement présentes auparavant chez le donneur. [30]

	Totipotentes	Pluripotentes (ES)	Multipotentes	Unipotentes
Site d'hébergement	Issues des premières divisions de l'œuf jusqu'à J4	Dans la masse interne de l'embryon au stade blastocyste (15-17 après la fécondation)	Hébergées dans les tissus fœtaux, sang de cordon ou tissus adultes	Hébergées dans les tissus fœtaux, sang de cordon ou tissus adultes
Capacités de différenciation	Pouvoir de donner la naissance aux: > 3 feuillets > Cellules germinales > tissus placentaires Capacité de donner un individu complet	Pouvoir de donner la naissance aux > 3 feuillets > Cellules germinales Ne peut pas donner un individu complet	Pouvoir de générer > Plusieurs types de cellules dans un tissu donné Spécifiques d'un type de tissu	Pouvoir de générer un type de cellule Spécifiques d'un type de cellule
Capacité d'auto-renouvellement				
Capacité de prolifération				
Exemples			HSCs: lymphocytes; monocytes; granulocytes; rouges; plaquettes; NSCs: neurones, oligodendrocytes, astrocytes Cellules ovales: hépatocytes, cellules des canaux biliaires MAPC	Erythroblaste Myéloblaste

Tableau I : Récapitulatif sur les types de cellules souches [18, 20, 34]

IV. Chronologie et dates des importantes recherches.

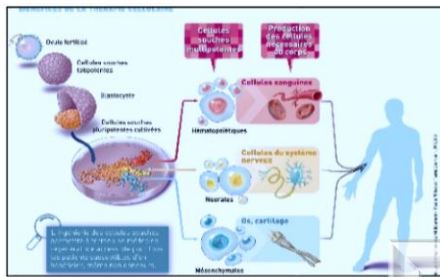
Quelques dates importantes ont marqué l'avancée spectaculaire de la recherche sur les cellules souches humaines :

- **1860-1920** : Dédution de l'existence des cellules souches à partir de l'analyse du développement des embryons et de la microscopie de la moelle osseuse (Allemagne). [97]
- **1948-1958** : Dédution des mécanismes des cellules souches à partir du développement des spermatozoïdes et du remplacement de l'épithélium intestinal (Canada). [3]
- **1956** : Réalisation de la première greffe de moelle osseuse par le Dr E. Donnall Thomas (New York). [98]
- **1961** : Établissement de l'existence et des propriétés des cellules souches greffables dans la moelle osseuse de souris et instauration de la première méthode de dénombrement des colonies. Cette découverte ouvre la voie à la recherche actuelle sur les cellules souches adultes et embryonnaires (Canada). [3]
- **1964** : Découverte de cellules souches dans les carcinomes embryonnaires. [85]
- **1969** : Première application des techniques de séparation des cellules pour analyser la hiérarchie des cellules souches de moelle osseuse (Canada). [97]
- **1978** : Découverte de cellules souches greffables dans le sang ombilical humain (États-Unis). [97]
- **1981** : Obtention de cellules embryonnaires à partir de la masse cellulaire interne de blastocystes de souris (Royaume-Uni, États-Unis). [86]
- **1992** : Reconnaissance des cellules souches nerveuses dans le cerveau humain adulte (Canada). [97]
- **1993** : Démonstration de la pluripotence des cellules souches embryonnaires par la reproduction de souris uniquement dérivée de cellules souches embryonnaires (Canada). [97]
- **1994** : Séparation des cellules souches de la majorité des autres cellules cancéreuses (Canada). Traitement de patients ayant des cornées endommagées à l'aide de cellules souches de cornée (Taiwan). [97]
- **1994** : Isolement de cellules de la masse cellulaire interne (ICM) de blastocystes humains et leur maintien en culture. [87]

- **1995** : Isolement des lignées de cellules souches embryonnaires de primate. Ces cellules souches embryonnaires sont diploïdes et ont un caryotype normal. Elles sont pluripotentes et se différencient en types cellulaires dérivés de tous les trois feuilletts primordiaux. On constate que les cellules souches embryonnaires de primates ressemblent aux cellules souches de carcinomes embryonnaires humaines et permettent de penser qu'il pourrait être possible de produire et de maintenir en vie des cellules souches embryonnaires humaines in vitro. [88]
- **1996** : Clonage d'un mammifère; naissance de la brebis Dolly (Écosse). [97]
- **1998** : Production des cellules souches embryonnaires humaines à partir de la masse cellulaire interne d'un blastocyste humain cédé par un couple ayant eu une FIV. Les cellules ainsi obtenues sont cultivées et subissent plusieurs passages en conservant un caryotype normal, préservant un taux élevé d'activité télomérasique et exprimant une variété de marqueur typique de cellules carcinomes embryonnaires humaines et de cellules souches embryonnaires de primates [21]
- **2000** : Production de cellules souches embryonnaires humaines à partir de blastocystes humains. Ces cellules se différencient spontanément en lignées cellulaires somatiques issues des trois feuilletts primordiaux et forment des tératomes quand on les injecte dans des souris immuno-déficientes. [89]
- **2000** : Production de cellules souches embryonnaires humaines et leur différenciation en neurones. [90]
- **2003** : Production de cellules souches embryonnaires humaines à partir de dents de lait humaines tombées naturellement. [91]
- **2004** : Cellules souches embryonnaires humaines ont été obtenues par transfert du noyau d'une cellule somatique d'une femme dans son ovule anucléé. [92]
- **Juin 2004** : L'ancien ministre de la Santé, Mohamed Cheikh Biadillah, a inauguré à Casablanca, le premier laboratoire de Cryobiologie au Maroc, spécialisé dans le traitement et la conservation des cellules souches. [95]
- **Juillet 2004** : Première greffe de moelle osseuse réussie réalisée au CHU Ibn Rochd de Casablanca. [96]

- **2006** : Obtention de cellules souches embryonnaires humaines à partir d'embryons humains considérés comme morts naturellement [93].
- **2006** : Démonstration de l'existence de cellules souches mammaires normales chez la souris adulte (Australie, Canada, États-Unis) [97]. Obtention de cellules souches pluripotentes (iPSC) en reprogrammant des cellules épidermiques de souris adultes. Les iPSC modifiées ont des caractéristiques semblables à celles des cellules souches embryonnaires (Japon). [34]
- **2008** : Production de lignées de cellules souches par transfert nucléaire et activation par parthénogénèse d'ovocytes de souris pour le clonage thérapeutique [94]
- **2008** : Sam Weiss reçoit le Prix Gairdner pour la découverte de cellules souches nerveuses (Canada). [97]
- **2009** : Création d'iPSC avec une altération génomique résiduelle minimale (Canada). [97]
- **2010** : Reprogrammation de cellules adultes directement en neurones, en cellules musculaires cardiaques et en cellules sanguines (Canada, États-Unis). Premiers essais cliniques sur des cellules souches embryonnaires humaines pour le traitement des lésions de la moelle épinière (États-Unis). [97]
- **2010** : Isolement de cellules souches sanguines pluripotentes humaines capables de former toutes les cellules du système sanguin (Canada) [97]

Les recherches menées actuellement portent sur les mécanismes de communication intercellulaire, sur les mécanismes de différenciation et de spécialisation cellulaire. On étudie également les conditions de récolte de ces cellules souches, leur mise en culture, leur prolifération, et leur administration locale ou systémique. Ces travaux visent la maîtrise du potentiel régénérateur de ces cellules pour que de nombreuses applications thérapeutiques majeures puissent voir le jour et permettent des réparations tissulaires et organiques potentiellement vitales. C'est le fondement de la médecine régénératrice. [3]



Deuxième Partie : La thérapie cellulaire

I. Définitions

La **médecine régénératrice** est un domaine de la médecine qui vise à traiter les maladies chez les humains en remplaçant le tissu endommagé par des cellules ou des tissus créés à partir de cellules souches ou de matériaux biologiques modifiés.

La **thérapie cellulaire** peut être définie comme une approche qui utilise un produit biologique à effet thérapeutique issu de préparation de cellules vivantes humaines ou animales. En pratique, la thérapie cellulaire consiste en l'injection de cellules humaines dans le but de prévenir, traiter ou atténuer une maladie. Il s'agit de réparer des tissus lésés grâce à de nouvelles cellules qui vont les reconstruire. On peut utiliser des cellules isolées ou cultivées pour réparer des tissus endommagés, ou des cellules transformées pour apporter dans des tissus diverses molécules manquantes.

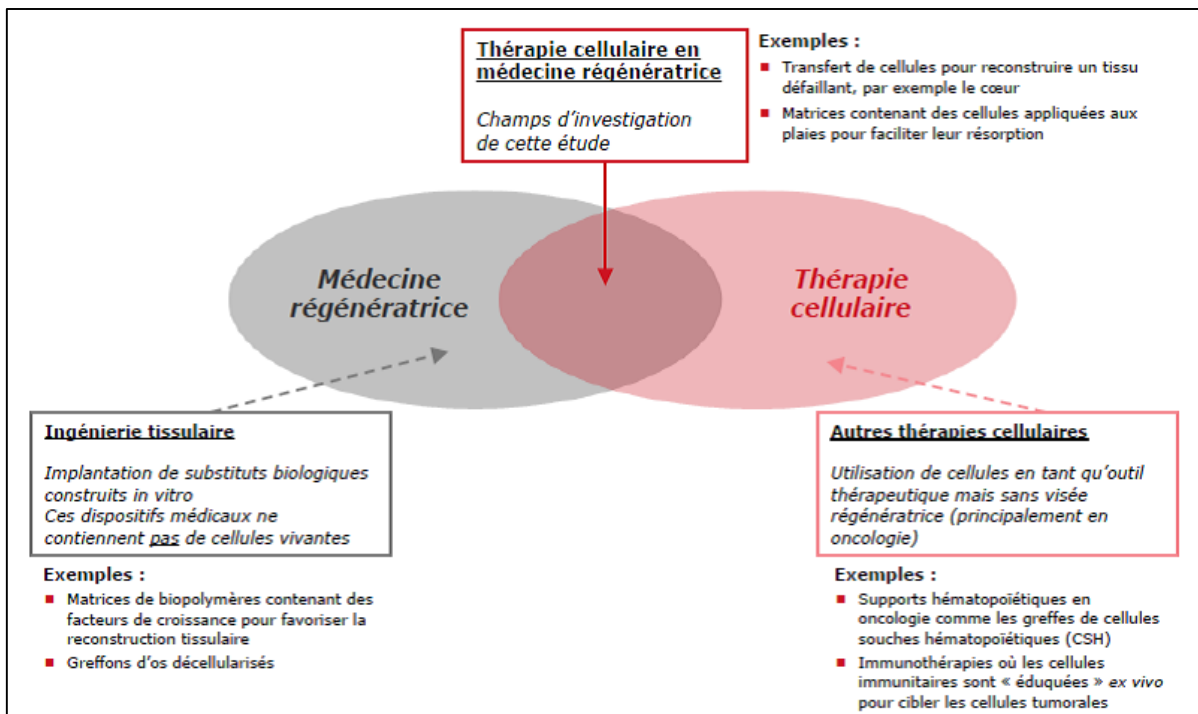


Figure 25 : Thérapie cellulaire et médecine régénératrice [116]

Les types de cellules utilisées en thérapie cellulaire sont les **cellules différenciées** (matures) et fonctionnelles provenant d'un organe, les cellules **précurseurs** issues de

cellules souches qui ont acquis un certain degré de spécialisation et les **cellules souches**. Parce qu'elles présentent les meilleures capacités de différenciation et de prolifération, les cellules souches sont au centre de la recherche et du développement de nouveaux traitements en thérapie cellulaire. [98, 116]

1. Enjeux et perspectives

De nombreuses maladies entraînent une destruction cellulaire pour laquelle la seule solution serait une greffe. Mais cette solution est confrontée aux problèmes de compatibilité et la faible offre de greffons par rapport au nombre de personnes malades. La thérapie cellulaire constituerait une alternative aux greffes d'organes et de tissus : si on arrivait à produire des tissus à partir de cellules souches adultes provenant de la personne elle-même (cellules «autologues»), on résoudrait le problème du donneur et on écarterait les risques de rejet. La finalité de ce projet est tout aussi simple qu'ambitieuse :

- Greffer des cellules plutôt que remplacer des organes ou des tissus
- Eviter les phénomènes de rejet et de liste d'attente de dons d'organes
- Préserver un capital fonctionnel...

Les principales difficultés rencontrées sont communes à toutes les équipes qui travaillent à cette technique, quel qu'en soit le domaine d'application :

- La maîtrise de la culture et l'utilisation des cellules souches.
- L'induction de la bonne transformation des cellules souches, qualitativement et quantitativement.
- La mise au point d'une technique d'injection qui garantira la survie des cellules implantées.

Les avancées déjà réalisées sont nombreuses, celles attendues et espérées le sont plus encore. On peut s'attendre à un développement encore plus considérable de la thérapie cellulaire dans les prochaines années, malgré qu'elle offre déjà des possibilités thérapeutiques pour plusieurs pathologies graves. [99, 100]

II. Les cellules souches en thérapie cellulaire

A. Principe et procédé de thérapie cellulaire

Le principe de la thérapie cellulaire implique que des greffons de cellules soient **prélevés**, et être soit directement réinjectés chez le patient ou dans la plupart des cas subir des manipulations au laboratoire (tri, **amplification**, sélection ou déplétion de certaines populations cellulaires). Certains greffons cellulaires peuvent également être conservés et stockés à très basse température dans des **banques de cellules souches**, ensuite décongelés en cas de besoin et mis à la disposition du thérapeute cellulaire. [101]

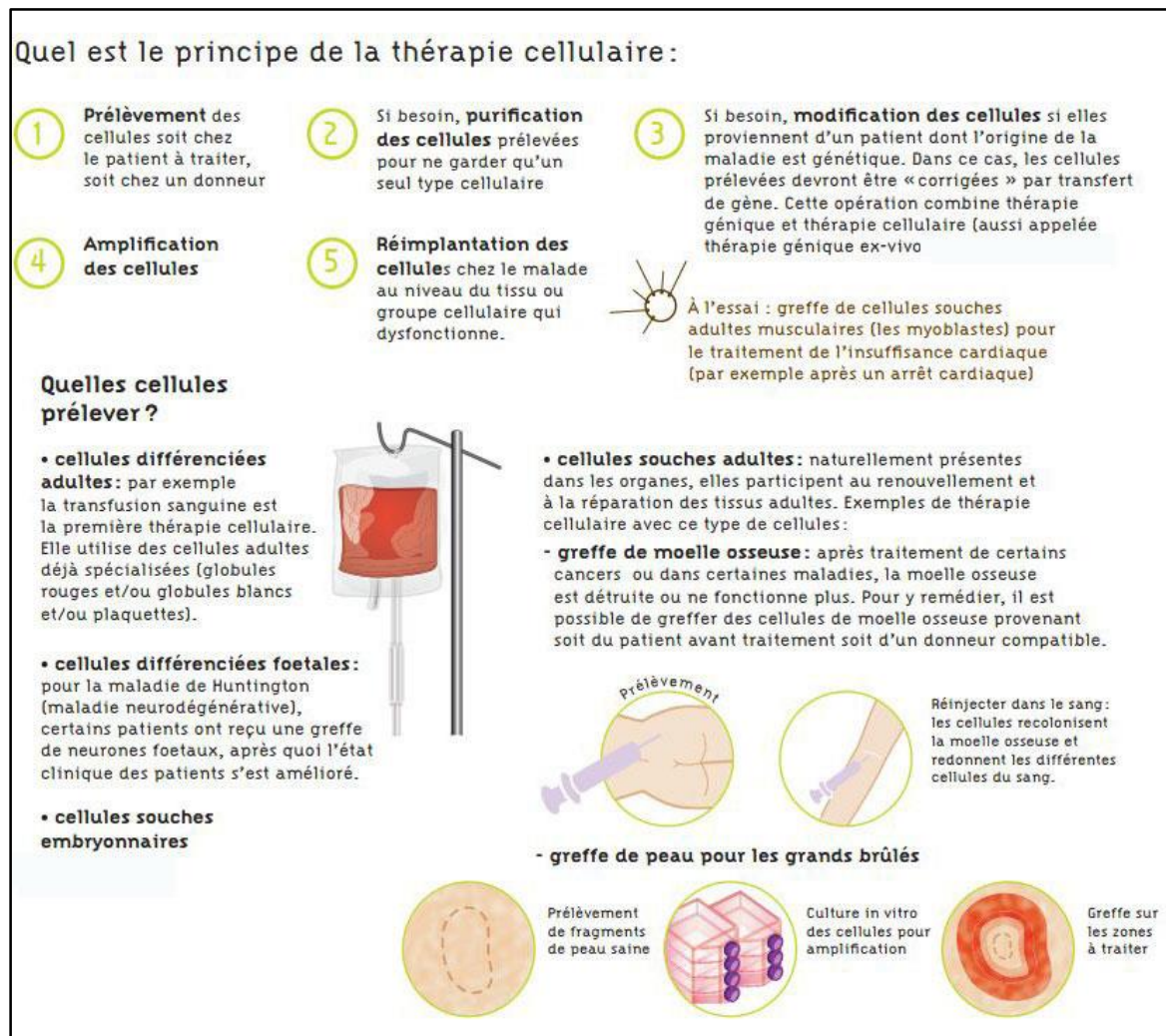


Figure 26 : Principe de la thérapie cellulaire. [102]

B. Présentation d'un laboratoire de thérapie cellulaire

Un laboratoire de thérapie cellulaire se doit de renfermer : un laboratoire de production, un laboratoire de recherche et de développement, une chambre froide, un local de congélation, et une biothèque où sont conservés les greffons cellulaires en azote liquide. Un monitoring des conditions d'environnement (concentration en oxygène, température des espaces de stockage, niveaux d'azote liquide) est nécessaire pour le bon déroulement des procédés de thérapie cellulaire. [101, 103]

La manipulation des cellules à usage clinique impose toutefois le respect des bonnes pratiques de fabrication qui vise à assurer la sécurité sanitaire des greffons cellulaires, des personnes et de l'environnement, ce qui implique notamment l'utilisation des systèmes clos ; dont l'objectif est d'empêcher, ou tout au moins, de limiter la contamination particulaire et microbiologique de l'air et des surfaces depuis le prélèvement du donneur jusqu'à la réinjection au patient.

Ce système clos repose sur l'utilisation :

- Des poches servant aux prélèvements et à la manipulation des divers produits
- Des poches de **culture** faites d'un plastique spécial permettant les échanges gazeux entre les cellules et l'atmosphère de l'étuve
- D'un système de connexions stériles, permettant de relier les différentes poches grâce à des tubulures que l'on peut couper et rabouter stérilement par soudure à 320 °C.

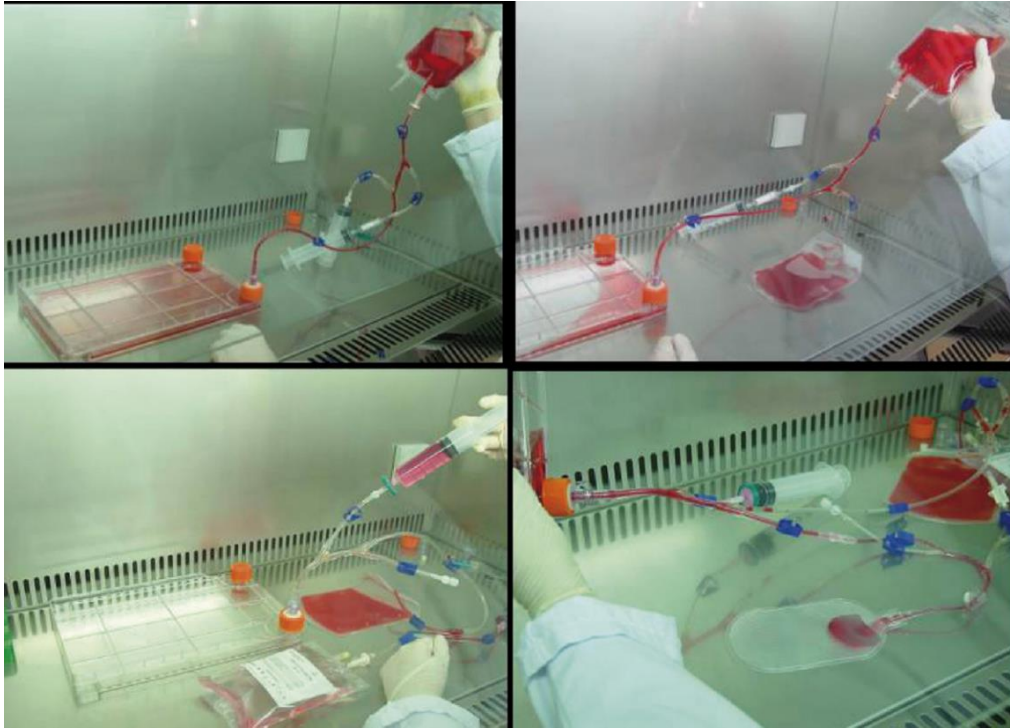


Figure 27 : Exemple de manipulations dans un système clos [101]

L'utilisation d'un système clos pour la production des lots thérapeutiques des produits cellulaires a montré son efficacité en ce qui concerne les risques de contamination bactérienne ou fongique. [101]

C. Sources et prélèvements des cellules souches

1. Sources des cellules souches embryonnaires.

Les cellules souches embryonnaires humaines sont des candidates majeures à la thérapie cellulaire en tant que source illimitée de cellules. Elles sont isolées aujourd'hui de trois manières différentes :

- A partir d'embryons avortés ou perdus en fausses couches précoces
- Par transfert nucléaire ou **clonage thérapeutique**
- Par FIV

Une utilisation de la FIV à des fins de recherche, est **éthiquement inacceptable** puisqu'elle revient à constituer une industrialisation d'embryons. Cependant, la **loi de bioéthique** rend possible d'utiliser les **embryons surnuméraires** systématiquement produits lors des FIV, ou des avortements, et qui ne font plus l'objet d'un projet parental et avec, bien sûr, l'accord des géniteurs. Il ne s'agit pas de créer des embryons mais de travailler sur les cellules de ces embryons **surnuméraires**. [31, 104]

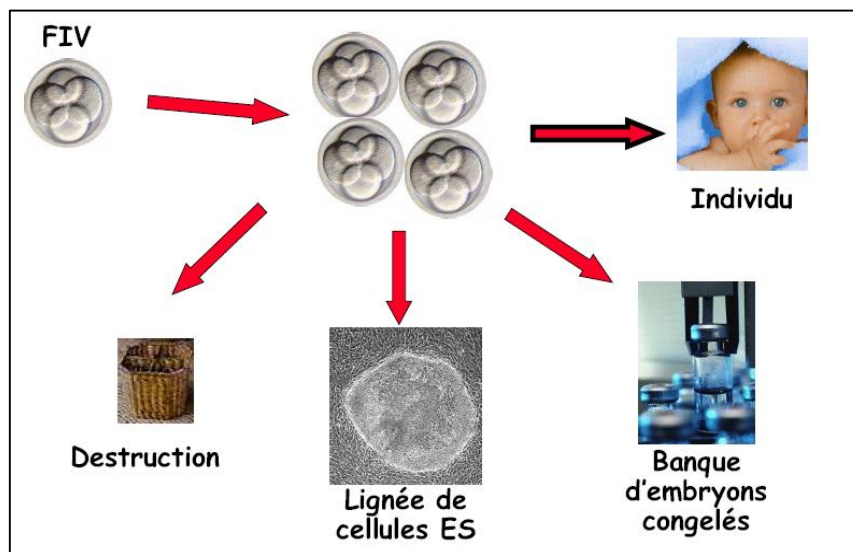


Figure 28 : FIV, source de cellules ES [104]

2. Sources des cellules souches fœtales

Les cellules souches fœtales sont recueillies après une interruption volontaire de grossesse IVG ou après un avortement à un stade beaucoup plus tardif (5-9 semaines) que le stade de blastocyste comme rapporté plus haut, elles proviennent donc de tissus fœtaux, du cordon ombilical ou du placenta. [36]

Prélèvement : Le sang du cordon ombilical et du placenta est recueilli après que le cordon a été sectionné du nouveau-né. Le sang peut être collecté alors que le placenta est encore dans l'utérus, (méthode dite **in utero**) ou après que le placenta a été expulsé de l'utérus (méthode dite **ex utero**). Après désinfection, une aiguille connectée à un sac est insérée dans la veine du cordon. Le sang de cordon est recueilli par gravité dans un dispositif

de collecte similaire à celui utilisé lors de don de sang. Après la recherche d'éventuels agents infectieux et l'élimination des globules rouges, le sang du cordon est stocké et conservé par **cryopréservation**. [119]

3. Sources des cellules souches adultes

L'organisme adulte possède toujours des cellules souches. Leur prélèvement sur les **tissus adultes** ne présente **aucun problème éthique**. Des recherches d'autres tissus renfermant des cellules souches sont toujours en cours. [45]

Exemple de prélèvement des cellules souches sanguines : [98]

- **Identification des cellules souches :**

Toutes les cellules du corps possèdent à leur surface des structures associées à leur fonction propre et qui définissent un type particulier de cellule. Une de ces structures, dans le cas de ces cellules souches, est l'antigène CD34. La mise en évidence de la présence de l'antigène sur la cellule est faite par une molécule complémentaire à l'antigène : l'anticorps attaché à une substance fluorescente. La liaison de l'anticorps fluorescent à son antigène rend la cellule visible lorsqu'elle est analysée par cytométrie de flux. Dans le cas d'un prélèvement par aphérèse, ce test sert à déterminer si le prélèvement doit ou non avoir lieu : en effet la réponse au médicament pour la **mobilisation des cellules souches** varie selon le patient ; on évalue sur l'échantillon de sang si le seuil est atteint. En deçà de ce seuil, la récolte de cellules souches est prouvée inefficace.

- **La caractérisation du greffon :**

En plus de déterminer le nombre de cellules souches et progénitrices présentes, les tests effectués sur les échantillons de greffon permettent de s'assurer de la qualité du produit en établissant le nombre total et la viabilité des cellules, de confirmer l'absence de contaminants, de vérifier la concordance du groupe sanguin avec celui inscrit au dossier et de dresser le portrait des autres populations cellulaires présentes. Dans certains cas, un essai fonctionnel est réalisé afin de confirmer le pouvoir progéniteur des cellules souches.

- **L'entreposage :**

Dans certains cas, le greffon est immédiatement infusé au patient après la caractérisation ou dans les 24 à 72 heures suivant son prélèvement. Dans d'autres cas, il peut s'écouler plusieurs semaines : surtout dans les autogreffes, où après le prélèvement de cellules souches, le patient subit de la chimiothérapie et de la radiothérapie pour complètement éliminer son cancer. Dans de telle situation, on passe à une cryopréservation des cellules souches.

La **cryopréservation** consiste à congeler les cellules dans des conditions où leur fonction et leur viabilité sont gardées intactes. Les cellules sont placées dans un milieu s'apparentant le plus possible à leur environnement physiologique. Un agent cryoprotecteur est ajouté afin de protéger les cellules de la formation de cristaux de glace qui pourraient endommager et même tuer les cellules durant la congélation. La température est ensuite abaissée lentement et de façon contrôlée jusqu'à -90°C , puis les greffons sont transférés dans des congélateurs refroidis à l'azote liquide et conservés à une température inférieure à -150°C jusqu'à utilisation. Ce type de congélation et d'entreposage permet une conservation des cellules en bon état jusqu'à plus de 10 ans.

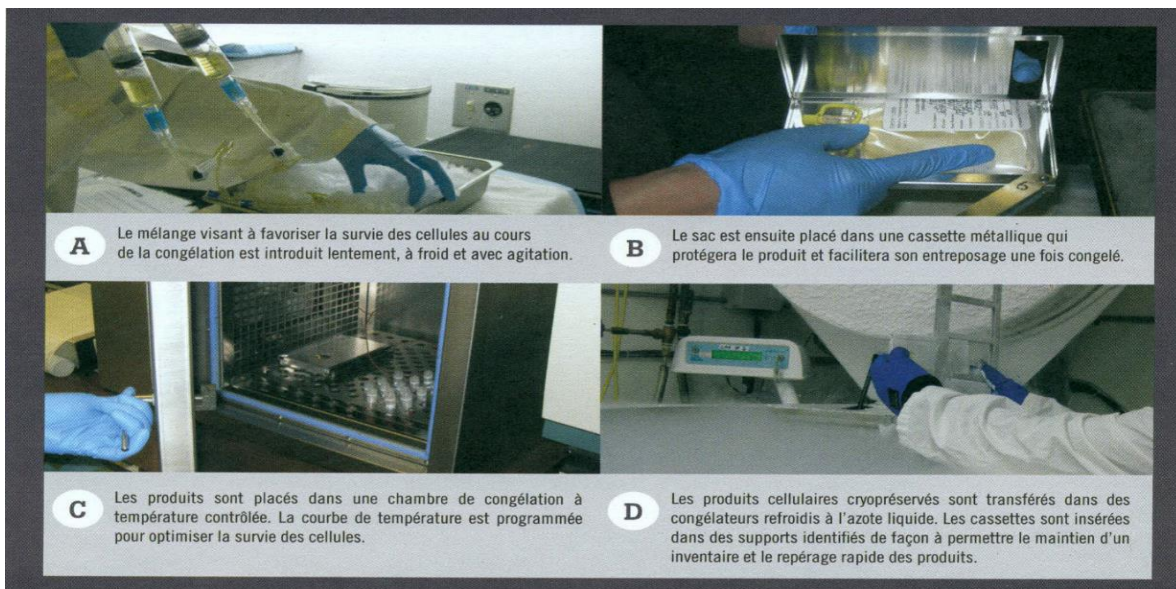


Figure 29 : La cryopréservation [98]

4. Le clonage thérapeutique

Le **clonage thérapeutique** est la création, par fusion *in vitro*, du noyau d'une des cellules du patient (candidat à la greffe) avec un ovule anucléé. Un stimulus chimique ou électrique va activer le développement de l'embryon. Lorsque l'embryon aura atteint le stade du blastocyste, il sera possible de retirer les cellules souches embryonnaires et de les mettre en culture.

Ce type de clonage est utilisé pour soigner des patients ayant besoin d'une greffe, et qui font des rejets. Les cellules greffées au patient ont la même histocompatibilité ; il n'y a théoriquement **pas de rejet**. L'utilisation des cellules embryonnaires génétiquement, et donc immunologiquement, identiques à celles du receveur, facilite considérablement ces greffes et renforce leur efficacité. [31, 105, 106]

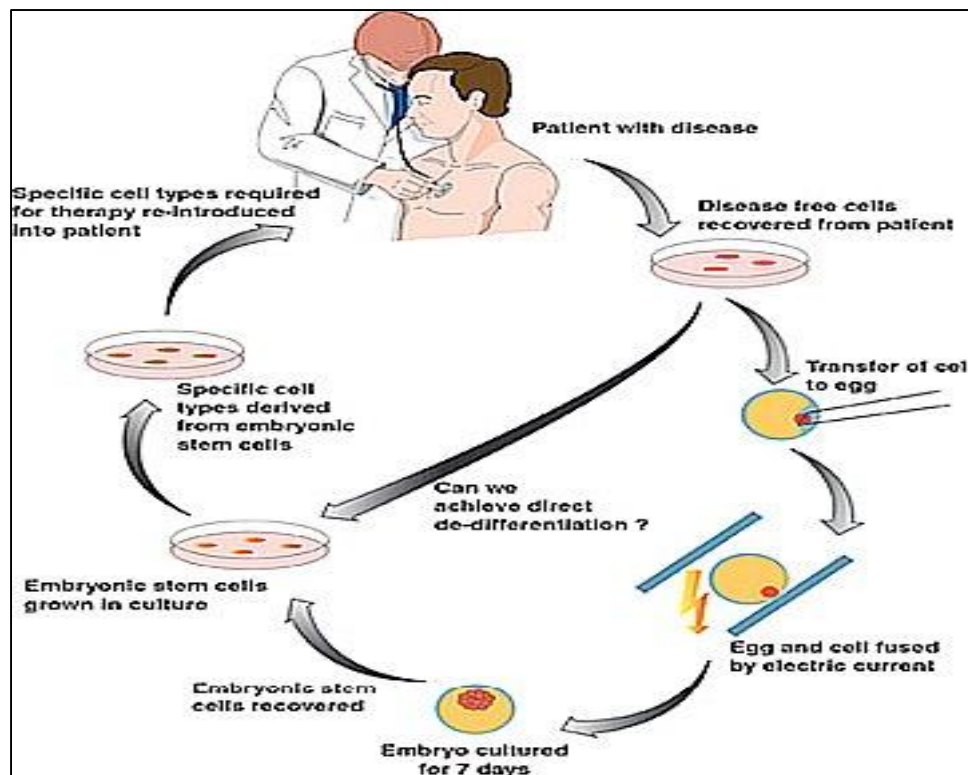


Figure 30 : Le clonage thérapeutique [106]

D. Culture et amplification des cellules souches

L'obtention et l'établissement d'une population de cellules souches suit les règles de la mise en culture de cellules animales. Les primo cultures sont obtenues soit par migration des cellules à partir d'explant tissulaire, soit par dissociation (le plus souvent par traitement protéasique) d'un tissu suivi par la mise en culture de la suspension cellulaire ainsi obtenue. Certaines cellules de la suspension adhèrent, plus ou moins rapidement, au plastique des poches de culture, puis prolifèrent sous l'effet des facteurs de croissance du sérum. Les subcultures (repiquages ou passages) à partir de la primo-culture sont dénommées cultures secondaires.

La population cellulaire obtenue proliférera de façon exponentielle en effectuant un nombre restreint de doublements de population cumulés (DPC) jusqu'à l'entrée dans la phase de « crise ». La « crise » se caractérise d'abord par un ralentissement (présénescence) puis par l'arrêt définitif de prolifération (sénescence) de la population cellulaire. Le nombre de DPC maximum, ou limite de Hayflick, que peuvent effectuer les cellules en culture avant d'atteindre la crise dépend entre autres : de l'espèce, du tissu/organe mais surtout de l'âge du donneur.

En effet, plus le donneur est jeune et plus le nombre de DPC réalisables pour un type cellulaire donné sera élevé. Concernant les cultures de cellules souches, si les conditions trophiques nécessaires au maintien de la population souche sont réunies, alors des DPC très élevés pourraient être comptabilisés sans signes majeurs de sénescence ou de dérives telles que des engagements ou la transformation, et si au contraire les conditions de cultures ne sont pas optimales, passage après passage, le pourcentage de cellules souches au sein de la population s'amenuise inévitablement. [107, 108, 109]

1. Les conditions optimales pour la culture

Les conditions de culture optimales doivent être mieux définies et standardisées, pour permettre d'établir des cultures plus reproductibles pouvant être maintenues dans de multiples laboratoires. De plus, ces conditions devront permettre aux cellules de conserver

un caryotype et un phénotype stables, ainsi que la capacité de se différencier. [49, 110, 111]

a) Densité d'ensemencement

La densité d'ensemencement est un paramètre critique afin d'assurer un taux d'expansion optimal ainsi qu'un maintien du potentiel de différenciation des cellules. L'équipe de Prockop a montré que le développement des cellules souches les plus immatures se faisait à de faibles densités d'ensemencement. L'augmentation de la densité d'ensemencement par unité de surface conduit à une diminution des taux d'expansion. [110]

b) Le nombre de passages

C'est un moyen simple de limiter le volume de prélèvement chez le donneur. Chaque passage est l'occasion d'augmenter la surface de culture, le passage consiste à détacher les cellules de leur support de culture, le plus souvent par l'action d'un enzyme protéolytique (trypsine), puis de les réensemencer sur un nouveau support à une densité moindre, les passages successifs suffisent à assurer, au final, la pureté des cellules souches grâce à la disparition d'autres cellules adhérentes initiales (macrophages, cellules endothéliales). Cette technique a bien sûr ses limites puisque les passages successifs altèrent le potentiel des cellules et peuvent les conduire à la sénescence [111].

c) Le milieu de culture et les facteurs de croissance

Il est important de considérer l'utilisation finale des cellules souches afin de définir les milieux de culture et les facteurs de croissance adéquats pour l'application désirée. Par ailleurs, de nombreuses publications montrent que chaque équipe « personnalise » ses milieux de culture. [110]

2. Les limites de culture des cellules souches

a) Sénescence cellulaire.

La sénescence est un état cellulaire particulier, distinct de la quiescence ou de l'apoptose. Le phénotype des cellules sénescents a été décrit par la machinerie de réplication de l'ADN nucléaire étant incapable de terminer la synthèse des néo-brins aux extrémités télomériques,

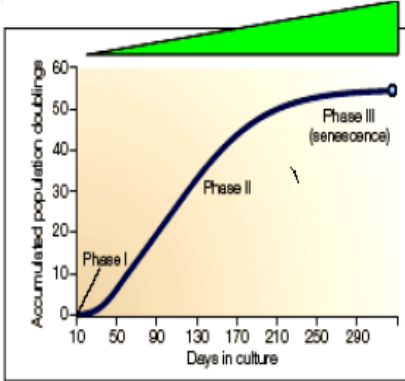
cycle après cycle, les chromosomes se raccourcissent inévitablement. Ce raccourcissement des chromosomes est perçu par la cellule comme un stress génotoxique. Le raccourcissement des télomères et les autres dommages que subit le génome nucléaire au fil des générations cellulaires (mutations ponctuelles, cassure double brin de l'ADN, etc. ...) entraînent l'activation de la protéine suppresseur de tumeur p53 (famille des gènes proto-anti-oncogènes). La protéine p53 entrainera la mise en « pause » momentanée du cycle cellulaire en phase G1 afin que les systèmes de réparation de l'ADN corrigent les dommages avant la duplication des chromosomes. Si les dommages sont trop importants, la surexpression prolongée de la protéine p53 entraînera la sortie définitive du cycle cellulaire, et la mise en sénescence, voire l'apoptose de la cellule. [108, 112]

b) Différents stades de transformation.

Plus les cellules prolifèrent, et plus elles accumulent des mutations qui peuvent entraîner leur transformation. Des tests fonctionnels permettent d'évaluer le degré de transformation d'une population cellulaire. (Tableau II)

Ces tests doivent être systématiquement appliqués aux cultures secondaires dans lesquelles on suppose la présence de cellules souches. L'amplification des cellules souches, *in vitro*, peut conduire à leur transformation et à l'altération des propriétés « souches ». [113]

Tests	Descriptions
Etablissement de la limite de Hayflick	Il est impératif de mener les expériences fonctionnelles sur une culture « saine » c'est-à-dire avant la crise, pour cela on évalue le nombre de DPC (en fonction des passages en pratique). On peut ainsi établir une courbe tri phasique qui donnera accès aux phases I de latence (culture primaire), phase II exponentielle (culture secondaire) et phase III crise (présénescence ou sénescence) de prolifération.

	 <p style="text-align: right;">Zone verte : risque de transformation</p> <p>Figure 31 : Etablissement de la limite de Hayflick</p>
<p>Activité β-galactosidase à pH 6</p>	<p>La sénescence cellulaire peut être révélée par l'expression de l'activité β-galactosidase endogène à pH6. Plus le pourcentage de cellules présentant cette activité sera élevé, et plus la culture sera sénescente.</p>
<p>Sensibilité aux régulateurs de cycles cellulaires</p>	<p><i>Indépendance vis-à-vis des facteurs de croissance</i></p> <p>Les cellules normales, mises en culture prolifèrent en réponse aux facteurs de croissance présents dans le sérum jusqu'à ce qu'elles atteignent la confluence. Ces facteurs de croissance, via notamment la signalisation engendrée par des récepteurs à activité tyrosine kinase, permettent la progression des cellules à travers la phase G1 du cycle cellulaire. Expérimentalement, un test consiste à abaisser ou enlever le sérum dans le milieu de culture, si les cellules continuent de proliférer dans ces conditions on peut alors « supposer » l'existence de mutations de type gain de fonction d'oncogène au sein de la population cellulaire.</p> <p><i>Perte de l'inhibition de contact</i></p> <p>A la confluence, les molécules d'adhésion établies entre les cellules provoquent l'inhibition des divisions cellulaires (inhibition de contact). Cette inhibition fait intervenir des cascades de signalisation intracellulaires partant de ces protéines (notamment les cadhérines et les seléctines) et aboutissant sur des protéines répresseurs de la</p>

	prolifération cellulaire. Si les cellules continuent de proliférer après la confluence (ce qui se caractérise par la formation de foyer cellulaire multicouche) on peut supposer la présence de mutation de type perte de fonction d'anti-oncogène.
Test de dépendance d'ancrage	Toutes les cellules des vertébrés, excepté les cellules sanguines, nécessitent un support solide pour leur survie, leur migration, leur prolifération et leur différenciation. La perte de cette nécessité d'ancrage solide peut refléter une transformation assimilable à l'invasion métastatique des cellules cancéreuses <i>in vivo</i> . Le test consiste à ensemercer les cellules sur de l'agar semi solide, puis d'évaluer la capacité de ces cellules à proliférer et à former des colonies sur ce support.
Caryotype	Une culture secondaire de cellules souches doit être normale, par conséquent les cellules doivent avoir un caryotype euploïdie à 2n chromosomes. Le test le plus pertinent est la réalisation du caryotype par la technique « COBRA-FISH » qui permet de mettre en évidence les anomalies de faible envergure.
Tumorigénicité <i>in vivo</i>	Ce test consiste à vérifier la capacité des cellules à former une tumeur <i>in vivo</i> après transplantation chez des souris immunodéprimés (de type Nod/Side irradiées ou les souris rag).

Tableau II : Les tests d'évaluation de la transformation cellulaire. [113]

3. Cas de culture des cellules souches adultes

Certaines cellules souches adultes se multiplient très efficacement en culture, en conservant intact leur potentiel, c'est le cas des cellules souches nerveuses, épidermiques, et mésenchymateuses. D'autres n'ont pas ce pouvoir, soit parce qu'elles perdent leur potentiel en se divisant (cellules souches hématopoïétiques), ou qu'elles prolifèrent très peu *in vitro* (cellules souches musculaires). [45]

En revanche il apparaît très difficile, à ce jour, de produire de bons milieux favorables à la prolifération de ces cellules, elles sont de plus très difficiles à conserver, mais les recherches continuent toujours pour remédier à tous ces problèmes.

4. Cas de culture des cellules souches embryonnaires

Comme pour les cellules souches adultes, la mise au point du milieu de culture adéquat reste un sujet de recherche majeur.

- **Premier étape : produire des cultures humaines de cellules ES.**

On récupère des cellules de la masse intérieure d'un blastocyste humain, les conditions de culture doivent favoriser:

1. *L'état non différencié de ces cellules* : pour cela on ajoute du LIF (Leukemia inhibitor factor) qui empêche efficacement la différenciation. De plus leur culture se réalise sur une monocouche de fibroblastes dont les mitoses sont arrêtées. Ceci permet l'étalement des cellules et leur maintien dans un état indifférencié.

2. *La multiplication de ces cellules*, en répondant à leurs exigences nutritionnelles importantes. [25]

- **Deuxième étape : produire des cellules différenciées à partir des cellules ES**

L'approche la plus largement répandue pour diriger la différenciation des cellules ES est la modification spécifique des conditions de culture, par l'ajout de facteurs de différenciation.

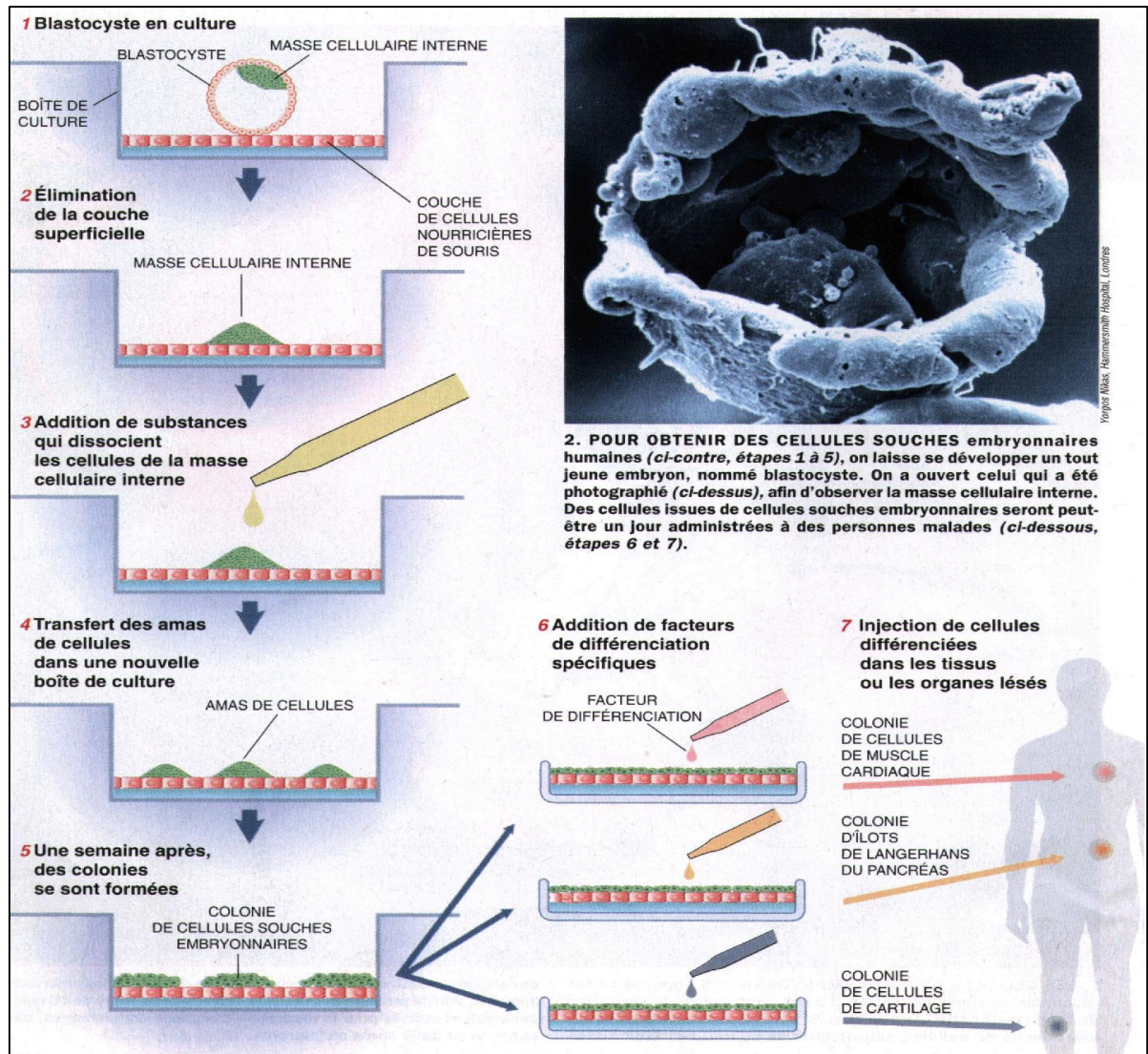


Figure 32 : Production de cellules différenciées à partir des cellules ES. [117]

E. Banque des cellules souches

Les banques de cellules sont des centres de stockage de lignées et d'échantillons de cellules souches embryonnaires, fœtales et adultes. La création de ces banques autorise un accès rapide aux différentes lignées pour leur usage thérapeutique en situation d'urgence mais surtout surmonter la barrière immunologique en matière de lignées des cellules souches embryonnaires humaines qui couvrent tout le spectre des combinaisons HLA

possibles. Donc pour chaque malade, il serait possible de choisir la lignée de cellules ES la plus compatible avec le receveur. [114]

Enfin ces banques pourront peut-être un jour remplacer aussi les banques d'organes et ainsi remédier à la pénurie d'organe pour les greffes. La première banque de cellules a été ouverte au Royaume-Uni en mai 2004.

a) Banque des cellules ES.

De nombreuses lignées de cellules souches embryonnaires sont conservées dans des banques de cellules souches à but non lucratif qui sont accessibles aux chercheurs du monde entier. Par ailleurs, les lignées cellulaires existantes font l'objet d'échanges sans frais entre laboratoires dans le cadre de programmes de recherche soumis à des contrôles juridiques rigoureux.

Les embryons surnuméraires abondent surtout dans les pays où les FIV sont pratiquées pour les procréations médicalement assistées (à peu près 400 000 embryons aux Etats-Unis, et 24 000 en France). [114]

b) Banque des cellules souches fœtales.

Le sang de cordon ombilical constitue une source facile pour obtenir les cellules souches hématopoïétiques, lesquelles sont de plus en plus utilisées, à titre de solution de rechange à la moelle osseuse ou aux cellules souches périphériques.

Les banques privées, à but lucratif, réservent le cordon congelé à l'usage exclusif du nouveau-né dont il est issu (greffon autologue). En avril 2006, on relève environ 134 banques privées dans le monde, réunissant au moins 240 000 unités. Ces banques privées sont encore interdites dans certains pays comme la France ; l'Italie et l'Espagne.

Les banques publiques sans but lucratif et financées par la santé publique, stockent des greffons gratuits et non dirigés (greffon allogénique). Il y aurait, dans le monde, 54 banques publiques conservant 230 000 unités. [114]

Le laboratoire de cellules souches et thérapie cellulaire de l'Institut Pasteur Maroc œuvre à la création de la banque marocaine de cellules souches issues du sang placentaire depuis 2008. Le seul obstacle culminant pour cette mise en œuvre est la révision de la loi relative au don d'organes et l'autorisation des essais cliniques. [134]

c) **Banque des cellules souches adultes.**

Il n'y a pas actuellement de données sur les banques de moelle osseuse mais il est connu qu'il existe une compétition entre banques de moelle osseuse et de sang de cordon ombilical. [114]

En conclusion, il est actuellement possible de produire dans des conditions d'efficacité et de sécurité adéquates des cellules souches embryonnaires et adultes pour un usage clinique. Le challenge est maintenant de conduire **des essais cliniques qui permettront de valider les indications.**

III. Applications

A. Les différents domaines thérapeutiques visés

Conceptuellement, il n'y a pas de domaine « interdit » à la thérapie cellulaire, cependant l'extrême complexité structurelle et fonctionnelle des cellules, des tissus et des organes de notre corps nuance les perspectives. Les domaines thérapeutiques dans lesquels les perspectives d'utilisation de la thérapie cellulaire semblent réalistes sont nombreux : hématologie, dermatologie, rhumatologie, cancérologie, ophtalmologie, maladies neurodégénératives, cardiologie, hépatologie... [120]

Cellules souches transformées en :	Domaines d'applications visés:
Cellules nerveuses spécialisées (Neurones, cellules gliales, ...)	<u>Maladie de Parkinson</u> , maladie d'Alzheimer et autres maladies neurodégénératives, traumatismes de la moelle épinière, sclérose en plaques...

Cellules du muscle cardiaque (cardiomyocytes)	Infarctus du myocarde, insuffisance cardiaque, consolidation du muscle cardiaque (cardiomyoplastie) dans des malformations cardiaques.
Cellules produisant de l'insuline (Ilots de Langerhans)	Diabète
Cellules du cartilage (chondrocytes)	Arthrite, arthrose
Cellules sanguines	Cancer, immunodéficiences, leucémie, maladie sanguine génétique
Cellules du foie (hépatocytes)	Hépatite aiguë ou chronique, cirrhose, cancer du foie
Cellules de la peau	Brûlures, cicatrisation des blessures
Cellules osseuses	Pertes osseuses (tumeurs, métastases), fractures, Ostéoporose
Cellules de la rétine	Dégénérescence maculaire liée à l'âge, cécités Héréditaires
Cellules des muscles squelettiques	Dystrophie musculaire, amyotrophies, pertes musculaires de diverses causes ...

Tableau III : Les principales applications en thérapie cellulaire. [120]

B. Les travaux réalisés

1. Accomplissements depuis 2007 influencés par l'avancé de la thérapie cellulaire

Plusieurs domaines ont connu des mouvements [116]:

❖ **Développements cliniques :**

- Autorisation du premier essai clinique utilisant des cellules souches embryonnaires
 - Essai clinique du produit *GRNOPCI* pour soigner des patients atteints de lésion de la moelle épinière par la société américaine Geron. Accord de la FDA en janvier 2009 pour un essai de phase I multicentrique
- Greffe de vaisseaux sanguins produits à partir de cellules de patients (essai commencé en 2004 et suivi depuis par la société Cytograft, publié dans *The Lancet* en avril 2009)
- Essai de Phase III réussi en immunothérapie cancéreuse¹. Essai IMPACT utilisant Provenge™ développé par Dendreon, résultats préliminaires publiés en avril 2009
- **2015** : Nouvelle approche thérapeutique cellulaire pour SLA obtient l'autorisation de la FDA pour les premières études chez les patients
 - Q Therapeutics Inc. (un développeur de stade clinique de nouvelles thérapies cellulaires pour les maladies du système nerveux central) a annoncé que la U.S. Food and Drug Administration (FDA) a autorisé sa demande de médicaments nouveaux pour le début d'essais cliniques de Phase 1/2 avec Q-Cells® chez les patients atteints de la sclérose latérale amyotrophique (SLA) [122]

❖ **Stratégie industrielle:** implication des *BigPharma* dans la thérapie cellulaire

- Création du Département de Médecine régénératrice chez Pfizer en 2008
- Collaboration entre GSK et le *Harvard Stem Cell Institute* en 2008
- Partenariat Sanofi-aventis et du *SalkInstitute*: “*Sanofi-aventis Regenerative Medicine Program*” lancé en 2009

❖ **Réglementation:** harmonisation européenne de la réglementation des médicaments de thérapie cellulaire

- Création en janvier 2009 du Comité pour les Thérapies Innovantes (CAT) de l'EMA avant la mise en œuvre du Règlement «Médicaments de Thérapie Innovante» adopté en 2007
- Suppression des restrictions de financement fédéral aux recherches sur les cellules issues d'embryons humains par le Président américain Barack Obama (mars 2009)

- *ChondroCelect*® de TiGenix, premier produit de thérapie cellulaire à obtenir une autorisation de mise sur le marché européen (centralisé) en octobre 2009
- L'Office Européen des Brevets a statué en novembre 2008 que la brevetabilité des cellules souches embryonnaires humaines et des produits dérivés va à l'encontre du droit européen
- ❖ **Routine clinique:** augmentation de l'utilisation du sang de cordon ombilical pour la greffe de cellules souches hématopoïétiques
 - Le sang de cordon ombilical permet la réalisation de greffes hématopoïétiques à tous les patients
 - D'où une politique d'amplification des dons de sang de cordon et la création de cinq nouvelles banques en France en 2008 et 2009

2. Applications médicales courante

a) En cancérologie

Lorsque les patients sont traités par chimiothérapie pour éradiquer les cellules tumorales, des cellules normales sont également détruites, en premier lieu les cellules souches capables de générer les cellules du sang : globules rouges, plaquettes et globules blancs. La génération des cellules du sang a lieu dans la moelle osseuse. Afin de pouvoir augmenter la dose de chimiothérapie injectée pour détruire un maximum de cellules tumorales, les cellules souches hématopoïétiques du patient sont collectées avant chimiothérapie intensive, congelées, et greffées au patient après chimiothérapie intensive. Ces cellules souches hématopoïétiques décongelées permettent de réparer l'ensemble des tissus hématopoïétiques et lymphocytaires. Ce processus peut également avoir lieu avec des cellules souches non plus du patient, mais provenant de donneurs. [115]

b) Greffe de peau

Pour les grands brûlés, Il est possible de générer en dehors de l'organisme ("*in vitro*") un épiderme fonctionnel qui, greffé au malade, permet de restaurer une barrière épithéliale essentielle pour la survie du patient. Un petit fragment de peau saine de quelques

centimètres carrés est cultivé pendant plusieurs semaines à grande échelle en présence de milieux de culture et de facteurs de croissance pour générer plusieurs m² de peau. Une limite est que seul l'épiderme est restauré, ce qui donne une peau avec une grande fragilité. Ces biothérapies cellulaires de génération d'un épiderme sont développées par quelques sociétés privées, et coûtent cher. Une solution d'avenir est de générer ces cellules de la peau à partir de cellules souches pluripotentes, embryonnaires ou induites, et de reconstituer à la fois l'épiderme et le derme. [115]

c) Greffe du cartilage

Il est possible de réparer des lésions localisées du cartilage, notamment chez les grands sportifs. La méthodologie consiste à mettre en culture des cellules de cartilage sain, appelées chondrocytes, pendant une à deux semaines. Les cellules chondrocytaires amplifiées sont greffées et reconstituent la matrice cartilagineuse. Ces stratégies seraient très utiles pour réparer des disques vertébraux avec plusieurs essais thérapeutiques à grande échelle. [115]

d) Greffe d'îlots de Langerhans

Une perspective qui concerne un grand nombre de patients atteints de diabète est la possibilité de réparer les cellules bêta du pancréas produisant de l'insuline. Il existe deux types de diabète :

- le diabète de type I, caractérisé par une destruction des cellules bêta produisant de l'insuline, par le système immunitaire du patient.
- le diabète de type II, caractérisé par une insensibilité progressive des cellules de l'organisme à l'insuline.

Dans les deux pathologies, le taux de glucose circulant augmente, entraînant de multiples problèmes de toxicité notamment sur les vaisseaux sanguins et lymphatiques. Le traitement du diabète de type I consiste à injecter de l'insuline pour restaurer le déficit de production par les cellules bêta. Cependant chez certains patients, l'injection d'insuline ne permet pas de contrôler de façon efficace les taux de glucose ce qui entraîne des chocs hyperglycémiques ou hypoglycémiques, et les complications associées. Depuis une dizaine

d'années se sont développées les stratégies de greffe d'îlots pancréatiques pour les patients avec diabète de type 1 instable. L'insuline est produite de façon gluco-dépendante par les îlots greffés et les patients deviennent indépendants d'injection d'insuline. Ces patients insulino-résistants dont le devenir médical posait un gros problème peuvent ainsi bénéficier de conditions de vie sans injection d'insuline et en contrôlant les toxicités associées aux hyperglycémies et hypoglycémies. [115]

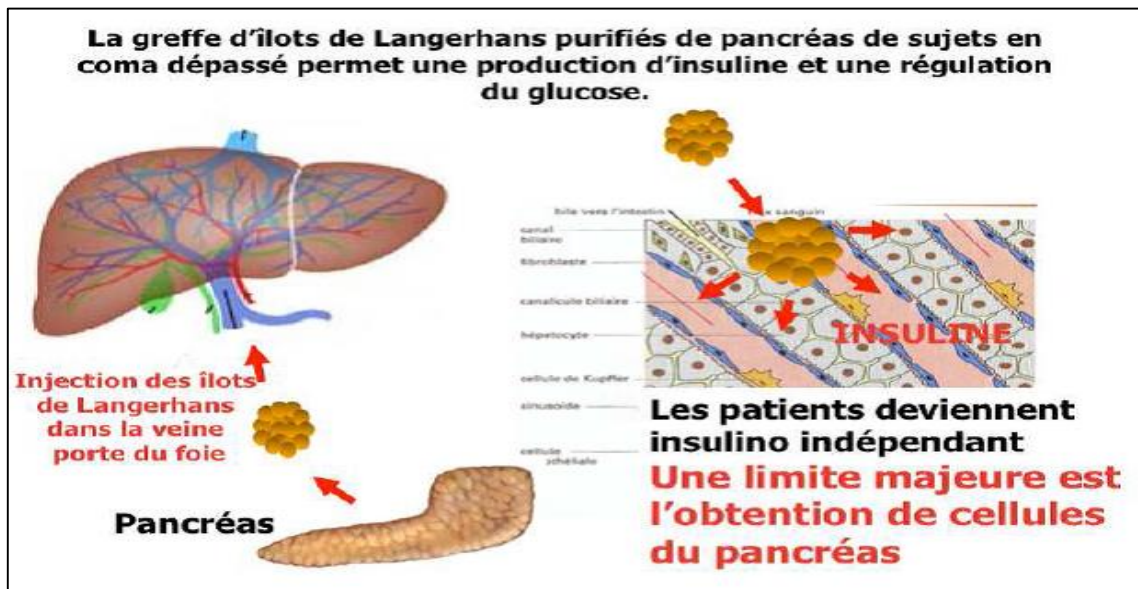


Figure 33 : Greffe d'îlots de Langerhans dans la veine porte du foie [115]

e) **Muscle cardiaque**

Les cardiopathies sont la première cause de mortalité. Plusieurs stratégies de réparation du muscle cardiaque sont en cours de mises au point. Les stratégies en développement clinique consistent à injecter la moelle osseuse du patient prélevée quelques jours après l'infarctus. Le principe actif est probablement les précurseurs des cellules formant les vaisseaux, présents dans la moelle osseuse, qui implantés dans la zone affectée contribuent à la revascularisation du muscle cardiaque. Dans des modèles animaux, on a pu montrer que des cellules souches embryonnaires ou des cellules souches pluripotentes adultes sont capables lorsqu'elles sont implantées dans le muscle cardiaque, de se différencier en cardiomyocytes restaurant une fonction cardiaque efficace. L'application de ces techniques

chez l'homme pourrait être envisagée dans les prochaines années, sous réserve des conditions de sécurité. [115]

3. Les avancées de la thérapie cellulaire

a) Cas d'un paraplégique

Après avoir subi une opération qui combine la neurochirurgie et la chirurgie ORL (oto-rhino-laryngologique) réalisée par des médecins britanniques et polonais, **Darek Fidyka**, un polonais paralysé de la taille aux pieds a retrouvé l'usage de ses jambes en 2014. C'est le premier cas d'une telle guérison documenté sur le plan clinique. Ce pompier polonais de 40 ans, avait subi une agression à l'arme blanche qui lui avait sectionné tous les nerfs de sa moelle épinière, le rendant paraplégique. Cinq mois plus tard la régénération des fibres nerveuses est bien visible sur sa radiographie (figure 35)



Figure 34: Radiographie de la moelle épinière de Darek Fidyka [121]

En quoi a consisté l'opération : Les chirurgiens ont prélevé des cellules nerveuses de la muqueuse nasale du patient, appelées cellules olfactives engainantes, puis les lui ont implantées dans la moelle épinière, au niveau de la lésion. Là, ces cellules ont régénéré les nerfs, formant une sorte de pont entre les fibres nerveuses à l'endroit où elles avaient été

sectionnées. **Les cellules olfactives engainantes** conservent en effet la capacité de se régénérer régulièrement dans le tissu olfactif des adultes, raison pour laquelle elles ont attiré l'attention des chercheurs en médecine régénérative, qui depuis une douzaine d'années recherchent un moyen de les employer pour reconstruire les tissus nerveux. La première équipe à se lancer dans cette voie a été celle du Dr Carlos Lima, à l'hôpital Egas-Moniz de Lisbonne. Depuis juillet 2001, ce chirurgien pionnier a opéré des dizaines de patients, avec des résultats encourageants. [121]

b) Ingénierie tissulaire

Les spécialistes de l'ingénierie tissulaire visent à produire des tissus et des organes artificiels à partir de matériaux biologiques comme les cellules souches qui peuvent remplacer des tissus endommagés du corps. Afin de créer des patches tissulaires en laboratoire, ces spécialistes ont incorporé des cellules dans une structure tridimensionnelle que l'on appelle « **échafaudage** ». Il s'agit de structure de soutien temporaire qui recrée la forme et la structure naturelle des tissus dans le corps. Les échafaudages qui servent à l'ingénierie tissulaire sont faits de matériaux biodégradables qui se dégraderont lentement dans le corps après que le patch aura été greffé. Les scientifiques testent actuellement l'utilisation d'échafaudages biodégradables pour générer un grand nombre de types de tissus, notamment des os, des muscles de la vessie et des muscles cardiaques pour traiter les traumatismes. Par exemple, les cellules cardiaques qui ont été différenciées à partir de cellule souches peuvent servir en laboratoire pour fabriquer des patches cardiaques. Ces derniers pourraient servir dans le traitement de l'insuffisance cardiaque congestive. Les patients qui souffrent de cette maladie sont incapables de faire circuler assez de sang dans le corps, puisqu'une portion des muscles cardiaques a été endommagée. Le remplacement du muscle cardiaque endommagé par un patch tissulaire pourrait rétablir la fonction dans le cœur, lui permettant de faire circuler assez de sang dans le corps. [123]

c) Thérapie cellulaire et la peau

La thérapie cellulaire a trouvé depuis plusieurs années chez le brûlé des applications cliniques et fait maintenant partie des moyens thérapeutiques disponibles pour prendre en

charge les brûlés les plus graves. Les applications cliniques peuvent être classées en fonction de la localisation cutanée où sont appliquées ces cellules :

- l'épiderme : emploi de culture d'épithélium autologue (CEA) en couches multiples ; en suspension ou encore sur support de transfert.
- le derme : Plusieurs modèles de substituts dermiques ont été développés par l'industrie et certains d'entre eux sont employés de manière régulière en pratique clinique dans les centres de brûlés. Ces substituts dermiques participent à la reconstruction cutanée, soit comme couverture cutanée temporaire ou définitive
- la peau totale à savoir à la fois l'épiderme et le derme : Les premiers modèles de peau totale artificielle comprenaient une couche superficielle de kératinocytes et une couche profonde dermique sans cellule.

Utilisation des cellules souches mésenchymateuses :

L'utilisation des MSCs chez l'homme dans la prise en charge thérapeutique des brûlures graves a été envisagée pour la première fois par le groupe russe de Rasulov et al. Une patiente présentant des lésions de brûlure grave de degré III b touchant 40 % de la surface corporelle a été traitée par autogreffe de peau combinée à des injections locales de MSCs médullaires d'origine allogénique. Cette thérapie cellulaire a permis d'améliorer la prise de greffe et de réduire le temps d'hospitalisation avec une action marquée sur la néo-vascularisation locale. Cette thérapie cellulaire combinée a ensuite été appliquée sur des lésions de brûlures radio-induites en 2005. Les MSCs trouvent leur place dans cette thérapie non pas du fait de leur propriété de multipotence mais plutôt du fait de leur rôle trophique. En effet, elles produisent certaines cytokines et facteurs de croissance qui auraient un rôle bénéfique dans le contrôle des manifestations inflammatoires locales qui caractérisent la brûlure radiologique [124].

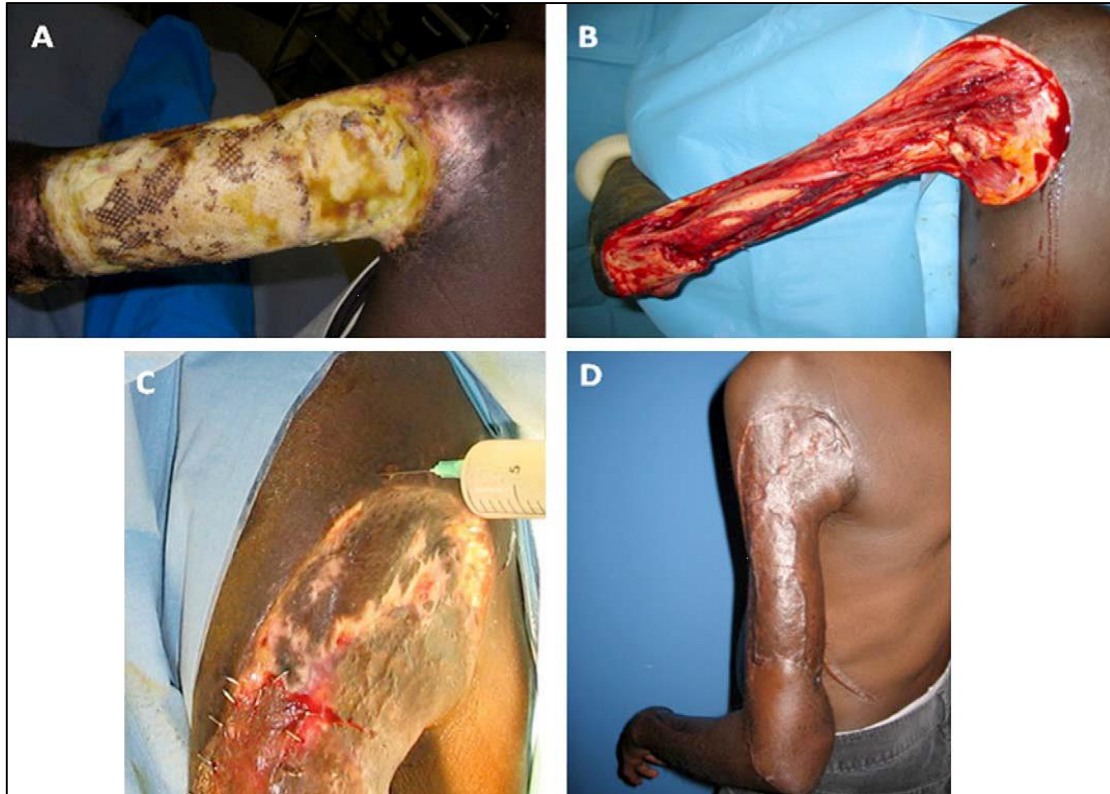


Figure 35: Thérapie cellulaire de lésions de brûlure cutanée radio-induite [126]

- A. Lésion nécrotique de la face postérieure du bras.
- B. Exérèse des tissus nécrotiques musculo-cutanés.
- C. Injection locale de cellules souches médullaires (MSCs) autologues de culture associée à une autogreffe d'épiderme.
- D. Evolution favorable de la lésion au dixième mois.

d) Thérapie cellulaire et maladie de Parkinson

C'est à elle que nous consacrerons notre dernière partie

IV. Aspects éthiques, juridiques et religieux de la recherche sur les cellules souches humaines

A. Contexte éthique

Le but de l'éthique en ce qui concerne le domaine scientifique, est de signaler les différents problèmes potentiels mais aussi d'indiquer les objectifs ainsi que les progrès envisageables grâce aux expériences. L'éthique doit indiquer à la société quelles sont les limites et prévenir les applications dangereuses du monde scientifique, mais elle doit également apporter son soutien à ce qui est raisonnable et nécessaire. Ceci est difficilement applicable dans la réalité puisque le problème est justement de savoir où poser les limites. [127]

Il est important de rappeler **les principes éthiques fondamentaux** : [126]

- Le principe du respect de la dignité humaine.
- Le principe de l'autonomie individuelle qui exige l'obtention d'un consentement éclairé, et le respect de la vie privée et de la confidentialité des données personnelles.
- Le principe de justice et de bienfaisance plus précisément, sous l'angle de l'amélioration et de la protection de la santé.
- Le principe de la liberté de la recherche qui doit être conciliable avec les autres principes fondamentaux.
- Le principe de proportionnalité notamment le fait que les méthodes de recherche soient indispensables aux objectifs poursuivis et qu'il n'existe pas d'autres méthodes plus acceptables.

Le contexte éthique par conséquent se pose différemment selon le stade de prélèvement des cellules souches ou les principes cités peuvent être altérés dans un stade plus que l'autre :

1. Pour le stade embryonnaire

Les recherches sur l'embryon et sur les cellules souches embryonnaires sont emblématiques des débats de bioéthiques actuels dans le monde. Les recherches sur les cellules souches embryonnaires mettent en jeu le statut de l'embryon car il en est la source, sachant que le prélèvement des cellules ES en induit la destruction. Une série d'interrogations sur le statut de l'embryon et le degré de protection dont il devrait bénéficier, en découle :

➤ **Les arguments en faveur d'un interdit absolu.** [127,128]

Le concept du continuum de la vie : Cette position défend le concept de continuum de la vie, de la fécondation à la naissance. Elle s'appuie sur l'enseignement d'un certain nombre de biologistes de la reproduction qui considèrent que si le développement embryonnaire et foetal suit différents stades d'évolution, il serait totalement arbitraire d'en isoler des étapes plus importantes que d'autres.

L'embryon est protégé par le principe de dignité : Faire de l'embryon un matériel de recherche ou un produit à finalité thérapeutique revient à l'instrumentaliser et à porter atteinte à sa dignité. On parle alors d'une « nouvelle forme d'esclavagisme », l'embryon étant dépossédé de sa destination naturelle au profit de tiers.

➤ **Les arguments en faveur d'une autorisation encadrée des recherches**

Face à ces positions restrictives quant à de possibles recherches, s'expriment des appréciations différentes qui permettent d'envisager, plus ou moins largement, la recherche sur les embryons et la création de lignées de cellules souches embryonnaires. [127]

L'embryon ne peut être réduit aux cellules souches embryonnaires : Il est courant d'établir une distinction entre l'embryon et les cellules souches embryonnaires, Cette position affranchit la recherche sur les cellules ES du poids éthique relatif à l'embryon.

Embryon et thérapeutique : Les recherches impliquant l'utilisation des cellules ES pourraient être justifiées par leur finalité thérapeutique indépendamment de la nature et du

statut conférés à l'embryon. C'est la position défendue notamment par quelques chercheurs qui refusent de voir l'embryon comme un simple « grumeau cellulaire » tout en considérant les bénéfices potentiels en termes de progrès scientifiques et médicaux qui pourraient permettre de soigner des maladies graves souvent incurables avec nos techniques actuelles et permettre ainsi de telles recherches.

2. Le prélèvement fœtal

Les cellules fœtales prélevées à l'issue d'interruptions volontaires de grossesse (IVG) peuvent soulever des questions éthiques, dont les conditions d'obtention peuvent susciter des interrogations quant au respect du consentement informé de la femme. Il faut en effet veiller à ce que les informations sur l'IVG et celles concernant les prélèvements sur le fœtus, soient clairement dissociées afin d'éviter tout risque d'influence d'une opération sur l'autre. [28, 127]

3. Les prélèvements post natal ou les CSA

L'utilisation des cellules souches adultes à des fins scientifiques, thérapeutiques ou de recherche biomédicale, ne soulève pas en soi de problème éthique ou juridique majeur. Cette affirmation se vérifie particulièrement dans le cadre de la thérapie cellulaire autologue. Mais, il est nécessaire d'avoir un protocole ayant l'approbation d'un Comité de protection des personnes. Lorsque les cellules souches sont prélevées en situation allogénique, les questions éthiques qui surgissent sont similaires à celles que pose le don d'éléments du corps humain. Elles portent essentiellement sur le consentement libre et éclairé du donneur ainsi que sur le respect de son anonymat. Du point de vue du receveur, c'est la question de la sécurité sanitaire des interventions et des produits prélevés qui se posent en premier. Elle peut désormais être perçue comme un droit de la personne malade. [28, 127]

4. Le clonage thérapeutique

Cette technique implique d'abord la création des embryons en-dehors de tout projet parental ce qui est contre les principes d'éthique fondamentaux. Comme elle peut poser

également de gros problèmes d'éthique si elle tombe dans la dérive du clonage reproductif. Une autre dérive concernant le clonage est la possible commercialisation des ovocytes. En effet, puisque la technique de clonage a besoin d'ovocytes, le risque est de sombrer dans un trafic d'ovocytes, par la rémunération et/ou l'exploitation de femmes donneuses. Ce risque existe tout particulièrement pour les femmes des pays en voie de développement. [126, 127]

B. Le contexte juridique

1. Situation juridique du Maroc

Le seul point connu en ce moment concerne les cellules souches issues de sang placentaire :

La loi n°16-98 relative au don d'organes n'autorise pas le don altruiste, même gratuit. Cependant, les prélèvements d'organes sur personne en état de mort encéphalique ont finalement été autorisés pour une éventuelle banque d'organes. Il reste néanmoins que le prélèvement anonyme du sang placentaire, considéré comme « un déchet opératoire », ainsi que sa manipulation ex-vivo et son administration extra-familiale sont tout simplement interdits, même si le besoin thérapeutique l'impose (absence de donneurs compatibles intra-familiaux dans le cas des hémopathies malignes).

Les projets de loi présentés dans le plan d'action du ministère de la Santé pour 2012-2016 sont une lueur d'espoir dans ce domaine de lancement des banques de cellules souches issues de sang placentaire. [134]

Le ministère de la Santé envisage en deux périodes (court et moyen terme : 2012-2015 et long terme : à partir de 2016) de : [125]

- Prioriser les organes et les tissus dans l'activité de prélèvements et de greffes
- Accompagner le développement du prélèvement et de greffe par un encadrement juridique.

2. Situation juridique dans les pays européens

Au niveau du conseil de l'Europe, la convention sur les droits de l'homme et la biomédecine, signée à Oviedo en 1997, prévoit à l'article 18, qu'il appartient à chaque pays de décider d'autoriser ou non la recherche sur l'embryon. Chaque pays est seulement tenu au respect de 2 conditions [104, 129] :

- Assurer « une protection adéquate de l'embryon » c'est à dire adopter une législation qui fixe les conditions et les limites de cette recherche,
- Interdire « la constitution d'embryons humains aux fins de recherche ».

Différentes législations sont adoptées selon les pays :

➤ L'Irlande est le seul pays de l'union européenne dont la constitution consacre le droit à la vie de l'enfant « à naître », qui est égal au droit à la vie de la mère.

➤ Certains pays ne disposent d'aucune législation en matière de recherche sur l'embryon c'est le cas de la Belgique et des Pays Bas, où des recherches sur l'embryon sont toutefois menées. Au Portugal en revanche où il n'existe aucune législation sur le sujet, il semble n'y avoir aucune recherche sur l'embryon ; tel semble être le cas en Italie, même si les techniques de reproduction artificielle y sont très répandues.

➤ Dans les pays où la recherche sur l'embryon est régie par une législation, celle-ci interdit toute sorte de recherche dans ce domaine (Autriche, Allemagne) ou l'autorise sous certaines conditions (Finlande, Espagne, Suède et Royaume Uni). En France, la recherche sur l'embryon est toujours interdite, mais la loi autorise les études sur l'embryon sous réserve qu'elles ne portent pas atteinte à son intégrité. Ainsi la loi du 6 août 2004 relative à la bioéthique permet que des lignées de cellules souches embryonnaires soient dérivées d'embryons surnuméraires conservés et ne faisant pas l'objet d'un projet parental, sous réserve du consentement informé du couple.

➤ Dans d'autres pays, des projets de loi prévoient la possibilité de créer des embryons par transfert nucléaire, aux seules fins de la recherche sur les cellules souches, c'est le cas en Belgique et au Royaume Uni. Dans ce dernier pays, la législation autorisait la création

d'embryons pour les besoins de la recherche, mais limitée au traitement de la stérilité, à la contraception ou à la prévention des maladies génétiques.

3. Situation juridique aux Etats -Unis

La situation aux Etats Unis contraste avec celle de l'Europe, l'une des différences notables est la nette distinction qui est opérée entre le secteur public et le secteur privé. Depuis 1995 le congrès américain adopte chaque année une disposition de projet de loi des finances qui interdit le financement public de la recherche sur l'embryon, de la sorte, les NIH ne peuvent effectuer de recherche sur l'embryon, recherche qui, faute de législation en la matière reste libre dans le secteur privé ou elle continue à échapper à tout contrôle.

De nouvelles découvertes sur la culture des cellules souches humaines en 1998 ont conduit à rouvrir le débat. Le National Bioethics Advisory Committee a publié un rapport en septembre 1999 et 2000 et, pour finir le gouvernement américain a proposé que, sous certaines conditions (les cellules doivent être prélevées sur des embryons surnuméraires congelés provenant des cliniques spécialisées dans le traitement de la stérilité et destinés à être détruits et non pas détruire d'embryons afin d'obtenir les cellules nécessaires), le financement des recherches pouvait alors être autorisé.

Toutefois de nouveaux principes directeurs des NIH ont été publiés en août 2000 aux termes desquels la recherche sur les cellules ES humaines peut être financé sur des ressources publiques sous réserves du respect des conditions cités plus haut. [129]



Figure 36: Pays autorisant la recherche sur les cellules souches embryonnaires « en marron » [130]

C. Contexte religieux

Les points de vue de trois grandes religions Islam, Judaïsme et Catholicisme seront donnés.

1. Islam

La notion sacrée de la personne humaine prime dans l'abord de l'embryon. Elle part du principe que la vie est un don de Dieu et que nous sommes chargés de l'entretenir et de ne pas lui porter atteinte. Les juristes musulmans ont par ailleurs introduit des textes qui complètent le Coran (texte saint) et le Hadith (tradition selon les paroles du Prophète Mohammed), afin d'éliminer toute solution figée et d'autoriser le croyant à une position évolutive face aux nouvelles questions liées aux biotechnologies.

Le musulman doit cependant lui-même faire face à ses responsabilités et prendre ses propres décisions. L'attitude du musulman reste donc délicate, vis à vis des questions bioéthiques. Les savants musulmans interdisent que les cellules souches soient prélevées

sur des embryons humains directement dans le ventre de leurs mères, car ceci conduit à la mort de l'embryon. Mais ils acceptent quand les cellules sont issues des avortements spontanés (non provoqué) ou des avortements provoqués pour sauver la vie de la mère si l'on a la certitude que l'embryon ne peut être sauvé.

Alors que pour les embryons surnuméraires issus d'une FIV et plus généralement d'une procréation médicalement assistée, la position des savants diffère, certains estiment que ces embryons ne doivent pas être touchés et doivent être laissés à leur sort. Et d'autres pensent que si l'islam permet pour la mère « tronc », en cas extrême de nécessité, de perdre l'enfant « branche », il vaudrait mieux sacrifier des « branches », ici des embryons surnuméraires, pour permettre à des « troncs » (des milliers de malades) de guérir. [131, 132]

2. Le Judaïsme

Dans le Judaïsme ; l'être humain est considéré dans son unité, c'est à dire que le corps et l'esprit forment un tout inséparable. Le respect de la vie est donc sacré et absolu. La vie humaine a une valeur infinie, car elle est un don de Dieu et que l'homme est justement fait à l'image de Dieu.

Le Talmud détermine néanmoins que le statut entier d'être humain n'existe pas au moment de la fécondation. Il ne s'acquiert uniquement qu'au quarantième jour de la grossesse. Le fœtus ne peut donc pas être considéré comme un être vivant à part entière. S'il ne reçoit pas son potentiel de vie grâce à l'implantation et à la grossesse, un embryon, hors de l'utérus, n'a pas de statut juridique.

Par conséquent, cette religion ne condamne pas systématiquement le recours au clonage thérapeutique, pour autant qu'il ait un caractère bénéfique et qu'il soit envisagé sous un contrôle strict. Un embryon conservé *in vitro* sans perspective d'implantation pourrait donc être donné et utilisé pour la recherche à des fins thérapeutiques. Cette utilisation serait conforme à l'obligation qui prime dans le Judaïsme : sauver une vie. [130, 133]

3. Le Catholicisme

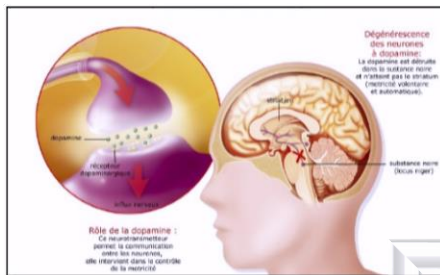
L'opposition la plus forte dans l'utilisation de l'embryon à des fins thérapeutiques ou de recherche se rencontre sans doute dans la tradition catholique. Selon les textes bibliques, la vie est un don de Dieu sacré et inviolable. Chaque Pape a constamment confirmé le respect de la vie naissante, dès sa conception. Puisque l'être humain (en devenir et non achevé) existe dès la fécondation, l'embryon est considéré comme un individu à part entière qui a droit à sa propre vie. Par conséquent, l'Eglise catholique accorde une valeur prépondérante à la dignité de la personne humaine dans son unité corps et esprit. Chaque embryon doit donc avoir la possibilité de se développer pour parvenir à terme. Cela implique qu'il est nécessaire de soumettre à un strict contrôle la fécondation des ovules *in vitro*, et qu'il n'est pas permis d'utiliser des embryons surnuméraires à des fins thérapeutiques. L'embryon serait alors assimilé à un pur matériau de recherche. [130, 133]

	ISLAM	JUDAÏSME	CATHOLICISME
Recherche sur les cellules souches adultes	Accepté	Accepté car toute recherche thérapeutique est un acte pieux	Accepté car ne met en jeu la vie d'aucun être humain
Cellules souches embryonnaires prélevées sur des embryons « surnuméraires »	Accepté pour les embryons avortés médicalement ou perdus en fausses couches et encore discuté pour les embryons surnuméraires issus de la FIV	Accepté car <i>in vitro</i> les embryons ne sont pas une personne humaine potentielle	Refusé car cela entraîne la destruction de ces embryons or l'embryon est un être humain quel que soit le projet des adultes sur lui.

Cellules souches embryonnaires obtenues par clonage thérapeutique	Refusé car il s'agit d'un détournement de l'ovule de sa voie naturelle	Accepté car il n'y a pas utilisation de spermatozoïdes	Refusé comme précédent
---	--	--	------------------------

Tableau IV : L'avis des grandes religions dominantes dans le monde [131, 132]

Après avoir abordé l'aspect éthique, juridique et religieux concernant les cellules souches, nous avons pu constater qu'il est bien difficile de savoir dans quelle mesure il faut réguler les recherches sur l'embryon humain. En effet, il s'avère exister une multitude d'arguments en faveur, tout comme en défaveur, de l'utilisation surtout des embryons à des fins thérapeutiques.



Troisième Partie : La Maladie de Parkinson

I. Historique

La maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative caractérisée par la destruction d'une population spécifique de neurones, les neurones à dopamine de la substance noire du cerveau. [137]

La maladie de Parkinson et ses manifestations sont connues depuis longtemps. Elle était déjà référée au système médical indien antique de l'Ayurveda sous le nom de **Kampavata**. Elle était alors traitée par une plante, la *mucuna pruriens* (cf. illustration), aujourd'hui connue comme source de **L-DOPA**. [135]



Figure 37 : *Mucuna pruriens*, plante utilisée dans les sociétés hindouistes antiques dans le traitement de la Kampavata [135]

Dans le milieu occidental, cette maladie fut découverte en **1817** par **Sir James Parkinson**, médecin britannique, il la décrit comme " **la paralysie agitante** " dans un court mémoire intitulé « **An Essay on the Shaking Palsy** ». Dans son bref essai, Parkinson décrit « un tremblement involontaire avec diminution de la force musculaire dans les parties du corps au repos et même lorsque soutenues, avec une propension à courber le tronc vers l'avant, et de passer de la marche à la course; les sens et l'intellect n'étant pas atteints ».

C'est **Jean Martin Charcot**, neurologue français, en **1872** qui, ajoutait la rigidité à l'excellente description clinique de Parkinson et proposait le nom de **maladie de Parkinson**.
[136]

Quelques dates : [136]

- ✓ **1919** : Découverte du processus lésionnel dans le **locus niger** ou substance noire.
- ✓ **1920**: Nombreux cas de syndromes parkinsoniens suite à l'encéphalite épidémique.
- ✓ **1954-1958**: Les travaux de Carlson, chercheur suédois, sur la réserpine permettent la découverte de la dopamine. Il s'agit d'un neurotransmetteur. Les neurones qui fabriquent cette substance dégènèrent.
- ✓ **1960-1965**: Mise en évidence de l'effondrement du taux de dopamine dans le striatum des parkinsoniens. C'est ce manque de dopamine qui est responsable des symptômes de cette maladie, tremblements, rigidité...
- ✓ **1960-1970**: Identification de la voie **dopaminergique nigro-striée** et confirmation de sa dégénérescence dans la maladie de Parkinson. Mise en évidence de l'effet thérapeutique de la L-DOPA, précurseur de la dopamine : c'est la dopathérapie. Malheureusement, au fil du temps, son effet s'épuise.
- ✓ **1970-2000**: Découverte des récepteurs dopaminergiques. Notions d'agonistes et d'antagonistes dopaminergiques. Les agonistes miment l'action de la dopamine sur ses récepteurs. Mise au point de l'utilisation des inhibiteurs d'enzymes (COMT et MAO) intervenant dans le catabolisme de la dopamine.
- ✓ A partir de **1993** nouvelles orientations : **Marc Peschanski** et **Marc Savasta** réalisent à l'hôpital Henri Mondor à Créteil la **première greffe de neurones fœtaux** dans le cerveau d'un malade, les personnes opérées voient leur état s'améliorer. L'équipe d'Alem-Louis Benabib et Pierre Pollak (INSERM), met au point un nouveau traitement, **l'électrostimulation profonde** mais il est couteux: 30 000 euros.

- ✓ **L'avenir** : Depuis 2004, l'utilisation de cellules souches susceptibles de se différencier en cellules sécrétrices de dopamine et la thérapie génique expérimentées sur des modèles animaux suscitent de nouveaux espoirs.

II. Les statistiques sur la maladie

La maladie de Parkinson est la deuxième maladie neuro-dégénérative la plus fréquente après la maladie d'Alzheimer dans les pays occidentaux. [137]

Au plan mondial, en 2007 à peu près 4 millions de personnes étaient touchées par la maladie de Parkinson. Actuellement les chiffres montent à environ 6,5 millions de personnes atteintes. La maladie est diagnostiquée chez plus de 300 000 individus chaque année. Rarissime avant 45 ans, la maladie de Parkinson touche des sujets plus âgés, avec un pic autour de 70 ans : 1 % des plus de 65 ans sont concernés. Néanmoins il existe des cas de parkinsonisme juvénile avant l'âge de 20 ans, et de début précoce entre 20 et 40 ans. En effet, au moins 5% des cas se déclareraient avant 40 ans. [138]

En France ; près de 150 000 malades sont diagnostiqués avec 14 000 nouveaux diagnostics par an, à un âge moyen de 58 ans. En Europe 1,2 million de personnes sont atteintes, chiffre qui aura doublé en 2050 selon **European Parkinson's Disease Association**. [137, 138]

Aux États-Unis, on estime qu'un million de personnes souffrent de la maladie de Parkinson, qui est la 14e principale cause de décès du pays, selon la Fondation nationale pour la maladie de Parkinson. Elle affecte plus d'un million de personnes en Amérique du Nord. [139]

Suite à une étude Canadienne, on a remarqué que : les hommes étaient plus susceptibles que les femmes d'avoir la maladie de Parkinson : 0,3 % contre 0,2 % dans le cas de la population à domicile, et 6,6 % contre 4,0 % dans le cas des personnes résidant en établissement de santé. [140]

Cette maladie est peu connue au Maroc et n'est pas encore considérée comme une priorité de santé publique ; mais vu l'augmentation de l'espérance de vie et le vieillissement de la population, cette maladie neuro-dégénérative sera de plus en plus fréquente. Selon les estimations épidémiologiques environ 30 000 personnes seraient atteintes de la maladie de Parkinson, avec environ 4000 nouveaux cas déclarés chaque année. [141]

Il semble que l'incidence soit plus élevée chez la population blanche que chez la population noire car la maladie migre plus vers les pays industrialisés. [141]

La maladie de Parkinson constitue un enjeu de santé publique mondial car son incidence augmente au cours du temps en raison du vieillissement de la population. Avec d'autres maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer, on s'attend à ce qu'elle dépasse le cancer au deuxième rang de la mortalité vers l'année 2040. [137, 138]

III. Anatomie fonctionnelle des noyaux gris centraux

De nombreuses structures cérébrales jouent un rôle primordial dans l'élaboration des mouvements. Les noyaux gris centraux NGC ou **ganglions de la base** y ont un rôle de contrôle central, et sont considérés comme des structures motrices qui régulent le démarrage des mouvements.

Il s'agit d'un ensemble de noyaux reliés en boucle avec le cortex cérébral en passant par un relais dans le thalamus. Ils comprennent dans chaque hémisphère [142, 143]:

- le **striatum** (composé du noyau caudé, du putamen et du noyau accumbens),
- le **pallidum** (composé du globus pallidus interne GPi et externe GPe),
- le **noyau sous-thalamique** NST ou **corps de Luys**
- le **locus niger** ou **substance noire** (composé de la substance noire pars compacta SNc et pars reticulata SNr).

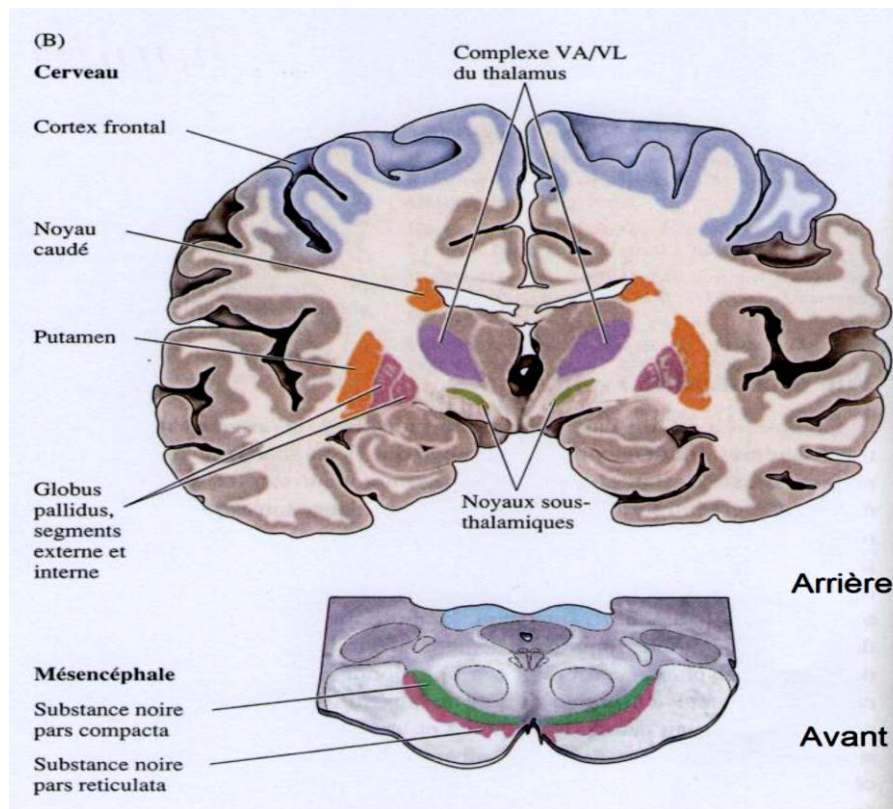


Figure 38 : Coupe frontale idéalisée du cerveau ainsi qu'une coupe transversale du mésencéphale. [144]

Le striatum est considéré comme la porte d'entrée des noyaux gris centraux. Les neurones du striatum reçoivent un grand nombre d'afférences en provenance de diverses régions corticales (comme le cortex moteur, le cortex somato-sensoriel, le cortex visuel), du thalamus, du tronc cérébral, etc... [142]

Les afférences sur le noyau caudé et le putamen n'ont pas les mêmes origines [145]:

- le noyau caudé reçoit les afférences des aires d'association et des aires motrices du lobe frontal qui contrôlent les mouvements oculaires
- le putamen reçoit des afférences des aires somesthésiques primaires et secondaires du lobe pariétal, des aires visuelles secondaires, des cortex moteur et pré-moteur du lobe frontal, des aires auditives associatives du lobe temporal.

Ces neurones s'activent lorsqu'un mouvement est près de se produire. Les enregistrements extracellulaires montrent qu'ils augmentent leur fréquence de décharge. Les neurones du putamen ont tendance à décharger juste avant les mouvements du corps tandis que les neurones du noyau caudé avant des mouvements oculaires [142].

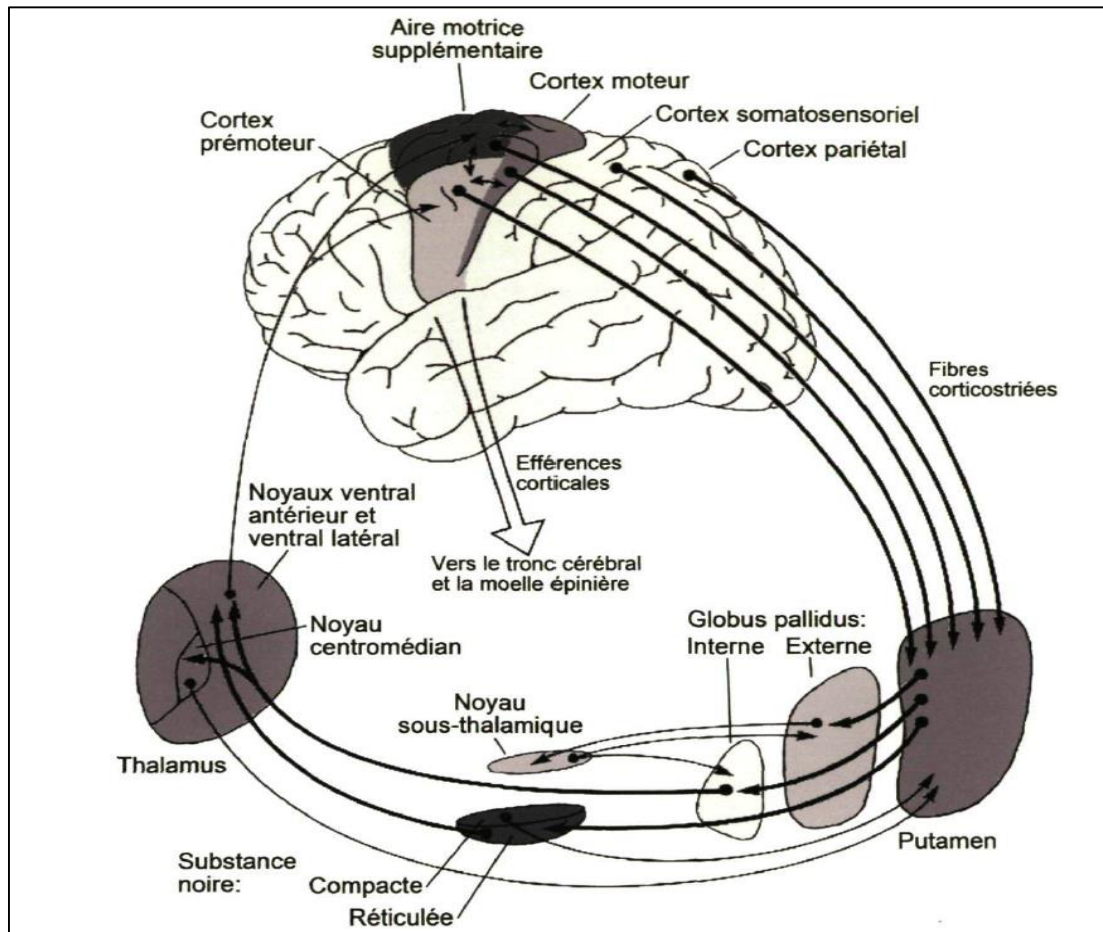


Figure 39 : Circuit neuronal formant une boucle fermée entre le cortex cérébral, les ganglions de la base, le thalamus et le cortex cérébral [146]

La plupart des neurones des NGC produisent un neurotransmetteur inhibiteur le GABA. Ils sont GABAergiques (ceux du striatum et du pallidum). Un seul noyau gris possède des neurones excitateurs, le NST, qui libère du glutamate (glutamatergique). Les neurones de la SNc synthétisent de la dopamine. La majorité des neurones du striatum sont des neurones épineux (dendrites recouvertes d'épines). Les axones des neurones épineux moyens

convergent pour leur part sur les neurones du globus pallidus et de la substance noire pars reticula, ces deux structures constituant la cible principale des efférences des ganglions de la base.

Les neurones efférents du GPi et de la SNr donnent tous naissance aux voies principales qui relient les ganglions de la base aux neurones moteurs du cortex et du tronc cérébral. La voie destinée au cortex moteur naît pour l'essentiel dans le segment interne du globus pallidus et fait relais dans les noyaux VA et VL du thalamus dorsal. Ces noyaux thalamiques projettent directement sur les aires motrices corticales. Les neurones de la SNr font synapse sur des neurones moteurs du colliculus supérieur, commandant les mouvements oculaires.

Les neurones efférents du GPi et de la SNr, contrairement aux neurones épineux moyens, ont un niveau élevé d'activité spontanée empêchant ainsi tout mouvement non souhaité en inhibant de façon tonique le Colliculus supérieur et le thalamus. [142, 145]

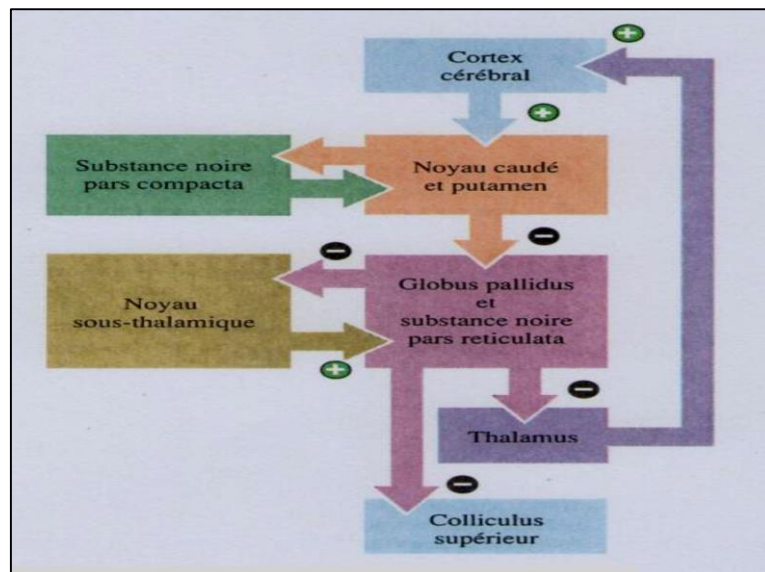


Figure 40 : Circuit des NGC indiquant leur action inhibiteur ou excitateur [144]

❖ **Circuit interne de modulation des NGC : la voie directe et indirecte [142, 145, 147]**

La **voie directe** relie le striatum au GPi et sert à lever l'inhibition tonique des neurones moteurs corticaux ou colliculaires. La **voie indirecte** quant à elle relie le striatum au GPe,

ce dernier projette à la fois sur le GPi et le NST qui projette en retour sur le GPi et le SNr. Elle sert à augmenter le niveau de l'inhibition tonique ; elle freine les effets normaux de la voie directe.

Chez une personne saine, lorsque le striatum reçoit diverses projections afférentes dont la plupart consistent en des entrées glutamatergiques excitatrices en provenance du cortex cérébral, la SNc module la réponse des neurones striataux à ces influx via le relâchement de dopamine à l'intérieur du striatum.

La dopamine peut exercer un effet excitateur ou inhibiteur sur les neurones GABAergiques du striatum selon les récepteurs dopaminergiques qu'ils expriment :

En effet, la dopamine facilite la transmission par la voie directe via les récepteurs D1 exprimés par le striatum. Les efférences GABAergiques de ces neurones rejoignent ensuite le GPi et la SNr qui exercent une hyperpolarisation tonique sur les neurones du thalamus. Ces deux relais inhibiteurs en série engendrent un mécanisme de désinhibition. Plus précisément, les neurones striataux de la voie directe inhibent les neurones du GPi et de la SNr qui cessent alors d'inhiber les neurones thalamo-corticaux. Une fois l'activité thalamique désinhibée, les neurones du thalamus sont libres de répondre à des entrées excitatrices en générant des influx glutamatergiques excitateurs au cortex.

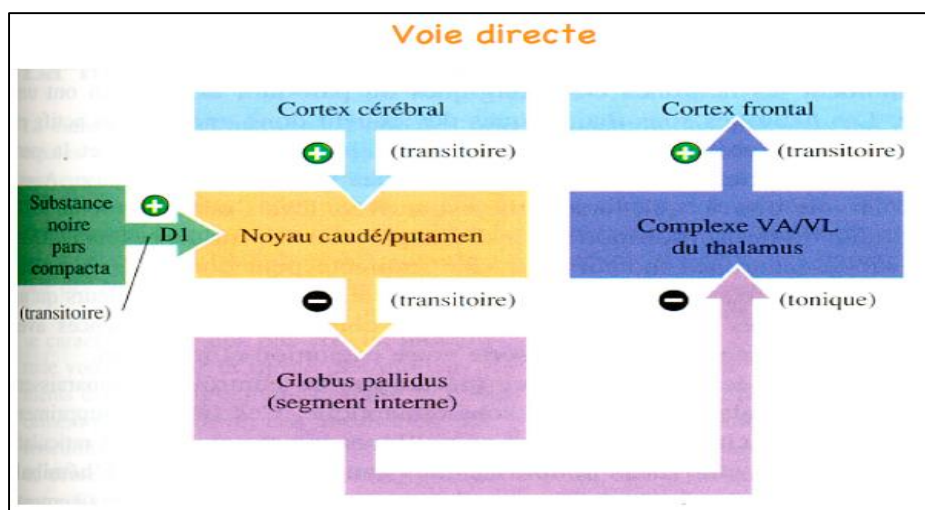


Figure 41 : La voie directe avec effet stimulant de la dopamine [144]

À l'opposé, la dopamine inhibe la transmission par la voie indirecte lorsqu'elle se lie aux récepteurs D2 exprimés par le striatum. Les efférences GABAergiques des neurones striataux de la voie indirecte se terminent dans le GPe et inhibent son activité. Cela provoque une désinhibition du STN. Les neurones glutamatergiques du STN peuvent ainsi augmenter leur activité excitatrice sur le GPi et la SNr qui inhiberont davantage le thalamus. Une fois le striatum inhibé par la dopamine, le GPe est donc activé et exerce son action inhibitrice sur le GPi et le NST.

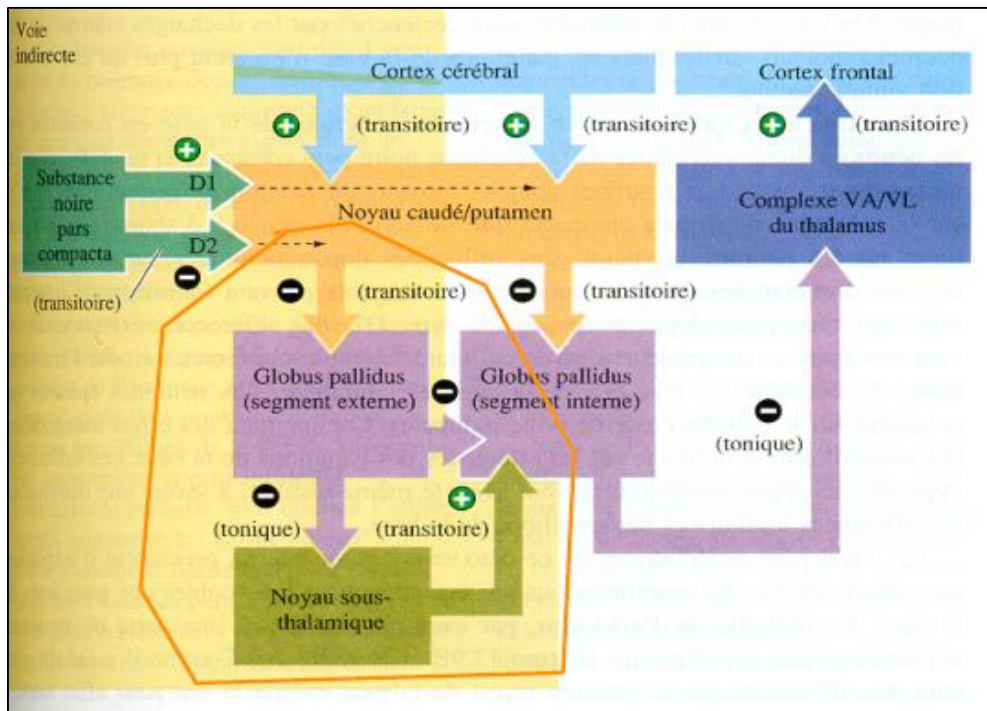


Figure 42 : La voie indirecte avec l'effet inhibiteur de la dopamine [144]

Le bon fonctionnement des GB repose donc sur un équilibre entre les deux systèmes de projections du striatum.

La dopamine inhibe fortement les neurones striataux de la voie indirecte et excite faiblement les neurones striataux de la voie directe. Dans les deux cas, ceci facilite l'activité locomotrice.

IV. Physiopathologie et anatomopathologie

Dans la maladie de Parkinson, la dégénérescence de la voie dopaminergique nigro-striée (substance noire et striatum) est principalement à l'origine des symptômes moteurs dont le degré de sévérité corrèle avec l'importance de la perte des cellules nerveuses. La sécrétion de dopamine par la substance noire est progressivement diminuée. N'étant plus inhibée, la voie indirecte prédomine sur la voie directe qui a perdu sa source excitatrice. Les neurones striataux à l'origine de la voie indirecte sont donc libres d'inhiber à leur guise les neurones du GPe. Le STN se trouve complètement désinhibé et il devient hyperactif. Cette hyperactivité cause une forte excitation des neurones GABAergiques du GPi et de la SNr. Les structures de sortie des NGC sont ensuite poussées à inhiber davantage les neurones du thalamus. Sous cette contrainte inhibitrice, les neurones thalamiques pré-moteurs sont dans l'impossibilité d'exercer leur action excitatrice sur les neurones corticaux impliqués dans l'initiation et l'exécution des mouvements. Suite à cette cascade d'événements, il est possible d'observer la bradykinésie ou l'akinésie typique de la maladie de Parkinson. [147, 148]

Dans le schéma : les lignes *pointillées* et **plus épaisses** représentent respectivement des voies *hypoactive* et **hyperactive** dans les conditions pathologiques. Le bleu et le rouge correspondent à des projections inhibitrices et excitatrices, respectivement.

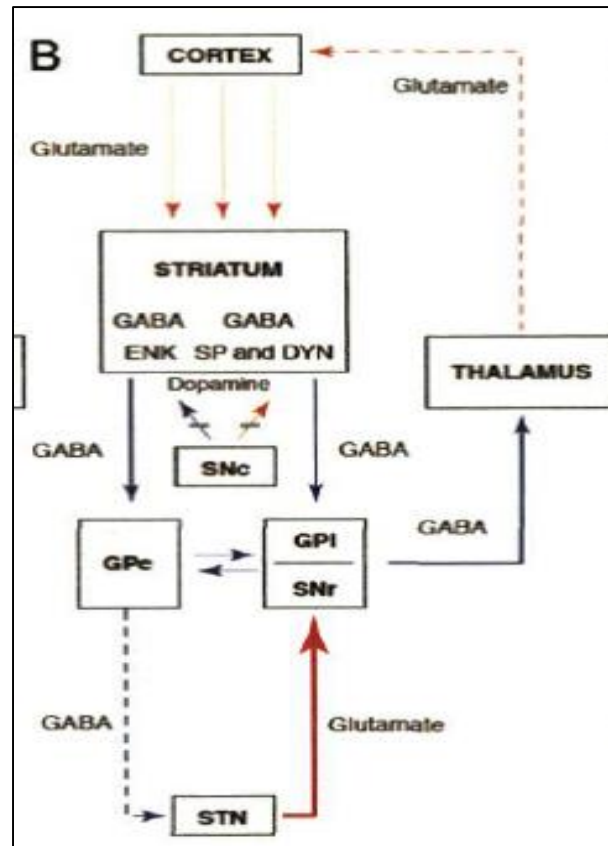


Figure 43 : Organisation fonctionnelle des NGC dans la maladie de Parkinson [147]

D'autres systèmes dopaminergiques ou non différents de celui de la SNc sont aussi atteints dans la maladie de Parkinson [149]:

- des lésions sévères ont été mises en évidence au niveau du **groupe dopaminergique A8** (du mésencéphale chez des patients présentant un tremblement sévère.
- **les régions médiale et médio-ventrale** (du mésencéphale) qui seraient associées à la présence d'une détérioration cognitive.
- Lésions des **neurones noradrénergiques du locus coeruleus**
- Lésions des **neurones adrénérgiques des régions C1 et C3 de la medulla oblongata**
- Lésions des neurones **sérotoninergiques du raphé**

- Lésions des neurones **cholinergiques du noyau basalis de Meynert et du noyau pedonculo-pontin**

Les lésions des systèmes non dopaminergiques, dont l'intensité semble variable d'un sujet parkinsonien à l'autre, pourraient expliquer certaines variantes cliniques et aussi la résistance de certains signes au traitement dopaminergique. [148]

Macroscopiquement, cette atteinte est mise en évidence par une dépigmentation progressive principalement du locus niger, mais aussi d'autres régions (locus coeruleus, noyau dorsal du vague). En effet, les neurones producteurs de dopamine dans ces régions contiennent un pigment, la **neuromélanine**, qui confère à celles-ci leur coloration sombre.

Microscopiquement, la quantité de neurones dopaminergiques est fortement diminuée, et de petits dépôts extracellulaires de neuromélanine sont relâchés par les neurones apoptotiques. Les neurones restants sont atrophiques et contiennent des inclusions cytoplasmiques circulaires appelées **corps de Lewy**. Un certain degré de gliose peut également être observé.

Les corps de Lewy résultent en grande partie d'agrégations intracellulaires composées de la protéine α -synucléine, présente dans ce cas sous forme insoluble et dans une conformation anormale, mais également de neurofilaments, de parkine et d'ubiquitine. Ces inclusions intracellulaires éosinophiles et sphériques sont souvent remarquables grâce à leur centre dense entouré d'un fin halo plus pâle. Les corps de Lewy s'accumulent progressivement dans les neurones, aboutissant lentement à la dégénérescence de ces derniers. Par la suite, on assiste à une dissémination des corps de Lewy dans diverses régions du cerveau ; dont le noyau basal de Meynert, de manière importante ; aboutissant finalement à un syndrome démentiel caractérisé par la perte de diverses fonctions cognitives. Ce type de déficit est appelé **démence à corps de Lewy** ou **maladie à corps de Lewy**. [150]

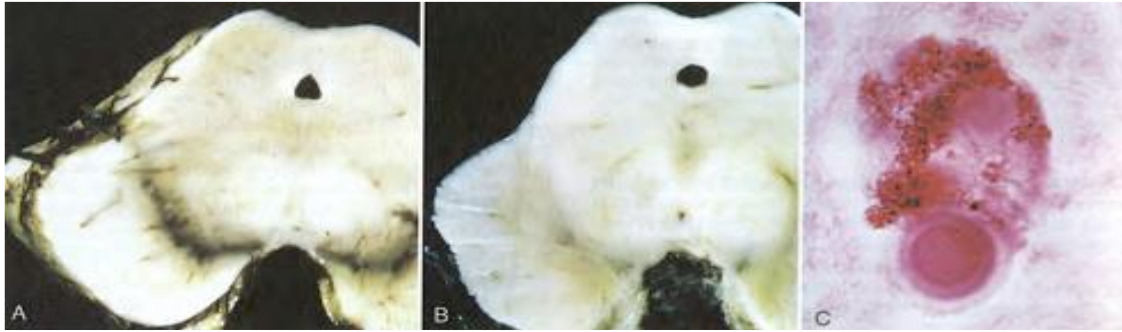


Figure 44 : Dépigmentation de la SN et corps de Lewy [150]

- A : Substance noire normale
- B : Substance noire dépigmentée dans la maladie de Parkinson
- C : Corps de Lewy dans un neurone de locus niger

V. Les étiologies

Malgré la nature sporadique de la maladie de Parkinson, plusieurs hypothèses ont été émises sur les causes de cette maladie parmi lesquelles :

A. Les facteurs génétiques

Déjà en 1900, le Docteur Gowers relatait que, parmi les patients qu'il suivait, 15% d'entre eux présentaient une origine héréditaire de la maladie de Parkinson. De nos jours, les auteurs s'accordent à dire qu'il existe deux formes génétiques :

- majoritairement, une forme dite « sporadique » ou isolée (sans antécédent familial)
- dans 5 à 15 % des cas une forme « familiale ».

Dans le dernier cas, une personne ayant un membre de sa famille touché par cette maladie serait prédisposée à la développer à son tour. Cette forme familiale est particulièrement observée lorsque la maladie débute précocement (entre 35 et 40 ans). Son mode de transmission est plus fréquemment de type autosomique récessif. Ceci est expliqué par une mutation du gène de la parkine dans 49% des cas, de DJ-1, de PINK1 et d'ATP13A2. Cette

forme familiale de transmission autosomique récessive se caractérise par une bonne réponse au traitement et une évolution lente. Les mutations se trouvant dans les gènes de l' α -synucléine, leucine rich repeat kinase 2 et glucocérébrosidase, transmises de façon autosomale dominante, engendreraient la formation de corps de Lewy. [151, 152]

Les gènes soupçonnés sont notamment en lien avec la protection contre le stress oxydatif et avec le métabolisme de la dopamine. D'autant plus qu'une spécificité pour l'ethnie caucasienne a été montrée pour des mutations sur certains gènes. Il s'agit des gènes de la monoamine oxydase B (MAO-B), du récepteur D2 de la dopamine (DRD2) et de la debrisoquine hydroxylase du cytochrome P450 D6 (CYP2D6). La MAO-B est une enzyme mitochondriale impliquée dans la dégradation de la dopamine et capable d'activer des molécules neurotoxiques exogènes et la CYP2D6 métabolise plusieurs xénobiotiques. D'ailleurs, une étude de Barbeau et al. en 1985 a montré une défaillance plus fréquente de cette enzyme chez les personnes atteintes de la maladie de Parkinson que chez un groupe de témoins. [153]

Plusieurs autres mutations ont été découvertes dans différents gènes dont quelques sont présentées dans le tableau V.

Locus	Transmission	Chromosome	Gene	Protéine	Fonction
PARK 1	AD	4q21-23	SNCA	α -synucléine	protéine synaptique
PARK 2	AR	6q25.2-q27	PRKN	Parkine	E3 Ubiquitine ligase
PARK 3	AD	2q13	SPR?	Aldo-keto reductase?	Indéterminée
PARK 4	AD	4q21-23	SNCA	α -synucléine	excès de α -synucléine

PARK 5	AD	4p14	UCHL1	UCHL1		Ubiquitine C-terminal hydrolase
PARK 6	AR	1p36-p35	PINK1	PINK1		Mitochondriale protéine kinase
PARK 7	AR	1p36	DJ-1	DJ-1		Protection contre le stress oxydatif
PARK 8	AD	12p11-q13	LRRK2	LRRK2		plusieurs fonctions dans différents domaines
PARK 9	AR	1p36	ATP13A2	ATPase 13A2	type	Lysosomale protéine
PARK 11	AD	2q37.1	GIGYF2?	interagissant avec protéine 2	GYF	Indéterminée
PARK 13	AD?	2p12	OMI/HTRA2	HtrA	serine peptidase 2	Serine protéase +
PARK 14	AR	22q13.1	PLA2G6	A2		Remodelage des phospholipase phospholipides
PARK 15	AR	22q12-q13	FBXO7	F-box 7	protéine	Ubiquitination Phosphorylation dependante

Tableau V : Loci impliqués dans la maladie de Parkinson [154]

B. Les facteurs environnementaux

Trois types de facteurs ont été envisagés : infectieux, traumatique et toxique. L'hypothèse des facteurs infectieux et traumatiques a été infirmée jusqu'à présent.

Sur le plan toxique, des substances neurotoxiques telles que le **MPTP** (1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) sont suspectées. C'est une toxine qui atteint les neurones dopaminergiques, et qui a été utilisée par certains toxicomanes, dans les années 80. Elle entraîne des symptômes typiques de la maladie de Parkinson. De plus, des agents chimiques (insecticides, pesticides, herbicides) comme la roténone, un inhibiteur du complexe 1 mitochondrial et le paraquat, seraient également suspectés comme facteurs favorisant la survenue de la maladie. Cela expliquerait que la prévalence de la maladie est plus élevée dans les régions industrialisées (produits chimiques, pesticides) et dans les zones rurales (usage intensif d'insecticides). Néanmoins, les différents auteurs s'accordent pour dire qu'aujourd'hui, que leur rôle n'est pas encore prouvé, avec certitude.

D'autre part, il existerait un lien entre la maladie de Parkinson et la consommation de tabac, café ou thé. Cependant, les effets de ce type de substances sont controversés. Certaines études exposées par les auteurs, émettent l'hypothèse que chez les consommateurs de café, thé et chez les fumeurs, le risque de développer une maladie de Parkinson serait moins élevé. L'utilisation d'une médication anti-inflammatoire a aussi un effet protecteur. En outre, le cholestérol aurait des effets possibles sur la survenue d'une maladie de Parkinson. [148, 155, 156]

C. Le stress oxydatif

Les radicaux libres sont des espèces chimiques qui possèdent un électron, ou plus, non apparié par conséquent hautement réactifs et potentiellement dangereux pour les tissus biologiques. Deux principaux types de radicaux libres sont distingués : le radical superoxyde (O_2^-) et l'anion hydroxyle (OH). Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) lui est une molécule pouvant générer beaucoup de radicaux libres. De puissants systèmes protecteurs sont associés aux radicaux vu leur toxicité. Dans le tissu cérébral, ces systèmes reposent essentiellement sur des enzymes : les superoxydes dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase.

Un excès de production de radicaux libres ou une diminution des mécanismes protecteurs contre ces produits toxiques peut augmenter leur concentration tissulaire et ainsi avoir un effet délétère. C'est le **stress oxydatif**. C'est dans une telle situation que des dommages cellulaires surviennent pouvant conduire à la destruction des neurones.

Quatre arguments principaux expliquent que les radicaux libres soient particulièrement suspectés de jouer un rôle dans la pathologie de la maladie de Parkinson :

- Les neurones dopaminergiques sont exposés à de grandes quantités de radicaux libres oxygénés venant : des deux grandes voies de dégradation de la dopamine ; de la chaîne respiratoire localisée dans la membrane interne des mitochondries de ces neurones ; du fait de la richesse en fer de la SNc (le fer favorise la formation des radicaux libres) et de la neuromélanine contenue dans les neurones dopaminergiques.
- Le rôle du stress oxydatif a été montré dans d'autres affections neurodégénératives et dans certains syndromes parkinsoniens non idiopathiques.
- La sous-population de neurones dopaminergiques la plus exposée de façon constitutive au stress oxydatif est la plus affectée dans la maladie de Parkinson.
- Chez les patients atteints de maladie de Parkinson, il existe des indices de stress oxydatif dans la substance noire. [157, 158, 159, 160]

L'apparition de la maladie de Parkinson pourrait donc être partiellement expliquée par la combinaison de prédispositions génétiques à une hypersensibilité à certains composés chimiques et par une exposition à certains produits à risque. Les recherches sont cependant encore en cours et toutes les réponses aux nombreuses questions que soulève ce domaine n'ont pas encore été apportées. [148]

VI. Les signes cliniques

La maladie de Parkinson est un trouble neurologique complexe. C'est aussi une maladie progressive, ce qui signifie que les symptômes peuvent empirer avec le temps. Dans la boucle des NGC la fonction du mouvement est contrôlée dans le cerveau par une substance

chimique, la dopamine, qui véhicule l'information entre les neurones. Les symptômes du Parkinson se manifestent lorsque les cellules qui produisent cette dopamine meurent ou sont endommagées.

➤ **Action de la dopamine dans le cerveau**

La dopamine est un neurotransmetteur appartenant aux catécholamines, issu de l'acide aminé, la tyrosine. Dans le système nerveux central, elle active les récepteurs dopaminergiques postsynaptiques. Elle est principalement produite dans la substance noire et dans l'aire tegmentale ventrale, situées dans le mésencéphale. Certains de ses fonctionnements notables sont dans : les mouvements, la mémoire, le comportement et la cognition, l'attention, le sommeil, l'humeur et l'apprentissage.

L'excès et le déficit de cette substance chimique indispensable est la cause de plusieurs états comme la maladie de Parkinson. [161]

A. Les signes avant-coureurs

Il existe des signes susceptibles de se développer pendant plusieurs années avant l'apparition des premiers troubles moteurs et être toujours présents au cours de la maladie. Cependant, ils ne sont pas spécifiques à la maladie de Parkinson.

Les **troubles de l'odorat** peuvent être détectés de manière très précoce. Les difficultés rencontrées concernent le seuil de détection, l'identification et la discrimination des odeurs. Néanmoins, ces troubles ne sont pas spécifiques à la maladie: ils sont également présents dans la maladie d'Alzheimer ou dans l'atrophie multi-systématisée, par exemple.

Les autres signes précurseurs recensés sont **la constipation, les troubles du comportement lors du sommeil paradoxal** (il s'agit de manifestations verbales et/ou motrices lors de rêves animés), **l'anxiété, les troubles de l'humeur et la dépression**. Il existerait, de manière très précoce, d'autres troubles non moteurs, tels que les **troubles de la vigilance, une apathie et des troubles sexuels**. [162, 163]

B. Les symptômes moteurs

1. La triade

La triade regroupe les signes inauguraux les plus fréquents :

- Le tremblement de repos
- l'akinésie
- la rigidité

Ses trois symptômes associés portent le nom de **parkinsonisme** ou de **syndrome parkinsonien**.

Le tremblement de repos est un signe initial qui touche 60 à 70 % des patients. Il est à noter qu'il peut y avoir un Parkinson sans tremblements, et des tremblements sans Parkinson. Ce tremblement se retrouve généralement au niveau des membres supérieurs :

- pouce et index ; avec une impression d'émietter du pain, de rouler une cigarette ou de compter de la monnaie
- poignet ; les mouvements de flexion et d'extension donnent l'impression de taper sur un tambour

Le tremblement apparaît de manière unilatérale au début de la maladie et peut évoluer vers une atteinte bilatérale et très asymétrique. Il peut parfois toucher de façon isolée le pied, mais aussi les lèvres, la mâchoire, la langue. Les situations stressantes ou émotionnellement fortes, ainsi que le calcul mental, aggravent ce tremblement. Cependant, il disparaît lors du sommeil.

On peut rencontrer un **tremblement dit postural** (ou d'attitude), localisé majoritairement aux membres supérieurs et apparaissant lors du maintien d'attitude (la main tremble alors qu'elle tient le téléphone par exemple). Chez certains patients, tremblement de repos et tremblement d'attitude peuvent coexister. [148, 162, 164, 165]

L'**akinésie** touche les patients parkinsoniens selon différents seuils de gravité ; elle est donc variable d'un individu à l'autre. Bien que peu connue, l'akinésie reste le signe

principal de la maladie. L'akinésie est une réduction de la motricité automatique et volontaire en l'absence de toute paralysie. [165]

Sous ce terme, on distingue :

- l'akinésie à proprement parler, qui correspond à des difficultés au niveau de **l'initiation du mouvement**. Elle se mesure par une épreuve de temps de réaction.
- l'hypokinésie pouvant se définir comme une **réduction de l'amplitude d'un mouvement**.
- la bradykinésie se traduisant par une lenteur lors de **l'exécution d'un mouvement**. Elle est mise en évidence par une épreuve de temps d'exécution.

L'akinésie au sens large est initialement unilatérale, mais il existe des cas où elle peut être d'emblée bilatérale et dans ce cas elle sera asymétrique.

La perturbation des mouvements automatiques se traduit principalement par:

- la réduction du balancement d'un bras à la marche,
- la perte de la mimique gestuelle des membres supérieurs lors d'une conversation,
- un faciès apparaissant comme inexpressif et figé avec une nette hypomimie et une rareté du clignement palpébral.

Dans la dernière perturbation, l'hypomimie peut apparaître **précocement** et entraîne une diminution d'expressivité. En effet, les émotions ne s'expriment plus sur le visage, la paupière supérieure est rétractée donnant au visage une expression d'étonnement.

Puisqu'il existe une perte d'automatisme moteur, le patient est obligé de conscientiser chaque étape constituant la réalisation d'un mouvement. Les doubles tâches seront de plus en plus difficiles : par exemple s'habiller en parlant ou se déplacer en portant un objet. Quant à la motricité volontaire, tous les gestes des membres supérieurs et inférieurs peuvent être perturbés, aussi bien l'exécution de gestes rapides (battre la mesure avec le pied...) que des gestes fins (boutonner une chemise, écrire...).

Il existe parfois des situations suscitant une forte émotion lors desquelles l'akinésie, pendant une courte période, peut s'amenuiser soudainement. Le patient est alors capable de retrouver une mobilité presque efficiente. On appelle ce phénomène « kinésie paradoxale » ou levée de l'akinésie. [162, 164, 165]

La rigidité constitue le troisième signe de la triade parkinsonienne. On parle également d'**hypertonie extrapyramidale**, de **raideur** ou de **résistance au mouvement**. À la palpation, un aspect contracté et ferme des muscles se ressent. La rigidité s'observe lors d'une mobilisation passive des articulations chez un patient en position de détente. Cette résistance est uniforme, homogène, quels que soient le degré et la vitesse d'étirement du membre, et ce, pendant tout le mouvement. La rigidité est comparée à un « **tuyau de plomb** », c'est-à-dire que le muscle conserve à la fin du mouvement l'attitude exercée. Cette rigidité, qualifiée **de plastique**, cède souvent par à-coups, c'est le phénomène de la « **roue dentée** » cliniquement observée grâce à la *manœuvre de Froment* : « la rigidité apparaît ou augmente lorsque l'on étudie les mouvements passifs de flexion-extension du poignet en demandant au patient d'exécuter des gestes avec son autre main ». [165]

D'autre part, cette rigidité est asymétrique et prédomine principalement sur les muscles fléchisseurs. Ceci explique, lors de l'évolution, l'attitude générale des parkinsoniens se caractérisant par un **tronc fléchi en avant** et des **membres en demi-flexion**. En outre, la rigidité s'aggrave avec la fatigue, le froid, le stress, et peut disparaître pendant le sommeil. [162, 164, 165]

Sur la figure 46, la posture du sujet et son expression faciale illustrent la rigidité qui affecte ses muscles. L'aspect refermé des mains représente le tremblement au niveau distal des membres du patient.



Figure 45 : Expression figée et posture fléchie caractéristiques d'un patient souffrant de la maladie de Parkinson [151]

2. Les troubles de la marche

Les troubles de la marche sont rares au stade initial de la maladie, sauf dans les cas où l'akinésie touche principalement les membres inférieurs. Ces troubles sont fréquents et plus précoces chez les sujets âgés. S'ils apparaissent isolément ils doivent faire penser à une autre problématique.

Lorsque les troubles de la marche sont présents, ils débutent par une légère gêne au moment de l'accélération. Puis, petit à petit, le phénomène de **festination** se met en place : le polygone de sustentation se réduit, la marche se fait à petits pas accélérés, afin de garantir son équilibre. Les troubles se manifestent davantage, lors de l'initiation à la marche, du

demi-tour, de la présence d'obstacles ou lors du passage d'une porte. Il existe, en outre, un phénomène associé appelé **freezing** (piétinement sur place accompagné de blocages, d'une durée de plusieurs secondes). L'apparition du phénomène de festination précède fréquemment celui du freezing.

Plus tardivement, le patient souffrira d'une **instabilité posturale** (déséquilibre vers l'avant ou vers l'arrière) qui favorisera le risque de chutes, et ainsi de traumatismes, et augmentera donc le handicap du patient. [148, 162, 165]

3. Autres symptômes moteurs

a) La micrographie

La triade parkinsonnienne atteint aussi la motricité volontaire. C'est pourquoi il existe entre autres, une perturbation du geste graphique qui devient irrégulier, lent voire illisible.

En effet, lorsque la personne doit exécuter un geste graphique, l'initiation du mouvement peut être perturbée un cours instant (akinésie), par la prolongation du tremblement de repos. De plus, l'écriture, qui implique une situation où le patient doit maintenir une attitude, peut révéler un tremblement postural. Il existe toujours un ralentissement dans l'exécution de ce geste (bradykinésie).

L'hypokinésie entraîne une diminution de l'amplitude du geste graphique se traduisant par une micrographie. En effet, on observe une diminution de la taille des caractères, une inclinaison de l'écriture de droite à gauche, ainsi qu'un rapprochement progressif des lettres du début à la fin de la ligne, ou d'une ligne à l'autre, amenant à une mauvaise individualisation des mots. Les difficultés se manifestent aussi bien en écriture spontanée qu'en copie.

La rigidité, quant à elle, amène une écriture de plus en plus raide avec une difficulté à former les lettres curvilignes, rondes et à boucles avec des itérations du jambage, des blocages et des redémarrages. [162, 166]

b) Les troubles de la communication orale

La communication orale peut être perturbée par des troubles de la voix, de la prosodie, de l'articulation et de la respiration.

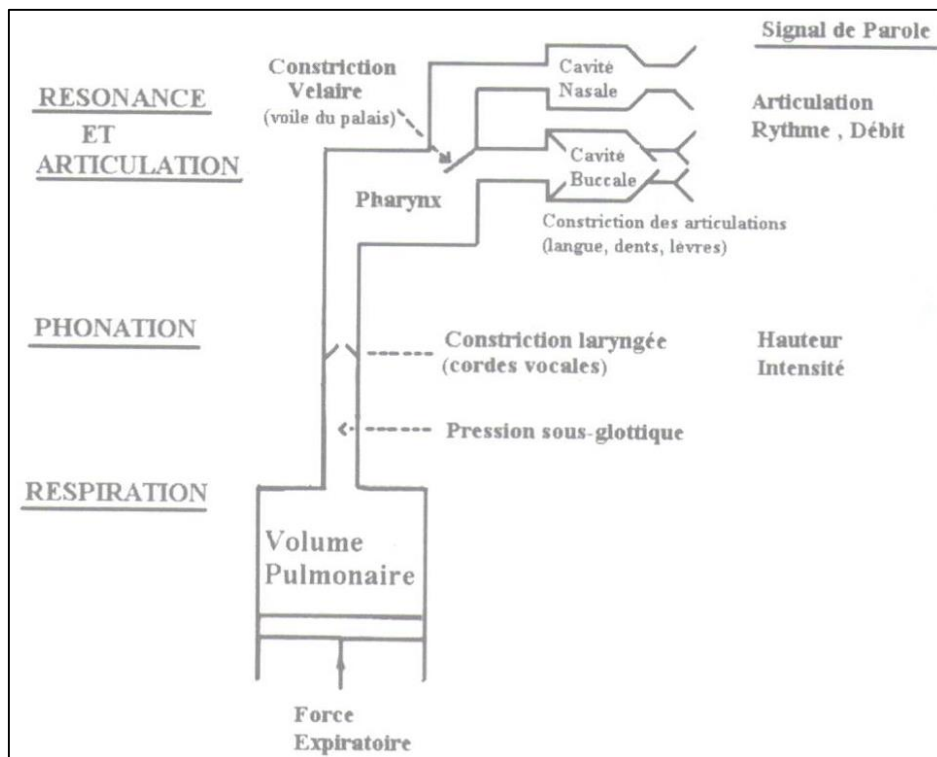


Figure 46 : Modélisation des différentes fonctions du système de production de la voix et de la parole [167]

(1) La dysphonie parkinsonnienne

La dysphonie apparaît souvent précocement chez les patients parkinsonniens. Elle s'installe progressivement, c'est la conséquence directe de la qualité respiratoire, conséquence aussi de l'installation de l'akinésie et/ou de la rigidité. [168, 169]

Elle se caractérise par la modification:

- De l'intensité :

L'intensité qualifie la puissance de la voix, elle rend compte d'une voix forte ou faible. Les analyses perceptives et les mesures acoustiques (en voix conversationnelle et sur la voyelle tenue) témoignent d'une baisse de l'intensité vocale chez les parkinsoniens. Cette hypophonie est la conséquence d'une diminution du volume expiratoire (c'est-à-dire une baisse de la pression sous-glottique) ainsi que d'une réduction de la tension des cordes vocales, entraînant un défaut d'accolement de celles-ci et donc une fuite glottique en phonation. Ainsi, le patient présente une difficulté croissante pour crier, parler fort, chanter... Mais, il existe une controverse sur la diminution ou non de l'intensité vocale en lecture. [168, 169]

- **De la hauteur**

La hauteur correspond à la fréquence de vibration des cordes vocales (soit la fréquence fondamentale F_0). Elle détermine si la voix est grave (F_0 bas) ou aiguë (F_0 élevée). Dans la maladie de Parkinson, la voix devient aiguë. Cette augmentation de hauteur s'expliquerait par un mécanisme compensatoire à la fuite glottique en phonation. Cependant, il existe une grande variabilité de l'impact de la maladie sur la F_0 . Celle-ci peut ainsi être également abaissée en cas d'hypotonie du larynx. Ainsi dans le cas d'une hypertonie du larynx ou élévation de la F_0 (voix aiguë), ce serait l'installation de la rigidité qui primerait. Dans le cas d'une hypotonie laryngée, nous aurions un abaissement de la F_0 (ou une voix plus grave). [169, 170]

- **Du timbre vocal :**

Le timbre correspond à la qualité du son laryngé, après modelage par les cavités de résonance (configuration du pharynx, cavité buccale, cavité nasale). Le timbre vocal chez les patients parkinsoniens peut être qualifié de **voilé**, **rauque/érraillé**, **tremblé**, etc. Cette modification est due à un défaut de mobilité des cordes vocales en fonction de l'hypotonie ou l'hypertonie laryngée. [168, 169]

En résumé, il existe probablement plusieurs sous-types de dysphonie parkinsonienne. Néanmoins, chez le patient parkinsonien, les signes vocaux suivants ressortent : une

intensité faible, une hauteur plus aiguë (surtout chez les hommes) et un timbre vocal modifié. [169]

(2) La dysprosodie parkinsonienne

La prosodie se situe au niveau suprasegmental, elle donne des informations sur les attitudes, les sentiments, les émotions. Elle permet aussi de différencier, par exemple, une question d'une réponse. Elle peut être définie en fonction de trois paramètres objectifs:

- la variation de la fréquence de vibration des cordes vocales,
- la variation de l'intensité de l'émission vocale,
- la durée (c'est-à-dire l'intervalle de temps entre les phonèmes, et l'organisation temporelle du discours [débit de parole et rythme]).

Dans la maladie de Parkinson, on observe une insuffisance prosodique qui constitue probablement la marque la plus spécifique des troubles de la parole. Au même titre que la dysphonie, la dysprosodie peut apparaître elle aussi précocement. L'insuffisance prosodique est caractérisée par une **monotonie de hauteur** et **d'intensité** ainsi que par des troubles du rythme.

Le **débit** chez les patients parkinsoniens peut être normal, fortement ralenti ou accéléré. Dans le cas où il est ralenti, on observe une bradylalie (une vitesse de parole beaucoup plus lente) qui alterne au profit de la tachyphémie (une accélération progressive du débit verbal allant jusqu'à des omissions de sons, de syllabes ou de mots). Il peut se produire aussi une impossibilité d'émettre un son. Ces blocages sont qualifiés de pseudo-bégaiements. [168, 170, 171]

(3) La dyspnéumie parkinsonienne

L'inspiration fait intervenir plusieurs muscles: principalement le diaphragme avec la participation des muscles intercostaux externes et moyens. Tandis que lors de l'expiration, ce sont les muscles abdominaux ; le transverse, le petit oblique et le grand oblique ; qui se contractent. Lors de l'expiration forcée et de la toux, le muscle grand droit entre majoritairement en jeu.

Dans la maladie de Parkinson, il existe des dysfonctionnements musculaires liés à la rigidité et à l'akinésie, qui perturbent toute la mécanique respiratoire. Ils se traduisent par une altération des muscles de la cage thoracique et une diminution des mouvements du diaphragme. La respiration tend à devenir sterno-costale, superficielle, irrégulière avec des pauses et des phases d'inspirations profondes. Cette hypoventilation est aussi en lien avec une mauvaise posture, typique de l'attitude fléchie des personnes parkinsoniennes. La plainte exprimée par le patient se traduit par une gêne respiratoire à l'effort et une sensation d'oppression thoracique.

Au premier stade de la maladie, seule la composante motrice est touchée. Alors qu'à un stade plus évolué, s'ajoute une atteinte de la composante sensorielle de la toux, amenant le patient à faire des fausses routes silencieuses et pouvant le conduire à développer une pneumonie d'aspiration ou bronchite chronique. Ces fausses routes d'inhalation, si elles ne sont pas dépistées ou prises en charge rapidement, constituent une cause importante de décès. [168, 172]

(4) Les troubles articulatoires

Les troubles arthriques sont la conséquence de l'akinésie et de la rigidité. Ils sont moins fréquents que la dysphonie ou la dysprosodie. Ils apparaissent d'ailleurs secondairement aux troubles phonatoires. On constate une hypertonie des masséters (muscles éleveurs de la mâchoire inférieure). Cette hypertonie a pour conséquence un blocage des mouvements mandibulaires entraînant un démarrage difficile (akinésie), une diminution de l'amplitude des mouvements de la mandibule (hypokinésie) ainsi qu'une diminution de la vitesse (bradykinésie). Cette hypokinésie et bradykinésie se retrouve aussi au niveau du mouvement des lèvres. En outre, la présence d'une rigidité musculaire altère le mouvement rapide et précis des lèvres.

Chez ces patients, nous pouvons également noter une position anormale de la langue qui peut donc générer des erreurs au niveau du lieu d'articulation, ainsi qu'une réduction de la vitesse linguale.

D'un point de vue acoustique, les troubles articulatoires atteignent préférentiellement les consonnes. Les consonnes occlusives ont tendance à être perçues comme des fricatives car un défaut de fermeture du conduit vocal amène une déperdition d'air avec la présence d'un bruit de friction. Il a été déduit que l'insuffisance de mobilité de la mandibule et des lèvres contribue à l'aspect figé du faciès des patients. [168, 169, 170, 173]

(5) La dysarthrie parkinsonienne

La dysarthrie se définit comme un trouble de l'exécution motrice de la parole consécutif à une atteinte du système nerveux central et/ou périphérique. Il existe plusieurs types de dysarthries dont : la dysarthrie flasque, la dysarthrie spastique, la dysarthrie ataxique ou cérébelleuse, **la dysarthrie hypokinétique**, la dysarthrie hyperkinétique et la dysarthrie mixte. Dans la maladie de Parkinson, il s'agit de la dysarthrie hypokinétique.

La dysarthrie parkinsonienne touche tous les éléments de la chaîne parlée (respiration, phonation, articulation) et leur coordination et regroupe dix dimensions :

- la monotonie de hauteur,
- la réduction de l'accentuation,
- la monotonie de l'intensité,
- l'imprécision des consonnes,
- les pauses inappropriées,
- les accélérations brèves,
- la raucité de la voix,
- la voix «soufflée»,
- la hauteur moyenne
- le débit variable

Ainsi, l'altération relatée par ces dimensions accentuera le manque d'intelligibilité du patient parkinsonien. [170, 174, 175]

c) La dysphagie parkinsonienne

Il existe trois temps dans la déglutition : le temps **oral**, le temps **pharyngé** et le temps **œsophagien**. [166]

La dysphagie est fréquente chez les patients parkinsoniens. Les pourcentages oscillent entre 50 et 95% des cas. Bien qu'il puisse exister des signes avant-coureurs de troubles de la déglutition, ces derniers sont souvent dépistés tardivement. Les plaintes fréquemment recensées concernent la déglutition des solides, alors que des examens approfondis montrent davantage d'anomalies et de fausses routes avec les liquides.

Dans la majorité des cas, la difficulté se situe dans les phases orale et/ou pharyngée de la déglutition.

Lors de la phase orale, le contrôle, la mobilité et la force linguale sont réduits et le temps buccal allongé avec des mouvements antéro-postérieurs de la langue (**le phénomène de rooling**). Les mouvements de la mâchoire sont diminués. Tout ceci entraîne une perturbation de la formation correcte du bolus alimentaire et un retard ou absence de déclenchement du réflexe de déglutition. Ce retard ou manque de réflexe peut avoir pour conséquence, un étouffement ou une inhalation d'aliments liquides ou solides.

Lors de la phase pharyngée, le péristaltisme pharyngé est diminué avec un défaut de mise en place des trois verrous du sphincter laryngé (une faible élévation du larynx, une bascule insuffisante de l'épiglotte et un défaut de fermeture des cordes vocales) augmentant davantage le risque d'aspiration dans la trachée. La constriction moindre du pharynx favorise la présence de stases dans les vallécules laryngées et les sinus piriformes. Ainsi, les aliments coincés peuvent, même longtemps après, déborder dans la trachée et donner lieu à de nouvelles fausses routes.

Le dysfonctionnement de la phase orale et pharyngée entraîne une baisse de la quantité de nourriture ingérée (perte de poids), une perte du plaisir à s'alimenter, des difficultés à prendre les médicaments, ainsi qu'un allongement du temps de repas.

Dans certains cas, la **phase œsophagienne** peut néanmoins être atteinte avec des spasmes, une absence de péristaltisme et une relaxation incomplète des sphincters œsophagiens supérieur et inférieur. Ces difficultés engendrent des troubles digestifs. [173, 176, 177]

C. Les symptômes non moteurs

Outre les signes moteurs, plusieurs changements sont observés avec la maladie de Parkinson. Ces changements, connus sous le nom de symptômes non-moteurs, peuvent aussi avoir un impact sur votre qualité de vie.

Les systèmes cholinergiques seraient impliqués dans l'apparition des troubles cognitifs présents chez certains patients, mais aussi dans celle des troubles de l'équilibre ou du sommeil. Et les systèmes sérotoninergiques, auraient un rôle dans les troubles thymiques.

Beaucoup de malades ne se rendent pas compte que ces autres symptômes sont liés à la maladie de Parkinson et par conséquent, ils ne sont pas traités. Parmi ces symptômes, il y en a qui apparaissent précocement dans la maladie (les signes avant-coureurs) et aussi d'autres qui sont dus aux divers traitements. [149, 178]

- **Écoulement de salive**

L'écoulement de salive se produit lorsqu'il y a une accumulation de salive qui entraîne une fuite de salive le long de la bouche. La moitié des gens atteints de la maladie de Parkinson présente ce symptôme d'écoulement de salive. La production de la salive par l'organisme du malade n'est pas augmentée. En réalité, l'écoulement de salive est dû à une diminution des mouvements de la bouche et du réflexe de déglutition, ce qui entraîne une augmentation de la quantité de salive dans la bouche.

- **Nausée et vomissement**

Le traitement médicamenteux est la principale cause des nausées. Tous les médicaments pour traiter la maladie de Parkinson peuvent causer des nausées et vomissements. Les

personnes atteintes de la maladie de Parkinson peuvent aussi éprouver une sensation de ballonnement, normalement due à un ralentissement des mouvements gastriques.

- **Incontinence fécale**

La perte de selle n'est pas nécessairement causée par la diarrhée (peu commune dans la maladie de Parkinson), mais est plutôt reliée à l'incapacité de contrôler les mouvements intestinaux et à de l'incontinence ou des « accidents ». Ce symptôme est assez rare dans la maladie de Parkinson. Les personnes souffrant d'incontinence fécale souffrent habituellement aussi d'incontinence urinaire.

- **Troubles de la vessie**

Un tiers des personnes atteintes de la maladie de Parkinson ont des problèmes reliés à la vessie. Le problème le plus répandu est la vessie trop active (hyperactive), relié à la dégénérescence de plusieurs régions et se manifestant par une incontinence urinaire. Il se peut aussi que la vessie soit hypoactive avec une difficulté à commencer à uriner et des fuites urinaires.

- **Douleur inexplicée**

La maladie de Parkinson peut occasionner une douleur inexplicée. Cette douleur peut laisser une sensation de rigidité, des crampes, des spasmes ou tout autre type de douleur musculaire. Les jambes sont souvent la région où la douleur est ressentie. Habituellement, la douleur ressentie semble venir de l'intérieur des muscles. Un tiers des gens atteints de la maladie de Parkinson ressentent une telle douleur. La cause de cette douleur dans la maladie de Parkinson n'est pas claire. Elle est souvent associée à la rigidité des muscles qui est le signe moteur primaire de la maladie

- **Démence et problème cognitif**

Les problèmes cognitifs modérés sont les problèmes de mémoire ou de concentration et la démence signifie une perte sévère de mémoire et de concentration qui interfère avec les activités quotidiennes. Dans la plupart des cas, la démence arrive tard dans la progression

de la maladie de Parkinson. Ce phénomène se produit normalement chez les gens atteints de la maladie de Parkinson qui sont plus âgés (très rare avant 65 ans).

- **Hallucinations**

Les hallucinations apparaissent habituellement plusieurs années après l'apparition de la maladie de Parkinson. Elles touchent un tiers des gens atteints de la maladie de Parkinson et sont en partie causées par la prise de médicaments et reliées à l'atteinte des régions du cerveau impliquées dans l'interprétation des images visuelles.

- **Hypotension orthostatique**

L'hypotension orthostatique (HO) est une diminution de la pression sanguine au passage à la position debout. Certains médicaments pour traiter la maladie de Parkinson peuvent empirer l'HO sans en être la cause. La HO fait partie prenante de la progression de la maladie elle-même; les régions responsables de l'augmentation de la pression sanguine au levée se dégénèrent dans la maladie de Parkinson.

- **Hypersomnolence diurne**

L'hypersomnolence diurne est un des effets secondaires des médicaments pour traiter la maladie de Parkinson. Un mauvais sommeil durant la nuit peut aussi rendre somnolent durant la journée. De plus, la maladie de Parkinson entraîne des changements dans certaines régions du le cerveau qui contrôlent le sommeil.

- **Insomnie**

L'insomnie est principalement causée par les changements produits dans le cerveau par la maladie de Parkinson. Occasionnellement, les médicaments utilisés pour traiter la maladie peuvent causer de l'insomnie. La sélégiline (Eldepryl) est le médicament qui a le plus de risques de causer de l'insomnie, particulièrement s'il est pris en soirée.

- **Syndrome des jambes sans repos**

Une personne sur dix avec la maladie de Parkinson aura le syndrome des jambes sans repos, ce qui est comparable à la population en général. Mais ce syndrome pourrait être plus sévère chez les gens atteints de la maladie de Parkinson, peut-être à cause des médicaments pris pour traiter cette maladie.

- **Transpiration excessive**

Le tiers des gens atteints de la maladie de Parkinson souffre de transpiration excessive. La raison exacte de ce symptôme est inconnue. La transpiration excessive se produit souvent lorsque les muscles sont raides ou pendant la dyskinésie.

- **Enflure des jambes**

L'enflure des jambes est un symptôme commun chez les gens atteints de la maladie de Parkinson. L'enflure des jambes peut être un effet secondaire des traitements de la maladie de Parkinson comme la lévodopa, le pramipexole et le ropinirole. Néanmoins la maladie de Parkinson peut entraîner l'enflure de vos jambes sans la prise de médicaments.

- **Vision double**

La vision double est un symptôme peu fréquent de la maladie de Parkinson. Chez les personnes atteintes, la vision double se produit la plupart du temps en lisant. Elle est habituellement due aux muscles des yeux qui sont moins actifs.

En conclusion de cette description des signes cliniques, il est important de souligner que ces signes ne sont pas tous présents au même moment et chez tous les patients, ils varient à des degrés divers, et apparaissent à des moments différents. [178]

VII. L'évolution

A. Les formes cliniques

Les formes varient selon les patients et sont de plusieurs types suivant la prédominance d'un des signes de la triade.

En effet, lorsque le tremblement prédomine au cours de l'évolution, on parle de **formes trémulantes**. Ces formes garantissent un meilleur pronostic vital et moteur: les dyskinésies et les troubles cognitifs étant plus tardifs.

Il existe également des **formes akinéto-hypertoniques**, dans lesquelles l'akinésie et la rigidité prédominent. Ces formes sont d'évolution plus rapide, entraînant une perte d'autonomie et des signes axiaux précoces (dysarthrie, troubles de la marche et de la posture).

Enfin, les dernières formes cliniques sont qualifiées de **formes mixtes**, car elles combinent les formes akinéto-rigides et trémulantes. Elles sont souvent unilatérales au début de la maladie, et sont les formes les plus fréquentes. [148, 165]

B. Les phases d'évolution

Nous distinguons quatre phases d'évolution :

- **La phase diagnostique**

C'est une phase qui a un impact davantage psychologique, le patient va devoir accepter sa maladie et toutes les conséquences qui s'en suivent. Classiquement, le patient passera par différentes étapes avant d'arriver à l'acceptation.

- **La « lune de miel »**

Elle dure deux à six ans. Elle correspond à la période où le traitement des signes moteurs est efficace, et où le patient mène une vie presque normale.

- **Les complications motrices**

Cette phase se manifeste par des fluctuations au niveau de l'efficacité du traitement (réponse au traitement de plus en plus faible) et par l'apparition de dyskinésies. Le patient subit, lors de cette phase, un handicap quotidien important.

- **La phase de déclin**

Celle-ci voit s'aggraver les troubles dysarthriques, dysphagiques et les troubles de la marche et de la posture. En outre, c'est lors de cette phase que les troubles cognitifs et démentiels peuvent apparaître.

VIII. Le diagnostic

Le parkinsonisme comporte différentes causes dont la maladie de Parkinson référée comme étant le **parkinsonisme primaire**. Parmi ces autres causes, on note :

- le **parkinsonisme secondaire** : incluant le parkinsonisme induit par les drogues ainsi que le parkinsonisme post-encéphalitique.
- La paralysie supranucléaire progressive, la démence à corps de Lewy, la dégénérescence corticobasale et l'atrophie multisystémique constituent les **syndromes parkinsoniens « plus »**.

Le parkinsonisme représente l'une des caractéristiques de désordres hérédo-dégénératifs tels que la maladie d'Huntington juvénile et la maladie de Wilson. Afin de distinguer la maladie de Parkinson des autres catégories de parkinsonisme, différents critères de diagnostic existent. [151]

Le diagnostic de la maladie de Parkinson est avant tout clinique ; il repose sur une anamnèse et un examen clinique ciblés sur les troubles moteurs que présentent ces patients. Le clinicien examine tout d'abord la présence de symptômes cardinaux de la maladie : le tremblement de repos, la rigidité, la bradykinésie, ainsi que l'instabilité posturale.

Le tremblement de repos, souvent discret, intermittent, lors de postures de relâchement musculaire, et il disparaît lors du mouvement. Souvent distal et unilatéral au début. Il n'est pas systématique : absent chez 30 % des patients au début de la maladie.

L'akinésie (difficulté d'initiation du mouvement), bradykinésie (lenteur du mouvement) et hypokinésie (pauvreté du mouvement) s'évaluent en observant les mouvements spontanés et automatiques du patient:

- la marche est ralentie, elle s'effectue à petits pas, les bras ne se balancent plus naturellement ;
- la personne éprouve des difficultés à se lever d'une chaise ;
- les mouvements semi-automatiques (gestes acquis, réalisés sans réfléchir) sont laborieux.
- Micrographie, paucimimie, voix monocorde et affaiblie...

L'hypertonie, rigidité plastique en « tuyau de plomb », souvent discrète au début, asymétrique, prédomine aux extrémités et sensibilisée par la manœuvre de Froment (roue dentée).

Ces trois symptômes moteurs ne sont pas forcément tous présents en même temps. Chacun peut être d'intensité variable, l'un ou l'autre pouvant prédominer. Les instabilités posturales ainsi que les déformations structurales font partie des signes cardinaux de la maladie mais ne surviennent que plus tard dans l'évolution de la maladie et restent peu spécifiques, rendant ces signes peu utiles dans le diagnostic précoce de la maladie de Parkinson.

En dehors de ces trois principaux signes moteurs, il faut rechercher des **signes non moteurs** :

- baisse des capacités de mémoire, ralentissement de la pensée,
- apathie, syndrome dépressif,
- douleurs pseudo-rhumatismales (épaules, rachis), radiculalgies, paresthésies
- Troubles digestifs...

Le clinicien se doit également de penser à certains signes apparaissant très précocement dans le cours de la maladie, particulièrement la diminution de l'odorat.

Dans la maladie de Parkinson ; le reste de l'examen neurologique est généralement normal, sans déficit sensitivomoteur, sans syndrome cérébelleux, et sans troubles de la motricité oculaire.

Une fois cette première étape franchie, le clinicien doit alors conforter son diagnostic par certains examens complémentaires, afin d'exclure d'autres causes de parkinsonisme qu'il aura, au préalable, envisagées dans son diagnostic différentiel.

Diagnostics différentiels à rechercher :

1. *Éliminer une autre cause de tremblement :*

- Tremblement essentiel : bilatéral et symétrique, disparaît au repos. Il peut être postural (bras tendus à l'horizontal) mais apparaît sans délai.

2. *Un syndrome parkinsonien iatrogène :*

En particulier lié aux neuroleptiques mais il peut aussi être dû à d'autres médicaments: métoclopramide, métopimazine, sédatifs comme alimémazine, véralipride, la trimétazidine, la flunarizine, le tiapride, plus rarement l'acide valproïque, IRS, lithium, inhibiteurs cholinestérase, inhibiteurs calciques...

Caractéristiques cliniques :

- Syndrome parkinsonien plutôt symétrique.
- Coexistence fréquente de dyskinésies (mouvements anormaux), surtout lors de prises prolongées, parfois à l'arrêt du neuroleptique.

Conduite à tenir :

- Si possible, arrêt du neuroleptique (amélioration souvent retardée). Si impossible, substitution par neuroleptique atypique (clozapine).

3. *Évoquer un syndrome parkinsonien secondaire :*

L'interrogatoire, l'examen neurologique recherche des signes atypiques, « drapeaux rouges ». Leur présence à un stade précoce doit faire évoquer un syndrome parkinsonien secondaire nécessitant un bilan étiologique spécialisé.

Drapeaux rouges :

- patient jeune < 45 ans

- absence de réponse prolongée au traitement dopaminergique,
- progression rapide avec chutes précoces,
- signes précoces d'atteinte cognitive, hallucinations
- syndrome pseudobulbaire (dysarthrie et dysphagie)
- dysautonomie importante (incontinence urinaire, hypotension orthostatique symptomatique),
- syndrome cérébelleux,
- syndrome pyramidal, troubles oculomoteurs et signes corticaux (apraxie, aphasie, troubles sensitifs).

Les principaux diagnostics :

- Syndrome parkinsonien dégénératif (Atrophie multisystématisée, démence à corps de Lewy, Alzheimer, Paralyse supranucléaire progressive, dégénérescence corticobasale)
- Hydrocéphalie à pression normale
- Syndrome parkinsonien vasculaire (infarctus cérébraux multiples).
- Maladie de Wilson (syndrome parkinsonien autosomique avec atteinte hépatique et oculaire) chez un patient jeune (< 45 ans) : baisse cuivre sérique et céruloplasmine, cuprurie augmentée)
- ...

Le diagnostic de maladie de Parkinson est clinique et ne justifie aucun examen complémentaire en cas de présentation typique. La réalisation d'examens complémentaires (IRM cérébrale) n'est indiquée qu'en cas d'atypie clinique («drapeaux rouges») et la survenue de troubles cognitifs faisant douter du diagnostic de maladie de Parkinson.

Les examens complémentaires qui peuvent être entrepris dans le but de conforter le diagnostic de maladie de Parkinson sont donc:

- Une olfactométrie est effectuée afin de déceler une éventuelle baisse de l'olfaction. Ce signe s'est révélé fréquent dans les stades précoces de la maladie et sa

présence, associée à une présentation typique de la maladie de Parkinson, s'avère relativement indicatrice de cette dernière.

➤ Le parkinsonisme médicamenteux doit être suggéré par le clinicien. De nombreux médicaments sont en cause, le plus souvent des neuroleptiques, mais également des anti-émétiques (métoclopramide), anti-épileptiques (valproate), antagonistes de canaux calciques (flunarizine), l'amiodarone, le lithium, etc... Dans ces cas de parkinsonisme induits par des médicaments, l'arrêt de la substance en question permet le plus souvent une régression des symptômes dans un délai d'une semaine à un mois. Plus rarement, les symptômes persistent à long-terme malgré l'interruption du traitement en cause.

➤ Une IRM est effectuée, afin d'exclure certaines causes de symptômes parkinsoniens telles qu'une hydrocéphalie, certaines tumeurs, un infarctus lacunaire localisé dans les noyaux gris centraux, etc...

➤ Un Scanner avec marquage radioactif de la dopamine (DAT-Scan) est effectué afin d'offrir un aperçu de la quantité de dopamine présente dans le locus niger et le striatum. Cet examen coûteux mais très performant permet de déceler un déficit en dopamine dans ces régions, caractéristique de la maladie de Parkinson, et ainsi d'apporter une quasi-certitude dans l'établissement du diagnostic.

La présence d'autres signes neurologiques associés aux signes classiques de la maladie de Parkinson ainsi que l'absence de réponse au traitement par la L-DOPA doivent faire évoquer les autres causes de symptômes et dans ces cas, les examens complémentaires spécifiques doivent alors être entrepris. [151, 179, 180]

Diagnostic du syndrome parkinsonien	Critères d'exclusion pour la maladie de Parkinson	Critères de support pour la maladie de Parkinson
<ul style="list-style-type: none"> - Bradykinésie - Au moins l'un des symptômes suivants: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Rigidité musculaire ✓ Tremblement au repos (4-6 Hz) ✓ Instabilité posturale non causée par des déficits visuels, vestibulaires, cérébelleux ou une dysfonction proprioceptive 	<ul style="list-style-type: none"> * Histoire d'AVC répétitifs avec une progression des symptômes en paliers * Traumatismes crâniens répétitifs * Encéphalite ancienne * Crises oculogyres * Traitement aux neuroleptiques au début des symptômes * Plus d'un parent atteint * Rémission soutenue * Manifestations strictement unilatérales après 3 ans * Paralysie du regard supranucléaire * Signes cérébelleux * Manifestations autonomiques sévères précoces * Démence sévère précoce avec atteinte des praxies, de la mémoire et du langage * Signes de Babinski * Détection d'une tumeur cérébrale ou d'hydrocéphalie communicante par tomodensitométrie * Mauvaise réponse à haute dose de L-dopa (en l'absence de malabsorption) * Exposition au MPTP 	<ul style="list-style-type: none"> - Trois critères ou plus sont requis pour un diagnostic définitif de maladie de Parkinson: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Début unilatéral ✓ Présence de tremblement au repos ✓ Symptomatologie progressive ✓ Asymétrie persistante principalement du côté duquel la maladie a débuté ✓ Excellente réponse à la L-dopa ✓ Chorée sévère induite par la L-dopa ✓ Réponse à la L-dopa pour 5 ans ou plus ✓ Durée clinique de 10 ans ou plus ✓ Hyposmie ✓ Hallucination visuelle

Tableau VI : Critères cliniques utilisés par la banque de cerveaux « Queen Square » pour diagnostiquer la maladie de Parkinson [151]

IX. Les traitements de la maladie de Parkinson

A. Traitement pharmacologique

De nombreux médicaments sont aujourd'hui disponibles pour le traitement de la maladie de Parkinson. Il est toutefois important de préciser que ces traitements ne sont que symptomatiques et qu'il n'existe, à l'heure actuelle, aucune thérapeutique capable de ralentir l'évolution de la maladie ou d'empêcher la dégénérescence chronique des neurones dopaminergiques du locus niger.

Dans cette maladie, la diminution du taux de dopamine est accompagnée par une augmentation du taux d'acétylcholine. Le but premier des traitements pharmacologiques est de compenser le déficit en dopamine et le déséquilibre dopamine/acétylcholine dans le striatum. Ils sont de quatre type de médicaments sur le marché : la L-DOPA, les agonistes dopaminergiques, les médicaments réduisant le turn-over de la dopamine (les inhibiteurs des enzymes du catabolisme), et les anticholinergiques. Il existe également d'autres médicaments, moins utilisés comme l'**amantadine** agent antiviral avec une action antiparkinsonien. [164, 165]

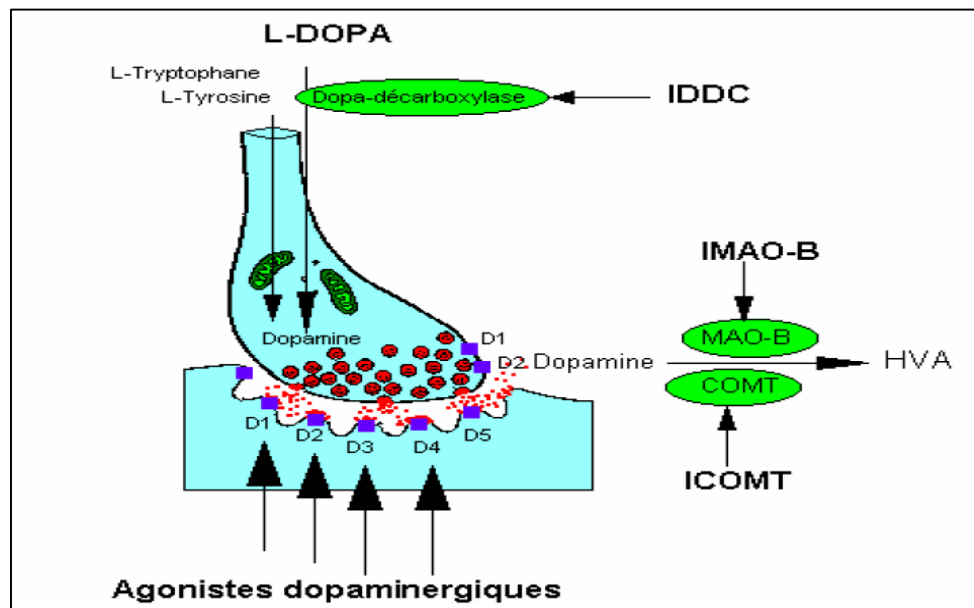


Figure 47: Sites d'action des médicaments antiparkinsoniens dopaminergiques [181]

1. Anticholinergiques

Les principaux anticholinergiques utilisés agissent par antagonisme muscarinique. Au niveau central, l'antagonisme des récepteurs striataux explique l'efficacité antiparkinsonienne, en s'opposant à l'hyperactivité cholinergique relative dans le striatum en réponse à la dénervation dopaminergique. Les anticholinergiques exercent aussi une action sur les récepteurs hippocampiques, à l'origine de troubles de la mémoire et de syndromes confusionnels. Ils sont particulièrement efficaces sur le tremblement et la rigidité, mais n'améliorent que peu ou pas du tout l'akinésie.

Le principal utilisé est le **trihexyphenidyle**. Il est utilisé aussi comme correcteur du syndrome parkinsonien induit par les neuroleptiques. Ses effets indésirables sont surtout liés à son effet anticholinergique : **sécheresse de la bouche, constipation, tachycardie, mydriase avec cycloplégie (paralysie de l'accommodation), troubles amnésiques, confusion...**D'autres médicaments ont aussi des propriétés anticholinergiques: antidépresseurs tricycliques, antihistaminiques H₁, anti vertigineux, antinaupathiques, antispasmodiques digestifs, urinaires, bronchiques ou anti diarrhéiques. [182, 183]

2. Antiparkinsoniens dopaminergiques

Ils sont à diviser en trois groupes.

a) Les agonistes dopaminergiques

Ce sont des analogues synthétiques de la dopamine qui se fixent directement sur les récepteurs dopaminergiques sans avoir besoin d'être transformés pour agir. Ils sont moins efficaces, ont une action plus lente et ont davantage d'effets secondaires (troubles du comportement) que la L-DOPA. Cependant, leur utilisation en début de maladie retarde l'apparition des dyskinésies. Ce qui explique qu'ils soient utilisés afin de retarder la mise en place d'un traitement à la L-DOPA et prévenir ainsi l'apparition ses effets secondaires. A titre d'exemple on a : la **bromocriptine**, le **ropinirole**, le **pergolide**, le **lisuride**, la **cabergoline**, l'**apomorphine**, le **pramipexole**... [164, 184]

b) Les inhibiteurs des enzymes du catabolisme

Les IMAO-B sont des inhibiteurs spécifiques et irréversibles de la Monoamine Oxydase B. Ils renforcent l'action de L-DOPA en augmentant et surtout en prolongeant les taux utiles en dopamine. Exemple : la **sélégiline**

La COMT est une enzyme du métabolisme à la fois de la dopamine et de la L-DOPA. Deux ICOMT sont connus : **Entacapone** et **Tolcapone**. Ces médicaments augmentent la demi-vie d'élimination plasmatique de la L-DOPA. Leurs effets sur la pharmacocinétique de la L-DOPA augmentent la durée de la médication de 30 à 60%, mais cela s'accompagne parfois d'une durée accrue des effets secondaires de la L-DOPA. [182, 183]

c) Les IDDC

Ce sont des inhibiteurs de la dopa-décarboxylase qui ne franchissent la barrière hémato-encéphalique. On peut citer la **carbidopa** et le **bensézaride**. Ils inhibent la conversion de la L-DOPA en dopamine au niveau du système nerveux périphérique afin de permettre à la L-DOPA d'atteindre et de franchir la barrière hémato-encéphalique afin d'agir au sein du système nerveux central. L'administration simultanée de L-DOPA et d'IDDC réduit de 4 à 5 fois la dose de L-DOPA nécessaire pour exercer un effet antiparkinsonien et limite la sévérité des effets indésirables périphériques. Ils sont donc en association avec la L-DOPA. [185]

3. La L- 3,4-Dihydroxyphénylalanine

a) Présentation

La levodopa ou L-DOPA est un précurseur de la dopamine qui, en se transformant, contribue à la production de celle-ci. La L-DOPA est toujours associée à un inhibiteur de la dopa-décarboxylase. La dopamine ne traversant pas la barrière hémato-encéphalique, c'est donc son précurseur lévogyre, la L-DOPA qui est administré. La L-DOPA demeure toujours le premier traitement en importance pour soulager symptomatiquement la maladie de Parkinson. La dopamine exogène libérée grâce à la L-DOPA exerce des effets centraux et périphériques. [181, 185]

Dans la maladie de Parkinson, la dopamine d'origine exogène compense le déficit dopaminergique au niveau du striatum et améliore les symptômes moteurs (tremblement, rigidité, akinésie). D'autres effets centraux peuvent limiter cette action thérapeutique : la stimulation des récepteurs dopaminergiques méso-cortico-limbiques peut être responsable d'hallucinations et de confusion mentale, la stimulation des récepteurs hypothalamiques provoque une baisse des taux de prolactine sans incidence clinique connue. Les effets périphériques sont surtout digestifs et cardiovasculaires. [183, 185]

Le pic plasmatique à jeun est atteint de manière variable suivant les individus, en moyenne une à deux heures. La demi-vie de la L-DOPA est courte, de l'ordre de 1,5 heure. De plus, les taux plasmatiques de L-DOPA ne sont pas le reflet direct de la L-DOPA intracérébrale, en raison de l'obstacle de la barrière hémato-encéphalique. Comme pour la barrière digestive, le passage de la barrière hémato-encéphalique s'effectue par un mécanisme de transport commun et compétitif avec d'autres acides aminés. La L-DOPA est captée par les terminaisons nerveuses nigrostriées survivantes et possiblement aussi par la glie et les neurones sérotoninergiques. Elle est décarboxylée en dopamine par la dopa-décarboxylase. La dopamine libérée se fixe alors sur les récepteurs dopaminergiques. La dopamine est recaptée dans les terminaisons nigrostriatales présynaptiques à l'aide d'une protéine transporteuse spécifique de la dopamine. Elle est métabolisée par auto-oxydation par la monoamine oxydase B (MAO-B), enzyme intra cytoplasmique surtout localisée dans la glie et par la catéchol-O-méthyl transférase (COMT). [186, 187]

Le traitement médicamenteux doit être individualisé, adapté à l'âge du patient et à l'évolution de la maladie. La L-DOPA reste le traitement le plus efficace sur les signes moteurs, mais il n'en demeure pas moins qu'elle cause des effets secondaires importants tant au niveau périphérique que central. Il est donc préférable, en début de maladie, de prescrire une faible dose de L-DOPA associée à un agoniste dopaminergique ou d'utiliser des agonistes dopaminergiques en monothérapie. [164, 184]

b) Les effets secondaires de la dopathérapie

Avec le temps, les effets bénéfiques des traitements s'amenuisent, ce qui amène une augmentation des doses et un rapprochement de la prise de celles-ci au cours de la journée. Ainsi, un rendez-vous régulier chez le neurologue est recommandé et permet d'ajuster au mieux le traitement aux troubles spécifiques du patient. [164]

Initialement, chaque prise de L-DOPA fait disparaître durant 4 à 6 heures les signes parkinsoniens à moyen terme et 3 à 4 prises quotidiennes régulièrement espacées permettent d'obtenir un contrôle satisfaisant du syndrome parkinsonien. Avec l'évolution de la maladie, la disparition de la réponse à long terme et le raccourcissement progressif de la réponse à moyen terme (3 voire 2 heures ou moins) expliquent que le malade perçoive d'abord le besoin de la L-Dopa entre les prises.

(1) Akinésie du matin

La constatation au réveil d'une akinésie ou d'un tremblement, traduit l'incapacité des neurones dopaminergiques à amortir le sevrage médicamenteux relatif de la nuit. Il s'agit là du premier type de fluctuations à apparaître. Elle peut rester isolée longtemps, précédant de quelques mois voire 1 à 2 ans les autres fluctuations motrices. [189]

(2) Akinésie de fin de dose (« wearing-off »)

Avec le temps, on constate la réapparition du syndrome extrapyramidal avant la prise suivante dont l'effet peut être de surcroît retardé. Cette akinésie de fin de dose est plus évidente en cas d'émotion, de stress, d'effort physique, et s'émousse au contraire au repos ou au calme. Chez certains, l'aggravation est telle qu'ils sont davantage handicapés qu'ils ne l'étaient avant la prise de L-DOPA : cette détérioration de fin de dose est transitoire, durant 30 minutes environ.

À l'instauration de la dopathérapie, les neurones dopaminergiques survivants sont capables d'assurer une stimulation efficace et stable indépendamment des variations de la concentration intracérébrale de L-DOPA. L'akinésie de fin de dose témoigne de la perte de cette propriété d'amortissement. La réponse clinique devient dépendante de la

pharmacocinétique du produit, sans doute en raison d'une diminution des capacités de stockage de la dopamine. [184, 189]

(3) Le phénomène « on/off »

Ce sont des fluctuations imprévisibles, c'est-à-dire qu'elles sont indépendantes du moment de la journée et de la prise de L-DOPA. Elles sont, en outre, difficiles à contrôler et apparaissent après plusieurs années de traitement à base de L-DOPA (l'effet de celui-ci étant diminué). Il s'agit de fluctuations brusques, où le patient passe d'un état de bien-être moteur (période « on ») à un état symptomatologique (période « off ») : en quelques minutes le patient peut se retrouver soudainement bloqué. Ce phénomène « on/off » est de plus en plus présent au fur et à mesure que la maladie s'aggrave. [148, 184]

(4) Dyskinésies de milieu de dose ou de pic de dose

Elles apparaissent lorsque le taux de L-DOPA est à son maximum. Les dyskinésies bucco-linguo-faciales seraient les premières à apparaître en particulier chez les sujets âgés. Il s'agit ensuite de mouvements choréïques des membres (prédominant à l'extrémité) ou du tronc, des manifestations dystoniques (visage grimaçant, blépharospasme, torticolis) ou, plus rarement, de mouvements involontaires évoquant les tics mais non contrôlables par la volonté. Initialement, elles ne surviennent que dans des circonstances émotionnelles particulières ou lors de l'exécution de gestes fins et elles sont discrètes. À ce moment, le patient les tolère tout de même bien car pour lui cela signifie un bénéfice thérapeutique. Par la suite, ce type de dyskinésies devient plus intense, participant plus au handicap d'autant plus qu'elles surviennent plus fréquemment, conditionnant la qualité de la période de déblocage. L'apparition de ce type de dyskinésies est souvent au même moment que celui de l'effet «on-off». [148, 184]

(5) Dyskinésies biphasiques

Il s'agit de mouvements involontaires tantôt annonçant l'efficacité thérapeutique (début de dose) tantôt lui succédant et annonçant le retour à l'état parkinsonien (fin de dose). En début de dose, les dyskinésies sont intenses, amples, évoquant le **ballisme** dont elles se distinguent par une moindre brusquerie, l'absence de rotation, le caractère stéréotypé,

répétitif et rythmique. Le patient parkinsonien tolère d'autant plus la gêne occasionnée par ces dyskinésies qu'elles sont brèves et annoncent le bénéfice thérapeutique. Il en est tout autrement des dyskinésies de fin de dose: posture dystonique d'un ou de plusieurs membres, elles sont douloureuses, handicapantes, d'autant moins bien tolérées qu'elles annoncent le retour à l'état parkinsonien. [184]

(6) Dystonie en période « off »

Elle est présente chez un tiers des malades au-delà de 5 ans de dopathérapie. Le type le plus précoce et le plus fréquent est la dystonie du petit matin: au lit dès le réveil ou dès le lever, voire aux premiers pas, le pied adopte une posture dystonique en varus équin avec enroulement, extension spontanée du gros orteil (« **pseudo-Babinski** »), avec flexion des autres orteils et tension douloureuse du mollet. [148, 189]

Il existe plusieurs autres effets indésirables plus tardifs liés à la prise de L-Dopa, dont certains troubles psychiques (syndrome confusionnel, hallucinations).

c) Perfusion duodénale de L-DOPA

Il existe également une possibilité d'administration de la L-DOPA par un système de pompe, installée par gastrotomie, et relâchant directement la substance dans le duodénum. Un avantage certain de cette voie d'administration est la diminution des contraintes médicamenteuses quotidiennes pour le patient parkinsonien. Rappelons que ces patients sont pour la plupart âgés, souvent pluri-morbides, et astreints à une prise journalière de nombreux médicaments. La maladie de Parkinson provoque également un ralentissement de la vidange gastrique, ce qui peut influencer la biodisponibilité de la L-DOPA lorsque celle-ci est administrée par voie orale. L'administration par voie duodénale offre une amélioration considérable de la biodisponibilité et donc de l'efficacité du médicament. Un autre avantage de cette voie d'administration de la L-Dopa réside dans une plus grande stabilité des concentrations plasmatiques au cours de la journée. Cette stabilité accrue permet d'éviter les fluctuations de l'état clinique du patient, par exemple en fin d'intervalle de dose, et ainsi d'éviter les états « on-off » qui restent un problème important lié aux

traitements pharmacologiques à long-terme. La pompe portable à Duo-Dopa® est réglable pour un débit horaire ainsi que pour des doses supplémentaires (« extra-doses ») ; elle est commercialisée par la société américaine SIMS Deltec : **modèle CADD-Legacy DuoDopa®**. [190]

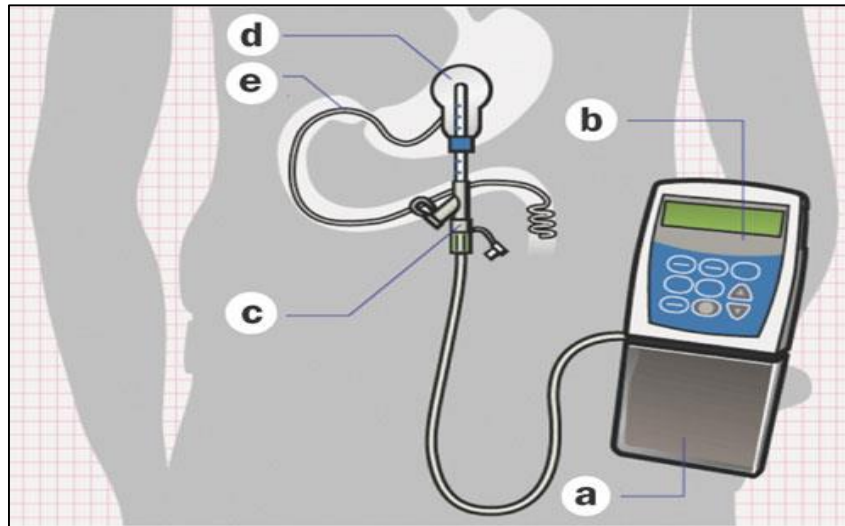


Figure 48 : Système de perfusion duodénale de L-DOPA [190]

- a) Cassete de DuoDopa (contenant les principes actifs)
- b) Pompe
- c) Raccord
- d) Orifice gastrique
- e) Sonde intestinale

Il existe aussi un système de pompe pour l'administration de l'apomorphine. Malgré leur nombre et leur efficacité, les différents traitements médicamenteux présentent des effets indésirables non négligeables qui amènent la science à se tourner vers d'autres types de traitements.

B. Traitements neurochirurgicaux

Le traitement chirurgical n'est préconisé que pour un nombre restreint de patients et s'effectue selon des critères précis : sévérité de la maladie, absence d'atteintes cognitives, bonne réponse initiale à la L-DOPA, réduction de l'efficacité du traitement médicamenteux, augmentation du handicap (autonomie et qualité de vie). Il nécessite une hospitalisation et

n'est pas sans risques. Deux possibilités s'offrent au patient : soit la destruction de la structure visée ou l'implantation d'une électrode de stimulation. L'implantation d'électrode ou stimulation cérébrale profonde est généralement préférée, car réversible, modulable et moins sujette aux effets secondaires.

La **stimulation cérébrale profonde** est la méthode chirurgicale qui donnerait, de nos jours, les meilleurs résultats. La stimulation peut viser trois structures différentes : le noyau ventral intermédiaire du thalamus, le GPi et le NST. Cependant, la plus courante et la plus utilisée est la stimulation du NST. Le but est d'implanter dans cette zone une sonde munie de microélectrodes, reliées par une extension sous-cutanée à un neuro-stimulateur implanté sous la clavicule. La programmation du neuro-stimulateur se fait grâce à un boîtier qui communique par radiofréquence avec le dispositif installé sous la peau. Ce réglage est donc non-invasif et indolore pour le patient. Ainsi, une stimulation électrique continue permettrait de rétablir l'activité cérébrale perturbée. Celle-ci entraîne une diminution du tremblement, de l'hypertonie, de l'akinésie, des dyskinésies et des troubles de la marche. Ses effets sur la parole sont, quant à eux, variables (intelligibilité peu modifiée voire aggravée, malgré une bonne amélioration de la motricité des organes phonateurs).

Ces thérapies **ne sont pas curatives et n'empêchent pas l'évolution de la maladie**. De plus, outre les nombreux effets secondaires possibles (troubles de la marche, dysarthrie, dystonie, aboulie, etc...), il existe certains risques inhérents à l'intervention chirurgicale, le fait que la batterie des neuro-stimulateurs n'a qu'une durée de vie limitée (3-5 ans), ce qui nécessite de fréquents remplacements, impliquant de nouvelles interventions chirurgicales sur les patients. Enfin, les coûts de ces traitements sont relativement élevés : compter 50'000 à 60'000 CHF (franc suisse) pour la pose du dispositif complet des deux côtés, puis environ 20'000 CHF à chaque remplacement du neuro-stimulateur. [148, 184, 191]

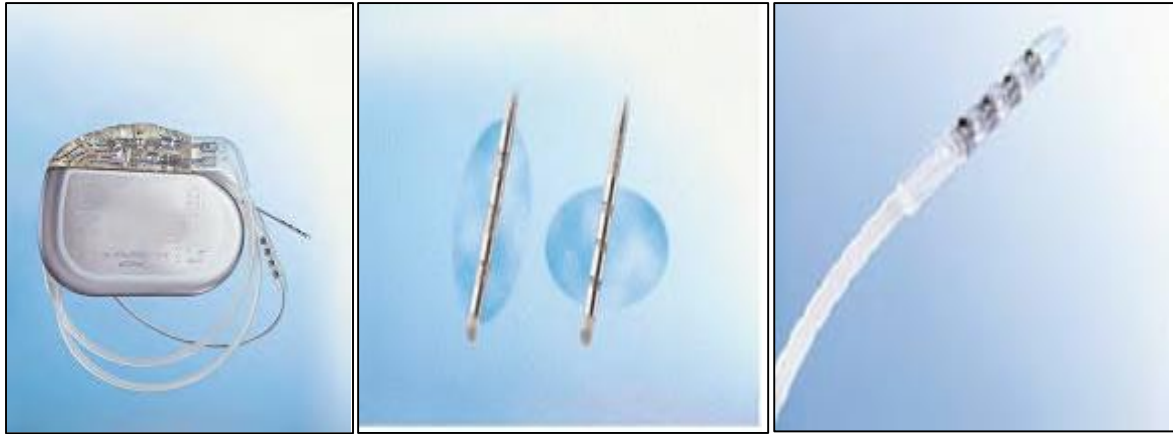


Figure 49 : Dispositifs implantés : neuro-stimulateur, sondes, extension [192]



Figure 50 : Télécommande pour le patient et programmeur permettant le réglage du neuro-stimulateur par le médecin [192]

C. Perspectives thérapeutiques

La neuro-protection (traitement visant la protection des neurones dopaminergiques essayant ainsi de ralentir la dégénérescence), la neurostimulation d'autres zones fonctionnelles du cerveau, la thérapie génique (consiste à intégrer dans le génome, des gènes impliqués dans la fabrication de dopamine) et la **thérapie cellulaire** font actuellement l'objet d'axes de recherches encourageants.



*Quatrieme partie: La
thérapie cellulaire dans
la maladie de Parkinson*

I. Les débuts des recherches

Une alternative aux traitements pharmacologiques ou chirurgicaux est représentée par la transplantation de neurones dopaminergiques dans le striatum.

Dans le monde entier, des équipes de chercheurs s'activent pour trouver un moyen d'utiliser les cellules souches en vue de traiter la maladie de Parkinson. Leurs objectifs communs consistent à déterminer : quelles cellules souches conviendraient le mieux à un tel traitement; quels signaux seraient les plus efficaces pour amener les cellules souches à générer des neurones dopaminergiques; quelles méthodes permettraient une production à grande échelle en laboratoire.

Les premières recherches se sont concentrées sur les autogreffes pouvant ainsi éviter les questions éthiques et immunologiques. Les premières expériences cliniques ont utilisées le tissu médullaire surrénal sécrétant de la dopamine entre autres catécholamines rapidement abandonné car certains patients ont présenté de légères améliorations pendant une courte durée, et les études post-mortem ont montré un faible taux de survie du tissu greffé. Un suivi récent réalisé 16 ans après la transplantation surrénale rachidienne a montré quelques cellules chromaffines survivantes mais une absence complète de cellules positives à la tyrosine hydroxylase au niveau du site de la greffe, apportant quand même la preuve de la survie à long terme des greffes médullaires surrénales.

Ainsi les autogreffes de neurones ganglionnaires sympathiques, recueillies à partir du de la chaîne sympathique, ont aussi été considérés comme une source de cellules pour les patients parkinsoniens. Ces résultats n'étaient pas non plus très concluants.

Puis des autogreffes de cellules du corps carotidien, qui sécrètent normalement de la dopamine et se divisent en réponse à des stimuli hypoxiques ont été entrepris. Leur transplantation a abouti à la récupération fonctionnelle partielle chez le rat et des modèles primates parkinsonien. Cela a conduit à une petite étude clinique où la plupart des patients ont connu une amélioration du moteur considéré comme une réduction de leur UPDRS (Unified Parkinson Disease Rating Scale) "off" –Score. En outre, il a été montré que le

nombre de survivants des neurones dopaminergiques dans les greffes a été très faible. Ainsi, la raison de l'amélioration du moteur reste incertaine.

En 1979, les deux premiers essais de transplantation de cellules fœtales du mésencéphale ventral ont été rapportés. Chez des rats parkinsoniens induits, cette transplantation entraîne une rémission du déficit comportemental. En 1986, les tissus humains du mésencéphale ventral du fœtus ont survécu à une transplantation chez des rats parkinsoniens induits. Les résultats obtenus ont motivés les essais de transplantations de neurones dopaminergiques chez des patients atteints de la maladie de Parkinson. Le problème majeur rencontré est que les résultats varient en fonction du centre de transplantation mais aussi chez des patients traités au niveau du même centre avec la même procédure.

Les recherches actuelles se focalisent sur les **cellules souches** pluripotentes et multipotentes (cellules souches embryonnaires, fœtales ou adultes). Des essais cliniques appliquant cette stratégie dite « substitutive » sont menés depuis maintenant près de 15 ans essentiellement en transplantant des tissus mésencéphaliques issus de plusieurs fœtus humains. Le but serait de pousser ces cellules à se différencier en neurones dopaminergiques nigraux, grâce à certains facteurs de transcription et facteurs de croissance très spécifiques, puis de les transplanter dans des cerveaux humains afin de restaurer la fonction du locus niger.

Toutes les expériences menées visent principalement à déterminer :

- Le type de cellules souches le mieux adapté et fonctionnel ;
- Le protocole d'injection des cellules dans le cerveau à utiliser ;
- La durée de survie des cellules et comment éviter qu'elles subissent le même sort de dégénérescence que les cellules dopaminergiques ;
- Comment prévenir la prolifération anarchique des cellules injectées et le risque de formation d'une tumeur. [193, 194, 195, 204]

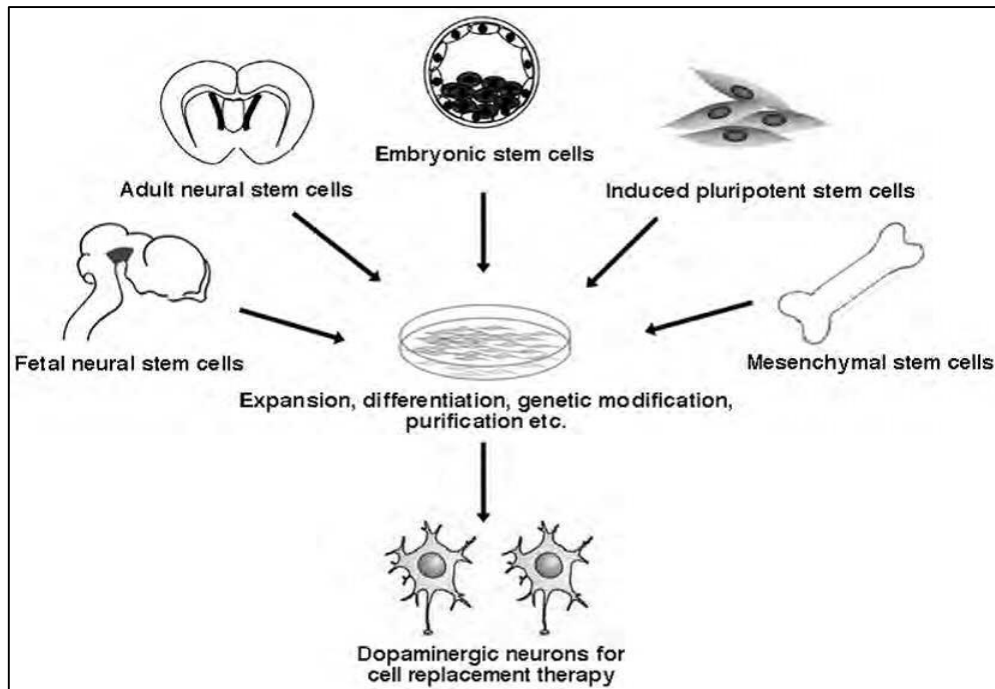


Figure 51 : Sources potentielles de cellules souches destinées au traitement de la maladie de Parkinson [195]

II. Les cellules souches candidates

A. Les cellules souches embryonnaires

Les cellules ES d'origine humaine constituent une source idéale de greffons pour des applications cliniques de thérapie cellulaire, seulement si l'on sait diriger efficacement leur croissance et leur différenciation vers les types cellulaires souhaités. L'un des désavantages est le risque d'incompatibilité du greffon ; en effet, contrairement aux autogreffes de cellules souches somatiques qui ont l'avantage d'être syngéniques, ces cellules peuvent être immunologiquement incompatible et ainsi provoquer des rejets de greffe. [196]

1. Cellules embryonnaires murines

Depuis quelques années, plusieurs équipes ont réussi à différencier des cellules ES murines, génétiquement modifiées ou non, en neurones dopaminergiques. [196]

Les cellules souches embryonnaires murines sont isolées directement en culture à partir de la masse cellulaire interne d'embryons âgés de 3 à 5 jours (blastocystes). Deux méthodes principales sont utilisées pour différencier les cellules ES en cellules neurales. La première fait appel à la formation des corps embryoïdes, qui développent les trois feuilletts germinatifs. Ils représentent un succédané, *in vitro*, des embryons au stade péri-implantatoire: les cellules produisent une population mixte contenant en proportion variable des neurones et des cellules gliales (astrocytes et oligodendrocytes). La seconde méthode consiste à cultiver les cellules ES en milieu sans sérum, conditionné ou non par différents morphogènes : les cellules ES produisent alors des populations quasi homogènes de neurones ou de cellules gliales. L'ensemble des résultats montrent que les cellules ES, *in vitro*, produisent et répondent aux différents signaux responsables de la différenciation neurale de l'embryon. [197]

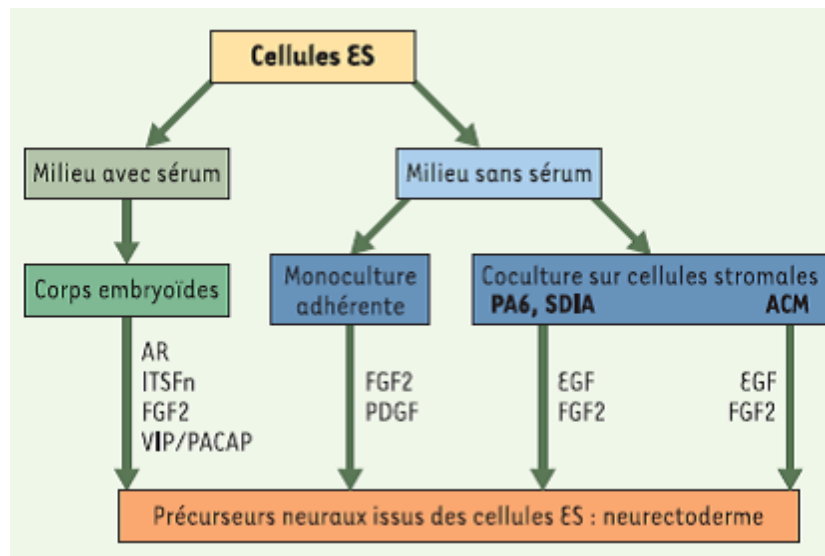


Figure 52 : Différenciation des cellules ES en cellules neurales [197]

Plusieurs stratégies visant à orienter spécifiquement la différenciation des cellules ES en précurseurs neuraux puis en neurones dopaminergiques ont été élaborées. Pour la plupart, ces stratégies passent par une étape transitoire, le **corps embryoïde** (*embryoid body EB*), composé de cellules précurseurs représentatives des trois feuilletts embryonnaires,

ectoderme, mésoderme et endoderme. La différenciation dépendra des facteurs introduits. [198]

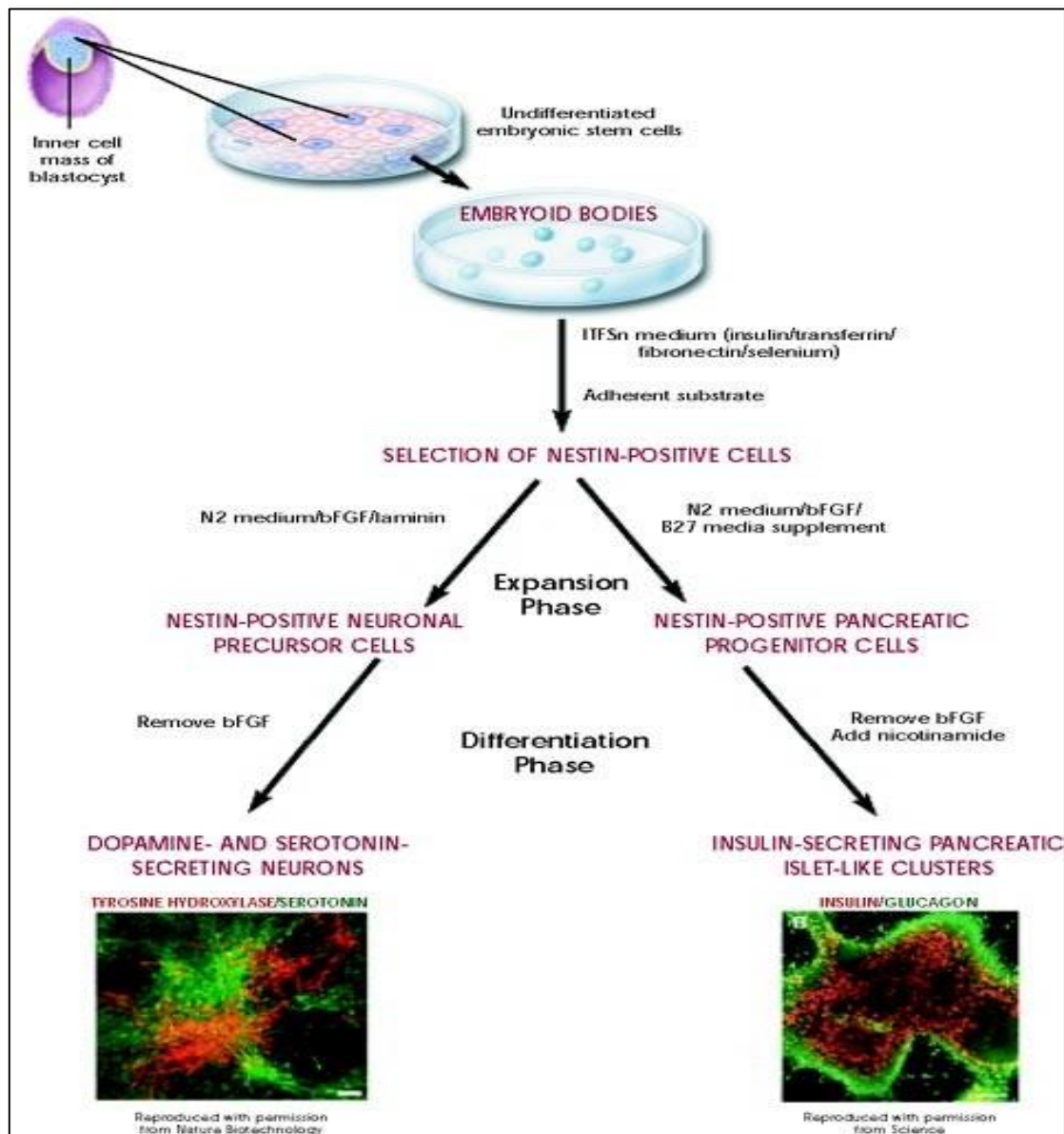


Figure 53: La différenciation des cellules ES en neurones dopaminergiques. [14]

Quatre stratégies de greffe ont été évaluées, trois reposent sur la transplantation de cellules immatures dont le devenir est dicté par l'environnement de l'hôte : greffe de cellules de corps embryoides, greffe de précurseurs neuronaux multipotents et greffe de précurseurs gliaux (précurseurs des astrocytes et des oligodendrocytes) bipotents ; la quatrième stratégie

fait appel à la greffe de neurones post-mitotiques engagés dans la voie de différenciation correspondant au phénotype d'intérêt. Cette dernière est la plus intéressante et celle qui suscite le plus d'intérêt dans la maladie de Parkinson. [198]

Les neurones ainsi obtenus des cellules ES ont montré chez le rat parkinsonien, un certain potentiel thérapeutique. [196. 199]

2. Cellules embryonnaires humaines

Jusqu'en 2004, les divers essais de différenciation neurale de cellules ES humaines n'avaient permis de produire que très marginalement des neurones exprimant au moins un marqueur dopaminergique. Cette année-là, dans un article publié dans les *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, l'équipe de L. Studer décrit un nouveau protocole permettant l'obtention de grandes quantités de neurones dopaminergiques mésencéphaliques à partir de différentes lignées des cellules ES humaines. Les auteurs montrent que les voies de différenciation et de signalisation clés au cours du développement du mésencéphale, *in vivo*, peuvent être reproduites de manière systématique afin de diriger avec succès la différenciation des cellules ES en neurones dopaminergiques.

La procédure de différenciation *in vitro* des cellules souches embryonnaires en neurones dopaminergiques se constitue de deux étapes : d'abord, **la formation de corps embryoides EB**, et **la mise en culture de ces EB avec des cellules nourricières** qui permettent, via la sécrétion de cytokines et de facteurs de croissance, de pousser les cellules souches vers la différenciation.

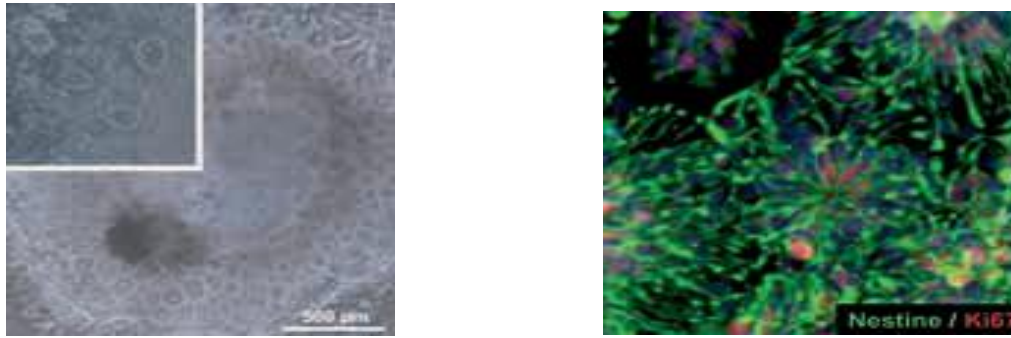
La première étape se déroule après mise en culture des cellules souches ; ces dernières s'agrègent entre elles, commencent à se différencier et forment ces corps embryoides composés des trois feuilletts germinaux classiques (mésoderme, endoderme et neuro-ectoderme). Les cellules progénitrices neurales présentes dans le neuro-ectoderme peuvent être poussées à la différenciation grâce à certains facteurs de croissance, notamment EGF (epidermal growth factor) et bFGF (basic fibroblaste growth factor).

La deuxième étape de différenciation prend alors place et mène à la génération de neurones matures dans le milieu de culture. Cette maturation neuronale nécessite de nombreux autres facteurs et molécules de signalisation impliqués dans le développement cérébral. La mise en culture avec des cellules nourricières (cellules stromales de moelle osseuse) permet d'aider à cette différenciation terminale ; ce phénomène est appelé **activité inductrice dérivée de cellules stromales** (SDIA, stromal cell-derived inducing activity).

La différenciation neuronale des cellules ES humaines sur des cellules stromales (MS5) engendre des colonies des cellules neuro-épithéliales constituées de centaines de structures cellulaires circulaires désignées sous le terme de **rosettes neurales**. Dans ces colonies, l'induction neurale se caractérise par l'apparition d'îlots cellulaires (préfigurant les futures rosettes) qui cessent d'exprimer des marqueurs de cellules souches embryonnaires tels que Oct-4, Nanog ou Cripto, et commencent à exprimer des marqueurs neuraux tels que le filament intermédiaire nestine, les facteurs de transcription Sox-1 ou Pax-6, ou encore la molécule d'adhérence cellulaire neurale NCAM.

Enfin, les étapes finales de différenciation de ces neurones en neurones dopaminergiques sont exécutées grâce à de très nombreuses et complexes combinaisons de facteurs de croissance, dont **FGF-8** et **SHH** (sonic hedgehog) sont parmi les plus importants.

Après environ 50 jours de culture, les neurones obtenus, bien qu'encore assez immatures, expriment la majorité des marqueurs caractéristiques des neurones dopaminergiques du mésencéphale. Ils possèdent des propriétés électro-physiologiques typiques de ces neurones et sont capables de libérer de la dopamine de manière contrôlée. La culture finale résultant de la différenciation dirigée est composée presque exclusivement de cellules neurales, parmi lesquelles figure un nombre important (~ 70%) de neurones post-mitotiques dopaminergiques. [196, 200, 201, 221]



A: Structure cellulaire en rosette

B: Immunodétection de la nestine en vert

Figure 54 (A.B) : Induction neurale des cellules ES humaines déclenchée par des cellules stromales de moelle osseuse [196]

Certains travaux démontrent que certains gènes doivent être exprimés par ces neurones pour pouvoir être fonctionnels dans le locus niger. En occurrence, un type spécifique de **canal potassique appelé Girk2** (G-protein-coupled inward rectifying K⁺ channel subunit) s'est révélé indispensable, cette protéine étant exprimée préférentiellement dans les neurones de la substance noire, et non dans les neurones dopaminergiques présents dans d'autres régions. [202]

Les cellules obtenues présentent plusieurs risques. Tout d'abord, il existe des risques non-négligeables d'infections bactériennes, les cellules prélevées puis greffées aux patients pouvant être infectées si l'environnement de culture n'est pas parfaitement stérile. De plus, les cellules souches utilisées peuvent comporter certaines anomalies génétiques. De nombreux produits animaux sont utilisés dans ces différentes procédures et peuvent être la cause de zoonoses extrêmement nocives, voire mortelles, pour le patient. Enfin, un dernier élément susceptible de mettre en péril ce type de thérapie est le degré de différenciation des cellules présentes dans le greffon. En effet, la présence de cellules indifférenciées peut mener à la formation de tératomes, alors qu'à l'inverse, les neurones très matures ("trop" différenciés) ne survivent pas et provoquent alors l'échec de la greffe. [196]

La mesure du potentiel thérapeutique de ces neurones passe par plusieurs étapes. La première étape doit d'abord permettre de valider *in vivo* la qualité du greffon issu de cellules ES humaines. Plusieurs propriétés importantes du greffon nécessitent en particulier d'être confirmées [198]:

- Une absence totale de formation de tumeur doit être observée, démontrant l'absence de contamination par des cellules ES non différenciées, fortement tumorigènes.
- Les cellules greffées doivent survivre et maintenir, ou même développer durablement, leur phénotype neuronal et dopaminergique *in situ* après la transplantation.
- Enfin, les neurones du greffon doivent s'intégrer fonctionnellement dans le cerveau hôte, en commençant par ré-innover le striatum de la manière la plus complète possible.

Les étapes ultérieures consistent ensuite en des tests de comportement permettant de mesurer l'efficacité thérapeutique (diminution durable des déficits moteurs) des greffons dans des modèles animaux de la maladie de Parkinson.

Le plus effrayant problème connu que pose l'utilisation des cellules ES à des fins thérapeutiques est leur propension à donner des tératomes après implantation chez un hôte. Mais aussi le travail sur les cellules ES humaines, reste sous l'angle éthique un sujet de grandes controverses. [196, 198]

3. Vérification de l'efficacité thérapeutique

La mesure de l'efficacité thérapeutique des greffons se fait sur des rats atteints ou non de la maladie de Parkinson induite. [196]

Technique: [203]

La lésion unilatérale de l'innervation dopaminergique s'accompagne chez le rat de phénomènes de rotations sous induction pharmacologique. La quantification de ces

rotations est très représentative de l'état de dénervation (et de ré-innervation fonctionnelle) dans ce modèle.

Le nombre de rotations effectuées en 30 minutes par deux groupes de rats dont un striatum a été lésé par injection de 6-OHDA, et qui ont reçu ensuite une implantation intrastriatale soit de 2 000 cellules ES (greffés) soit de sérum physiologique (témoins). Le nombre de tours étant identique avant la transplantation (pré-TP), le groupe traité présente après l'implantation (post-TP) une nette amélioration progressive, devenant significative à 7 semaines et s'amplifiant encore à 9 semaines.

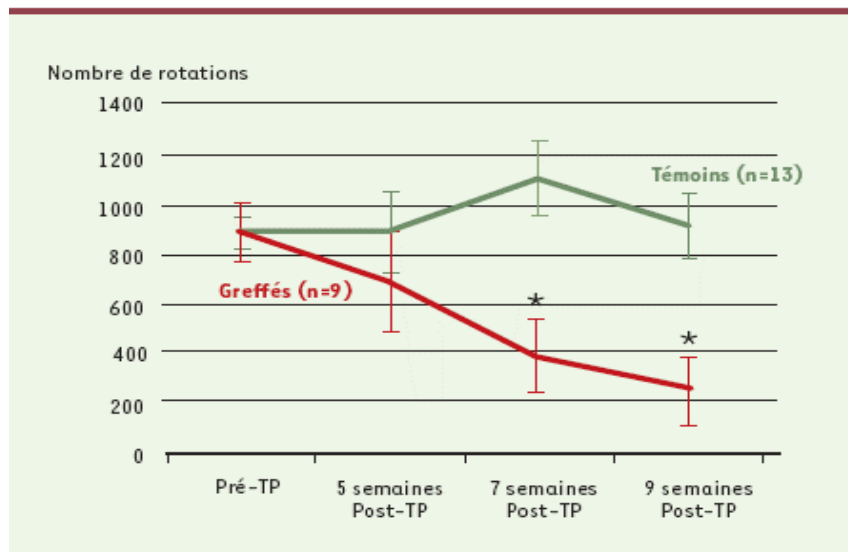


Figure 55 : Analyse du comportement des rats parkinsoniens après greffe des cellules ES [203]

B. Les cellules souches neurales NSCs

Les NSCs sont des cellules souches multipotentes dérivées des tissus neuraux avec les capacités d'auto-renouvellement et de différenciation en cellules des lignées neuronales et gliales. Ces cellules sont retrouvées pendant le développement du système nerveux du fœtus et dans certaines régions du cerveau adulte. L'un des avantages des NSCs par rapport aux cellules ES est qu'elles sont moins tumorigènes après la transplantation, capables de prolifération illimitée et sont génétiquement plus stables. [205]

1. Les NSCs issues du fœtus

Le résultat de la culture des NSCs est fonction des facteurs de croissance utilisés mais aussi de leur origine cérébrale. Les NSCs susceptibles de former des neurones dopaminergiques pour la maladie de Parkinson proviennent du mésencéphale. [206]

La réussite de ces greffes nécessitait des prélèvements de plusieurs fœtus pour un seul patient. Pour y remédier des groupes de recherches se sont penchés sur la multiplication in vitro des tissus du mésencéphale ventral. En 1998, Studer et ses collègues ont réalisé cette multiplication de cellules par l'usage du mitogène **FGF2**, obtenant 10 fois plus de cellules initiales et 3 fois plus de neurones dopaminergiques. Une fois implantés dans le striatum de rats parkinsoniens induits, ces neurones entraînent une récupération des fonctions motrices. Pourtant les neurones dopaminergiques survivant aux greffes sont de 3 à 5%. D'autres techniques de culture ont été aussi expérimentées : la combinaison de cytokines **IL-1** et **IL-11** ; facteur inhibiteur de leucémie et le **GDNF** (glial cell-line derived neurotrophic factor). Wang et al. ont montré que la prédifférenciation des NSCs du mésencéphale humaine avec **FGF8**, **GDNF** et la **forskoline** ont abouti à 26% de cellules TH-positifs par rapport à 1,4% dans les cultures non différenciées in vitro et ces cellules permettent une augmentation de la récupération fonctionnelle après transplantation. [207, 208, 209]

Afin d'améliorer la production de neurones dopaminergiques du mésencéphale et augmenter la survie de ces cellules après transplantation, la modification génétique est considérée comme une bonne stratégie. Dans une première étude, la surexpression de **Nurr1** dans une lignée de NSCs immortalisées à l'origine dérivé du cervelet de souris a montré une forte production de neurones dopaminergiques lorsque ces cellules ont été co-cultivées avec des astrocytes d'origine mésencéphalique. Les précurseurs du cerveau antérieur de rat se différencient en neurones dopaminergiques après modification génétique par co-expression de **Nurr1**, **SHH** et **Bcl-xL** ou **Nurr1** et **Mash1** ; et ces cellules ont également montré les améliorations de comportement après la transplantation chez des rats parkinsoniens induits. La surexpression de **Nurr1** dans les NSCs dérivées du mésencéphale central de rat s'est avérée donner à 5% plus de neurones TH-positifs tandis que la co-expression de **Nurr1** et

Neurogenin 2, n'a augmenté que la maturation du phénotype dopaminergique. D'autres études ne retrouvent pas cet accroissement de la production de neurones dopaminergiques malgré l'induction rétrovirale avec **Lmx1a**, **Msx1**, **Neurogenin 2** et **Pitx3**. Cela serait dû à une récolte tardive des NSCs ayant donc déjà perdu leur potentiel de différenciation. [210, 211, 219]

2. Les NSCs du cerveau adulte

Le cerveau humain est traditionnellement considéré comme un organe non-renouvelable incapable de remplacer les cellules endommagées ou dégénérées. Dans le cerveau adulte de mammifères, les NSCs sont retrouvées dans : la SVZ du ventricule latéral et dans la zone subgranulaire du DG de l'hippocampe. [195]

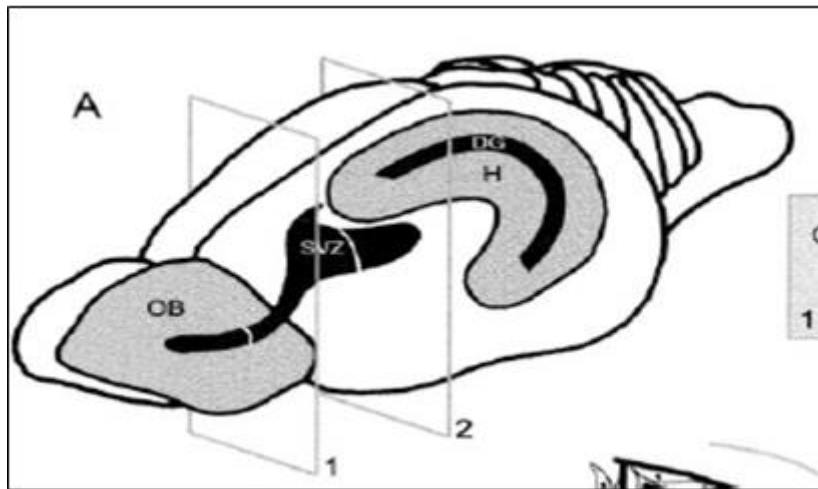


Figure 56: Les régions qui contiennent les cellules souches (en noir) [213]

OB: *Bulbe olfactif*

H: *Hippocampe*

Actuellement la présence de NSCs adultes ne peut être niée. Néanmoins in vivo, leur activité d'autoréparation du cerveau reste très faible. Ceci peut être expliqué par des facteurs micro-environnementaux présents dans les régions du cerveau adulte, qui inhiberaient la différenciation neuronale des NSCs, ou par un faible nombre de NSCs endogènes capables

d'autoréparation efficace. Toutefois, lorsque les NSCs adultes sont mises en culture, elles deviennent capables de production neuronale ; ce qui confirme la première hypothèse. [213]

Jusqu'à présent, les tentatives de production de neurones dopaminergiques à partir de NSCs adultes n'ont pas connu de grands succès. Dans une étude, la stimulation des NSCs de la SVZ a été faite par addition de **SHH** et **FGF8** (comme avec les cellules ES) mais elles aboutissent à des neurones avec des caractéristiques de neurones dopaminergiques immatures incapables de maturité spécifique du mésencéphale. Une autre alternative a été de stimuler in vivo les NSCs endogènes mais sans résultats probants. [214]

L'utilisation de NSCs adultes à but thérapeutique dans la maladie de parkinson reste donc encore théorique.

C. Les cellules souches mésenchymateuses

Les MSCs représentent une source idéale de neurones dopaminergiques du point de vue immunologique et éthique car elles proviennent de la moelle osseuse du patient lui-même. La moelle osseuse de l'adulte contient deux principales populations de cellules souches : les HSCs et les MSCs encore appelées **cellules stromales de la moelle osseuse**. Les MSCs comme toute cellule souche sont dotés de propriétés d'auto-renouvellement mais en plus de plasticité rendant leur différenciation phénotypiquement flexible. [195]

Plusieurs études ont prouvé la capacité de trans-différenciation des MSCs en plusieurs autres types de cellules. Ces cellules auraient une prédisposition neuronale car elles expriment des marqueurs neuronaux tels que : l'énolase 2 (NSE), la nestine, les noyaux neuronaux, la protéine acide fibrillaire gliale et TH (tyrosine hydroxylase) au niveau basal. Les recherches suivantes ont eu pour objectif de générer des neurones fonctionnels à partir de MSCs. L'induction de la différenciation des MSCs se fait soit par ajout d'un cocktail de facteurs extrinsèques dans le milieu de culture (plus sûr), soit par co-culture de MSCs avec des types cellulaires spécifiques, ou encore par manipulation génétique des cellules. [195]

En 2007, Trazska et son équipe ont trouvé un protocole pour la différenciation dopaminergique des MSCs avec un cocktail de **FGF8**, **SHH** et **bFGF** dans le milieu de

culture. Environ 67% des cellules exprimaient les marqueurs dopaminergiques comme la TH. En outre, ces cellules sécrétaient la dopamine mais sans avoir les capacités fonctionnelles des neurones dopaminergiques ; elles sont donc appelées progéniteurs dopaminergiques. Ces résultats ont été soutenus par d'autres études qui montrent que la plus forte expression de TH est obtenue avec le **BDNF** seul ou combiné avec **GDNF**, **TGF- β 3** et l'acide rétinoïque. En 2009, Trzaska et son équipe se sont intéressés aux potentiels facteurs qui pourraient stimuler la maturation dopaminergique des cellules et ont constaté que les cellules neuronales dérivées des MSCs ont une forte expression de récepteurs tropomyosine-kinase B après 9 jours. Le **BDNF** est le facteur impliqué dans la maturation des neurones dopaminergiques et qui se lie à ce récepteur. Il a donc été ajouté au milieu de culture après 9 jours et a permis l'obtention de cellules déclenchant un flux post-synaptique et sécrétant de la dopamine en réponse à la dépolarisation Ca^{2+} dépendante. Cette équipe a trouvé que les cellules obtenues après traitement au **BDNF** répondent aux neurotransmetteurs : GABA et acétylcholine mais pas au glutamate. Ce qui implique que leur maturité n'est donc pas encore totale. [215, 216]

Toutes les études indiquent que la production de neurones dopaminergiques à partir de MSCs peut être possible, mais pour être candidates comme cellules donneuses dans la maladie de Parkinson, il reste encore à élucider si les cellules obtenues peuvent remplir la même fonction que les neurones dopaminergiques in vivo.

D. Les cellules souches pluripotentes induites iPSC

Les cellules ES ont été longtemps considérées comme la meilleure source de cellules en thérapie cellulaire. Mais désormais la production de iPSC représente une nouvelle opportunité qui présente d'énormes avantages surtout le manque de problème éthique.

Le potentiel thérapeutique des iPSC humaines dans la maladie de Parkinson repose sur l'efficacité de la différenciation de ces cellules en neurones dopaminergiques fonctionnels du mésencéphale. Plusieurs groupes ont travaillé sur la production de neurones dopaminergiques à partir d'iPSC in vitro. En 2008, Wernig et son équipe ont montré que

les iPSC, dérivées de fibroblastes de souris prédifférenciées en neurones dopaminergiques, pourraient s'intégrer dans le striatum des rats parkinsoniens et conduire aux améliorations fonctionnelles. Cependant, ces cellules ont également conduit à la formation de tératomes comme avec les cellules ES ; mais ils ont montré que l'élimination des cellules indifférenciées avant la transplantation pourrait réduire de manière significative le risque de formation de tumeurs. Les iPSC peuvent être obtenues aussi bien à partir de cellules de sujets sains ou de sujets déjà atteints de Parkinson. Il a été montré que les neurones dopaminergiques dérivés d'iPSC de patients parkinsoniens sont aussi efficacement que les iPSC d'individus sains et il n'y a pas de différence phénotypique. Il est quand même très important d'étudier si les iPSC dérivées de patients ne sont pas plus susceptibles de développer des fonctionnalités de PD-like (Parkinson disease-like) après la greffe chez les patients parkinsoniens. Après la transplantation à des rats parkinsoniens induits, les neurones dopaminergiques provenant d'iPSC d'un patient parkinsonien ont survécu et ont eu un effet positif sur les fonctions. [217, 218]

	Avantages	Inconvénients
Cellules ES	<ul style="list-style-type: none"> - Capacité de multiplication illimitée - Pluripotentes - Constitution de banques de cellules 	<ul style="list-style-type: none"> - Risque de formation de tératomes - Complexité de la différenciation en neurones dopaminergiques - Risque de rejet - Problème éthique
NSCs	<ul style="list-style-type: none"> - Multipotentes - Faible risque de formation de tératomes 	<ul style="list-style-type: none"> - Capacité de multiplication limitée - Capacité de différenciation neuronale réduite à long terme - Risque de rejet - Problème éthique (NSCs fœtales)
MSCs	<ul style="list-style-type: none"> - Culture facile - Possibilité de générer des cellules spécifiques du patient 	<ul style="list-style-type: none"> - Réelle différenciation en neurones dopaminergiques fonctionnels incertaine

	- Pas de problèmes éthiques	
iPSC	<ul style="list-style-type: none"> - Capacité de multiplication illimitée - Pluripotentes - Constitution de banques de cellules - Possibilité de générer des cellules spécifiques du patient - Pas de problèmes éthiques - Pas de risque de rejet 	<ul style="list-style-type: none"> - Risque de formation de tératomes - Risque d'apparition de tumeur (transduction virale) - Complexité de la différenciation en neurones dopaminergiques - Procédure coûteuse

Tableau VII : Comparaison des différentes cellules candidates au traitement de la maladie de Parkinson [195]

III. Les essais réalisés chez l'homme

Depuis le début des années 1990, aux Etats-Unis, plusieurs études cliniques ouvertes avec les cellules ES se sont révélées bénéfiques. La validation de ces études n'a pas été faite à cause du faible nombre de patients et l'absence de contrôle des groupes. [220]

Les recherches qui jusqu'ici ont donné des résultats assez encourageants pour passer aux essais chez l'homme concernent essentiellement les neurones obtenues à partir de cellules souches fœtales.

A. Les neurones fœtaux

Les **allogreffes intracérébrales de neurones fœtaux** ont démontré leur valeur pour le traitement de la **maladie de Parkinson** chez la majorité des patients qui en ont bénéficié au cours des 15 dernières années. L'allogreffe de neurones fœtaux vise à la substitution de l'innervation dopaminergique défaillante chez les patients par l'implantation dans leur cerveau de cellules très jeunes, donc très plastiques. Les résultats cliniques publiés par la demi-douzaine d'équipes de recherche spécialisées qui ont mené des protocoles scientifiquement solides, vont tous dans le sens d'une nette amélioration de l'état des patients

au cours du temps. Ils ont montré une augmentation de la dopamine et une disparition des symptômes. En outre, il faut quelques mois au tissu fœtal pour acquérir les fonctions d'un tissu adulte, lorsque la quantité de tissu implanté a été suffisante, ce que l'on estime aujourd'hui à 3 mésencéphales ventraux complets (3 fœtus) par striatum, soit 6 par patient. [222]

Le bilan clinique de cette technique d'application relativement simple étant globalement positif, on pourrait s'étonner de la voir cantonnée depuis 15 ans, dans une poignée de centres de recherches spécialisés. La raison essentielle de l'absence d'expansion de cette technique est sa lourdeur logistique et le caractère éthique du prélèvement humain.

Les premières transplantations ont eu lieu aux États-Unis, avec deux cohortes de patients de 40 et 34 individus, respectivement. Le premier essai clinique a abouti à la conclusion que seuls les patients de moins de 60 ans tiraient un bénéfice sur le plan moteur de la transplantation de neuroblastes, tandis que le second essai a échoué dans la mise en évidence d'une amélioration des signes cliniques. Malgré tout, les deux équipes s'accordaient pour conclure que :

- i) les transplants de cellules fœtales survivaient chez presque tous les patients et
- ii) un an après l'implantation, une fraction des individus greffés (15 p. 100 dans le premier essai, 65 p. 100 dans le second) présentaient des symptômes de dystonie et de dyskinésie, probablement dus à un excès de dopamine produite par les cellules dopaminergiques des greffons

D'autres essais peuvent aussi être énumérés : [223]

➤ La première transplantation des cellules neuronales d'origine fœtale pour le traitement de la maladie de Parkinson inaugurée en Suède à partir de 1989 et qui s'est développée ensuite aux États-Unis, en France et en Belgique. Elle a été pratiquée, les premiers temps, de façon unilatérale (c'est-à-dire sur un seul hémisphère cérébral), sur des patients sévèrement atteints et présentant les principales complications de la maladie (fluctuations motrices et dyskinésies).

➤ La première greffe française a été réalisée, en juin 1991, à l'hôpital Henri-Mondor de Créteil par l'équipe du professeur Pierre CESARO. Depuis cette date, 25 interventions portant sur les deux hémisphères cérébraux ont été pratiquées sur 13 malades parkinsoniens.

➤ Une étude clinique américaine « randomisée » réalisée sur fonds fédéraux par les équipes de Curt FREED (Université de Denver, Colorado) et de Stanley FAHN (Columbia-Presbyterian Medical Center, New York) a été communiquée en avril 1999 par le National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Elle a été effectuée en double aveugle avec un groupe placebo sur un échantillon de 40 individus. Un an après, plus de la moitié des transplantés présentait une augmentation significative de la production de dopamine de plus de la moitié des transplantés mais la durée et la persistance de cet effet restent à préciser. D'autre part, seules les personnes traitées de moins de 60 ans, soit 9 patients, ont connu une amélioration significative de leur état. *« L'ancienneté et la sévérité de la maladie influent incontestablement sur l'efficacité du traitement. »*

➤ Plus récemment, une équipe britannico-suédoise a rapporté les résultats obtenus sur un des 17 patients traités, qui avait fait l'objet en 1989 d'une greffe unilatérale. L'administration de L-Dopa a pu être interrompue au bout de 32 mois et le traitement immunosuppresseur suspendu après 64 mois. Six ans plus tard, une dose réduite de L-Dopa a dû être réadministrée pour soigner les symptômes provenant de l'hémisphère cérébral non greffé. Cette expérience a permis de constater sur une période de dix ans le maintien en activité des neurones implantés et une innervation normale du striatum par ces derniers alors que cette innervation a disparu dans la partie non traitée. Ces données confirment l'intérêt de la greffe de neurones fœtaux mais ne sauraient conduire à sous-estimer la longueur du chemin que l'expérimentation clinique doit encore parcourir en ce domaine.

Protocole

Un débat existe d'ailleurs en France sur les mérites comparés de la stimulation électrique et de la transplantation cellulaire pour le traitement du Parkinson. Un programme européen du réseau NECTAR (network of european CNS transplantation and regeneration), coordonné par le professeur DEFER et le docteur LEVIVIER (hôpital Erasmus, Bruxelles), vise à mettre au point un protocole d'évaluation standardisée, destiné à tous les types de chirurgie du Parkinson (greffe neuronale, stimulation électrique et pallidectomie). Pour parer à la faible disponibilité, déjà évoquée, des cellules neuronales d'origine humaine, des expériences à base de cellules animales ont été mises en oeuvre. Aux Etats-Unis, la société Genzyme Tissue Repair a développé des cellules provenant de foetus de porcs non transgéniques ; des essais cliniques de phase 1 sont en cours sur 24 sujets atteints, pour une moitié, de la maladie de Parkinson, pour l'autre, de la chorée de Huntington.

Selon la procédure la plus couramment utilisée, le tissu contenant environ 3 millions de neurones est implanté en trois endroits du putamen, le principal noyau cérébral affecté par la déficience en dopamine, dans chaque hémisphère cérébral. Les points d'implantation sont contrôlés par repérage radiologique. Le cerveau étant considéré comme immuno-protégé, la pratique française s'est orientée vers un traitement immunosuppresseur réduit qui n'a pas suscité de phénomènes de rejet. La survie et le développement des neurones dopaminergiques greffés sont évalués annuellement grâce à des techniques d'imagerie cérébrale : la tomographie par émission de positons (TEP) ou l'imagerie par résonance magnétique (IRM). L'évolution des patients est suivie selon un protocole international, le CAPIT (core assessment program for intracerebral transplantation). Selon le bilan présenté par le professeur Gilles DEFER, on a pu noter, après une greffe bilatérale, une amélioration qui peut être chiffrée de 30 à 40 % dans la majorité des cas et qui se traduit par une réduction des périodes de blocage, une amélioration des capacités motrices et une modification des dyskinésies. Les critiques fondées sur l'effet placebo ont été abandonnées face à l'homogénéité des résultats cliniques. D'autre part, l'autopsie de patients décédés a mis en évidence les effets positifs et persistants des greffes. « *Dans tous les cas* », note de son côté

Philippe HANTRAYE (service hospitalier Frédéric-Joliot, Orsay), « *la transplantation a permis de réduire les doses du traitement médicamenteux par la L-Dopa et d'éliminer ses effets secondaires.* »

Toutefois, les tissus fœtaux sont employés seulement pour les démonstrations de principes et ne sont pas considérés comme une source acceptable de cellules souches pour les traitements éventuels. Bien que les neurones greffés puissent se cultiver et établir une connexion fonctionnelle, en raison des résultats variables et des effets secondaires, ainsi que des problèmes éthiques et pratiques, les chercheurs examinent d'autres types de cellules souches. [223]

B. Bilan

Les résultats que l'on peut interpréter à ce jour concernent un peu plus d'une centaine de patients dont la plupart ont été opérés par des équipes européennes. On peut affirmer que la transplantation de neurones dopaminergiques fœtaux aboutit au développement d'un greffon au niveau duquel la capture de fluoro-DOPA - appréciée au PET-scan - est tout à fait indicative d'une bonne fonctionnalité des cellules.

Sur le plan clinique, l'amélioration des symptômes parkinsoniens concerne essentiellement la motricité de l'hémicorps controlatéral à une greffe unilatérale. Les malades continuent de présenter des troubles, notamment axiaux et de la marche, mais ils présentent une amélioration maintenue de la vitesse et de la qualité de mouvement des membres. Pour la plupart, les malades nécessitent toujours un traitement à la L-DOPA, mais les doses ont pu être réduites dans de nombreux cas. Il ne semble pas exister de complications secondaires à la greffe dans ce cas, une fois passé la période juste post-opératoire.

Il faudra encore d'autres essais cliniques pour que les scientifiques cernent davantage les caractéristiques des cellules souches neurales et pour mettre à l'épreuve les diverses stratégies de multiplication et de différenciation des cellules souches *in vitro* et *in vivo*.

Les scientifiques cherchent encore à déterminer quelles cellules souches (de l'embryon, du sang, de la moelle osseuse...) sont les meilleures pour une thérapie de la maladie de Parkinson. Ils suivent la trace des marqueurs cellulaires afin d'apprendre quelles cellules survivent, se multiplient et produisent avec succès de la dopamine et dans quelles conditions. Ils sont à l'affût des signaux qu'utilisent les cellules souches neurales pour se différencier en cellules dopaminergiques. Ils décodent les signaux dans le cerveau qui permettent aux cellules transplantées de survivre, de s'intégrer et de fonctionner comme il faut. Enfin, ils essaient de déterminer dans quel secteur du cerveau faire la greffe et si c'est par une transplantation ou un autre moyen (l'utilisation de gènes) qu'on obtient les meilleurs résultats. [222, 223]



Conclusion

La maladie de Parkinson reste un mal qui requiert de plus en plus d'attention partout dans le monde aussi bien dans les pays industrialisés que dans les pays sous-développés. La recherche sur les cellules souches qui a débuté depuis quelques décennies reste prometteuse mais pas encore concluante pour un usage thérapeutique humain sécurisé.

Le chemin menant à la découverte d'un traitement pour guérir la maladie de Parkinson est parsemé d'embûches, et il faudra du temps pour y parvenir. Des collaborations entre chercheurs ont débuté afin de partager les connaissances et les succès sur les modèles animaux pour établir des protocoles sûrs et efficaces pour la greffe de cellules souches dans le cerveau. Ils gardent un bon espoir sur l'avancé des recherches mais le choix des cellules souches, de leur culture, du protocole de transplantation...représente un point important à déterminer.

La dernière génération de cellules souches pluripotentes iPSC découverte, constitue un grand espoir vu ses nombreux avantages, mais demeure un terrain à conquérir avec beaucoup de précautions.



RESUMES

RESUME

La maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative qui fut découverte en 1817 par Sir James Parkinson. Elle se manifeste principalement par une atteinte sous-corticale, localisée au niveau de la substance noire (locus niger), qui regroupe les neurones dopaminergiques. C'est une pathologie assez fréquente pour laquelle on dispose actuellement de plusieurs traitements mais pas efficaces à 100% motivant les chercheurs à se diriger vers d'autres thérapies comme la thérapie cellulaire.

La thérapie cellulaire est une approche qui utilise un produit biologique à effet thérapeutique issu de préparation de cellules vivantes humaines ou animales pouvant être des cellules différenciées et fonctionnelles provenant d'un organe, les cellules précurseurs issues de cellules souches qui ont acquis un certain degré de spécialisation et les cellules souches. Les plus intéressantes actuellement pour la maladie de Parkinson sont les cellules souches dotées de propriété d'auto-renouvellement et de différenciation les classant en cellules souches totipotentes, pluripotentes, multipotentes et unipotentes. Elles peuvent être d'origine embryonnaire, fœtale ou adulte.

Les cellules souches candidates pour la thérapie de la maladie de Parkinson sont principalement : les cellules souches embryonnaires, les cellules souches neurales issues de fœtus, les cellules souches neurales adultes, les cellules souches mésenchymateuses à cause de leur plasticité et les cellules souches pluripotentes induites. Elles sont théoriquement aptes à former des neurones dopaminergiques pouvant être implantés chez le parkinsonien.

Les études qui sont déjà passées à des essais chez l'homme concernent essentiellement les neurones fœtaux mais les résultats ne sont pas assez concluants pour lancer un réel traitement. Jusqu'à présent les chercheurs essaient de déterminer la meilleure cellule candidate qui pourrait répondre efficacement comme traitement à la maladie de Parkinson.

Les recherches seront probablement longues mais les effets attendus du traitement en valent le coup.

SUMMARY

Title: Approach of cell therapy: Case of Parkinson's disease; A literature review

Author: Gnon Sounon Isabelle Isibath OROU SEGO

Keywords: Stem cells - cell therapy - Parkinson's disease

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder that was discovered in 1817 by Sir James Parkinson. It is caused mainly by a sub-cortical lesion, characterized by depletion of the pigmented dopaminergic neurons in the substantia nigra (Niger locus). This is a fairly common condition for which there are currently several treatments but none is 100% effective, motivating researchers to go for other therapies such as stem cell therapy.

Cell therapy is an approach that uses a biological product, made from preparation of human or animal living cells which may be differentiated and functional cells from an organ, for therapeutic effect. The precursor cells are derived from stem cells that have acquired a certain degree of specialization. Currently, in the case of Parkinson's disease, stem cells with self-renewal and differentiation property classified into totipotent, pluripotent, multipotent and unipotent are used, which may be of embryonic, fetal or adult origin.

Stem cells used for cell therapy in Parkinson's disease (PD) are mainly: embryonic stem cells, fetal neural stem cells, adult neural stem cells, mesenchymal stem cells because of their plasticity, and induced pluripotent stem cells (iPSCs). They are theoretically capable of forming dopaminergic neurons that may be implanted in patients with Parkinson's disease.

Studies that have already passed tests in humans relate mainly fetal neurons but the results are not conclusive enough to be used for real treatment. Until now, researchers are investigating which stem cells are best for a potential therapy for Parkinson's disease.

The research will probably be long but the expected outcome of treatment is promising.

ملخص

العنوان: استخدام العلاج بالخلايا في مرض باركنسون: دورية علمية

الكاتب: كُنون سومون إيزابيل إيزابيث أورو سيكو

كلمات البحث: الخلايا الجذعية - علاج الخلايا - مرض الشلل الرعاش (مرض باركنسون)

مرض باركنسون هو مرض الاعصاب الذي تم اكتشافه في عام 1817 من قبل السير جيمس باركنسون. ويتجلى أساسا عن إصابة الفرعية القشرية، المتواجدة في المادة السوداء (المنطقة السوداء)، والذي يتضمن خلايا الدوبامين العصبية. إنها حالة مرضية متكررة والتي تتوفر حليا من أجلها على عدة علاجات غير فعالة تحفز الباحثين لاكتشاف علاجات أخرى مثل العلاج بالخلايا.

العلاج بالخلايا هو النهج الذي يستخدم المنتج البيولوجي لتأثير علاجي ناتج عن إعداد الخلايا الحية للإنسان أو الحيوان قد تكون خلايا متميزة أوظيفية من العضو، وخلايا السلانف المشتقة من الخلايا الجذعية التي قد حصلت على درجة معينة من التخصص والخلايا الجذعية. الأكثر إثارة للاهتمام في الوقت الراهن لعلاج مرض باركنسون هي الخلايا الجذعية مع خاصية التجديد الذاتي ويمكن تصنيف الخلايا لخلايا الجذعية مكتملة النمو، المحفزة، متعدد القدرات وأحادية القدرات. يمكنها أن تكون من أصل: المضغة، الجنين أو البالغ.

الخلايا الجذعية المرشحة لعلاج مرض باركنسون هي أساسا: الخلايا الجذعية الجنينية، الخلايا العصبية الجذعية من الأجنة والخلايا الجذعية العصبية للبالغ، والخلايا الجذعية الوسيطة بسبب المطاوعة والتي يسببها الخلايا الجذعية المحفزة. فهي قادرة من الناحية النظرية من تشكيل الخلايا الدوبامين العصبية التي يمكن زرعها لدى المصاب بمرض باركنسون. الدراسات التي انتقلت إلى التجارب على الانسان والتي تهتم أساسا بالخلايا العصبية الجنينية ولكن النتائج غير حاسمة بما يكفي لإطلاق علاج حقيقي. حتى الآن، يحاول الباحثون تحديد أفضل خلية مرشحة يمكن أن تستجيب بشكل فعال لعلاج مرض باركنسون.

يمكن أن تكون الأبحاث طويلة ولكن أتر المتوقعة من العلاج يستحق كل هذا العناء.

REFERENCES

- [1] **Le Douarin N.**, Les cellules souches verbatim de la conférence A3 ; bulletin de l'Association des Anciens et des Amis du Centre National de la Recherche Scientifique n° 57-décembre **2011** p. 6-18
- [2] **Le Douarin N.** Thérapie cellulaire régénérative. *C. R. Biologies.* **2007**; 330: 457-464
- [3] **Mathé G., Amiel J.L., Schwarzenberg L., Cattan A., Schneider M.** Haematopoietic chimera in man after allogenic (homologous) bone-marrow transplantation: control of the secondary syndrome, specific tolerance due to the chimerism. *British Medical Journal.* **1963** ; 28 : 1633-1635
- [4] **Dr Safia Taieb** ; Gynécologue-Obstétricienne ; Premiers stades du développement de l'embryon, **2013** ; www.dr-safia-taieb.tn
- [5] Dictionnaire le Larousse Médical 5^{ème} édition **2011**
- [6] **William J. Larsen** ; Embryologie humaine 3^{ème} édition de Boeck, éditeur **2011** ; p. 2-111
- [7] **Encha-Razavi F et Escudier E.** Embryologie humaine; de la molécules a la clinique. *Encycl Méd Chir Gynécologie/Obstétrique.* **2002**; 5-001-A-50: 26
- [8] **T. W. Sadler** ; Langman's Medical Embryology ; Eighth Edition, Published by Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, **2000** ; p. 4-115
- [9] **Samir Hamamah, Elie Saliba, Mohamed Benahmed, Francis Gold,** Médecine et biologie de la reproduction - Des gamètes à la conception (Broché), 2e édition de MASSON, **2004**
- [10] **Edwards RG, Hansis C.** ; Initial differnciation of blastomeres in 4-cellhuman embryos and its significance for early embryogenesis and implantation. *Reprod Biomed Online.* **2005** ; 11 (2) : 206-18
- [11] **Catala M.** « Les premiers stades de l'oeuf humain » par Auguste d'Eternod publiés il y a cent ans dans les Comptes Rendus de l'Association des Anatomistes. *Morphologie.* **2014** ; 98(321) : 65-85
- [12] Embryogenèse ; Embryologie humaine le site, **2003** www.cvirtuel.cochin.univ-paris5.fr

- [13] Cours d'embryologie, Chapitre 6 : 2^{ème} Semaine du développement, Centre de préparation aux concours des carrières médicales, paramédicales et sociales Poly-prepas lille **2008** p. 3
- [14] **Ruth Kirschstein, M.D. ; Lana R. Skirboll.** Stem Cells: Scientific Progress and Future Research Directions. Department of Health and Human Services. <http://stemcells.nih.gov/info/scireport>. June **2001**.
- [15] **Edgar D. et al.** Topography, stem cell behaviour, and organogenesis. *Pediatr. Surg. Int.* **2004**; 20(10): 737-40
- [16] **Alisa Zapp Machalek ;** chapter 1 An Owner's Guide to the Cell ; Inside the cell ; **2005**, p 6-17
- [17] **Poirier J.** Atlas histologie moléculaire. **1999**
- [18] Cellules souches et types de cellules souches; Parlons sciences et Réseau de cellules souches ; **2011**
- [19] **Pearson J. ; Lopez-onieva L. ; Rojas-Rios P. ; Gonzalez-Reyes A. ;** Recent advances in Drosophila stem cell biology. *International Journal of developmental Biology.***2009.** 53 : 1329-39
- [20] **Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. ;** Molecular Biology of the Cell. 4th edition. New York: Garland Science; **2002**
- [21] **Thomson JA., Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS., Waknitz, MA., Swiergiel JJ., Marshall VS. and Jones JM.** Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* **1998**; 282 (5395): 1827
- [22] **Semb H.** Human embryonic stem cells: origin, properties and applications. *Stem cell* **2005**; 113(11-12): 743
- [23] **Jacob F.** Le monde des cellules souches. *C. R. Biologies.* **2002** ; 325 : 999–1002.
- [24] **Hotzfeld A., Peiffer I., Hotzfeld J.** Les cellules souches embryonnaires humaines, problème pratique et potentialité scientifique. *Pathologie biologie.* **2006**; 54: 94-99
- [25] **Liew CG, Moore H et al.** Human embryonic stem cells: possibilities for human cell transplantation. *Science* **2005**; 37(7): 521-32
- [26] **Brustle O, Jones K, Learich R et Coll.** Embryonic stem cell derived glial precursors; a sources of myelinating transplants. *Science* **1999**; 285: 754-756

- [27] **Kehat I., Kenyagin-Karsenti D., Snir M. et al.** Human Embryonic Stem Cells Can Differentiate into Myocytes with Structural and Functional Properties of Cardiomyocytes. *Nature* **2001**; 108, 407-414
- [28] **Pellerin D.** Cellules souches et thérapie cellulaire contribution au débat éthique. *C. R. Biologies.* **2002**; 325: 1059-1063
- [29] **Ashleigh S, Kathryn J Wood.** Transplanting stem cells: Potential targets for immune attack. Modulating the immune response against embryonic stem cell transplantation. *Adv Drug Deliv Rev.* **2005**; 57(13): 1944-69
- [30] **Gudjonsson T., Magnusson MK.** Stem cell biology and the cellular pathways of carcinogenesis. *Molecular and Cell Biology.* **2005**; 113(11-12): 922-29
- [31] **Laura E. Sperling (2013).** Embryonic Stem Cell Therapy – From Bench to Bed, Pluripotent Stem Cells, Dr. Deepa Bhartiya (Ed.), ISBN: 978-953-51-1192-4, InTech
- [32] **K. Takahashi, S. Yamanaka,** Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors, *Cell* 126 (**2006**) 663–676.
- [33] **K. Takahashi, K. Tanabe, M. Ohnuki, M. Narita, T. Ichisaka, K. Tomoda, S. Yamanaka,** Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors, *Cell* 131 (**2007**) 861–872.
- [34] **Nicole M. Le Douarin ;** Problèmes éthiques posés par les nouvelles biotechnologies de la reproduction et des cellules souches ; *Comptes Rendus Biologies.* **2015 ;** 338 (8):571-575
- [35] **Jacob Kimmel and Kiminobu Sugaya (2013).** Induced Pluripotent Stem Cells: Current and Emerging Technologies, Pluripotent Stem Cells, Dr. Deepa Bhartiya (Ed.), ISBN: 978-953-51-1192-4
- [36] **Reyftmam L. et al.** Cellules souches fœtales et du sang du cordon ombilical; une place pour le gynécologue obstétricien. *Gynécologie obstétrique & fertilité.* **2004**; 32: 969-975
- [37] **Vescovi AL, Parati EA, Gritti A et al.** Isolation and cloning of multipotential stem cells from the embryonic human CNS and establishment of transplantable human neural stem cell lines by epigenetic stimulation. *Exp Neurol.* **1999**; 156: 71-83

- [38] **Dunnett S, Bjorklund A.** Prospects for new restorative and neuroprotective treatments in Parkinson's disease. *Nature*. **1999**; 399:A32-9
- [39] **Andreoletti M, Pages JC, Mahieu D et al.** Preclinical studies for cell transplantation: isolation of primate fetal hepatocytes, their cryopreservation, and efficient retroviral transduction. *Hum Gene Ther*. **1997**; 8: 267-74
- [40] **Vats A., Bielby RC. et al.** Stem cells. *The Lancet*. **2005**; 366: 592-602
- [41] **Lee O. K., Kuo T. K., Chen W. M., Lee K. D., Hsieh S. L. and Chen T. H.** "Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood." *Blood* **2004**.103 (5):1669-75.
- [42] **Eliane Gluckman**, Professeur des Universités Praticien hospitalier (PUPH), hématologue, spécialiste des cellules hématopoïétiques de sang de cordon à l'Hôpital Saint-Louis à Paris; rapport « cellules souches et choix éthique » **2006**.
- [43] **Amy JW. and Irving LW.** Plasticity of Adult Stem Cells. *Annual review of cell and development biology*. **2005**; 21: 605-631
- [44] **Antonucci I, Stuppia L, Kaneko Y, Yu S, Tajiri N, Bae EC, Chheda SH, Weinbren NL, Borlongan CV.** Amniotic fluid as a rich source of mesenchymal stromal cells for transplantation therapy. *Cell Transplant*. **2011**; 20(6):789-95.
- [45] **Laure Coulombel**; Cellules souches adultes tissulaires: seing is not being. *Médecine/sciences*. **2003**; 19: 683-94
- [46] **Hongxiang Hui, Yongming Tang, Min Hu and Xiaoning Zhao (2011).** Stem Cells: General Features and Characteristics, Stem Cells in Clinic and Research, Dr. Ali Gholamrezanezhad (Ed.), ISBN: 978-953-307-797-0
- [47] **Oshima H, Rochat A, Kedzia C, Kobayashi K, Barrandon Y.** Morphogenesis and renewal of hair follicles from adult multipotent stem cells. *Cell* **2001**; 104: 233-45
- [48] **Morrison SJ. White PM. Zock C. Anderson DJ.** Prospective identification, isolation by flow cytometry, and in vivo self-renewal of multipotent mammalian neural crest stem cells. *Cell*. **1999**; 96: 737-49
- [49] **Bourin P., Gadelorge M. ;** Les espoirs des cellules souches mésenchymateuses en médecine régénérative. *Transfusion clinique et biologiques*. **2007**; 14: 120-126

- [50] **Marie Hélène Lafage-Proust, Thierry Thomas, Alain Guignandon, Luc Malaval, Aline Rattner, Laurence Vico** ; Plasticité des cellules ostéoprogénitrices ; *Revue du Rhumatisme*. **2007**, 74: 934–937
- [51] **Ali G. Turhan** ; Plasticité des cellules souches adultes. *Transfusion Clinique et Biologique* ; **2003** ; 10: 103–108
- [52] **Verfaillie C.** Stem Cell plasticity. *Hematology*. **2005** ; 10 Suppl 1/296-6
- [53] **Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, Neutzel S, Sharkis SJ** Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow–derived stem cell. *Cell* ; **2001**; 105:369-377
- [54] **Toru Kondo, Martin Raff** ; Oligodendrocyte Precursor Cells Reprogrammed to Become Multipotential CNS Stem Cells, *Science*, **2000**, Vol. 289 n. 5485 pp. 1754-1757
- [55] **Cristiane V. Wenceslau, Irina Kerkis, Nelson F. Lizier and Alexandre Kerkis (2013)**. De-Differentiation of Somatic Cells to a Pluripotent State, Pluripotent Stem Cells, Dr. Deepa Bhartiya (Ed.), ISBN: 978-953-51-1192-4
- [56] **Wang X., Willenbring H., Akkari Y. et al.** Cell Fusion is the Principal source of Bone-Marrow-Derived Hépatocytes. *Nature*. **2003**; 422: 897-901
- [57] **Kahn A.** Cellules souches et médecine régénérative. *Médecine/science*. **2002**; 18: 503-9
- [58] **Pittenger MF., et al**, Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* **1999**. 284 : 143-147
- [59] **Georges U.** ; Les cellules souches endothéliales circulant ; utilisation potentielle en thérapie cellulaire. *Revue Française des Laboratoires*. Janvier **2003** ; 349
- [60] **Herzog El, Chai L, Krause Ds (2003)**. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood*, 102, 3483-3493.
- [61] **José-Alain Sahel.** ; ophtalmologiste spécialiste de la rétine, chef de service de Quinze-vingts. *Rapport « cellules souches et choix éthique »*. **2006**
- [62] **Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, et al.** Generalized potential of adult neural stem cells. *Science* **2000**; 288:1660-63

- [63] **Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, Sun CW, Meissner A, Cassady JP, Beard C, Brambrink T, Wu LC, Townes TM, Jaenisch R.** ; Treatment of Sickle Cell Anemia Mouse Model with iPS Cells Generated from Autologous Skin. *Science*. **2007** ; 21;318(5858):1920-3.
- [64] **Park IH, Arora N, Huo H, Maherali N, Ahfeldt T, Shimamura A., Lensch MW, Cowan C, Hochedlinger K, Daley GQ.** Disease-Specific Induced Pluripotent Stem Cells ; *Cell*. **2008** ; 134(5):877-86.
- [65] **P. Rocheteaua, L. Châtréd, M. Mebarkia, P. Leccia, P. Serrania, T. Sharshara, F. Chrétiena** ; Les cellules souches musculaires sont affectées pendant un choc septique et perdent leur fonctionnalité : une étude histologique et moléculaire, *Morphologie* ; **2015** ; 99 (326) : 98
- [66] **Didier Montarras, Jennifer Morgan, Charlotte Collins, Frédéric Relaix, Stéphane Zaffran, Ana Cumano, Terence Partridge, Margaret Buckingham** ; Direct isolation of satellite cells for skeletal muscle regeneration ; *Science*, **1 septembre 2005**
- [67] **Fausto N, Campbell JS, & Riehle KJ.** ; *Liver regeneration*. Hepatology, **2006** ; 43 (2 suppl 1):S45–S53
- [68] **Koniaris LG, McKillop IH, & Schwartz SI et al. (2003).** *Liver regeneration*. J Am Coll Surg. 197:634–659
- [69] **Slack, J.M.** ; Stem Cells in Epithelial Tissues. *Science*. **2000** ; 287, 1431-1433.
- [70] **Zulewski H., Abraham E.J., Gerlach M.J., Daniel P.B., Moritz W., Muller B., Vallejo M., Thomas M.K., and Habener J.F.** ; Multipotential nestin-positive stem cells isolated from adult pancreatic islets differentiate ex vivo into pancreatic endocrine, exocrine, and hepatic phenotypes. *Diabetes*. **2001** ; 50, 521-533
- [71] **Das Av, James J, Rahnenfuhrer J.** ; Retinal properties and potential of the adult mammalian ciliary epithelium stem cells. *Vision Res.*, **2005**, 45 : 1653-1666.
- [72] **Kim Cfb, Jackson El, Woolfenden Ae, Lawrence S, Babar I, Vogel S Et Al.** ; Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell*, **2005** ; 121 : 823-835.

- [73] **Hishikawa K, Fujita T.**; Stem cell and kidney disease. *Hypertens. Res.*, **2006**, 29 : 745-749
- [74] **Anversa P, Kajstura J, Leri A, Bolli R** ; Life and death of cardiac stem cells: a paradigm shift in cardiac biology. *Circulation*, **2006** ; 113 : 1451-1463
- [75] **Philippe M.**, chirurgien cardiaque à l'hôpital Georges Pompidouet ; Directeur d'une Unité de l'INSERM sur les cellules souches musculaires et les pathologies cardiaques. *Rapport « cellules souches et choix éthique »*. **2006**
- [76] **Philippe Taupin.** Neural progenitor and stem cells in the adult central nervous system. *Ann.Acad. Med. Singapore*, **2006**, 35 : 814-820.
- [77] **Nakagami H Morishita R, Maeda K, Kikushi Y, Ogihara T, Kaneda Y** ; Adipose tissue-derived stromal cells as a novel option for regenerative cell therapy. *Arterioscler. Thromb.*, **2006**, 13 : 77-81
- [78] **Fuchs E, Tumber T, Guasch G.** Socializing with the neighbors: "stem cells and their niche". *Cell*. **2004** ; 116(6): 769-78
- [79] **Li L, Xie T.** Stem cell niche: structure and function. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **2005** ; 21 : 605-631.
- [80] **Morrison Sj, Spradling Ac.** Stem cells and niches: mechanisms that promote stem cell maintenance throughout life. *Cell*, **2008** ; 132 : 598-611
- [81] **Jiang Y., Jahagirdar BN., Reinhardt RK. et al.** Pluripotency of Mesenchymal Stem Cells Derived from Adult Marrow. *Nature*. **2002** ; 418 : 41-49
- [82] **Ulloa-Montoya F, Verfaillie C, Hu W-S.** Culture systems for pluripotent stem cells. *J. Biosci. Bioeng.*, **2005** ; 100(1) : 12-27
- [83] **Hatzfeld A, Peiffer I and Hatzfeld J.** Cellules souches fœtales et du sang une place pour le gynécologue obstétricien. *Pathologie biologie*. **2006** ; 54 : 94- 99
- [84] **Laure Coulombel** ; Homing et mobilisation des cellules hématopoïétiques, un dédale très bien balisé. *Medecine/Science* **1999** ; 15 : 295
- [85] **Andrews PW, Martin MM.** Embryonic Stem (ES) cells and embryonal carcinoma (EC) cells: opposite sides of the same coin. *Biochem Soc Trans*. **2005**; 33(6): 1526-30.
- [86] **Evans MJ, Kaufman MH.** Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*. **1981**; 292: 154-56

- [87] **Bongos A, Fong CY, Ng SC, Ratnam S.** Isolement and culture of inner mass cells from human blastocysts. *Hum Reprod.* **1994**; 9: 2110-7
- [88] **Thomson JA, Kalishman J, Golos TG et al.** Isolation of a primate embryonic stem cell line. *PNAS (USA).* **1995**; 90: 7844-8
- [89] **Pera MF, Reubinoff BE, Trounson A.** Human embryonic stem cells. *Science.* **2000**; 113: 5-10
- [90] **Reubinoff BE, Pera MF, Fong CY, Trounson A, Bongos A.** Embryonic stem cell lines from human blastocyst: somatic differentiation in vitro. *Nature Tech.* **2000**; 18: 399-404
- [91] **Masako M, Grothos S, Mingrui Z et al.** SHED: stem cells from exfoliated deciduous teeth. *PNAS.* **2003**; 100: 5807-12
- [92] **Hwang WS, Ryu YJ, Park JH et al.** Evidence of a Pluripotent Human Embryonic Stem Cell Line Derived from a Cloned Blastocyst. *Science.* **2004**, 303 (5664): 1669-74
- [93] **ZHANG X, et al.** Derivation of human embryonic stem cells from developing and arrested embryos. *Stem Cells,* **2006**; 24 : 2 669-76
- [94] **Ju JY1, Park CY, Gupta MK, Uhm SJ, Paik EC, Ryoo ZY, Cho YH, Chung KS, Lee HT ;** Establishment of stem cell lines from nuclear transferred and parthenogenetically activated mouse oocytes for therapeutic cloning. *Fertil Steril.* **2008** ; 89(5 Suppl):1314-23
- [95] Le Journal AUJOURD’HUI – Le Maroc, *Santé*, 22 Juin **2004**, Une première au Maroc par MAP ; www.aujourdhui.ma
- [96] Journal/ Société ; 1^{ère} greffe de moelle osseuse ; www.lavieeco.com
- [97] Le Réseau de cellules souches (RCS), créé en **2001**, regroupe plus de 100 scientifiques, cliniciens, ingénieurs et éthiciens qui sont des chefs de file dans les universités et les hôpitaux au Canada. Hébergé par l’Université d’Ottawa. Pour plus d’informations : www.stemcellnetwork.ca
- [98] **Chantal Baron** ; Thérapie cellulaire et Médecine régénératrice : Mythe ou réalité ?, *in vivo ; Médecine et sciences* ; février **2011**, p 6-15

- [99] **Martin PERA** ; Les promesses thérapeutiques des cellules souches. *Biofutur*. Nov **2000** ; Volume 2000 (205):34-36
- [100] **Vincent Antonin L.** ; Les promesses des cellules souches. Scientifiques, familles et santé publique dans la controverse autour des stems cells aux USA. *Sociologie du travail*. **2006** ; 48:350-366
- [101] **Robinet E. et al.** ; Préparation de produits de thérapie cellulaire ; apport aux systèmes clos » M/S. *Transfusion clinique et biologique*. **1999** ; 6 : 409-17
- [102] **Ecole de l'ADN Nîmes** ; Généthon : innover pour guérir ; La thérapie cellulaire ; Juillet **2011**
- [103] **Robinet E. Certoux JM, Fertand C, Maples P, Hardwick A, Cahn Y, et al.** A closed culture system for the ex viva transduction and expansion of human T-lymphocytes. *Journal of Hematotherapy*. **1998**
- [104] **Camby C., Van Den Heuvel T.** Cellules souches embryonnaires humaines, Aspects législatifs. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. **2007** ; 35 : 799-805
- [105] **Kahn A.** Le clonage thérapeutique. *Biofutur*. **2001** ; 213 : 45-6
- [106] Revue Française des Laboratoires « clonage embryonnaire». Octobre **2004** ; n°366 : 11
- [107] **Hayflick L, Moorhead PS.** The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. **1961** ; 25: 585-621
- [108] **Gire Véronique** La sénescence : « Une barrière télomérique à l'immortalité ou une réponse cellulaire aux stress physiologiques? ». *Médecine sciences*. **2005** ; vol21, n°5 ; 491-497
- [109] **Stanley JF, Pye D, MacGregor A.** Comparison of doubling numbers attained by cultured animal cells with life span of species. *Nature*. **1975**; 255: 158-159
- [110] **Sekiya I, Larson BL, Smith JR, Pochampally RR, Cui JG, Prockop DJ.** Expansion of human adult stem cells from bone marrow stroma: conditions that maximize the yields of early progenitors and evaluate their quality. *Stem Cells*. **2002**; 20: 530-4
- [111] **Muraglia A, Cancedda R, Quarto R.** Clonal mesenchymal progenitors from human bone marrow differentiate in vitro according to a hierarchical model. *J Cell Sci*. **2000**; 113: 1161-6

- [112] **Martindale JL, Holbrook NJ.** Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J Cell Physiol.* **2002** ; 192: 1-15
- [113] **Rubio D, Garcia-Castro J, Martin MC, et al.** Spontaneous human adult stem cell transformation. *Cancer Res.* **2005**; 65: 3035-9
- [114] **Bertrand B.** Archevêque Centre hospitalier régional de Rimouski : cellules souches biologie et éthique. 30 Novembre **2006**
- [115] **Pr Bernard KLEIN, Dr John de Vos;** Biothérapie: les thérapies génique et cellulaire; Séminaire de formation Ketty Schwartz, **2011**
- [116] **Annick Schwibig, Pierre Yves Arnoux et Al.;** Etude thérapie cellulaire – “Des cellules pour la Santé”; Février **2010**; www.bionest.com
- [117] **Dr Valérie Coronas;** Cellules souches: différents types de cellules souches utilisation en médecine régénératrice et question d'éthique ; *GénômeS, Biologie, Société* ; Genotoul **2009** : 1-28
- [118] **Luc Douaya, Thierry Peyrard ;** Des banques de cellules souches adultes pluripotentes comme source illimitée de globules rouges de culture : un scénario pour demain ; *Transfusion sanguine* ; revue francophone des laboratoires - février **2012** - n°439 : 61-65
- [119] **B. Anthony Armson, David S. Allan, Robert F. Casper;** Sang de cordon ombilical : Counseling, prélèvement et mise en banque; *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*; Volume 37, Issue 9, September **2015**, Pages 845–846
- [120] **Matthieu Rembarz ;** Thérapie Cellulaire, *Dossier thématique de la fondation de l'Avenir*, Juin **2007** p 1-8
- [121] **Florenza Gracci ;** Un paraplégique remarche après autogreffe de cellules nasales ; *Santé-Médecine* ; Octobre **2014**, www.science-et-vie.com
- [122] **Goodwin Biotechnology** Announces the Completion of cGMP Manufacturing of an IgM Monoclonal Antibody and IgM : Ligand Conjugate for Q Therapeutics, and Successful Clearance of Q Therapeutics IND Submission for Q-Cells® Cell Therapy in ALS ; Juillet **2015**
- [123] **Parlons sciences ;** Médecine régénératrice, Feuille de renseignements : les cellules souches ; **2011**, réseau de cellules souches

- [124] **L. BARGUES, M. PRAT, T. LECLERC, E. BEY, J.-J. LATAILLADE** ; Présent et futur de la thérapie cellulaire des brûlures ; *Pathologie Biologie*, **2011** ; 59 : 49–56
- [125] **B. RAMDANI**; Actions à venir Ministère de la Santé MAROC; 5ème colloque France-Maghreb, Nice 23-24 Mars **2012**
- [126] **Simone B.** Stem cell research: the ethical debate. Atelier de formation *Inserm*. 16-17 Novembre **2006** ; n°171
- [127] **Pierre Louis Fagniez** ; Cellules souches et choix éthique. Rapport au 1^{er} ministre, juillet **2006**
- [128] **Hervé C.** ; Chroniques bioéthiques (11) : Cloningate? La publication scientifique et le clonage thérapeutique face à la mystification Hwang. *Médecine/Sciences*. **2006** ; 22 : 218-222
- [129] Avis du GEE des sciences et des nouvelles technologies « Aspects Législatif de la recherche sur les cellules souches humaines et leur utilisation ». <http://ec.europa.eu/european-group-ethics/index-fr.html>. 14 Nov **2000**
- [130] www.genethique.org
- [131] **Guibert TERLINDEN** ; « Christianisme, Islam et Judaïsme : greffer du symbole en transplantation » ; In *Ethica Clinica*, n°61, **2011**, p.43-52.
- [132] International Islamic Fiqh Academy; <http://www.fiqhacademy.org.sa>
- [133] Revue : *actualité des religions* : Avril **2001** ; n°26 ; Novembre **2002** ; n°43
- [134] **Dr Loubna Mazini**; Cellules souches au Maroc; Doctinews n°54; Avril **2013**
- [135] **R Katzenschlager et al.**, *Mucuna pruriens* in Parkinson's disease: a double blind clinical and pharmacological study, *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* **2004**;75:1672-1677.
- [136] **Claude Ferrazi**; Histoire de la maladie de Parkinson, école normale supérieure de Lyon, Avril **2010**
- [137] **Jean Christophe Lorvol, Stéphane Hunot**; Maladie de Parkinson, *Neurosciences, sciences cognitives, neurologie, psychiatrie*; Dossier d'information; Février **2015**
- [138] **Suzy L. Wong, Heather Gilmour, Pamela L.**; La maladie de Parkinson: prevalence, diagnostic et consequences; *Rapport de Santé*, Novembre **2014**; ISSN 1209-1375

- [139] **Steece-Collier K, Maries E, Kordower JH.** Etiology of Parkinson's disease: Genetics and environment revisited. *Proc Natl Acad Sci USA* **2002**; 99:13972-4.
- [140] **Lisa Loumé;** Journée mondiale de la maladie de Parkinson: 30 ans de lutte; *Santé*; Avril **2014**; Science et Avenir
- [141] **Pr Mostafa El Alaoui Faris, Pr Chafiq Hicham;** La maladie de Parkinson ; *Société*, Juin **2011** ; lemag.ma
- [142] **Hadj Tahar, A., Bézard, E., Grondin, R., Gross, CE., Bédard, P.J., 2003.** Physiopathologie et modalités thérapeutiques des dyskinésies induites à la L-Dopa. *Rev. Neurol.*, 159, 1125-1142.
- [143] **Crossman, A.R., 2000.** Functional anatomy of movement disorders. *J. Anat.*, 196, 519-525.
- [144] **Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Hall, W.C., LaMantia, A.S., McNamar, J.O. & Williams, S.M. (2005, 3ème ed.). Neurosciences.** (J.M. Coquery, Trad.). Bruxelles : De Boeck. (Œuvre originale publiée en 2004).
- [145] **Dr Bernard Pidoux;** Physiologie des Noyaux Gris Centraux, Cours de physiologie, mars **2011**
- [146] **Catherine Bédard,** innervation dopaminergique et sérotoninergique du striatum dans les maladies de Parkinson et d'Huntington ; **2010**
- [147] **Parent A, Sato F, Wu Y, Gauthier J, Levesque M, Parent M.** Organization of the basal ganglia: the importance of axonal collateralization. *Trends Neurosci* **2000**; 23: S20-7.
- [148] **Defebvre, L. (2005).** La maladie de Parkinson. In C. Ozsancak & P. Auzou (Eds.), *Les troubles de la parole et de la déglutition dans la maladie de Parkinson* (pp. 9-27). Marseille : Solal.
- [149] **Derkinderen, P. & Damier, P. (2011, 2ème ed.).** Etiopathogénie. In L. Defebvre & M. Vérin (Eds.), *La maladie de Parkinson* (pp. 9-16). Issy-les-Moulineaux : Masson.
- [150] **Kumar V., Abbas A.K., Fausto N., Robbins and Cotran.** Pathologic basis of disease, Philadelphia, W.B. Saunders, 7th ed., **2004**
- [151] **Lees AJ, Hardy J, Revesz T.** Parkinson's disease. *Lancet* **2009**; 373: 2055-66.

- [152] **Lohmann, E. & Dürr, A. (2011, 2ème ed.)**. Aspects génétiques. In L. Defebvre & M. Vérin (Eds.), *La maladie de Parkinson* (pp. 21-29). Issy-les-Moulineaux : Masson.
- [153] **Benmoyal-Segal, L. Et Soreq, H. (2006)**. Gene-environment interactions in sporadic Parkinson's disease. *Journal of neurochemistry*, vol. 97 no 6, p. 1740-1755.
- [154] **Sun Ju Chung**, Genetics in Parkinson's disease, *J Korean Med Assoc.* **2011** Jan;54(1):70-78. Korean.
- [155] **De Lau, L. Et Breteler, M. (2006)**. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet neurology*, vol. 5, p. 525-535.
- [156] **Chrysostome, V. & Tison, F. (2011, 2ème ed.)**. Épidémiologie. In L. Defebvre & M. Vérin (Eds.), *La maladie de Parkinson* (pp. 1-7). Issy-les-Moulineaux : Masson.
- [157] **Voet, D., Voet, J.G., 1995**. *Biochemistry*. 2th. éd. John Wiley & sons, inc. pp. 1361.
- [158] **Jelunger, K., Paulu, W., Grundke-Iqbal, L, Riederer, P., Youdim, M.B.H., 1990**. Brain iron and ferritin in Parkinson's disease and Alzheimer's disease. */ Neural Transm., 2*, 327-340.
- [159] **Bondy, S.C., Lee, D.K., 1993**. Oxidative stress induced by glutamate receptor agonists. *Brain Res.*, 610, 229-233.
- [160] **Sian, J., Dexter, D.T., Lees, A.J., Daniel, S., Agid, Y., Javoy-Agid, F., Jenner, P., Marsden, CD., 1994**. Altérations in glutathione levels in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders affecting basai ganglia. *Ann. Neurol.*, 36, 348-355.
- [161] **Fallon J.H. and Moore R.Y. (1978)**, Catecholamine innervation of the basal forebrain. IV. Topography of the dopamine projection to the basal forebrain and neostriatum, *J. Comp. Neurol.*, Volume 180, Issue 3, p. 545-80
- [162] **Defebvre, L. (2011, 2ème ed.)**. Signes moteurs. In L. Defebvre & M. Vérin (Eds.), *La maladie de Parkinson* (pp. 47- 64). Issy-les-Moulineaux : Masson.
- [163] **Azulay, J.-P., Witjas, T. & Defebvre, L. (2011, 2ème ed.)**. Signes non moteurs. In L. Defebvre & M. Vérin (Eds.), *La maladie de Parkinson* (pp. 65-80). Issy-les-Moulineaux : Masson.
- [164] **Bonnet, A.M. & Hergueta, T. (2007)**. *La maladie de Parkinson au jour le jour*. Paris : John Libbey Eurotext.

- [165] **Dujardin, K. & Defebvre, L. (2002).** *Neuropsychologie de la maladie de Parkinson et des syndromes apparentés.* Issy-les-Moulineaux : Masson.
- [166] **Theunssens, E. (2011).** *Les troubles du langage chez l'adulte.* Notes manuscrites.
- [167] **Viallet, F. & Gayraud, D. (2005).** Les troubles de la production de parole au cours de la maladie de Parkinson : présentation générale. In C. Ozsancak & P. Auzou (Eds.), *Les troubles de la parole et de la déglutition dans la maladie de Parkinson* (pp. 99-109). Marseille : Solal.
- [168] **Bedynek, S. (2010, 2ème ed).** De la communication à la nutrition, les apports de la logopédie. In J. E. Vanderheyden & D. J. Bouiliez (Eds.), *Traiter le Parkinson : prise en charge globale et multidisciplinaire du patient parkinsonien* (pp. 203 - 220). Bruxelles : De Boeck.
- [169] **Robert, D. & Spezza, C. (2005).** La dysphonie parkinsonienne. In C. Ozsancak & P. Auzou (Eds.), *Les troubles de la parole et de la déglutition dans la maladie de Parkinson* (pp.131- 143). Marseille : Solal.
- [170] **Viallet, F. & Teston, B. (2007).** La dysarthrie dans la maladie de Parkinson. In P. Auzou, V. Rolland-Monnoury, S. Pinto & C. Ozsancak (Eds.), *Les dysarthries* (pp. 169- 173). Marseille : Solal.
- [171] **Teston, B. & Viallet, F. (2005).** La dysprosodie parkinsonienne. In C. Ozsancak & P. Auzou (Eds.), *Les troubles de la parole et de la déglutition dans la maladie de Parkinson* (pp.161- 193). Marseille : Solal.
- [172] **Verin, E. (2005).** Les anomalies ventilatoires des patients parkinsoniens. In C. Ozsancak & P. Auzou (Eds.), *Les troubles de la parole et de la déglutition dans la maladie de Parkinson* (pp.125- 130). Marseille : Solal.
- [173] **Ramig, L.O., Countryman, S., Fox, C. & Sapir, S. (2001).** Troubles et rééducation de la voix, de la parole et de la déglutition dans la maladie de Parkinson. *Glossa*, 75, 22-39.
- [174] **Auzou, P., Rolland-Monnoury, V., Pinto, S. & Ozsancak, C. (Eds.) (2007).** *Les dysarthries.* Marseille : Solal.
- [175] **Theunssens, E. (2012).** *Psycholinguistique, neurolinguistique et neuropsychologie cognitive.* Notes manuscrites.

- [176] **Bedynek, S. (2004).** De la communication à la nutrition, les apports de la logopédie. In J. E. Vanderheyden & D. J. Bouiliez (Eds.), *Traiter le Parkinson : prise en charge globale et multidisciplinaire du patient parkinsonien* (pp. 151-168). Bruxelles : De Boeck.
- [177] **De Neve, J. (2003).** Troubles fonctionnels (de la parole) dans la maladie de Parkinson. *Neurone*, 8, 279-282.
- [178] **Ronald Postuma, Christos Galatas,** Guide des *symptômes non-moteurs* reliés à la MP, 2012, Livret conçu pour les patients
- [179] **Nutt JG, Wooten GF,** Diagnosis and Initial Management of Parkinson's Disease, *N Engl J Med* 2005 ; 353 :1021-7.
- [180] **Dr J. Chaouis, Dr R. Guilloteau, Dr Y. Lequeux, Dr P. Marais, Dr M. Sammour.** MALADIE DE PARKINSON : diagnostic et prise en charge par le généraliste. Dossier documentaire. Mars 2013
- [181] **Oertel, W.H., Quinn, N.P., 1996.** Parkinsonism in neurological disorders: course and treatment. Académie Press, 715-772.
- [182] **Pollak, P., 2000.** La maladie de Parkinson. Ed. Odile Jacob, 1-175.
- [183] **Calon, F., 2000.** Le traitement de la maladie de Parkinson: nouveaux développements, *Québec Pharma., Al*, 134-146.
- [184] **Violon, P. (2012).** *Le guide belge du patient : comprendre et traiter la maladie de Parkinson.* Bruxelles : Vivio.
- [185] **Castro A, Valdeoriola F, Linazasoro G, Rodriguez-Oroz MC, Stochi F, Marin C, Rodriguez M, Vaamonde J, Jenner P, Alvarez L, Pavon N, Macias R, Luquin MR, Hernandez B, Grandas F, Gimenez-Roldan S, Tolosa E, Obeso JA., 2005.** Optimization of use of levodopa in Parkinson's disease: rôle of levodopa-carbidopa-entacapone combination. *Neurologia.*, 20:180-8.
- [186] **Ball, J., 2001.** Current advances in Parkinson's disease. *TRENDS neurosci.*, 24, 367-369.
- [187] **Durso R, Evans JE, Josephs E, Szabo G, Evans B, Fernandez HH, Browne TR., 2000.** Variable absorption of carbidopa affects both peripheral and central levodopa metabolism. *JClin Pharmacol.*, 40:854-60

- [188] **Damier, P., Tremblay, L., Féger, J., Hirsch, E.C., 2000.** Développement des dyskinésies provoquées par le traitement de la maladie de Parkinson : rôle de la première exposition à la L-Dopa (ou phénomène de priming). *Rev. Neurol.*, 156, 224-235.
- [189] **Poewe, W. H.,1994.** Clinical aspects of motor fluctuations in Parkinson's disease, *Neurology*, 44 (suppl.6), S6-S9.
- [190] **Lisa Richards,** Parkinson disease: Intrajejunal duodopa improves nonmotor symptoms; *Nature Reviews Neurology* 5, 354 (**July 2009**)
- [191] **D. Boisson,** Stimulation cérébrale profonde et maladie de Parkinson, *Annales de réadaptation et de médecine physique* 51 (**2008**) 491–500
- [192] **Jean Pierre GADBOIS,** La stimulation cérébrale profonde? ; **AIDYSTON 2013**
- [193] **Féron F.** Réparation du système nerveux central : les stratégies actuelles de thérapie cellulaire. *Neurobiologie des Interactions Cellulaires et Neurophysiopathologie (NICN)*. Septembre **2007**; 163 N°HS1 : 23-30
- [194] **Lindvall O., Hagell P.** Cell therapy and transplantation in Parkinson's disease. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. Allemagne. **2001** ; Vol.39, N°4 : 356-361
- [195] **Pia Jensen, Christina Krabbe and Morten Meyer,** Cell Therapy for Parkinson's Disease: Status and Perspectives, (**2011**) *Towards New Therapies for Parkinson's Disease*, Prof. David Finkelstein (Ed.), ISBN: 978-953-307-463-4,
- [196] **Anselme L. Perrier.** Des cellules souches embryonnaires humaines pour le traitement de la maladie de Parkinson?. *M/S*. Janvier **2005**; vol. 21, n°1
- [197] **Michèle Cazillis, Vincent LeLièvre et Pierre Gressens:** « Différenciation neurale des cellules souches embryonnaires » *M/S : médecine sciences*, vol. 21, n° 5, **2005**, p. 484-490.
- [198] **Anne-Catherine Fluckiger, Colette Dehay et Pierre Savatier;** « Cellules souches embryonnaires et thérapies cellulaires du système nerveux », *M/S : médecine sciences*, vol. 19, n° 6-7, **2003**, p. 699-708.
- [199] **Kawasaki H, Mizuseki K, Nishikawa S, et al.** Induction of midbrain dopaminergic neurons from ES cells by stromal cell-derived inducing activity. *Neuron*. **2000**; 28: 31-40

- [200] **Perrier AL Tabar V Barberi T et al.** Derivation of midbrain dopamine neurons from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2004**; 101: 12543-8
- [201] **Correia AS, Anisimov SV, Li JY, Brundin P.** Stem cell-based therapy for Parkinson's disease. *Ann Med*. **2005**;37(7):487-98
- [202] **Thompson et al.** Identification of dopaminergic neurons of nigral and ventral tegmental area subtypes in grafts of fetal ventral mesencephalon based on cell morphology, protein expression, and efferent projections. *J Neurosci*.**2005**; 25 :6467-77.
- [203] **Marc P.** Les cellules souches embryonnaires passent vraiment en thérapeutique expérimentale. *Medecine/Sciences*. **2002** ; 18 : 166-167
- [204] **Kompoliti K., Y. Chu, K. M. Shannon, and J. H. Kordower. 2007.** Neuropathological study 16 years after autologous adrenal medullary transplantation in a Parkinson's disease patient. *Mov Disord* 22 (11):1630-3.
- [205] **Maitra A. and Al. 2005.** Genomic alterations in cultured human embryonic stem cells. *Nat Genet* 37 (10):1099-103.
- [206] **Ostenfeld T., E. Joly, Y. T. Tai, A. Peters, M. Caldwell, E. Jauniaux, and C. N. Svendsen. 2002.** Regional specification of rodent and human neurospheres. *Brain Res Dev Brain Res* 134 (1-2):43-55.
- [207] **Studer L., V. Tabar, and R. D. McKay. 1998.** Transplantation of expanded mesencephalic precursors leads to recovery in parkinsonian rats. *Nat Neurosci* 1 (4):290-5.
- [208] **Wang X., Y. Lu, H. Zhang, K. Wang, Q. He, Y. Wang, X. Liu, and L. Li. 2004.** Distinct efficacy of pre-differentiated versus intact fetal mesencephalon-derived human neural progenitor cells in alleviating rat model of Parkinson's disease. *Int J Dev Neurosci* 22 (4):175-83
- [209] **Carvey P. M., Z. D. Ling, C. E. Sortwell, M. R. Pitzer, S. O. McGuire, A. Storch, and T. J. Collier. 2001.** A clonal line of mesencephalic progenitor cells converted to dopamine neurons by hematopoietic cytokines: a source of cells for transplantation in Parkinson's disease. *Exp Neurol* 171 (1):98-108.

- [210] **Park C. H., J. S. Kang, Y. H. Shin, M. Y. Chang, S. Chung, H. C. Koh, M. H. Zhu, S. B. Oh, Y. S. Lee, G. Panagiotakos, V. Tabar, L. Studer, and S. H. Lee. 2006.** Acquisition of in vitro and in vivo functionality of Nurr1-induced dopamine neurons. *FASEB J* 20 (14):2553-5.
- [211] **Roybon L., T. Hjalt, N. S. Christophersen, J. Y. Li, and P. Brundin. 2008.** Effects on differentiation of embryonic ventral midbrain progenitors by Lmx1a, Msx1, Ngn2, and Pitx3. *J Neurosci* 28 (14):3644-56.
- [212] **Taupin P.** Neurogenesis in the adult central nervous system. *Neuroscience C. R. Biologies.* **2006** ; 329 : 465-475
- [213] **Hermann A., M. Maisel, F. Wegner, S. Liebau, D. W. Kim, M. Gerlach, J. Schwarz, K. S. Kim, and A. Storch. 2006.** Multipotent neural stem cells from the adult tegmentum with dopaminergic potential develop essential properties of functional neurons. *Stem Cells* 24 (4):949-64.
- [214] **Papanikolaou T., J. B. Lenington, A. Betz, C. Figueiredo, J. D. Salamone, and J. C. Conover. 2008.** In vitro generation of dopaminergic neurons from adult subventricular zone neural progenitor cells. *Stem Cells Dev* 17 (1):157-72.
- [215] **Trzaska K. A., C. C. King, K. Y. Li, E. V. Kuzhikandathil, M. C. Nowycky, J. H. Ye, and P. Rameshwar. 2009.** Brain-derived neurotrophic factor facilitates maturation of mesenchymal stem cell-derived dopamine progenitors to functional neurons. *J Neurochem* 110 (3):1058-69.
- [216] **Trzaska K. A., E. V. Kuzhikandathil, and P. Rameshwar. 2007.** Specification of a dopaminergic phenotype from adult human mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 25 (11):2797-808.
- [217] **Wernig M., J. P. Zhao, J. Pruszak, E. Hedlund, D. Fu, F. Soldner, V. Broccoli, M. Constantine-Paton, O. Isacson, and R. Jaenisch. 2008.** Neurons derived from reprogrammed fibroblasts functionally integrate into the fetal brain and improve symptoms of rats with Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105 (15):5856-61.
- [218] **Soldner F., D. Hockemeyer, C. Beard, Q. Gao, G. W. Bell, E. G. Cook, G. Hargus, A. Blak, O. Cooper, M. Mitalipova, O. Isacson, and R. Jaenisch. 2009.** Parkinson's

disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. *Cell* 136 (5):964-77.

- [219] **Lindvall O. ; 2015** Treatment of Parkinson's disease using cell transplantation. *Phil. Trans. R. Soc. B* 370: 20140370.
- [220] **Anders Björklund, Stephen B Dunnett, Patrik Brundin, A Jon Stoessl, Curt R Freed, Robert E Breeze, Marc Levivier, Marc Peschanski, Lorenz Studer, and Roger Barker;** Neural transplantation for the treatment of Parkinson's disease; *THE LANCET Neurology* Vol 2 July **2003**
- [221] **Shane Grealish, Elsa Diguët, Agnete Kirkeby, Bengt Mattsson, Andreas Heuer, Yann Bramouille, Nadja Van Camp, Anselme L. Perrier, Philippe Hantraye, Anders Björklund, and Malin Parmar ;** Human ESC-Derived Dopamine Neurons Show Similar Preclinical Efficacy and Potency to Fetal Neurons when Grafted in a Rat Model of Parkinson's Disease *Cell Stem Cell* 15, 653–665, November 6, **2014**
- [222] **Marc Peschanski, Philippe Rémy, Pierre Césaró,** Greffes de neurones chez des patients parkinsoniens : bilan et perspectives, *Médecine thérapeutique* **2001**, 6:10,849-53
- [223] **Alain CLAEYS, Claude HURIET,** rapport sur le clonage, la thérapie cellulaire et l'utilisation thérapeutique des cellules embryonnaires; Paris, Février **2000**

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.
- D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.
- D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.
- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.

جامعة محمد الخامس - الرباط
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم : 31

سنة : 2016

استخدام العلاج بالخلايا في مرض باركنسون دورية علمية أطروحة:

قدمت ونوقشت علانية يوم.....

من طرف

الآنسة : كنون سومون إيزابيلا يزباث أورو سيكو
المزداة في: 26 شتنبر 1993 باتدالي (بنين)

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: الخلايا الجذعية - علاج الخلايا - مرض باركنسون.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة:

رئيس

السيد: م. زهدي

أستاذ علم الأحياء الدقيقة

مشرف

السيد: ع. الشقيري

أستاذ علم الأنسجة، علم الأجنة، الوراثة الخلوية

أعضاء

السيدة: م. برقيو

أستاذة علم الأنسجة، علم الأجنة، الوراثة الخلوية

السيدة: و. ركراكي

أستاذة علم الأعصاب